

gefördert durch



Deutsche
Bundesstiftung Umwelt

www.dbu.de

Entwicklung eines Umwelt- und fischgesundheits- freundlichen Membran-Denitrifikations-Verfahrens für landbasierte Salzwasser-Aquakultur-Kreislaufanlagen

Abschlussbericht

Bewilligungsempfänger:

Aqua Schwarz GmbH, Aquarien- und Anlagenbau (AS)

Kooperationspartner:

Blue Foot Membranes GmbH (BFM)

INFINITESEA GmbH (vormals FRESH Völklingen GmbH, FV)

Universität Stuttgart, Institut für Siedlungswasserbau,
Wassergüte- und Abfallwirtschaft (ISWA)

Tierärztliche Hochschule Hannover, Zentrum für Infektionsmedizin,
Fachgebiet Fischkrankheiten (TiHo)

Autoren: Angela Boley (ISWA), Verena Jung-Schroers (TiHo), Markus Sterneberg (TiHo), W.-R.
Müller, Steffen Richter (BFM), Adrian Basilico (AS), Andreas Mäck (FV)

Dezember 2024

Gefördert durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt

AZ 35673/01

Projektlaufzeit

17.03.2021 - 16.05.2024



Projektkennblatt
der
Deutschen Bundesstiftung Umwelt



Az	35673/01	Referat	23	Fördersumme	394.862 €
----	-----------------	---------	-----------	-------------	------------------

Antragstitel	Entwicklung eines umwelt- und fischgesundheitsfreundlichen Membran-Denitrifikations-Verfahrens für landbasierte Salzwasser-Aquakultur-Kreislaufanlagen
---------------------	---

Stichworte

Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)
38 Monate	17.03.2021	16.05.2024	1

Zwischenberichte	1
------------------	---

Bewilligungsempfänger	Aqua-Schwarz GmbH Herr Stefan Schwarz	Tel	+49 (0)551-385078-0
		Fa	+49 (0)551-385078-8
		X	
	Maschmühlenweg 40 + 42 37081 Göttingen	Projektleitung	Stefan Schwarz
		Bearbeiter	Adrian Basilico

Kooperationspartner	Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Zentrum für Infektionsmedizin, Abteilung Fischkrankheiten und Fischhaltung, Hannover (TIHO) Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte und Abfallwirtschaft, Stuttgart (ISWA) InfiniteSea GmbH, Völklingen (vormals: FRESH Völklingen GmbH, FV) Blue Foot Membranes GmbH, Saerbeck (BFM)
----------------------------	--

Zielsetzung und Anlass des Vorhabens

Das Projekt zielte darauf ab, ein innovatives Verfahren zur Wasseraufbereitung in Aquakultur-Kreislaufsystemen zu entwickeln, das den Frischwasserverbrauch vermindert, die Belastung des Prozesswassers minimiert und Stickstoffverbindungen wie Nitrat effizient reduziert, um die Umweltbelastung zu senken. Durch die Kombination eines Denitrifikationsreaktors mit einer Ultrafiltrationsmembran sollten die Wasserqualität verbessert, Emissionen verringert und das Wohlbefinden der Fische gesteigert werden.

Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

Die Arbeiten begannen mit der Konstruktion eines Membran-Denitrifikationsreaktors (MDR), der eine Ultrafiltrationsmembran mit einem Denitrifikationsverfahren kombiniert. Mit einem Laborreaktor wurde die Reinigung der Membranen durch Rückspülung und Bewegung von Granulaten und die Funktion als Denitrifikationsreaktor in einer marinen Umgebung geprüft. In einer halbtechnischen Anlage wurde das Konzept getestet. Zuvor wurden Methoden zur Analyse von Wasserparametern, mikrobieller Aktivität und Fischgesundheit entwickelt und angepasst. Onlinesensoren zur Überwachung von pH-Wert, Sauerstoff- und Nitratkonzentrationen sowie Steuerungssysteme für Pumpen und Ventile wurden implementiert. Parallel dazu wurden in Laborversuchen Batch-Systeme mit biologisch abbaubaren Festsubstraten (BAFs) als Trägermaterialien und Kohlenstoffquelle eingesetzt.

Ergebnisse und Diskussion

Das entwickelte Verfahren erwies sich als wirksam bei der Entfernung von Nitrat und Mikropartikeln. Batch-Versuche zeigten, dass die biologisch abbaubaren Festsubstrate als Kohlenstoffquelle und Trägermaterial für die Denitrifikation im Meerwasser geeignet sind.

Mit dem Labor-MDR konnte die Funktion von Denitrifikation und Filtration im Meerwasser unter ungünstigen Bedingungen durch Messungen von chemischen und physikalische Wasserparametern verifiziert werden. Weiterhin wurden technische Probleme identifiziert und teilweise gelöst, die zu Modifikationen des Labor-Reaktors führten und anschließend auch beim halbtechnischen Reaktor realisiert wurden.

Der halbtechnische MDR wurde in einer marinen Aquakultur-Kreislaufanlage unter realen Bedingungen eingesetzt. Dabei zeigten die Messungen eine signifikante Reduktion der Nitratkonzentrationen, was die Effektivität der Denitrifikation unter den spezifischen Bedingungen der Meerwasser-Aquakultur bestätigte. Die Tests zur Membranreinigung durch hydraulische Rückspülung allein ergaben, dass die Methode nicht ausreichend war. Der Einsatz von Kunststoffgranulaten als mechanische Unterstützung der Reinigung kann nicht abschließend beurteilt werden, da die Granulate in der Reaktorkonstruktion aufgrund von Verstopfungen sich noch nicht optimal bewegen ließen. Weitere Herausforderungen ergaben sich auch in der marinen Umgebung, da die Stabilität der Biofilme und die Anpassung der Biozönose an Salzwasser langsamer verliefen als im Süßwasser.

Die Untersuchungen zur Tiergesundheit zeigten, dass die optimierte Wasseraufbereitung zu einem Rückgang von Krankheitssymptomen und einer Minderung von Stressindikatoren wie den Cortisolwerten führte.

Trotz technischer Probleme, darunter Verzögerungen bei der Materialbeschaffung und Funktionsausfälle bei Komponenten, konnte die Umsetzbarkeit des Verfahrens in der Praxis nachgewiesen werden. Langfristig könnte die Technologie nicht nur den Wasserverbrauch in Aquakulturen senken, sondern auch die Umweltbelastung durch salzhaltige Abwässer und reaktive Stickstoffverbindungen deutlich reduzieren.

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Markus Sterneberg 2024: Einfluss eines Membran-Denitrifikations-Reaktors auf das Mikrobiom und die Fischgesundheit in Salzwasserkreislaufsystemen“, Vortrag EAAP-Tagung (European Association of Fish Pathologists) vom 9. bis 11.10.2024 in Ulm.

Fazit

Das Projekt hat gezeigt, dass die Kombination von Denitrifikations- und Ultrafiltrationsverfahren eine nachhaltige und effektive Lösung für die Wasseraufbereitung in Aquakultur-Systemen ist. Durch die Verminderung von Nitrat- und Partikelkonzentrationen im Wasser werden sowohl ökologische als auch ökonomische Vorteile erzielt. Die verbesserte Wasserqualität fördert das Wohlbefinden der Fische, vermindert Krankheitsrisiken und führt nachhaltig zu einer Verbesserung der Tiergesundheit.

Die Weiterentwicklung der Verfahrenstechnik, insbesondere bei der Membranreinigung und der Integration biologisch abbaubarer Materialien, ist jedoch erforderlich, um die Prozesse effizienter und kostengünstiger zu gestalten. Insgesamt liefert das Verfahren einen wichtigen Beitrag zur Entwicklung ressourcenschonender und umweltfreundlicher Technologien für die Aquakultur und hat das Potenzial, die Nachhaltigkeit der Fischproduktion langfristig zu sichern. Weitere Forschungen sind erforderlich, um die Technologie zu optimieren und eine breitere Anwendung zu ermöglichen.

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung.....	2
2.1	Zielsetzung und Aufgabenstellung	3
3	Projektverlauf - Vergleich mit Arbeitsplan	5
3.1	Arbeitspakete (AP)	5
3.2	Verbreitung der Ergebnisse	5
4	Material und Methoden	7
4.1	Analytik (AP3).....	7
4.2	Datenerfassung und Steuerung	7
4.3	Schaltsteckdosen für die Schaltung der Aktoren im kontinuierlichen Betrieb.....	7
4.4	Berechnungen	10
4.4.1	Berechnung der Nitrifikationsraten	10
4.4.2	Berechnung Denitrifikationsraten	10
4.4.3	Berechnung Wasserstand und Transmembrandruck.....	11
4.4.4	Berechnung Permeatfluss und Membranpermeabilität	12
4.4.5	Denitrifikation und aerober Abbau mit Ethanol	12
4.4.6	Berechnung Ethanolbedarf und Dosierung von Ethanol beim Labor-MDR	13
4.4.7	Berechnung Ethanolbedarf für die Denitrifikation und Dosierung von Ethanol beim halbtechnischen MDR	13
4.4.8	Reduzierte Nitrat-Stickstoff- und Sauerstoff-Fracht.....	14
4.5	Batch-Versuche (AP4, AP5).....	15
4.5.1	Herstellung des künstlichen Meerwassers	15
4.5.2	Batchversuch 1	16
4.5.2.1	Phase 1.....	16
4.5.2.2	Phase 2.....	16
4.5.3	Batchversuch 2	17
4.6	Membran-Denitrifikations-Laborreaktor in der Wasseraufbereitung eines Aquariums (AP2) 19	
4.6.1	Konzeption.....	19
4.6.2	Herstellung des künstlichen Meerwassers	19
4.6.3	Gesamte Wasseraufbereitung der beiden Aquarien (Referenz und mit MDR)	19
4.6.4	Membranmodul für Membran-Deni-Laborreaktor (MDR)	21
4.6.5	Membran-Deni-Laborreaktor (MDR).....	21
4.6.6	Wasseraufbereitung Anlage mit Membran-Denireaktor MDR (Anlage B).....	25
4.6.7	Messgeräte für die Online-Messdatenerfassung.....	25
4.6.8	Abgeleitete Werte aus den Messwerten über Formeln	28
4.6.9	Weitere Geräte	28
4.6.10	Betriebsarten Filtration, Rückspülung und Relax	29
4.6.11	Filtrationsmodus	29
4.6.12	Rückspülmodus	30
4.6.13	Relaxmodus.....	30
4.6.14	Einstellungen der Regelungsparameter	31
4.6.15	Alarm-Einstellungen	31
4.6.16	Bestimmung Gesamtkeimzahl, DNA und Cortisol im Wasser und in Biofilmen	31
4.6.16.1	DNA-Extraktion	32
4.6.16.2	Quantifizierung der Gesamtkeimzahl mittels quantitativer Real Time PCR (qPCR)	33
4.7	Membran-Denitrifikations-Laborreaktor: Weiterbetrieb in der TiHo (AP2)	34
4.7.4	Bestimmung der chemischen Wasserparameter	37
4.7.4.1	Stickstoffparameter.....	37
4.7.4.2	Wassertemperatur	38
4.7.4.3	Sauerstoff	38
4.7.4.4	Salinität	38
4.7.4.5	pH-Wert	38

4.8	Konstruktion, Bau + Test halbtechnischer Membran-Deni-Reaktor (MDR) (AP6)	38
4.8.1	Konzeption.....	38
4.8.2	Künstliches Meerwasser.....	38
4.8.3	Wasseraufbereitung der Kreislaufanlage zur Fischproduktion von InfiniteSea (vorhanden)	39
4.8.4	Membranmodul für halbtechnischen Membran-Deni-Laborreaktor (MDR).....	39
4.8.5	Halbtechnischer Membran-Deni-Reaktor	41
4.8.6	Übersicht Wasserführung halbtechnischer Reaktor	44
4.8.7	Messgeräte für die Online-Messdatenerfassung.....	45
4.8.8	Abgeleitete Werte aus den Messwerten über Formeln	48
4.8.9	Weitere Geräte	48
4.8.10	Sequenz für Filtration, Rückspülung und Relax	49
4.8.11	Einstellungen der Regelungsparameter	49
4.8.12	Beurteilung von Fischen und Wasser.....	50
4.8.12.1	Gehaltene Fische.....	50
4.8.12.2	Mikrobiologische Untersuchungen von Wasser- und Biofilmpuben.....	50
5	Ergebnisse und Diskussion	51
5.1	Eignung von analytischen Schnell-Tests für Meerwasser (AP3)	51
5.2	Batchtests (AP4)	53
5.2.1	Batchversuch 1 (Versuchsbeschreibung s. Kap. 4.5.2)	53
5.2.1.1	Probenahmen für Ermittlung der Gesamtkeimzahl (TiHo)	53
5.2.1.2	Ergebnisse Ammonium und Nitrifikationsrate	53
5.2.1.3	Ergebnisse Nitrit, Nitrat und Denitrifikationsrate	54
5.2.1.4	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen Batchversuch 1	56
5.2.2	Batchversuch 2 (Versuchsbeschreibung s. Kap. 4.5.3)	57
5.2.2.1	Probenahmen für Ermittlung der Gesamtkeimzahl (TiHo)	57
5.2.2.2	Ergebnisse Nitrit, Nitrat und Denitrifikationsrate.....	58
5.2.2.3	Sauerstoff, pH und Temperatur	60
5.2.2.4	Weitere Inhaltsstoffe	61
5.2.2.5	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen Batchversuch 2	63
5.3	Versuch mit dem MDR-Laborreaktor im Meerwasser-Aquarium von Aqua Schwarz (AP5, Versuchsbeschreibung s. Kap. 0).....	65
5.3.1	Vorversuch mit Membranmodul im Laborreaktor	65
5.3.2	Nitrat-Konzentrationen, Volumenströme	66
5.3.3	Denitrifikationsraten, Nitrat und ORP	67
5.3.4	Dosierung Ethanol	68
5.3.5	Transmembrandruck und Wasserstand	69
5.3.6	Permeatfluss.....	69
5.3.7	Sauerstoff, pH und Temperatur	70
5.3.8	Andere Wasserinhaltsstoffe.....	71
5.3.9	Beurteilung von Fischen und mikrobiologische Bewertung des Wassers.....	73
5.3.9.1	Untersuchungen der mikrobiellen Gemeinschaften im MDR- und im Kontrollsystem	73
5.3.10	Fazit Laborreaktor im Meerwasseraquarium bei Aqua-Schwarz	75
5.4	Versuch mit dem MDR-Laborreaktor im Technikum der TiHo (AP5, Versuchsbeschreibung s. Kap. 0).....	76
5.4.1	Chemische und physikalische Wasseranalyse	76
5.4.1.1	Wassertemperatur	76
5.4.1.2	Salinität	76
5.4.1.3	Sauerstoff	76
5.4.1.4	pH-Wert	76
5.4.1.5	Ammoniak-/Ammonium	77
5.4.1.6	Nitrit	78
5.4.1.7	Nitrat	79
5.4.1.8	Sauerstoff-Konzentration und pH-Wert des Membran-Denitrifikationsreaktors	80
5.4.2	Durchfluss, Permeatfluss (Flux), Permeabilität und Transmembrandruck des MDRs	81
5.4.3	Beurteilung von Fischen und mikrobiologische Bewertung des Wassers.....	83
5.4.3.1	Ergebnisse des Bakteriengehaltes im Wasser, in den Biofilmen und im Mukus der Haut der Fische	83
5.4.3.2	Ergebnisse der Next-Generation Sequencing (NGS)-Analyse	87
5.4.3.3	Cortisol-Konzentration im Haltungswasser	95
5.4.4	Fazit Laborreaktor.....	96

5.5	Halbtechnischer MDR in der Meerwasser-Aquakultur-Kreislaufanlage bei InfiniteSea (AP7, Versuchsbeschreibung s. Kap. 4.8)	97
5.5.1	Versuchsverlauf AP7 (Völklingen)	97
5.5.2	Nitrat-Konzentrationen, Volumenströme	97
5.5.3	Denitrifikationsraten, Nitrat und ORP	98
5.5.4	Dosierung Ethanol	100
5.5.5	Transmembrandruck und Wasserstand	101
5.5.6	Permeatfluss und Permeabilität	101
5.5.7	Elektrische Leitfähigkeit	102
5.5.8	Sauerstoff, pH und Temperatur	102
5.5.9	Trübung	104
5.5.10	Andere Wasserinhaltsstoffe	104
5.5.11	Beurteilung von Fischen und mikrobiologische Bewertung des Wassers	105
5.5.11.1	Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in den Biofilmen	105
5.5.11.2	Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft im Haltungswasser	106
5.5.12	Fazit halbtechnischer Reaktor	107
6	Fazit	108
6.1	Vergleich der Ergebnisse mit den ursprünglichen Zielen	108
6.2	Weiterführende Fragestellungen	108
6.3	Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung	108
7	Literatur und Software	109

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: "Screenshot" mit Beispiel Multimes Software	7
Abb. 2: Schaltsteckdose USB-Switch 4 (Cleware) für die Beschaltung der Aktoren Deni-Pumpe, MV1, Rückspülpumpe und Dosierpumpe	8
Abb. 3: Multimes Einstellungen - Menü Zeitschalt-Sequenzen. Hier Filtration, Rückspülung und Relax.	8
Abb. 4: Regelungsoptionen Multimes Software.....	9
Abb. 5: Regelungsoptionen Multimes. RK 6: „DNR“ bedeutet Einstellungen der flexiblen Ethanol dosierung für die Denitrifikation n. Nitrat- u. Sauerstofffrachten im Zulauf („Nitratfracht“).	9
Abb. 6: Schema Dosierung: Dosierlösung (auf Waage) wird mit der Pumpe in den MDR gefördert.....	14
Abb. 7: Dosier-Pumpe (s. Tab. 9).....	15
Abb. 8: Verwendetes Meersalz	15
Abb. 9: Batchversuch 1, Phase 1 Li: Anlage 1, Mitte: Anlage 2, Re: Schema Anlage 1 (Anlage 2 gleich)	16
Abb. 10: Batchversuch 1, 2. Phase	17
Abb. 11: Batchversuch 2, Li.: Anlage 1 und 2, Re.: Anlage 3 und 4	18
Abb. 12: Schema Übersicht Wasserführung Becken A und B.	20
Abb. 13: Links: Membranmodul (BFM); Rechts: Membranmodul nach Einbau in Laborreaktor (Abmessungen s. Tab. 4, bzw. Tab. 5).....	20
Abb. 14: Skizze und Maße des MDR (nicht maßstäblich),.....	22
Abb. 15: Realisierung MDR-Laborreaktor - hier bei den ersten Tests im Labor von ISWA.....	23
Abb. 16: Realisierung Ablauf Reaktor - Verrohrung und Kugelhähne. Zur Funktion der Aktoren s. Tab. 6, Tab. 9 und Abb. 19	24
Abb. 17: Deni-Pumpe (Zulaufpumpe), Dosierpumpe und Rückspülpumpe, s. Tab. 9.....	24
Abb. 18: Deni-Pumpe (Grundfoss DDA, s. Tab. 9)	25
Abb. 19: Schema Wasserführung Becken B mit MDR, s. Tab. 6.....	25
Abb. 20: Messgeräte für online-Messungen.....	27
Abb. 21: Wasserführung im Filtrationsmodus (rote Linien = Wasser strömt, graue Linien Wasser steht)	30
Abb. 22: Wasserführung im Rückspülmodus (rote Linien = Wasser strömt, graue Linien Wasser steht)	30
Abb. 23: Wasserführung im Relaxmodus (rote Linien = Wasser strömt, graue Linien Wasser steht)	31
Abb. 24: In Betrieb genommener MDR in Hannover inklusive technische Apparatur und Messeinheiten	34
Abb. 25: Schema Übersicht Wasserführung System A und B (MDR) in Hannover.	35
Abb. 26: Schema Wasserführung System B (MDR) in Hannover.....	36
Abb. 27: Schema Prinzip der Wasserführung der Kreislaufanlage zur Fischproduktion in der Forschungshalle InfiniteSea (früher: FRESH), Völklingen.....	39
Abb. 28: Links: Membranmodul (BFM); Rechts: Membranmodul nach Einbau in Reaktor	40
Abb. 29: Membranmodul im halbtechnischen MDR von oben. Links: nach Einbau, Rechts: nach 82 d Betrieb, Teilstück rechts wurde von oben mit Wasser abgespritzt	41
Abb. 30: Halbtechnischer Reaktor in der Forschungshalle InfiniteSea nach dem Aufbau. Links: Von vorne mit Messhütte und Dosiereinrichtung; Rechts: von hinten mit Steigrohr und Ausgleichsbehälter.....	42
Abb. 31: Halbtechnischer Reaktor in der Forschungshalle InfiniteSea nach dem Aufbau. Links: Reaktor (von hinten); Rechts: Deckel, Steigrohr und Ausgleichsbehälter	43
Abb. 32: Li.: Zulaufbecken für Sensoren im Zulauf (mit Nitratsensor NO ₃ zu, s. Abb. 34).....	43
Abb. 33: Siebkonstruktion für den Rückhalt der Kunststoffgranulate („Trichter“) im halbtechnischen MDR. Oben: vor dem Einbau; Unten: nach Versuchsende.....	44
Abb. 34: Schema Übersicht Wasserführung halbtechnischer Reaktor in der Forschungshalle InfiniteSea (früher: FRESH), Völklingen	45
Abb. 35: Messgeräte für online-Messungen.....	47
Abb. 36: Einfluss Anteil künstl. Meerwasser Ammonium-Test (Methode HACH 8155 Prg 385 NH ₄ ⁺ -N). MW: Meerwasser; gestrichelte Linie: Sollwert 0,42 mg/L.....	52
Abb. 37: Einfluss des Anteils künstl. Meerwasser mit 13 mm Küvette, Photometer DR3900 Spectroquant auf Nitrat-Test in Meerwasser (Merckmillipore - Supelco Anleitung 1.14942.0001) bei den NO ₃ -N Konz. 1, 1 mg/L, 5,1 mg/L, 10,2 mg/L und 21 mg/L	52
Abb. 38: Oben: Ammonium Konzentrationen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter Unten: Volumenbezogene Nitrifikationsrate (NFRV, s. Gl. (1)) Batch 1 (PCL) u. Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) (gestrichelte Linien P1 bis P5 sind die Probenahme-Zeitpunkte, s. Tab. 20).....	53
Abb. 39: Oben: Nitrit Konz. Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) Mitte oben: Nitrat Konz. Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) Mitte unten: Volumenbezogene Denitrifikationsrate (DNRV) Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) Unten: Oberflächenbezogene Denitrifikationsrate (DNRA) Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) jeweils im Mischbehälter (gestrichelte Linien: Probenahme-Zeitpunkte, s. Abb. 38)	54
Abb. 40: Oben: Phosphat Konzentrationen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter Unten: CSB Konzentrationen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter und im Ablauf des Denitrifikationsreaktors (gestrichelte Linien P1 bis P5 sind die Probenahme-Zeitpunkte).....	55

Abb. 41: Oben: Temperaturen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter	55
Abb. 42: Sauerstoff-Konzentrationen im Mischbehälter (gestrichelte Linien P1 bis P5 sind die Probenahme-Zeitpunkte)	56
Abb. 43: Wasserproben aus dem Nitrifikationsreaktor der Anlage 1 (NF(1)), Nitrifikationsreaktor der Anlage 2 (NF(2)), Denitrifikationsreaktor der Anlage 1 (DeNF (1)) und dem Denitrifikationsreaktor der Anlage 2 (DeNF (2)). Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 103, 110, 131, 181 und 189 Tage nach Versuchsstart	56
Abb. 44: Proben der Aufwuchsmaterialien aus dem Nitrifikationsreaktor der Anlage 1 (NF(1)), Nitrifikationsreaktor der Anlage 2 (NF(2)), Denitrifikationsreaktor der Anlage 1 (DeNF (1)) und dem Denitrifikationsreaktor der Anlage 2 (DeNF (2)). Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 103, 110, 131, 181 und 189 Tage nach Versuchsstart	57
Abb. 45: Oben: NO ₂ -N Konz. Batch 1 (PHB Meerwasser) u. Batch 2 (PCL Meerwasser) in Mischbehälter (Batch1, Batch2) u. Ablauf Reaktor (Batch1 ab, Batch2 ab) Mitte oben: NO ₃ -N Konz. (gleiche Bezeichnungen) Mitte unten: Volumenbezogene Denitrifikationsraten (DNRV, Batch1: 22 °C 27 °C, Batch2: 20 °C ... 22 °C, s. Gl. (3)) Unten: Oberflächenbezogene Denitrifikationsraten (DNRA, Batch1: 22 °C ... 27 °C, Batch2: 20 °C ... 22 °C, s. Gl. (5)), Gestrichelte Linien: Probenahme-Zeitpunkte P1...P7, s. Tab. 22	58
Abb. 46: Oben: Nitrit Konzentrationen Batch 3 (Ratz-Kugeln Meerwasser) und Batch 4 (Ratz-Kugeln Süßwasser) in Mischbehälter (Batch3, Batch4) und Ablauf Reaktor (Batch3 ab, Batch4 ab) Mitte oben: Nitrat Konzentrationen (Bezeichnungen wie oben) Mitte unten: Volumenbezogene Denitrifikationsraten (DNRV, 20 °C bis 22 °C, s. Gl. (3)) Unten: Oberflächenbezogene Denitrifikationsraten (DNRA, 20 °C bis 22 °C, s. Gl. (5)) Gestrichelte Linien: Probenahme-Zeitpunkte P1...P7	59
Abb. 47: Oben: Temperaturen Batch 1 (PHB) und Batch 2 (PCL) im Mischbehälter	60
Abb. 48: Oben: Temperaturen Konzentrationen Batch 3 (Ratz-Kugeln Meerwasser) und Batch 4 (Ratz-Kugeln Süßwasser) im Mischbehälter	61
Abb. 49: Oben: Phosphat Konz. Batch 1 (PHB) u. Batch 2 (PCL) im Mischbehälter Unten: CSB Konz. im Mischbehälter (Batch1, Batch2) u. im Ablauf des Denitrifikationsreaktors (Batch1 ab, Batch2 ab) gestrichelte Linien P1 ... P7 sind die Probenahme-Zeitpunkte; („Batch 1 ab“ korrespondiert zur rechten Ordinatenachse)	62
Abb. 50: Oben: Phosphat Konz. Batch 3 (Ratz-Kugeln Meerwasser) u. Batch 4 (Ratz-Kugeln Süßwasser) im Mischbehälter Unten: CSB Konz. im Mischbehälter (Batch3, Batch4) u. im Ablauf des Denitrifikationsreaktors (Batch3 ab, Batch4 ab) Gestrichelte Linien P1 ... P7 sind die Probenahme-Zeitpunkte	62
Abb. 51: Wasserproben aus den Denitrifikationsreaktoren mit biologisch abbaubaren Festsubstraten. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 42 d, 56 d, 70 d, 84 d, 98 d, 112 d und 123 d (Tage) nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). PHB = Biopol D400G Natural Monsanto Europe 03/1998, PCL = Tone Polymer P767E Union Carbide 11/2000	63
Abb. 52: Wasserproben aus den Denitrifikationsreaktoren mit biologisch abbaubaren Festsubstraten. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 22 d, 36 d, 50 d, 64 d, 78 d, 92 d und 103 d nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). Ratz-Kugeln (MW) = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln Ø 10 mm) Meerwasser, Ratz-Kugeln (SW) = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln Ø 10 mm) Süßwasser	63
Abb. 53: Proben der Aufwuchsmaterialien aus den Denitrifikationsreaktoren mit unterschiedlichen Aufwuchsmaterialien. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 42 d, 56 d, 70 d, 84 d, 98 d, 112 d und 123 d (Tage) nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). PHB = Biopol D400G Natural Monsanto Europe 03/1998, PCL = Tone Polymer P767E Union Carbide 11/2000	64
Abb. 54: Proben der Aufwuchsmaterialien aus den Denitrifikationsreaktoren mit unterschiedlichen Aufwuchsmaterialien. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 22 d, 36 d, 50 d, 64 d, 78 d, 92 d und 103 d nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). Ratz-Kugeln = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln Ø 10 mm) Meerwasser, Ratz-Kugeln (SW) = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln Ø 10 mm) Süßwasser	64
Abb. 55: Fischneubesatz nach 33 d.	65
Abb. 56: Strömungsversuch im Laborreaktor	66
Abb. 57: Nitratkonzentrationen im Zu- und Ablauf des Laborreaktors	66
Abb. 58: Denitrifikationsraten System B mit MDR (DNRV B), berechnet aus Onlinewerten von NO ₃ -N im Zu- u. Ablauf, sowie Q _{DN} , s. Gl. (3))	67
Abb. 59: ORP und Nitratkonzentrationen im Ablauf des MDR-Laborreaktors	67
Abb. 60: Versuch der Korrelation von Nitratkonzentrationen und den entsprechenden ORP-Werten im Ablauf des Reaktors	68
Abb. 61: N+O-Fracht Zulauf (Fracht N+O Zu, s. Gl. (17)), N+O-Fracht reduziert (Fracht N+O red., s. Gl. (20)) und dosierte Ethanol-Fracht (Fracht Eth, s. Gl. (18)) im Vergleich - System B mit MDR	68
Abb. 62: Transmembrandruck (TMP), Wasserstand im Ausgleichsbehälter über dem Laborreaktor und Volumenstrom (Q _{DN}) - System B mit MDR	69
Abb. 63: Permeatfluss (Flux) durch den MDR-Laborreaktor - System B	70
Abb. 64: pH, Temperatur und Sauerstoffkonzentration in Zu- und Ablauf des MDR-Laborreaktors	70
Abb. 65: O ₂ Konz. im Ablauf des MDR-Laborreaktors (O ₂ _ab) und Rückspülung (Relais 2: MV1) am 120. d (oben) bzw. 162. d (unten)	71

Abb. 66: Nitrit-, Ammonium-, Phosphat- und CSB-Konzentrationen im Zu- und Ablauf des Laborreaktors....	72
Abb. 67: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Wasserproben aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR an den Tagen 1, 15, 30, 52, 64, 79, 92, 105 und 122 nach MDR-Start. Gezeigt wird jeweils eine Probe pro Entnahmedatum.	73
Abb. 68: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR an Tag 1, 15, 30, 52, 64, 79, 92, 105 und 122 nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils Mittelwert und Standardabweichung der Ergebnisse der Messungen von drei Proben pro Entnahmedatum.	74
Abb. 69: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus dem Mukus der Fische aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag, 64 und 122 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils Proben von 6 Fischen je Anlage und Entnahmezeitpunkt mit Mittelwert und Standardabweichung.	75
Abb. 70: pH-Werte aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro System und Entnahmedatum im Mittelwert.	77
Abb. 71: Ammoniak/Ammonium-Konzentration ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils der Mittelwert aus drei Proben je System und Entnahmedatum. Im Filtrat wurden jeweils Einzelwerte gemessen.	78
Abb. 72: Nitrit-Konzentrationen (NO_2^-) aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro System und Entnahmedatum im Mittelwert. Das Filtrat zeigt einen Einzelwert.	79
Abb. 73: Nitrat (NO_3^-)-Konzentrationen aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro System und Entnahmedatum im Mittelwert. Das Filtrat zeigt einen Einzelwert.	80
Abb. 74: Sauerstoff (O_2) -Konzentrationen aus dem Zulauf und dem Ablauf des MDRs. Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messung.	80
Abb. 75: pH-Werte aus dem Zulauf und dem Ablauf des MDRs. Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messung.	81
Abb. 76: Verlauf vom Durchfluss durch den Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.	82
Abb. 77: Verlauf vom Permeatfluss (Flux) durch die Membran im Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.	82
Abb. 78: Verlauf der Permeabilität durch die Membran im Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.	82
Abb. 79: Verlauf vom Transmembrandruck der Membranen im Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.	83
Abb. 80: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Wasserproben aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 13, 27, 41, 55, 69, 83, 97, 111 und 127 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. * = $p < 0,05$	84
Abb. 81: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 13, 27, 41, 55, 69, 83, 97, 111 und 127 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. * = $p < 0,05$	85
Abb. 82: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus dem Mukus der Fische aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 122 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils Proben von 6 Tilapien je Anlage und Entnahmezeitpunkt mit Mittelwert und Standardabweichung.	86
Abb. 83: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 13, 27, 41, 55, 69, 83, 97, 111 und 127 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. * = $p < 0,05$	87
Abb. 84: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Abteilungen in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	88
Abb. 85: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Abteilungen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	89

Abb. 86: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Klassen in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	90
Abb. 87: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Klassen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	91
Abb. 88: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Ordnungen in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	92
Abb. 89: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Ordnungen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	93
Abb. 90: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Familien in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	94
Abb. 91: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Ordnungen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.	95
Abb. 92: Cortisolgehalte im Haltungswasser (ng/100ml) aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen von drei Messungen pro Zeitpunkt und System jeweils 1 d vor und 27 d und 69 d nach MDR-Start.	96
Abb. 93: Nitratkonzentrationen im Zu- und Ablauf des halbtechnischen Reaktors und Volumenströme	98
Abb. 94: Denitrifikationsraten (berechnet aus Onlinewerten von NO_3^- -N im Zu- und Ablauf, sowie Q_{DN}) DNRV: auf Reaktor-Volumen bezogene Denitrifikationsrate in mg/(L h); DNRV ANA: auf Reaktor-Volumen bezogene Denitrifikationsrate aus Analytik-Werten in mg/(L h);	99
Abb. 95: ORP und Nitratkonzentrationen im Ablauf des halbtechnischen Reaktors.	99
Abb. 96: Versuch der Korrelation von Nitratkonzentrationen und den entsprechenden ORP-Werten im Ablauf des Reaktors	100
Abb. 97: Kumulierte Ethanolmengen, die in den Reaktor dosiert wurden	100
Abb. 98: N+O-Frachten im Vergleich	101
Abb. 99: Transmembrandruck (TMP), Wasserstand im Ausgleichsbehälter über dem Reaktor und Volumenstrom (Q_{Ab})	101
Abb. 100: Permeatfluss (Flux) und Permeabilität (J_p) beim halbtechnischen Reaktor	102
Abb. 101: Elektrische Leitfähigkeit (LF) und Temperatur (T) im Zulauf (zu) des halbtechnischen Reaktors	102
Abb. 102: pH (pH), Temperatur (T) und Sauerstoffkonzentrationen (O_2) in Zulauf (Zu) und Ablauf (Ab) des halbtechnischen Reaktors.	103
Abb. 103: Trübung im Ablauf des halbtechnischen Reaktors	104
Abb. 104: Analytisch bestimmte Nitrit-, Ammonium-, Phosphat- und CSB-Konzentrationen im Zu- und Ablauf des halbtechnischen Reaktors.	105
Abb. 105: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus den Haltsbecken und des Filters. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 64 Tag vor- und 5, 19, 35, 50, 67 und 82 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung.	106
Abb. 106: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Wasserproben der Haltsbecken und des Filters. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 64 Tag vor- und 5, 19, 35, 50, 67 und 82 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben aus den Haltsbecken pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. Die Wasserprobe des Filters zeigt einen Einzelwert.	107

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Mittlere Meerwasser-Zusammensetzung (nach https://de.wikipedia.org/wiki/Meerwasser)	16
Tab. 2: Kennwerte Batchversuch 1 - Anlage 1 + 2.....	17
Tab. 3: Kennwerte Batchversuch 2	18
Tab. 4: Kennwerte Membranmodul für Laborreaktor	21
Tab. 5: Kennwerte Membran-Deni-Laborreaktor	21
Tab. 6: Messgeräte (Kurzbezeichnungen s. Abb. 19).....	26
Tab. 7: Definitionen der Variablen	28
Tab. 8: Verwendete Gleichungen („Formeln“).....	28
Tab. 9: Aktoren (Bezeichnungen s. Abb. 19)	29
Tab. 10: Weitere Geräte (Bezeichnungen s. Abb. 19)	29
Tab. 11: Sequenz für Schaltung der Aktoren (Relais).....	29
Tab. 12: Kennwerte Membranmodul (IPC 25) für halbtechnischen Reaktor	40
Tab. 13: Kennwerte halbtechnischer Membran-Deni-Reaktor	42
Tab. 14: Messgeräte (Kurzbezeichnungen s. Abb. 34)	46
Tab. 15: Aktoren (s. Abb. 19)	48
Tab. 16: Weitere Geräte (s. Abb. 19)	48
Tab. 17: Sequenz für Schaltung der Aktoren (Relais).....	49
Tab. 18 Küvetten-Testsätze (Hersteller: HACH-Lange, Düsseldorf).....	51
Tab. 19 Weitere Schnelltests	51
Tab. 20: Zeitpunkte der Probenahme nach Versuchsstart Batchversuch 1.....	53
Tab. 21: Batchversuch 1 Materialien für Denitrifikationsreaktor.....	57
Tab. 22: Zeitpunkte der Probenahme Batchversuch 2.....	58

Formelzeichen, Abkürzungen und Definitionen

Symbol bzw. Abkürzung	Beschreibung	Dim.
Anl.	Anlage	
A_m	Aktive Membranoberfläche	m^2
A_s	Substrat-Oberfläche	m^2
ANA	Analytik, analytisch bestimmte Konzentrationen	
AP	Arbeitspaket (laut Antrag)	
DBU	Deutsche Bundesstiftung Umwelt	
DNRV	Volumenspezifische Denitrifikationsrate	$mg/(L \cdot h)$
DNRA	Oberflächenspezifische Denitrifikationsrate	$mg/(m^2 \cdot h)$
Eth.	Ethanol	
F	Faktor für Berücksichtigung von O_2 bei Ethanoldosierung	-
Fa.	Firma	
Flux	Permeatfluss Membranmodul	$L/(m^2 \cdot h)$
Fracht Eth	Ethanol-Dosier-Fracht, dosierte Menge Ethanol je h	g/h
g	Erdbeschleunigung	m/s^2
Ges	gesamt	
ggr	geringgradig (Terminologie zur semiquantitativen Bewertung)	
Gl.	Gleichung	
h_1	Abstand Reaktordeckel (Sensor p_1) - Wasserstand Ausgleichsbehälter	cm
hgr	hochgradig (Terminologie zur semiquantitativen Bewertung)	
ISWA	Universität Stuttgart, Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft, Stuttgart	
Jp	Permeabilität der Membran	$L/(m^2 \cdot h \cdot bar)$
K1	Spez. Ethanolbedarf bei Denitrifikation: $mg \text{ Ethanol} / mg \text{ NO}_3\text{-N}$	mg/mg
K2	Anteil Ethanol in wässriger Lösung	g/g
Kap.	Kapitel	
KBE	Kolonie Bildende Einheit , auch KbE	
KLA	Kreislaufanlage	
Konz.	Kurzform für Konzentration	
Li, li	Links	
MBR	Membran-Bio-Reaktor	
MDR	Membran-Denitrifikations-Reaktor	
$NH_4\text{-N}$, $NH_4^+\text{-N}$	$NH_4^+\text{-N}$ Konz., eigentlich ($NH_4^+\text{-N} + NH_3\text{-N}$)	mg/L
$NO_2\text{-N}$, $NO_2^-\text{-N}$	Konzentration Nitrit-Stickstoff	mg/L
$NO_3\text{-N}$, $NO_3^-\text{-N}$	Konzentration Nitrat-Stickstoff	mg/L
...ab, ...Ab	...Ablauf Reaktor	mg/L
...zu, ...Zu	...Zulauf Reaktor	mg/L
N+O-Fracht	Äquivalente $NO_3\text{-N} + O_2$ -Fracht (s. Gl. (17), Gl. (19))	g/h
Onl.	Online	
ORP	Redoxpotential, Ablauf MDR (gemessene Werte, nicht auf Standardwasserstoffelektrode umgerechnet)	mV
O_2	Sauerstoffkonzentration	mg/L
...ab, ...Ab	...Ablauf Reaktor	
...zu, ...Zu	...Zulauf Reaktor	
p_1	Druck MDR Deckel, relativ oder absolut	mbar
p_2	Druck MDR Filtratleitung, relativ oder absolut	mbar
p_3	Druck MDR Filtratleitung, absolut	mbar
p_4	Außendruck, absolut	mbar
PCL	Polycaprolacton	
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)	
pH	pH-Wert	
PHB	Polyhydroxybuttersäure	
Q_{DN}	Volumenstrom durch MDR	L/h
Q_p	Permeatvolumenstrom	L/h
Re, re	Rechts	
RK	Regelkreis	
s.	siehe	
T	Temperatur (in $^{\circ}C$)	$^{\circ}C$
TiHo	Tierärztliche Hochschule Hannover, Zentrum für Infektionsmedizin, Fachgebiet Fischkrankheiten	
TMP	Transmembrandruck: Druckdiff. zw. Innen- und Außenseite d. Membran	mbar

Symbol bzw. Abkürzung	Beschreibung	Dim.
u. V(MDR) ρ	und Wasservolumen MDR: Membran-Denitrifikations-Reaktor Dichte des Wassers	L kg/m ³

Vorbemerkung

Alle Textteile mit Bezug zu den Untersuchungen der Mikrobiologie und der Fische (insbesondere die Kap. 4.6.16, 4.7, 4.8.12, 5.2.1.4, 5.2.2.5, 5.3.9, 5.4 und 5.5.11) wurden durch die TiHo, alles weitere durch ISWA erstellt. Alle anderen Autoren haben sich durch hilfreiche Korrekturen und Anregungen an der Fertigstellung dieses Berichtes beteiligt.

1 Zusammenfassung

Ziel des Projektes war die Realisierung eines einfachen und effektiven Verfahrens zur Wasseraufbereitung in der marinen Aquakultur und zur Verringerung von belastenden Emissionen aus Fischzucht-Anlagen. Um in einer Aquakultur-Kreislaufanlage Wasser zu sparen, sind insbesondere steigende Nitratkonzentrationen, damit einhergehend sinkende pH-Werte und steigende Konzentrationen von Mikropartikeln kritische Parameter.

Um diese Konzentrationen zu senken, wurde ein Verfahren entwickelt, das einen Denitrifikationsreaktor mit einer Ultrafiltrations-Membran koppelt. Dadurch können Feststoffe wie Bakterien, Parasiten und andere Mikropartikel entfernt und die Biomassekonzentration im Reaktor erhöht werden, was gleichzeitig eine Steigerung der Denitrifikationsleistung verspricht.

In den Vorgänger-Projekten wurden Trägermaterialien als Aufwuchs-Oberflächen für die Bakterien getestet, die zusätzlich zur Reinigung der Membranoberflächen dienen und ein Verfahren mit offenporigen Schaumstoffwürfeln realisiert. Gleichzeitig wurden die Schaumstoffwürfel an den Membranoberflächen vorbeigeführt, um die Biofilme „abzureiben“. Diese Methode hatte sich bereits in verschiedenen Versuchen im Labor, im Technikum und in der Praxis bewährt.

Nun galt es das Verfahren an die Bedingungen der Meerwasser-Aquakultur anzupassen und gleichzeitig das Reaktorkonzept zu verbessern.

Dazu wurde ein „Membranbioreaktor“-Modul (MBR) der Firma Blue Foot Membrane eingesetzt, das mit einer neuartigen rückspülbaren Membran ausgestattet ist. In einem aeroben Belebungsbecken einer Kläranlage werden die Membranoberflächen durch eine grobblasige Belüftung gereinigt, was jedoch bei der Denitrifikation nicht funktionieren kann. Die Möglichkeit der Rückspülung eröffnet daher neue Perspektiven für einen Einsatz im Denitrifikationsreaktor.

Parallel dazu sollte die Eignung von biologisch abbaubaren Festsubstraten (BAF), wie PHB und PCL, als Material für die Reinigung der Membranen, die Denitrifikation unter Salzwasser-Bedingungen und als Aufwuchsmaterial für die Bakterien geprüft werden. Da zu Beginn der Arbeiten noch kein Membran-Denitrifikationsreaktor zur Verfügung stand, wurden dafür zunächst Batchversuche im Labormaßstab mit automatischer Nitratdosierung durchgeführt. Diese Versuche verliefen erfolgreich und zeigten, dass die untersuchten Festsubstrate als C-Quelle für die Denitrifikation und als Aufwuchsmaterial gut geeignet sind.

Es stellte sich bei den Versuchen heraus, dass die Membranoberflächen bei den hier realisierbaren Rückspüldrücken und bei moderater Crossflow-Strömung nicht ausreichend gereinigt wurden. Da die Abstände zwischen den Membranplatten in den Modulen geringer waren, konnten hier keine geeigneten Schaumstoffwürfel wie im Vorgängerprojekt gefunden werden. Daher wurden biologisch abbaubare Kunststoffgranulate zur Reinigung getestet. Die Bedingungen im Reaktor waren jedoch nicht ideal, da Siebe verwendet wurden, die sehr schnell verstopften und somit einen hohen Widerstand für die Rezirkulationspumpen darstellten. Außerdem hatte das hier verwendete Granulat eine relativ hohe Dichte und konnte daher auch mit einer zusätzlich angeschafften stärkeren Rezirkulationspumpe nicht bewegt werden.

Hier wären weitere Untersuchungen erforderlich, um einerseits die Siebe zu verbessern und andererseits das Reinigungs- und Trägermaterial zu optimieren.

Dennoch konnte gezeigt werden, dass durch die Kombination von Denitrifikation und Membranreinigung eine Verbesserung der Wasserqualität erreicht werden kann.

Da Fische in ihrer Umwelt ständig der Einwirkung von Bakterien ausgesetzt sind, wurden im Rahmen dieses Projektes die Gesamtkeimzahl im Wasser, sowie der Biofilme in den Haltungs- und Filterbecken bestimmt. Die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft wurde im Wasser und in den Biofilmen bestimmt. Zur Abschätzung der Stressbelastung der gehaltenen Fische wurden die Cortisolwerte im Wasser der mittels MDR ausgestatteten Becken im Vergleich zu Kontrollbecken getestet. Es konnte gezeigt werden, dass der Betrieb des MDR für stabilere Verhältnisse in den mikrobiologischen Gemeinschaften der Biofilme beitragen kann und dadurch die Fischgesundheit gestärkt werden könnte.

2 Einleitung

Durch die intensive Befischung gehen die natürlichen Fischbestände in den Meeren zurück, viele Arten sind sogar vom Aussterben bedroht. Um die sinkenden Fangmengen auszugleichen, werden weltweit immer mehr Fische, Weichtiere und Krebse in Aquakulturen produziert, um die wachsende Weltbevölkerung mit hochwertigem tierischem Eiweiß, Omega-3-Fettsäuren, bestimmten Vitaminen und Mineralstoffen zu versorgen. Seefische erfreuen sich bei den Verbrauchern großer Beliebtheit und tragen durch ihren hohen Jodgehalt zur Jodversorgung der Bevölkerung bei. Im Vergleich zu anderen tierischen Eiweißquellen hat die Aquakultur eine gute Ökobilanz und könnte – bei Wahrung der Nachhaltigkeit – erheblich weiter wachsen.

In der EU werden nur 10 % des tierischen Proteins durch Fisch gedeckt, obwohl aus medizinischer Sicht mindestens der doppelte Anteil empfohlen wird (Westhoek et al., 2011). In Deutschland werden heute rund 90 % der hier verzehrten Fische und Meeresfrüchte importiert, häufig aus Herkunftsländern mit schlechterem Umwelt- und Sozialmanagement. Eine Steigerung der Produktion von Fischen und anderen Aquakulturerzeugnissen aus nachhaltiger Produktion ist daher notwendig, um diese Importe zu vermindern. Dazu gehören auch die Entwicklung und Verbesserung geschlossener Kreislauflsysteme, da diese im Vergleich zu offenen Systemen eine deutliche Verringerung der Nährstoffeinträge in die Gewässer und damit eine Reduzierung der Eutrophierung und des Biodiversitätsverlustes in den Vorflutern ermöglichen.

Als Vorteile von Kreislaufanlagen nennt der NASTAQ u.a. die vergleichsweise große Unabhängigkeit von Standort und Oberflächengewässer, die saisonunabhängige Produktion, einen sehr guten Seuchenschutz und ganz oder weitgehend vermeidbare Nährstoffeinträge in natürliche Vorfluter (Becke, C. et al., 2020).

Unabdingbar ist eine Kreislaufführung des Prozesswassers in landbasierten marinen Aquakulturen, da hier die hohen Salzeinträge aus dem Ablaufwasser zusätzliche Umweltprobleme für die aufnehmenden Gewässer verursachen. Außerdem sind die Aufwendungen für die Herstellung des Salzwassers ein erheblicher Kostenfaktor. Fische aus solchen Anlagen könnten dagegen ein hochwertiger und gesunder Ersatz für bisher in der Fangfischerei gewonnene Fischprodukte sein.

In der Fischzucht ist die Wasserqualität der wichtigste Parameter für das Wohlbefinden der Fische. Ergänzend zu der Grund-Funktionalität einer üblichen Kreislaufanlage, kann mit unserem Verfahren die Wasserqualität auf hohem Niveau eingestellt und so die Stressreaktionen der Fische messbar vermindert werden. Dies wird erreicht, indem die für die Fische belastende Anreicherung von Nitrat und von Feststoffen im Wasser vermieden und der pH-Wert konstant gehalten wird. Die Lebensbedingungen werden auf einem für die Fische zuträglichen Niveau stabilisiert und ermöglichen so eine tiergerechte Erzeugung.

Durch die Entfernung von Mikropartikeln wird eine starke Vermehrung von potenziell krankheits-erregenden Keimen im Haltungswasser verhindert und somit das Krankheitsrisiko für die Fische in der Fischzucht deutlich reduziert. In den ersten beiden Förderphasen konnte die Verbesserung des Tierwohls anhand geringerer Konzentrationen des Stresshormons Cortisol im Wasser und im Blut der Fische in den Becken mit dem Membran-Denitrifikationsreaktor nachgewiesen werden.

Der Frischwasserverbrauch wird erheblich vermindert. Dies führt neben der Wassereinsparung zu einer Steigerung der Energieeffizienz, da deutlich weniger Frischwasser auf die notwendige Haltungstemperatur erwärmt werden muss. Außerdem wird der Eintrag von stark salzhaltigen Abwässern in die aquatische Umwelt gesenkt. Daher kann das Verfahren auch einen Beitrag zur Ressourcenschonung leisten und ein erhebliches Umweltentlastungspotenzial darstellen.

Die Produktion von Lebensmitteln tierischer Herkunft führt zwangsläufig zu Nitratemissionen, die zur Eutrophierung der Gewässer und damit auch zur Belastung des Trinkwassers beitragen. Im Vergleich zur landwirtschaftlichen Nutztierhaltung ist die Fischzucht zwar mit deutlich geringeren Nitratemissionen verbunden, jedoch belasten die Emissionen aus Fischzuchtanlagen oftmals besonders wertvolle aquatische Lebensräume. Das in diesem Projekt entwickelte Verfahren kann die Nitratemissionen aus der Fischzucht sowie die Belastung mit anderen reaktiven Stickstoffverbindungen deutlich absenken.

2.1 Zielsetzung und Aufgabenstellung

Ziel des Vorhabens ist, Wasser durch eine weitest gehende Schließung des Wasserkreislaufs der Fischproduktion möglichst sparsam zu nutzen, die Verschmutzung des Fischhaltungs- und Ablaufwassers gering zu halten und damit auch den Energieeintrag zur Erwärmung des Frischwassers zu vermindern. Diese Zielsetzung steht in direkter Interaktion zur Fischgesundheit. Sie kann nur über eine Verbesserung der Wasseraufbereitung in der Aquakultur mit vorrangiger Verringerung von Stickstoff- und Mikropartikelkonzentration erreicht werden.

Die grundlegende Idee hier ist die Kopplung des biologischen Verfahrens zur Denitrifikation mit einem Membranfiltrations-Element in einer Einheit als Membran-Denitrifikations-Reaktor (MDR).

Da die Denitrifikation nur mit sehr niedrigen Sauerstoffkonzentrationen möglich ist, kann hier eine Blasenbelüftung mit Spülluft wie beim Membranbelebungsverfahren (MBR) in der Abwassertechnik nicht eingesetzt werden um der Foulingschicht-Bildung zu begegnen. Deshalb werden hier zur Minderung des Biofoulings fluidisierte Trägermaterialien eingesetzt, die durch einen Wasserstrom bewegt werden und, vorbei an den Membranen geführt, die schonende Reinigung ihrer Oberflächen bewirken.

Die Kombination von Membranfiltration und Denitrifikation in einem Reaktor hat mehrere Vorteile. Weil Feststoffe, wie z.B. Bakterien, Parasiten und andere Mikropartikel, im Reaktor zurückgehalten werden, werden diese nicht nur aus dem Fischhaltungswasser entfernt, sondern die Nitrat-reduzierenden Bakterien werden im Reaktor zurückgehalten. Dadurch wird die Biomassenkonzentration im Denitrifikationsreaktor gesteigert, was prinzipiell zu höheren Denitrifikationsraten führen kann. Ein weiterer Vorteil ist die Doppelfunktion der Trägermaterialien. Sie dienen einerseits als Oberflächen für die Biofilme der denitrifizierenden Bakterien, andererseits führen die bewegten Trägermaterialien zur Reinigung der Wand- und Membranoberflächen, wobei gleichzeitig die überschüssige Biomasse abgeschliffen wird.

Da sowohl das Membranmodul, als auch die Denitrifikationseinheit wegen der deutlich geringeren Volumenströme im Bypass betrieben werden sollten, ist eine Kombination dieser Anlagenteile in einer Aquakultur-Kreislaufanlage vorteilhaft.

Das Grundprinzip des MDR wurde im Labormaßstab, einer halbtechnischen Anlage und in der Praxis erfolgreich in der Süßwasser-Aquakultur getestet (Boley et al., 2017), (Boley et al., 2019). Es zeigte sich, dass der technische Ansatz funktionstüchtig ist, doch vor einer Nutzung in der Praxis noch einige technische Details zu verbessern sind.

Die Erfahrungen aus den voran gegangenen Projekten sollten genutzt werden, um die Konstruktion des Membran-Deni-Reaktors zu verbessern. Insbesondere sollte der Reaktor kompakter, der Filtrations-Volumenstrom erhöht und die Energieeffizienz gesteigert werden. Dazu wurde die Membrandichte erhöht und die Geometrie und damit die Strömungsführung optimiert. Weiterhin kam eine neuartige, mit hohem Druck rückspülbare Plattenmembran zum Einsatz.

Ein Ziel in diesem Vorhaben war es, das Verfahren für die marine Aquakultur weiter zu entwickeln. Nitrat ist im Ozean nur in Spuren vorhanden. Daher sind marine Lebewesen daran nicht angepasst und reagieren empfindlicher auf erhöhte Konzentrationen in Kreislaufanlagen. Der Einsatz im Salzwasser bedingt neue Anforderungen an das in der Anlage eingesetzte Material. Zudem entwickelt sich eine stabile Mikroflora im Seewasser deutlich langsamer als im Süßwasser. Dieses gilt insbesondere für nitrifizierende und denitrifizierende (Bakke et al., 2017).

Für dieses Vorhaben mussten die Laboranalysen-Methoden teilweise ergänzt, verifiziert und vor Ort etabliert werden. Die Online-Sensoren, wie pH, O₂, Redox und Nitrat-Sensoren wurden auf ihre Anwendbarkeit für Meerwasser geprüft und ggf. neu beschafft, installiert und kalibriert. Auch die Methoden zur Beurteilung von Wasser, Fischen, Bakterien und Cortisol wurden an Meerwasser-Bedingungen angepasst. Durch die veränderten Umweltbedingungen, änderten sich auch die Arten der Mikroorganismen, die sich anreichern und an den biochemischen Umsetzungen beteiligen. Deshalb sollte in diesem Vorhaben die Entwicklung der nitrifizierenden und denitrifizierenden Gemeinschaften analysiert werden.

Ein weiteres Ziel war eine einfachere Prozessführung und damit eine Steigerung der Anwenderfreundlichkeit. Hierzu soll die Nutzung von wasserunlöslichen biologisch abbaubaren Festsubstraten (BAF) untersucht werden, die gleichzeitig als Aufwuchsfläche für Biofilme, für die Reinigung

der Membranen und als organische Kohlenstoff-Quelle für die Denitrifikation dienen. Mit Exo-Enzymen werden lösliche Metaboliten von den Bakterien erzeugt, die sie für Denitrifikation und Biomasseaufbau nutzen. Der Vorteil des Einsatzes dieser Materialien wäre, dass die Dosierung der externen Kohlenstoffquelle entfallen könnte. Damit ließe sich ein großer Teil des Mess-, Regel- und Steuerungsaufwands einsparen und mögliche Fehlerquellen in der späteren Nutzung eliminieren. In diesem Fall sollten die Sensoren nur noch zur Funktionskontrolle, nicht aber mehr für die Regelung verwendet werden, so dass die Fehlerquelle „Fehlfunktion der Sensoren“ ausfallen würde. Die Zuverlässigkeit eines solchen Systems würde dadurch bedeutend gesteigert werden, da Fehldosierungen der organischen Kohlenstoff-Quelle nicht mehr auftreten können.

Eigene Erfahrungen mit bioabbaubaren Polymeren (BAP) im Süßwasser (Boley et al., 2000) und Az 13750, DBU, (Boley et al., 2002) zeigten, dass dieses prinzipiell ähnliche Verfahren sehr gut funktioniert und nur wenig Wartung erfordert. Jedoch sind die Kosten für das Material für größere Anlagen relativ hoch. Eine wichtige Frage hierbei war, inwieweit sich diese Materialien für die Reinigung der Membranen eignen und ob sie den mechanischen Belastungen gewachsen sind. Diese Variante hätte den Vorteil, dass sich ein unkompliziertes Handling (ohne Dosierung!) mit vergleichsweise günstigen Preisen für das Festsubstrat kombinieren ließe.

Schlussendlich sollte die Wirkung des neu entwickelten MDR auf das Wohlbefinden der Fische untersucht werden. Hierzu werden Fische in Kreislaufanlagen im Aquarienmaßstab mit üblicher Wasseraufbereitungstechnik (einschließlich Nitrifikation) gehalten. Hierbei wurden zwei parallele Kreisläufe eingesetzt, bei dem der eine Kreislauf zusätzlich mit dem neuen MDR betrieben wird. Eine Kreislaufanlage ohne MDR dient dabei jeweils als Referenz. Versuche mit einer halbtechnischen Anlage in einer marinen Aquakulturanlage sollten zeigen, ob diese Technologie sich auch in der Praxis bewährt.

Fische sind in ihrer Umwelt ständig der Einwirkung von Bakterien ausgesetzt. Diese Bakterien kommen frei im Wasser vor und besiedeln zudem alle mit Wasser in Kontakt stehenden Gegenstände und Oberflächen in Form von Biofilmen. Daher wurden im Rahmen dieses Projektes die Gesamtkeimzahl im Wasser, sowie der Biofilme in den Haltungs- und Filterbecken bestimmt. Zur Abschätzung der Stressbelastung der gehaltenen Fische wurden die Cortisolwerte im Wasser der mittels MDR ausgestatteten Becken im Vergleich zu Kontrollbecken getestet.

3 Projektverlauf - Vergleich mit Arbeitsplan

3.1 Arbeitspakete (AP)

Im Antrag wurden folgende Arbeitspakete vorgesehen

- AP 1 Projektmanagement und Koordination
- AP 2: Konstruktion, Bau + Test Labor-MDR¹ -Reaktor
- AP 3: Anpassung von Methoden
- AP 4 Test Labor-MDR -Reaktor + Bioabbaubare Festsubstrate (BAF)
- AP 5 Test Labor-MDR in Meerwasser
- AP 6 Konstruktion, Bau + Test halbtechnischer MDR für eine marine Aquakultur-Kreislaufanlage
- AP 7 Versuchsphase halbtechnischer MDR in einer marinen Aquakultur-Kreislaufanlage

Diese Arbeitspakete wurden alle bearbeitet, jedoch ergaben sich einige unvorhersehbare Probleme, die dazu führten, dass einzelne Projektabschnitte verzögert bzw. erst später begonnen werden konnten. Durch die Corona-Zeit gab es mehrere Krankheitsfälle beim Personal. Außerdem konnte das Material für den Bau der Reaktoren nur mit erheblicher zeitlicher Verzögerung beschafft werden. Der Zeitplan für die Arbeitspakete verschob sich dadurch. Deshalb wurden zwei Verlängerungen des Projektes insgesamt bis zum 16.05.2024 beantragt und genehmigt.

Aufgrund dieser Verzögerungen konnten die Versuche mit biologisch abbaubaren Festsubstraten (BAF) nicht, wie geplant, mit dem Laborreaktor durchgeführt werden (AP 4). Stattdessen wurden Batch-Versuche mit biologisch abbaubaren Festsubstraten als C-Quelle und Aufwuchsmaterial in Meer- und Süßwasser durchgeführt.

Weitere Probleme waren vor dem Start des Labor-Denitrifikationsreaktors im Meerwasser-Aquarium bei Aqua Schwarz (AP 5) zu verzeichnen. Aus unbekannter Ursache sind viele Fische verendet, so dass der Beginn der Versuche verschoben werden musste. Die Ursache für diese Verluste konnte nicht ermittelt werden.

Die Oberflächen-Reinigung der neuartigen Membranen allein durch moderate Wasserströmung und Rückspülung erwies sich als ineffizient. Daher sollten im weiteren Verlauf des Projekts andere Reinigungsprozeduren getestet werden. Eine Verwendung von Schaumstoffwürfeln, wie im Vorgängerprojekt, wäre prinzipiell möglich, leider waren aber keine Schaumstoffwürfel auf dem Markt erhältlich, die zu den Plattenabständen des Membranmoduls gepasst hätten. Aus den Erfahrungen eines früheren Projektes (Boley et al., 2012) war jedoch bekannt, dass auch Kunststoff-Granulate zur Reinigung geeignet sind. Um diese Granulate einsetzen zu können, wurde eine stärkere Rezirkulationspumpe beschafft und, zum Schutz der Pumpe vor den Granulaten, eine Siebkonstruktion mittels 3D-Druck hergestellt.

Mit diesen Änderungen wurde der Labor-Reaktor nach Hannover zur TiHo transportiert und dort in einer weiteren Meerwasser-Anlage integriert. Dieser Versuch war wichtig, um mit mehreren Parallelversuchen statistisch abgesicherte Aussagen zu erhalten.

Bei dem Versuch mit dem halbtechnischen Reaktor in der Meerwasser-Kreislaufanlage in Völklingen gab es vielerlei Probleme, u.a. mit nicht funktionstüchtigen Messgeräten, Stromausfällen und einer verspätet gelieferten und suboptimalen Siebkonstruktion (s. Kap. 5.5.1).

3.2 Verbreitung der Ergebnisse

¹ MDR = Membran-Denitrifikationsreaktor

Markus Sterneberg 2024: Einfluss eines Membran-Denitrifikations-Reaktors auf das Mikrobiom und die Fischgesundheit in Salzwasserkreislaufsystemen“, Vortrag EAFP-Tagung (European Association of Fish Pathologists) vom 9. bis 11.10.2024 in Ulm.

4 Material und Methoden

4.1 Analytik (AP3)

Die analytischen Methoden wurden auf ihre Eignung für Meerwasser untersucht. Details siehe Kap. 5.1.

4.2 Datenerfassung und Steuerung

Um die Wasserqualität zu erfassen und manuell kontrollieren zu können, wurden die Daten der Sensoren mit Hilfe der Software Multimes (Entwicklung in Visual Basic 6, (Boley and Boley, 2000)) im Zeitintervall von 1 min erfasst und auf einen PC übertragen (Abb. 1).

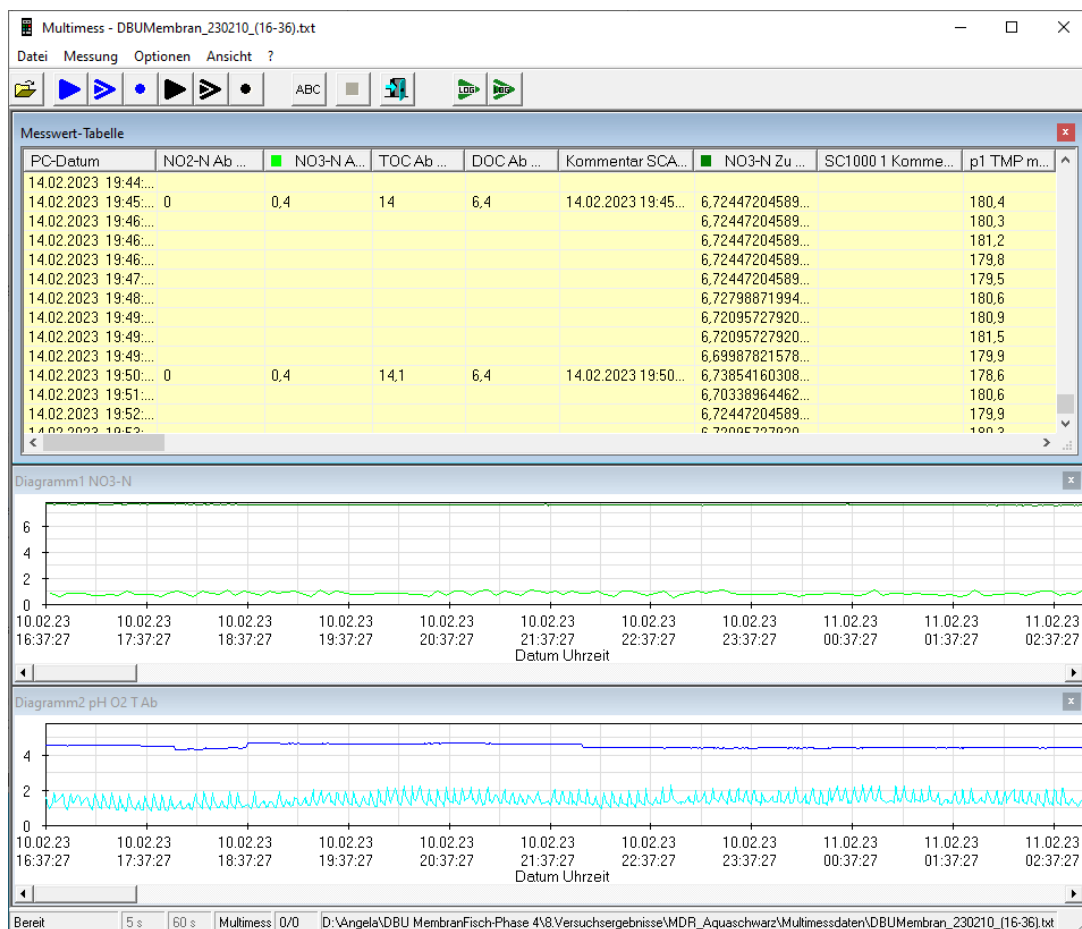


Abb. 1: "Screenshot" mit Beispiel Multimes Software.

Außerdem können bestimmte Werte (oder abgeleitete Werte) vom Programm für die Regelung verwendet werden. Mit dieser Software wurden Pumpen und Magnetventile (Aktoren) gesteuert und damit die Kontrolle über das System ermöglicht. Dazu wurden vom PC gesteuerte Schaltsteckdosen verwendet (s. Kap.4.3).

4.3 Schaltsteckdosen für die Schaltung der Aktoren im kontinuierlichen Betrieb

Für die Beschaltung der Aktoren wurde eine über USB-Kabel angeschlossene Schaltsteckdosenkombination verwendet. Diese enthält 4 Relais, die per Software ein- und ausgeschaltet werden können (s. Abb. 2).



Abb. 2: Schaltsteckdose USB-Switch 4 (Cleware) für die Beschaltung der Aktoren Deni-Pumpe, MV1, Rückspülpumpe und Dosierpumpe

Damit wurden sowohl fortlaufende Sequenzen realisiert (s. Kap. 4.6.10, 4.6.11, 4.6.12, 4.6.13), , als auch die Regelung der Ethanol-Dosierung (s. Kap. 4.4.6) und Schutzmaßnahmen, wie das Ausschalten der Deni-Pumpe(Zulaufpumpe) bei zu hohem Wasserstand im Ausgleichsbehälter (s. Kap. 4.6.14).

Beim Versuch mit dem Membran-Denitrifikations-Laborreaktor und auch dem halbtechnischen Reaktor wurden z.B. die Phasen Filtration, Rückspülung und Relax eingestellt (s. Abb. 3).

Zeitschalt-Sequenzen

Hilfe | Sequenz 1: Normal | Sequenz 2: Test Rücksp | Sequenz 3 | Sequenz 4 | Sequenz 5

Gekoppelte Zeitschaltung: Die Relais werden immer gemeinsam geschaltet. Die Tabelle gibt dabei jeweils Zeitdauer, Relais und Namen der einzelnen Schritte der Sequenz vor.

	Zeitdauer	Dim.	Relais 1 (CS11)	Relais 2 (CS11)	Relais 3 (CS11)	Relais 4 (CS11)	Zykl.Nr.	Schrittname	We
Geräte			Deni-Pumpe	MV1	Rückspülpumpe	Dosierp+MV2			
Schritt 1	270	s	EIN			EIN	1	Filtration	
Schritt 2	20	s	EIN	EIN	EIN	EIN	1	Rückspülung	
Schritt 3	15	s	EIN	EIN		EIN	1	Relax	
Schritt 4									
Schritt 5									
Schritt 6									
Schritt 7									
Schritt 8									
Schritt 9									
Schritt 10									
Schritt 11									
Schritt 12									
Schritt 13									

Start Datum Uhrzeit (leer=Start sofort) Übernehmen

Ende Datum Uhrzeit (leer=kein Ende)

Sequenz einmal durchlaufen ☐ Sequenz fortlaufend wiederholen ☒

Jede Sekunden wiederholen

Zahl der Schritte: 3

Hilfe

OK Abbrechen

Abb. 3: Multimesh Einstellungen - Menü Zeitschalt-Sequenzen. Hier Filtration, Rückspülung und Relax.

Um zu vermeiden, dass z.B. Becken überlaufen oder Pumpen trocken laufen, sind in der Software Möglichkeiten zur Messwert-basierten An- und Abschaltung von Relais implementiert (s. Abb. 4).

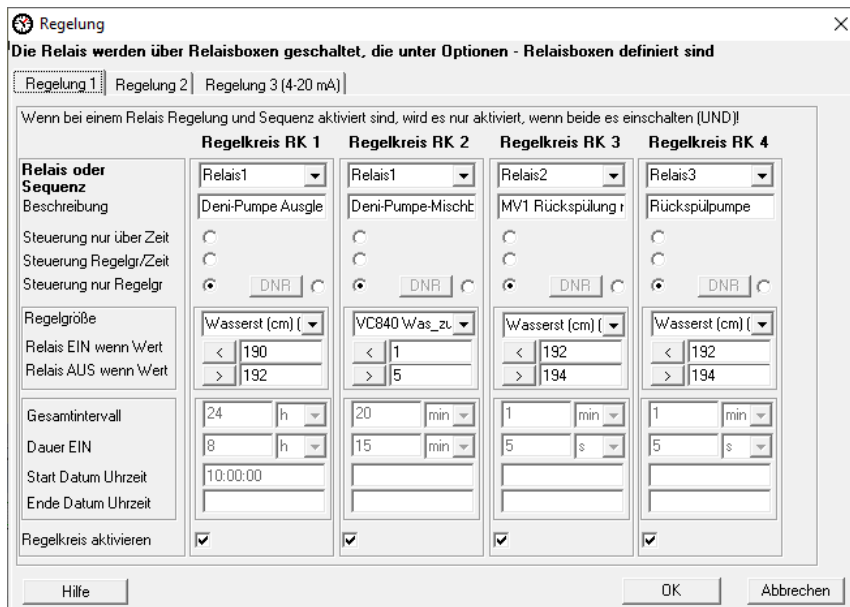


Abb. 4: Regelungsoptionen Multimes Software.

z.B. RK1 soll Deni-Zulaufpumpe ausschalten, wenn der Wasserstand im Ausgleichsbehälter zu hoch ist, RK4 analog für die Rückspülpumpe.

Weiterhin kann der Denitrifikationsprozess durch Kontrolle der Zugabe der Kohlenstoffquelle (hier Ethanol) geregelt werden. Dabei wird die Dosierpumpe nach einem flexiblen Rhythmus (Dosierintervall) ein/ausgeschaltet entsprechend einem vorgegebenen Dosiervolumenstrom, der sich auf Basis der gemessenen Nitrat- und Sauerstoffkonzentrationen an den Bedarf anpasst (s. Abb. 5).

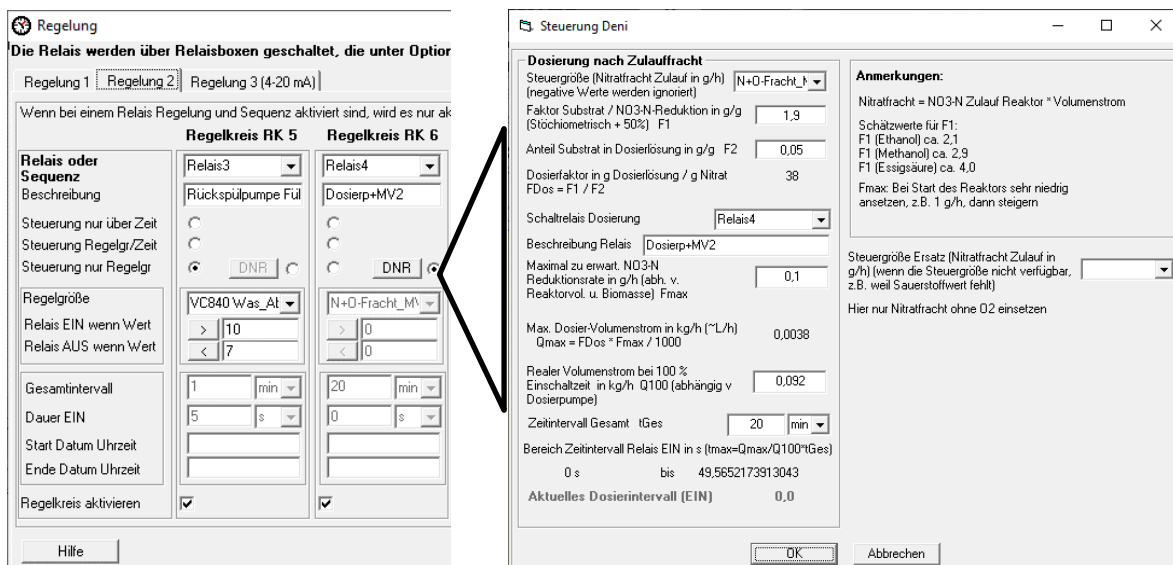


Abb. 5: Regelungsoptionen Multimes. RK 6: „DNR“ bedeutet Einstellungen der flexiblen Ethanol dosierung für die Denitrifikation n. Nitrat- u. Sauerstofffrachten im Zulauf („Nitratfracht“).

Schließlich können Warnungen ausgegeben, Ereignisse gespeichert und auch Alarmmeldungen auf Telegram ausgegeben werden. Diese Möglichkeiten wurden auch genutzt, da die Anlagen überwiegend per Fernbedienung (remote control) überwacht wurden. Hier wurde im wesentlichen Chrome Remote Desktop verwendet (<https://remotedesktop.google.com>).

Die Messwerte, Formelwerte, Benutzerkommentare, Ereignisse und Relaisstellungen wurden nach der Erfassung jedes Datensatzes (Zeile in der Tabelle) in einer Textdatei gespeichert, die anschließend mit Excel (Microsoft) oder einem anderen Tabellenkalkulationsprogramm eingelesen und weiter ausgewertet werden kann.

4.4 Berechnungen

4.4.1 Berechnung der Nitrifikationsraten

Bei der Berechnung der auf das Reaktorvolumen bezogenen Nitrifikationsraten wird die Reaktionsfolge

$\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ vereinfacht zu $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$ angenommen.

Die Berechnung der Nitrifikationsraten beim Batchversuch 1 erfolgte mit den Laboranalytik-Werten von jeweils 2 aufeinanderfolgenden Probenahmezeitpunkten, s. Gl. (1).

$$\text{NFRV} = \frac{\text{NH}_4^+-\text{N}(1) + \text{NO}_2^--\text{N}(1) - \text{NH}_4^+-\text{N}(2) - \text{NO}_2^--\text{N}(2)}{t(1) - t(2)} \cdot \frac{V_{\text{ges}}}{V_R} \quad \text{in mg/(L} \cdot \text{h)} \quad (1)$$

Mit:

NFRV	= Auf Reaktorvolumen bezogene Nitrifikationsrate, Analytik
$\text{NH}_4^+-\text{N}(1)$	= NH_4^+-N zum Zeitpunkt 1 in mg/L
$\text{NH}_4^+-\text{N}(2)$	= NH_4^+-N zum Zeitpunkt 2 in mg/L
$\text{NO}_2^--\text{N}(1)$	= NO_2^--N zum Zeitpunkt 1 in mg/L
$\text{NO}_2^--\text{N}(2)$	= NO_2^--N zum Zeitpunkt 2 in mg/L
t(1)	= Zeitpunkt 1 in h
t(2)	= Zeitpunkt 2 in h
V _{Ges}	= Gesamtes Wasservolumen (im Batchversuch) in L
V _R	= Reaktorvolumen in L

4.4.2 Berechnung Denitrifikationsraten

Bei der Berechnung der auf das Reaktorvolumen bezogenen Denitrifikationsraten wird die Reaktionsfolge

$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ vereinfacht zu $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$ angenommen.

Die Bestimmung der Denitrifikationsrate für den Reaktionsschritt $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$, Bezeichnung DNRV_ANA, war nur mit den Laboranalytik-Werten (ANA) möglich, denn hier werden außer den Nitrat- auch die Nitritkonzentrationen im Zu- und Ablauf des MDR in die Berechnung einbezogen s. Gl. (2).

$$\text{DNRV_ANA} = \frac{\Delta(\text{NO}_3^--\text{N}) + \Delta(\text{NO}_2^--\text{N})}{V(\text{MDR})} \cdot Q_{\text{DN}} \quad \text{in mg/(L} \cdot \text{h)} \quad (2)$$

Mit:

DNRV_ANA	= Auf Reaktorvolumen bezogene Denitrifikationsrate ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$), Analytik
$\Delta(\text{NO}_3^--\text{N})$	= NO_3^--N Differenz zw. MDR Zu- und Ablauf in mg/L
$\Delta(\text{NO}_2^--\text{N})$	= NO_2^--N Differenz zw. MDR Zu- und Ablauf in mg/L
V(MDR)	= Wasservolumen MDR in L
Q _{DN}	= Volumenstrom MDR in L/h

Die Online-Messungen lieferten keine Nitritwerte. Daher konnten bei den auf das Reaktorvolumen bezogenen Denitrifikationsraten nur die Nitratkonzentrationen berücksichtigt werden. Sie kann bei vergleichsweise niedrigen Nitritkonzentrationen in etwa der Denitrifikationsrate gleichgesetzt werden und wird im Folgenden als „**Volumenbezogene Denitrifikationsrate**“ DNRV bezeichnet (s. Gl. (3)).

$$\text{DNRV} = \frac{\Delta(\text{NO}_3^- - \text{N})}{V(\text{MDR})} \cdot Q_{\text{DN}} \quad \text{in mg/(L} \cdot \text{h)} \quad (3)$$

Mit:

DNRV = Auf Reaktorvolumen bezogene Denitrifikationsrate (NO_3^- zu NO_2^-), Online
 $\Delta(\text{NO}_3^- - \text{N})$ = $\text{NO}_3^- - \text{N}$ Konz.-Differenz zwischen MDR Zu- und Ablauf in mg/L, On-Line
 Messwerte (Mittelwerte).

Anmerkung: Vereinfacht kann hier eine Reaktion 0. Ordnung angenommen werden.

Ist die Denitrationsrate höher als die Denitrifikationsrate, ist die Denitrifikation nicht vollständig und es entsteht Nitrit.

Analog erfolgte die Berechnung der **Oberflächenbezogenen Denitrifikationsraten** (s. Gl. (4)).

$$\text{DNRA_ANA} = \frac{\Delta(\text{NO}_3^- - \text{N}) + \Delta(\text{NO}_2^- - \text{N})}{A_s} \cdot Q_{\text{DN}} \quad \text{in mg/(L} \cdot \text{h)} \quad (4)$$

Mit:

DNRA_ANA = Auf Substratoberfläche bezogene Denitrifikationsrate ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$), Analytik
 $\Delta(\text{NO}_3^- - \text{N})$ = $\text{NO}_3^- - \text{N}$ Differenz zw. MDR Zu- und Ablauf in mg/L
 $\Delta(\text{NO}_2^- - \text{N})$ = $\text{NO}_2^- - \text{N}$ Differenz zw. MDR Zu- und Ablauf in mg/L
 A_s = Substrat-Oberfläche = Trägermaterial-Oberfläche
 Q_{DN} = Volumenstrom MDR in L/h

und die „**Oberflächenbezogene Denitrifikationsrate**“ DNRA (s. Gl. (5)):

$$\text{DNRA} = \frac{\Delta(\text{NO}_3^- - \text{N})}{A_s} \cdot Q_{\text{DN}} \quad \text{in mg/(L} \cdot \text{h)} \quad (5)$$

Mit:

DNRA = Auf Substratoberfläche bezogene Denitrifikationsrate, Online
 $\Delta(\text{NO}_3^- - \text{N})$ = $\text{NO}_3^- - \text{N}$ Konz.-Differenz zwischen MDR Zu- und Ablauf in mg/L, OnLine
 Messwerte (Mittelwerte).

4.4.3 Berechnung Wasserstand und Transmembrandruck

Die Druck-Messwerte der Drucksensoren p_1 (Deckel), p_2 (Filtrat) p_3 (Filtrat, anderer Messbereich) und p_4 (Außendruck) (s. Abb. 19), werden von der Software Multimeß für die Berechnung des Wasserstandes und des TMP (Transmembrandruck) verwendet (s. Tab. 8).

Wasserstand im Reaktor

Der auf den Drucksensor p_1 wirkende Druck, relativ zum atmosphärischen Druck (s. Gl. (6))

$$p_1 = \rho \cdot g \cdot h_1 \cdot 0,0001 \quad \text{in mbar}$$

$$p_1 = 0,978 \cdot h_1 \quad \text{in mbar}$$

Mit:

ρ = Dichte des Wassers (998,2 kg/ m³ bei 20 °C)

g = Erdbeschleunigung (9,81 m/s²)

h_1 = Wasserstand über dem Drucksensor p_1 in cm

p_1 = gemessener Druck Reaktordeckel in mbar

(Der Faktor 0,978 ergibt sich aus $(\rho \cdot g)$ mit Umrechnung m in cm und Pa in mbar)

Durch Umstellung der Gl.(7) ergibt sich der Wasserstand h_1 (s. Gl. (8))

$$h_1 = \frac{p_1}{0,978} \quad \text{in cm} \quad (8)$$

Transmembrandruck (TMP)

Der TMP ist die „treibende Kraft“ des Filtrationsvorgangs und wird hier durch Überdruck auf der Seite des Retentates erzeugt. Er berechnet sich aus der Druckdifferenz zwischen der äußeren und inneren Seite der Membran. Hier waren beide Drucksensoren auf der gleichen Höhe, so dass sich die Gleichung vereinfacht (s. Gl. (9))

$$\text{TMP} = (p_1 - p_2) \quad \text{in mbar} \quad (9)$$

4.4.4 Berechnung Permeatfluss und Membranpermeabilität

Eine maßgebliche Größe zur Beschreibung der hydraulischen Leistungsfähigkeit der Membran ist der Permeatfluss (Flux), das Verhältnis von Permeatvolumenstrom Q_p (L/h) zur aktiven Membranoberfläche A_m (m^2) (s. Gl. (10)):

$$\text{Flux} = \frac{Q_p}{A_m} \quad \text{in } \frac{\text{L}}{\text{m}^2 \cdot \text{h}} \quad (10)$$

Da die Wasserströmung nur durch die Membran gehen kann, ist hier der Permeatvolumenstrom dem Volumenstrom durch den Reaktor (Q_{DN}) gleichzusetzen (s. Gl. (11))

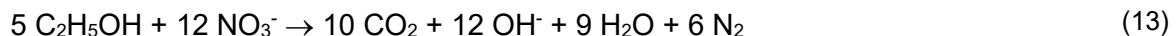
$$Q_p = Q_{\text{DN}} \quad \text{in L/h} \quad (11)$$

Die Permeabilität (J_p) kennzeichnet die Durchlässigkeit der Membrane und gibt u.a. einen Hinweis darauf, ob die Durchlässigkeit der Membran z.B. durch Biofilme vermindert wird (s. Gl. (12)).

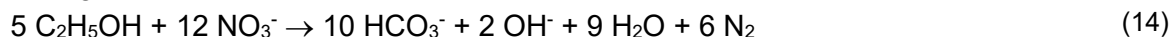
$$J_p = 1000 \cdot \frac{\text{Flux}}{\text{TMP}} \quad \text{in } \frac{\text{L}}{\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{bar}} \quad (12)$$

4.4.5 Denitrifikation und aerober Abbau mit Ethanol

Die von den Denitrifikanten katalysierte Denitrifikationsreaktion mit Ethanol wird mit folgenden Gleichungen (s. Gl. (13) und Gl. (14)) beschrieben. Dabei wird die Biomasse-Produktion vernachlässigt.



Oder, gleichbedeutend:



Bei Wasser aus Fischbecken ist eine hohe Sauerstoff-Konzentration zu erwarten. Daher wird parallel zur Denitrifikation immer auch ein aerober Abbau des Ethanols durch Denitrifikanten und andere Mikroorganismen erfolgen (s. Gl. (15)).



Je nach Verhältnis dieser beiden Reaktionen wird der pH-Wert beeinflusst: durch die Denitrifikation mit Ethanol steigt er, während er beim aeroben Abbau durch die Produktion von CO_2 sinkt. Aus Gl. (14) und (15) lässt sich erkennen, dass bei einer Relation von $\Delta \text{NO}_3^- / \Delta \text{O}_2 = 4 \text{ mol/mol}$ bei vollständiger Denitrifikation gleich viele OH^- - und CO_2 Ionen entstehen. Ist die Relation höher, müsste der pH steigen. Umgerechnet in Konzentrationswerte wäre die Relation:

$$\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{O}_2 = 3,5 \quad (16)$$

mit:

$\Delta \text{NO}_3^- \text{-N}$ = Konzentrationsdifferenz $\text{NO}_3^- \text{-N}$, Zulauf - $\text{NO}_3^- \text{-N}$, Ablauf

ΔO_2 = Konzentrationsdifferenz O_2 , Zulauf - Ablauf

Diese Überlegungen gelten nur für die Messung des pH-Wertes unmittelbar im Ablauf (so wie die Sensoren in den Versuchen installiert wurden), denn bei Kontakt mit der Außenluft wird ein Teil des CO₂ langsam ausgasen und damit den pH wieder erhöhen.

4.4.6 Berechnung Ethanolbedarf und Dosierung von Ethanol beim Labor-MDR

Der stöchiometrische Ethanolbedarf berechnet sich aus der Reaktionsgleichung der Denitrifikation (s. Gl. (13) und Gl. (14)) zu 1,37 g Ethanol / g NO₃⁻-N, wenn die Biomasseproduktion außer Acht gelassen wird. Unter Berücksichtigung der Biomassenproduktion erhöht sich der Ethanolbedarf auf bis zu 2 g Ethanol / g NO₃⁻-N (Rheinheimer, 1988), (Hamon and Fustec, 1991), (Roennefahrt, 1992). Ein zusätzlicher Ethanolbedarf von 0,48 g Ethanol / g O₂ (stöchiometrisch) entsteht durch die Zehrung des mit dem Wasser eingetragenen Sauerstoffs. Nach (Roennefahrt, 1992) ist der spezifische Ethanolbedarf mit Biomassebildung für die Sauerstoffzehrung mit ca. 0,58 g Ethanol / g O₂ anzusetzen. Dieser zusätzliche Bedarf wurde ebenfalls berücksichtigt und daraus die äquivalente NO₃⁻-N-Fracht (N+O-Fracht in Gl. (17)) berechnet. Mit den im Programm „Multimesh“ einstellbaren Faktoren K1 und K2 wird daraus die jeweilige Dosiermenge berechnet (s. Gl. (18)) und so die Dosierung dem Bedarf angepasst.

Der spezifische Ethanolbedarf (K1) wurde zunächst niedriger als der stöchiometrisch berechnete Bedarf eingestellt und dann vorsichtig gesteigert, um eine Überdosierung mit der Gefahr anaerober Bedingungen und einer Belastung des Wassers in den Fischbecken sicher zu vermeiden.

$$\text{N+O-Fracht} = \frac{\text{NO}_3\text{-N}_{\text{zu}} + F \cdot \text{O}_2_{\text{zu}}}{1000} \cdot Q_{\text{DN}} \quad \text{in g/h NO}_3\text{-N} \quad (17)$$

$$\text{Fracht Eth} = \frac{K1}{K2} \cdot \text{N+O-Fracht} \quad \text{in g/h Ethanol} \quad (18)$$

mit:

N+O-Fracht	Nitrat- u. äquivalente O ₂ -Fracht im Zulauf Reaktor in g/h
Fracht Eth	= Ethanol-Dosier-Fracht in g/h
NO ₃ -N _{zu}	= Konz. NO ₃ ⁻ -N im Zulauf zum Reaktor in mg/L
Q _{DN}	= Volumenstrom MDR in L/h
K1	= Spezifischer Ethanolbedarf in (g Ethanol / g NO ₃ ⁻ -N); Laborreaktor: bei Start: 1,5 g/g, ab Tag 7: 1,8 g/g, ab Tag 106 1,9 g/g
K2	= Anteil Ethanol (100 %) in Lösung, Laborreaktor: K2 = 0,05 g Ethanol / g Lösung
O ₂ _{zu}	= O ₂ -Konz. im Zulauf zum Reaktor in mg/L O ₂
F	= Faktor für Berücksichtigung von O ₂ = 0,46 g/g (theor. 0,35 g/g)

Die Dosierung der wässrigen Ethanollösung erfolgte mit einer Dosierpumpe direkt in den Reaktor. Um zu vermeiden, dass der höhere Innendruck ein Zurückfließen des Wassers aus dem Reaktor in die Dosierlösung bewirkt, war ein Rückschlagventil und ein Magnetventil zwischengeschaltet, das zusammen mit der Dosierpumpe ein- und ausgeschaltet wurde.

4.4.7 Berechnung Ethanolbedarf für die Denitrifikation und Dosierung von Ethanol beim halbtechnischen MDR

Die Dosierung erfolgte analog zum Laborreaktor (s. Gl. (17) und Gl. (18)). Allerdings waren die dosierten Mengen größer, so dass hier mit höheren Ethanol-Konzentrationen gearbeitet wurde. Zunächst wurde eine Glasflasche, 10 L mit Ethanol in Wasser (0,1 g Ethanol / g Lösung = K2 in Gl. (18)) auf einer Waage mit größerem Wäge-Bereich eingesetzt. Im Verlauf des Versuchs wurde die Glasflasche durch einen Kanister (20 L) mit Ethanol in Wasser (K2 = 0,2 g Ethanol / g Lösung, s. Gl. (18)) ersetzt, da die Flasche sonst alle paar Tage gewechselt werden müsste.

Der stöchiometrische Faktor $K1 = \text{Substrat (Ethanol)} / \text{NO}_3\text{-N Reduktion}$ ist ca. 1,4 g/g. Der spezifische Ethanolbedarf ($K1$, s. Gl. (18)) wurde hier im Programm Multimes auf 1,8 g/g eingestellt.

Da die Nitrat-Konzentrationen im Zulauf nach ca. 30 d den Messbereich der Nitratsonde überstiegen, wurde die Gl. (17) angepasst zu Gl. (19) und so im Programm hinterlegt.

$$\text{N+O-Fracht} = \frac{[\text{NO}_3\text{-N}_{\text{zu}} + \text{NO}_3\text{-N}_{\text{ab}} + F \cdot \text{O}_2_{\text{zu}}]}{1000} \cdot Q_{\text{DN}} \quad \text{in g/h NO}_3\text{-N} \quad (19)$$

mit:

N+O-Fracht = Nitrat- + äquivalente Sauerstoff-Fracht im Zulauf Reaktor in g/h
 $\text{NO}_3\text{-N}_{\text{zu}}$ = $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration im Zulauf Reaktor in mg/L
 $\text{NO}_3\text{-N}_{\text{ab}}$ = $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration im Ablauf Reaktor in mg/L
 Q_{DN} = Volumenstrom Reaktor in L/h
 F = Faktor für Berücksichtigung von $\text{O}_2 = 0,35 \text{ g/g}$ (theor. 0,48 g/g)
 O_2_{zu} = Sauerstoffkonz. im Zulauf zum Reaktor in mg/L O_2

Als Dosierpumpe diente hier eine Membran-Dosierpumpe (s. Tab. 15).

Mit den gemessenen Massen der Waage konnte später die tatsächlich dosierte Ethanolmenge berechnet werden.

4.4.8 Reduzierte Nitrat-Stickstoff- und Sauerstoff-Fracht

Um die tatsächlich reduzierte Nitrat-Stickstoff- und Sauerstoff-Fracht im Nachhinein zu berechnen, sind auch die Konzentrationen im Ablauf erforderlich (s. Gl. (20)).

$$\text{N+O-Fracht red (g/h)} = \frac{\text{NO}_3\text{-N}_{\text{zu}} - \text{NO}_3\text{-N}_{\text{ab}} + 0,46 \cdot (\text{O}_2_{\text{zu}} - \text{O}_2_{\text{ab}})}{1000} \cdot Q_{\text{DN}} \quad (20)$$

Mit

N+O-Fracht red = Reduzierte Nitrat- und äquivalente Sauerstoff-Fracht in g/h (durch Denitrifikation und Atmung)
 Q_{DN} = Volumenstrom Zulauf Reaktor in L/h
 $\text{NO}_3\text{-N}_{\text{zu}}$ = $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration im Zulauf Reaktor in mg/L
 O_2_{zu} = Sauerstoff Konzentration im Zulauf Reaktor in mg/L
 $\text{NO}_3\text{-N}_{\text{ab}}$ = $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration im Ablauf Reaktor in mg/L
 O_2_{ab} = Sauerstoff Konzentration im Ablauf Reaktor in mg/L

Die Dosierlösung (Ethanol in Wasser, $\beta = 0,1 \text{ g/g}$) befand sich in einer Glasflasche (1 L), die auf einer Waage stand. Die Waage wurde ohne Glasflasche auf 0 (tara) gestellt. Mit Flasche zeigte sie die jeweils aktuelle Masse der Dosierlösung (mitsamt Flasche und Zubehör) an. Damit konnte später die tatsächlich dosierte Ethanolmenge bestimmt werden (s. Gl. (20)).

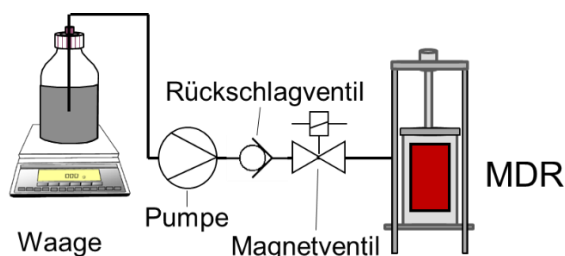


Abb. 6: Schema Dosierung: Dosierlösung (auf Waage) wird mit der Pumpe in den MDR gefördert.

Als Dosierpumpe dient eine Labor-Schlauchpumpe (s. Abb. 6).



Abb. 7: Dosier-Pumpe (s. Tab. 9)

4.5 Batch-Versuche (AP4, AP5)

4.5.1 Herstellung des künstlichen Meerwassers

Herstellung aus Meersalz (PRO-REEF, Tropic Marin s. Abb. 8) und deionisiertem Wasser, Konz. 33,3 g/L.

20,1 kg deionisiertes Wasser in Behälter geben, 670,9 g Meersalz einwiegen und unter intensivem Rühren langsam in das Wasser einrieseln lassen. Genauere Angaben zu den Inhaltsstoffen sind nicht verfügbar.

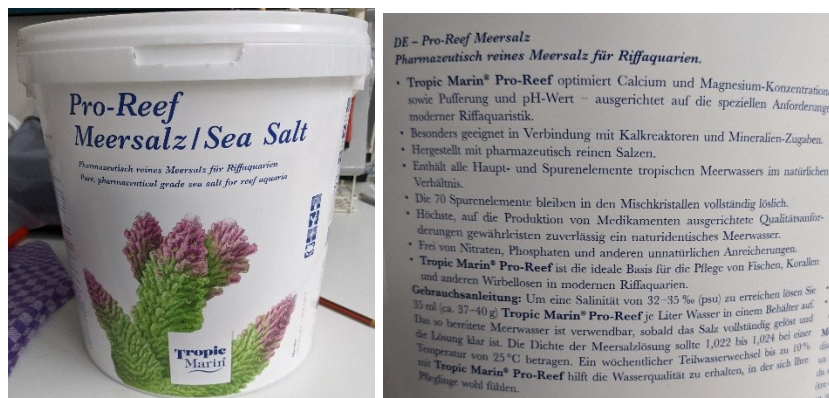


Abb. 8: Verwendetes Meersalz

Nach dem Rühren ist die Lösung klar. 1 d stehen lassen, gelegentlich rühren, Leitfähigkeit, gemessen: 44 mS/cm (bezogen auf 25 °C)

Schätzungen der Konzentration dieser Lösung

Nach <https://reefapp.net/de/salinity-calculator> berechnet sich bei der gemessenen Leitfähigkeit von 44 mS/cm (bezogen auf 25 °C) die Salinität zu 28,4 (PSU) und die Dichte (bei 25 °C) zu $\rho = 1,0183 \text{ kg/L}$

$m(\text{Lösung}) = 670,9 \text{ g Salz} + 20,148 \text{ kg Wasser} = 20,819 \text{ kg Lösung}$

$V(\text{Lösung}) = m/\rho = 20,819 / 1,0183 \text{ L} = 20,445 \text{ L}$

Konz. Salz = $670,9 \text{ g} / 20,445 \text{ L} = 32,8 \text{ g/L}$

Cl^- -Konzentration gemessen = ca. 16.500 mg/L Cl^-

Tab. 1: Mittlere Meerwasser-Zusammensetzung (nach <https://de.wikipedia.org/wiki/Meerwasser>)

Parameter	Einheit	Wert
Chlorid	mg/L	19.250
Natrium	mg/L	10.700
Magnesium	mg/L	1.300
Calcium	mg/L	420
Sulfat	mg/L	2.700
Kalium	mg/L	390
Phosphat	mg/L	< 0,1
Gesamtsalzgehalt	mg/L	35.000

Im Vergleich mit der mittleren Zusammensetzung von Meerwasser (s. Tab. 1) hatte das hier verwendete künstliche Meerwasser also eine geringere Salz-Konzentration.

4.5.2 Batchversuch 1

Batchversuch 1 war ein Vorversuch, um die Nitrifikations- und Denitrifikationsaktivität in künstlich hergestelltem Meerwasser mit biologisch abbaubaren Festsubstraten (BAFs) zu untersuchen. In Phase 1 wurde nur ein Nitrifikationsreaktor eingesetzt, in Phase 2 dann auch zusätzlich ein Denitrifikationsreaktor.

4.5.2.1 Phase 1

In zwei Anlagen wurden zunächst handelsübliche „Biofilter“ (Fa. Jebao) für Aquarien als Nitrifikationsreaktoren eingesetzt (s. Abb. 9). Die Beimpfung erfolgte durch Wasser eines eingefahrenen Meerwasser-Aquariums von AquaSchwarz. Als Biofilmträger wurde in Anlage 1 „Turbo FilterPerlen“ (Dennerle GmbH, Münchweiler) und in Anlage 2 „Bio FilterGranulat“ (Dennerle GmbH) eingesetzt. Zusätzlich waren offeneporige PUR-Schaumstoff-Kissen („Filterschaum“ = retikulierter Polyurethan-Schaum auf Polyesterbasis) im unteren Bereich der Reaktoren installiert.

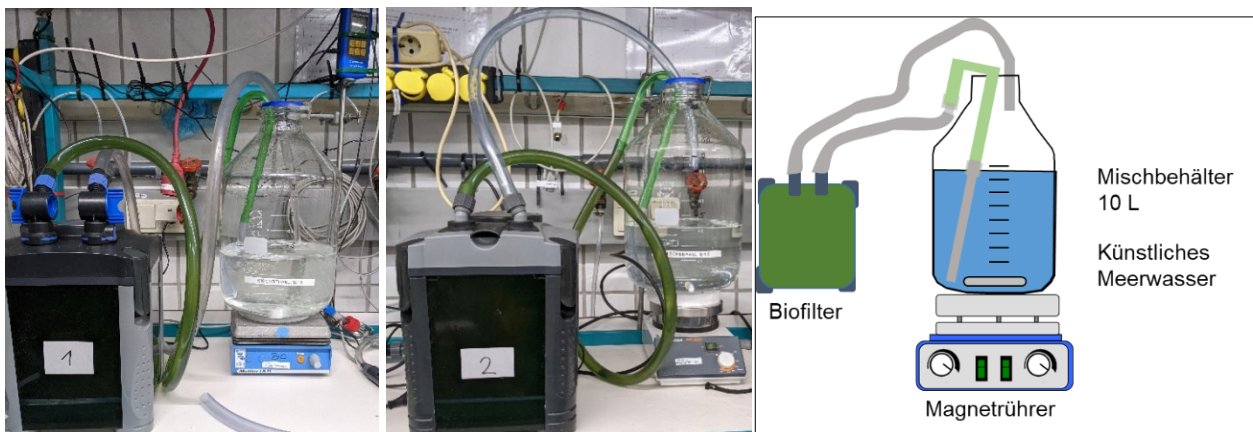


Abb. 9: Batchversuch 1, Phase 1

Li: Anlage 1, Mitte: Anlage 2, Re: Schema Anlage 1 (Anlage 2 gleich)

4.5.2.2 Phase 2

Nach 3 Monaten Betrieb waren die Nitrifikationsreaktoren eingefahren und die zweite Phase wurde gestartet. Hierzu wurde jeweils ein Denitrifikationsreaktor an den Mischbehälter angeschlossen (s. Abb. 10). Für eine integrierte Rückspülung waren Kreispumpen („Rückspülpumpe“) vorgesehen, die aufgrund der geringen Biomasse-Entwicklung zunächst nur sporadisch manuell geschaltet wurden.

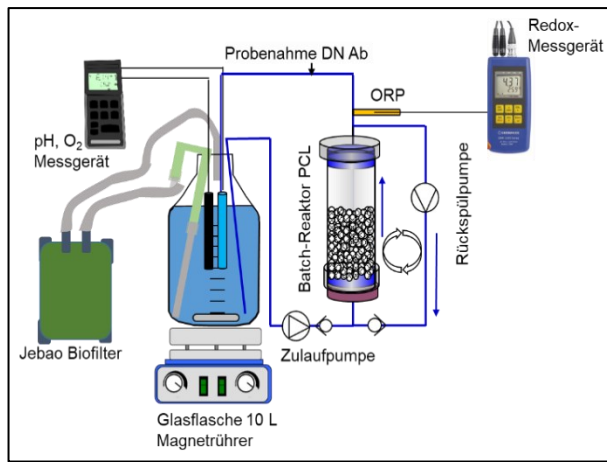
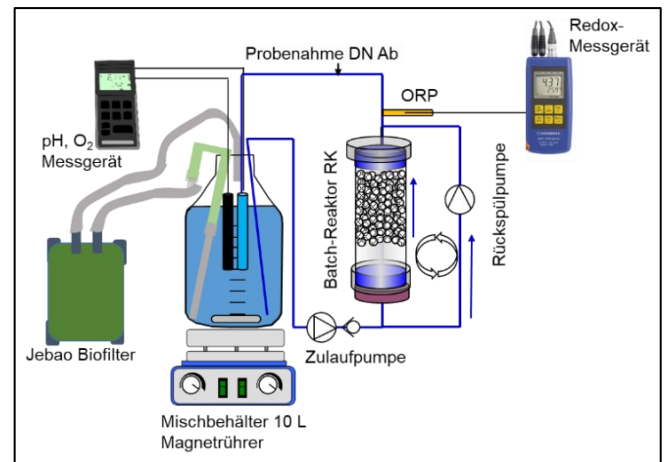


Abb. 10: Batchversuch 1, 2. Phase



Batchversuch 2, 2. Phase

Die wichtigsten Parameter der beiden Anlagen sind in Tab. 2 aufgelistet.

Tab. 2: Kennwerte Batchversuch 1 - Anlage 1 + 2

Parameter	Anlage 1	Anlage 2
Wasservolumen gesamt Phase 1	15 L	14,8 L
Wasservolumen gesamt Phase 2	17,5 L	17,3 L
Nitrifikationsreaktor (Biofilter), Wasser-Volumen	6,5 L	6,5 L
Denitrifikationsreaktor + Schläuche..., Wasser-Volumen	1,6 L	1,8 L
Denitrifikationsreaktor, Durchmesser	0,086 m	0,086 m
Denitrifikationsreaktor, Festbetthöhe	0,11 m	0,135 m
Denitrifikationsreaktor Festbettvolumen	0,64 L	0,78 L
Denitrifikationsreaktor, Substrat	PCL (CAPA 650)	RK2 ¹⁾
Denitrifikationsreaktor, Substrat-Masse	400 g	400 g
Denitrifikationsreaktor, Substrat spez. Oberfläche	1,4 m ² /kg	0,71 m ² /kg
Denitrifikationsreaktor, Substrat Oberfläche	0,56 m ²	0,284 m ²

¹⁾RK steht für Ratz-Kugeln (experimentelles bioabbaubares Festsubstrat = BAF) der Firma Ratz Aqua & Polymer Technik GmbH

4.5.3 Batchversuch 2

Mit Batchversuch 2 sollte die Denitrifikationsaktivität mit verschiedenen BAF in künstlich hergestelltem Meerwasser untersucht werden. Die Reaktoren für diesen Test waren die gleichen wie bei Batchversuch 1. Dazu wurden zwei weitere baugleiche Anlagen verwendet (s. Abb. 11). Hier wurden jedoch keine Nitrifikationsreaktoren eingesetzt, um eine automatische Dosierung von Nitrat einsetzen zu können. Die Beimpfung erfolgte bei Anlage 2, 3 und 4 durch eine Bakteriensuspension aus dem Batchversuch 1.

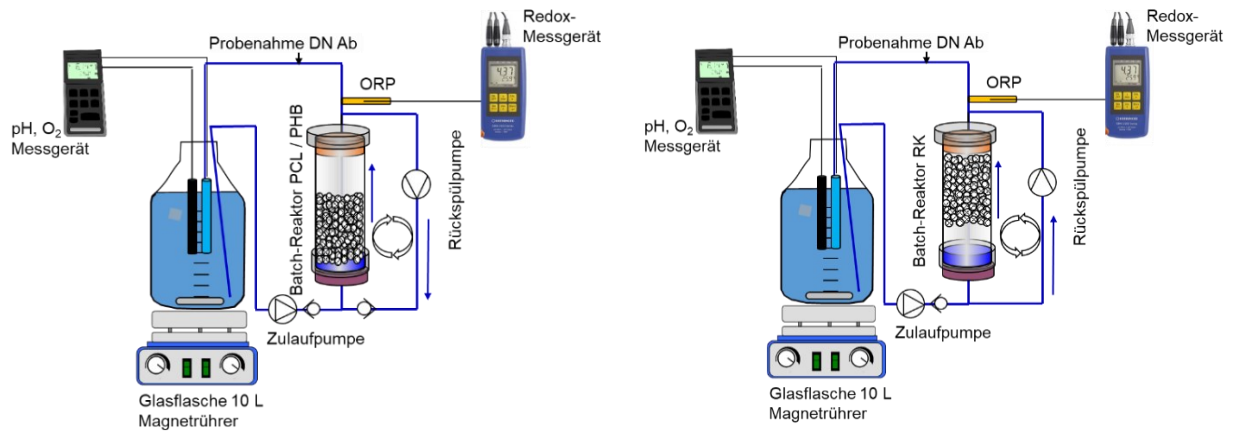


Abb. 11: Batchversuch 2, Li.: Anlage 1 und 2, Re.: Anlage 3 und 4

Die charakteristischen Kennwerte bei diesem Versuch sind in Tab. 3 aufgeführt.

Tab. 3: Kennwerte Batchversuch 2

Parameter	Anlage 1	Anlage 2	Anlage 3	Anlage 4
Wasservolumen gesamt Phase 1	~ 9 L ... 10 L	~ 9 L ... 10 L	~ 9 L ... 10 L	~ 9 L ... 10 L
Denitrifikationsreaktor + Schläuche..., Wasser-Volumen	1,6 L	1,6 L	1,6 L	1,6 L
Denitrifikationsreaktor, Durchmesser	0,086 m	0,086 m	0,086 m	0,086 m
Denitrifikationsreaktor, Festbetthöhe	(0,08...0,09) m	(0,08...0,09) m	0,11 m	0,11 m
Denitrifikationsreaktor Festbettvolumen	0,52 L	0,52 L	0,63 L	0,63 L
Denitrifikationsreaktor, Festsubstrat	PHB ¹	PCL ²	RK MW ³	RK SW ⁴
Medium	Meerwasser	Meerwasser	Meerwasser	Leitungswasser
Denitrifikationsreaktor, Masse Festsubstrat	300 g	300 g	300 g	300 g
Denitrifikationsreaktor, spez. Oberfläche Festsubstrat	2,2 m ² /kg	1,2 m ² /kg	0,66 m ² /kg	0,66 m ² /kg
Denitrifikationsreaktor, gesamte Oberfläche Festsubstrat	0,66 m ²	0,35 m ²	0,20 m ²	0,20 m ²

¹ PHB = Polyhydroxybuttersäure (Biopol D400G Natural Monsanto Europe 03/1998)

² PCL = Polycaprolacton (Tone Polymer P767E Union Carbide 11/2000)

³ RK MW = Ratzkugel (BAF-Kugeln ø 10 mm) Meerwasser (Ratz Aqua & Polymer Technik GmbH)

⁴ RK SW = Ratzkugel (BAF-Kugeln ø 10 mm) Süßwasser

4.6 Membran-Denitrifikations-Laborreaktor in der Wasseraufbereitung eines Aquariums (AP2)

4.6.1 Konzeption

Aus den Erfahrungen der voran gegangenen Projekte war zu folgern, dass das Prinzip der Reinigung der Membran mit offenporigen Schaumstoffwürfeln sehr gut funktionierte. Jedoch gab es einige Schwachpunkte, die in diesem Projekt - neben der salzwasserbedingten Umstellung der Materialien - angegangen werden sollten. Dies waren u.a.:

1. Fehlende Möglichkeit der Rückspülung bei den Membranmodulen
2. Probleme mit der Druckfestigkeit des Reaktors, bedingt durch die rechteckige Grundform
3. Bei den Versuchen in den jeweiligen Aquakultur-Standorten: die Dichtigkeit des Deckels, die für die Funktion erforderlich war
4. eine zu geringe aktive Membranoberfläche im Vergleich zu der potentiellen Denitrifikationsleistung des Reaktors

Zu 1.: Da Partner BFM inzwischen neue Membranen verwendet, die rückspülbar sind, konnte dieses Problem gelöst werden. Tatsächlich konnte BFM ein kleines Testmodul mit neuen Membranen zur Verfügung stellen, die allerdings einen Einsatz von Schaumstoffwürfeln zur Reinigung nicht zuließen, da die Abstände zwischen den Membran-Platten geringer waren und keine passenden Schaumstoffwürfel am Markt verfügbar waren. Daher wurde beschlossen, dass bei dem Testreaktor (AP2) zunächst ein Betrieb ohne Schaumstoffwürfel vorgesehen wird, so dass die Reinigung der Membranen nur durch die periodische Rückspülung erfolgt.

Zu 2. Die Form des Reaktors soll nicht mehr rechteckig, sondern zylindrisch sein, da dies - durch die gleichmäßigere Belastung der Behälterwände - eine höhere Druckfestigkeit verspricht. Dadurch kann auch die Wand-Dicke deutlich geringer hergestellt werden.

Zu 3. Der Deckel wurde vor allem deshalb undicht, weil sich der rechteckige Deckel zwar leicht öffnen und schließen ließ, sich jedoch im Laufe der Zeit - vermutlich durch eindringen des Wasser - verzog und die Dichtungen daher an manchen Stellen gasdurchlässig wurden. Das Konzept damals war, dass der Gasraum mit N₂ und CO₂ abgeschlossen war und unter leichtem Überdruck stand, um den Transmembrandruck zu erzeugen. Hauptproblem dabei war, dass sich die Undichtigkeit meistens nicht lokalisieren ließ. Dieses Problem sollte hier so gelöst werden, dass der Transmembrandruck nur noch durch eine nach oben offene Wassersäule aufgebracht wird. Hierbei lassen sich Undichtigkeiten leicht lokalisieren und Gasblasen können ungehindert aufsteigen und aus dem System entweichen. Außerdem kann der Druck im Reaktor nie höher werden, als der Wasserstand im Ausgleichsbehälter vorgibt.

Zu 4. Der Betrieb ohne Schaumstoffwürfel ermöglicht eine dichtere Packung der Membranen und damit mehr Membranoberfläche je Reaktorvolumen. Damit sollte ein höherer Volumenstrom und damit auch eine höhere Denitrifikationsrate ermöglicht werden.

4.6.2 Herstellung des künstlichen Meerwassers

Die Herstellung des künstlichen Meerwassers erfolgte aus Meersalz (Tropic Marin PRO-REEF, s. Abb. 8) und Wasser aus der Reversosmose-Anlage von Aqua Schwarz, wie in Kap. 4.5.1 beschrieben.

4.6.3 Gesamte Wasseraufbereitung der beiden Aquarien (Referenz und mit MDR)

Das Wasser fließt aus dem Aquarium in das Zulaufbecken, von dort über ein Biofilter (Nitrifikation und Grobpartikel-Abtrennung) mit Heizstäben (zur Temperatureinstellung) und Abschäumer in das Klarwasserbecken (s. Abb. 12). Von dort wird es wieder in das Aquarium (Wasservolumen je ca. 500 L) zurückgeleitet.

Um den Verdunstungsverlust auszugleichen, schaltet der Schwimmerschalter bei zu niedrigem Wasserstand die Umkehrosmose-Pumpe ein. Ist der Wasserstand zu hoch, fließt Wasser aus dem Klarwasserbecken in das Abwasser ab.

Bei einem Wasserverlust (z.B. durch Leckagen oder auch durch den Abschäumer) sinkt die Salzkonzentration. In diesem Fall muss dann wieder Salz zugeführt werden. Die einfachste Methode eine konstante Salzkonzentration einzustellen, ist die regelmäßige Messung und Einstellung der Leitfähigkeit, die beim verwendeten Handgerät bereits auf 25 °C umgerechnet ist.

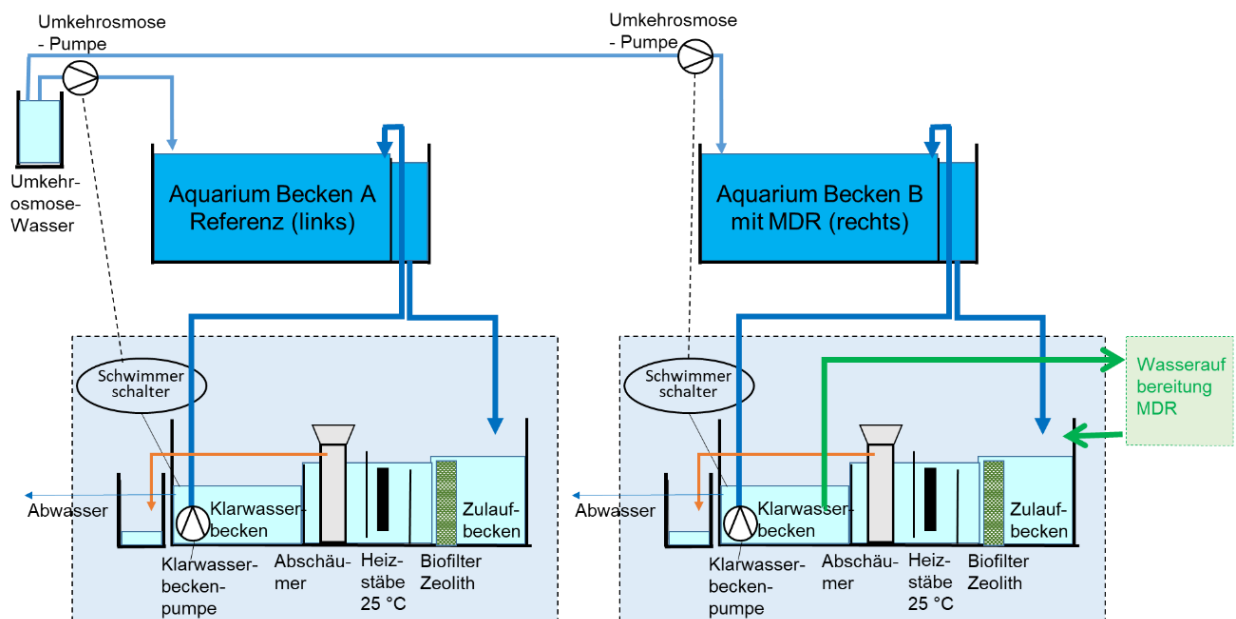


Abb. 12: Schema Übersicht Wasserführung Becken A und B.

Hellblauer Hintergrund: Standard-Wasseraufbereitung (Nitrifikation, Abschäumer = „Technikbecken“). Hellgrüner Hintergrund: Wasseraufbereitung MDR, Blaue Linien: Wasserlauf. Gestrichelte Linien: Steuerung+Regelung. Andere Blau-Töne symbolisieren Wasser.



Abb. 13: Links: Membranmodul (BFM); Rechts: Membranmodul nach Einbau in Laborreaktor (Abmessungen s. Tab. 4, bzw. Tab. 5)

4.6.4 Membranmodul für Membran-Deni-Laborreaktor (MDR)

Für den Labor-Reaktor wurde von BFM ein kleines Membranmodul zur Verfügung gestellt. Abb. 13 zeigt dieses Membranmodul vor und nach dem Einbau in den Laborreaktor.

Die wichtigsten Eigenschaften sind in Tab. 4 zusammengestellt.

Tab. 4: Kennwerte Membranmodul für Laborreaktor

Parameter	MDR
Membranmodul, Breite	0,13 m
Membranmodul, Länge	0,125 m
Membranmodul, Höhe	0,225 m
Membranmaterial	Polyvinylidenfluorid (PVDF)
Aktive Membranoberfläche A_m	0,34 m ²
Porenweite, ca.	40 nm

4.6.5 Membran-Deni-Laborreaktor (MDR)

Die Maße des Reaktors wurden an das Membranmodul angepasst, so dass ausreichend Raum für die Überströmung der Membran und die Rückströmung des Wassers an den Außenwänden des Moduls gewährleistet war. Dadurch ergaben sich die Kennwerte (Tab. 5).

Im Verlauf des Versuchs stellte sich heraus, dass trotz der Rückspülungen der Membran eine Leistungsminderung auftrat. Daher wurden auch Versuche gemacht mit Kunststoffgranulaten eine Oberflächenreinigung der Membranen zu unterstützen. Hierzu wurde ein biologisch abbaubares Festsubstrat eingesetzt (PCL TONE Polymer P767E-Granulat, Fa. Union Carbide, Antwerpen, Belgien, hergestellt 1999 mit $\varnothing$ ca. 4 mm, Dichte: $\sim 1,14$ kg/L).

Tab. 5: Kennwerte Membran-Deni-Laborreaktor

Parameter	Maß
Denitrifikationsreaktor, Durchmesser innen	0,24 m
Denitrifikationsreaktor, Höhe innen	0,37 m
Innenvolumen, Reaktor, ohne Einbauten	16,8 L
Wasservolumen, Reaktor, mit Einbauten (empirisch ermittelt)	14,8 L
Durchmesser Steigrohr (innen)	0,035 m
Höhe Steigrohr bei Start des Versuchs (innen)	1,086 m
Durchmesser Ausgleichsbehälter innen	0,192 m
Höhe Ausgleichsbehälter innen	0,192 m
Max. Gesamtwasserhöhe über Drucksensor p1 (s. Abb. 19)	1,278 m
Max. Druck über Drucksensor p1 bei Start	125 mbar
...nach Verlängerung des Steigrohrs	195 mbar

Nach vielen intensiven Planungsbesprechungen, in denen verschiedene Umsetzungsmöglichkeiten diskutiert wurden, wurde der Reaktor gebaut (Aqua Schwarz). Die Maße und Bezeichnungen der Reaktorteile können Abb. 14 und Abb. 15 entnommen werden.

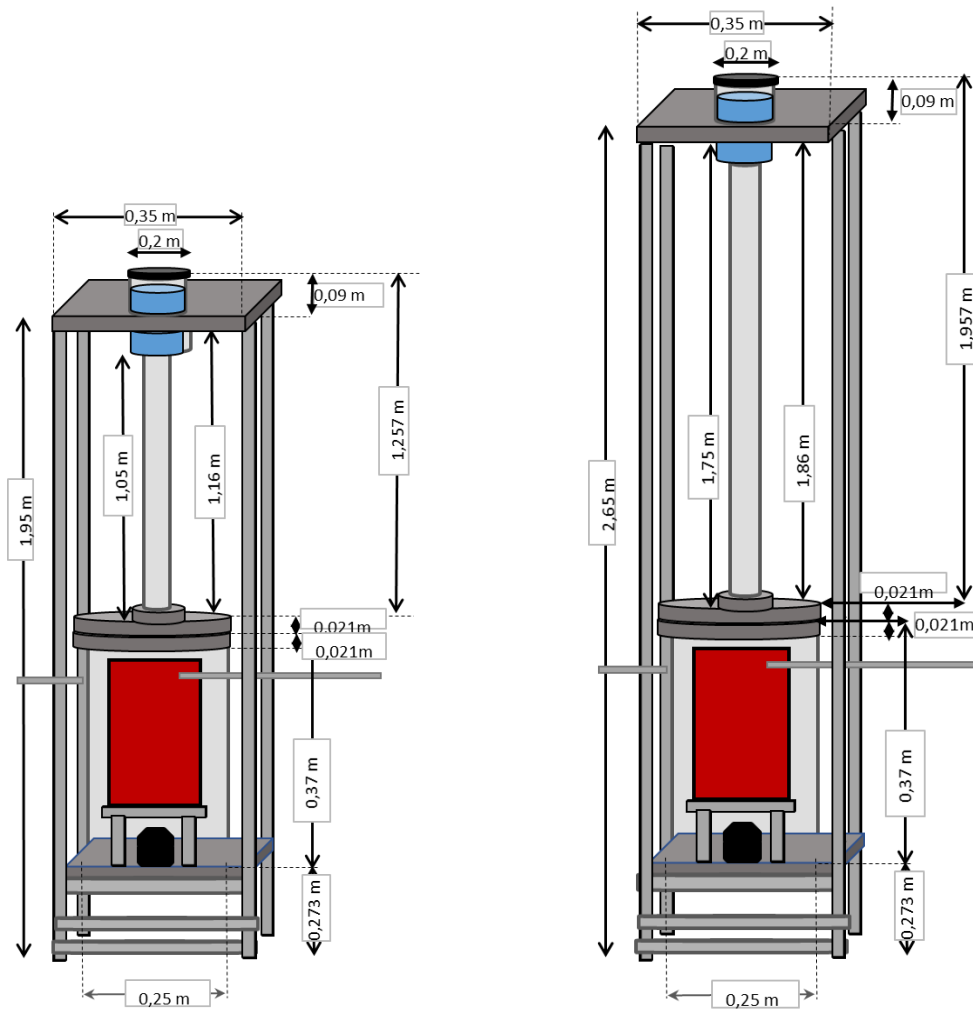


Abb. 14: Skizze und Maße des MDR (nicht maßstäblich),

Li: bei Start Re: nach Erhöhung des Steigrohrs am Tag 91

Die Länge des Steigrohrs (s. Abb. 15) bestimmt die Höhe des Ausgleichsbehälters und damit den Transmembrandruck (TMP).

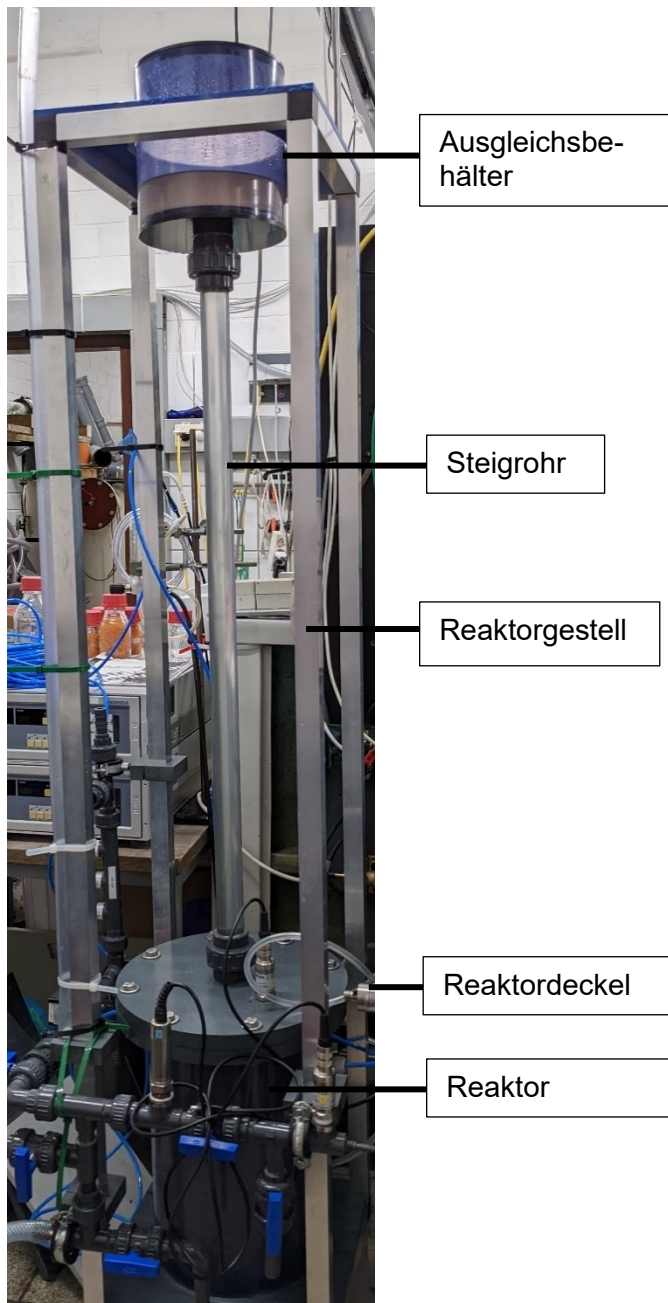


Abb. 15: Realisierung MDR-Laborreaktor - hier bei den ersten Tests im Labor von ISWA

Zur Erfassung der Messwerte und der Realisierung der Rückspülung wurden PVC-Rohre, Kugelhähne, Drucksensoren, ein Magnetventil, Rückschlagventile und ein Überströmventil im Ablauf des Reaktors eingesetzt (s. Abb. 16). Dazu wurde der Reaktor zum ISWA transportiert um die Zulauf- und Ablauf-Konstruktionen zu realisieren und erste Funktionstests durchzuführen.

Zu Abb. 16: Hahn 1, 4 und 6 sind bei Normalbetrieb geschlossen, während Hahn 2, 3 und 5 offen sein müssen. Der rot umrandete Bereich wurde senkrecht am Reaktorgestell befestigt, die anderen Bereiche waagerecht. Später wurde dieser Bereich auch waagerecht betrieben um den Transmembran-Druck zu erhöhen.

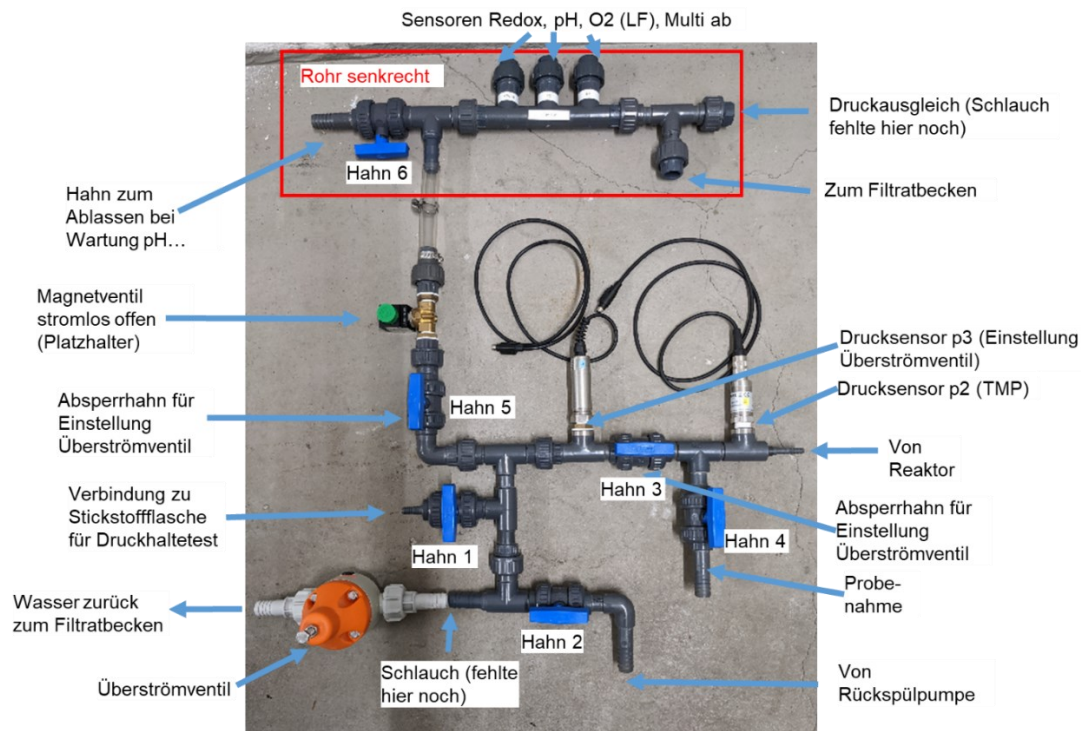


Abb. 16: Realisierung Ablauf Reaktor - Verrohrung und Kugelhähne. Zur Funktion der Aktoren s. Tab. 6, Tab. 9 und Abb. 19

Dabei werden Deni-Pumpe (Zulaufpumpe), Dosierpumpe (mit dem Magnetventil MV2) und Rückspülpumpe (s. Abb. 17, Abb. 18), sowie das Magnetventil MV1 über eine vom PC geschaltete Relaisbox ein- und ausgeschaltet.

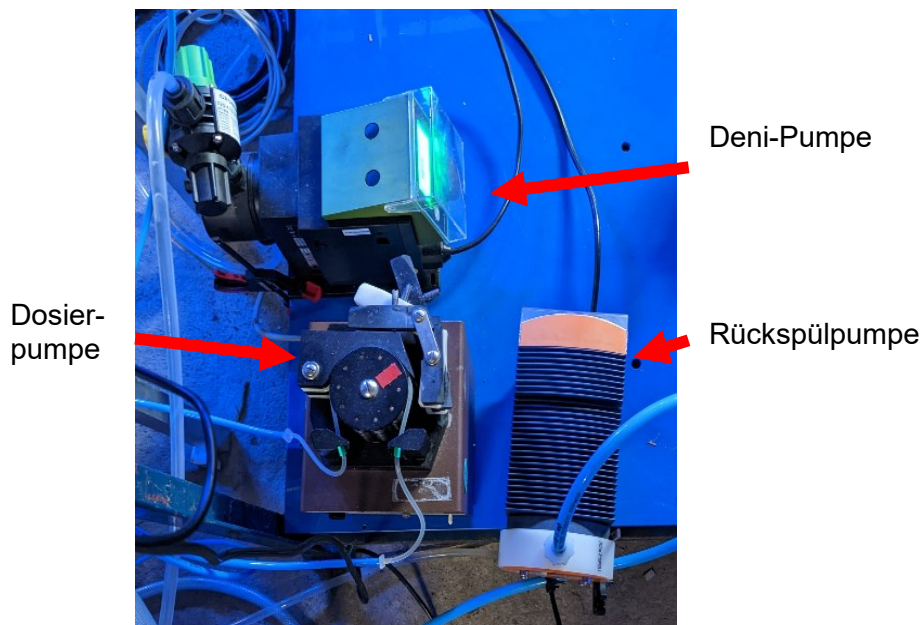


Abb. 17: Deni-Pumpe (Zulaufpumpe), Dosierpumpe und Rückspülpumpe, s. Tab. 9



Abb. 18: Deni-Pumpe (Grundfos DDA, s. Tab. 9)

4.6.6 Wasseraufbereitung Anlage mit Membran-Denireaktor MDR (Anlage B)

Die Wasserführung und die hier verwendeten Bezeichnungen gehen aus Abb. 19 hervor. Aus dem Klarwasserbecken (Wasseraufbereitung des Aquariums, s. **Abb. 12**) wird mit der Deni-Pumpe (s. Abb. 18) Wasser in den Ausgleichsbehälter des MDR geleitet. Von hier aus fließt es in den Reaktor, Nitrat wird reduziert und das Wasser durch die Membran von Partikeln befreit und in das Filtratbecken geleitet, von dem es zurück in das Zulaufbecken strömt.

4.6.7 Messgeräte für die Online-Messdatenerfassung

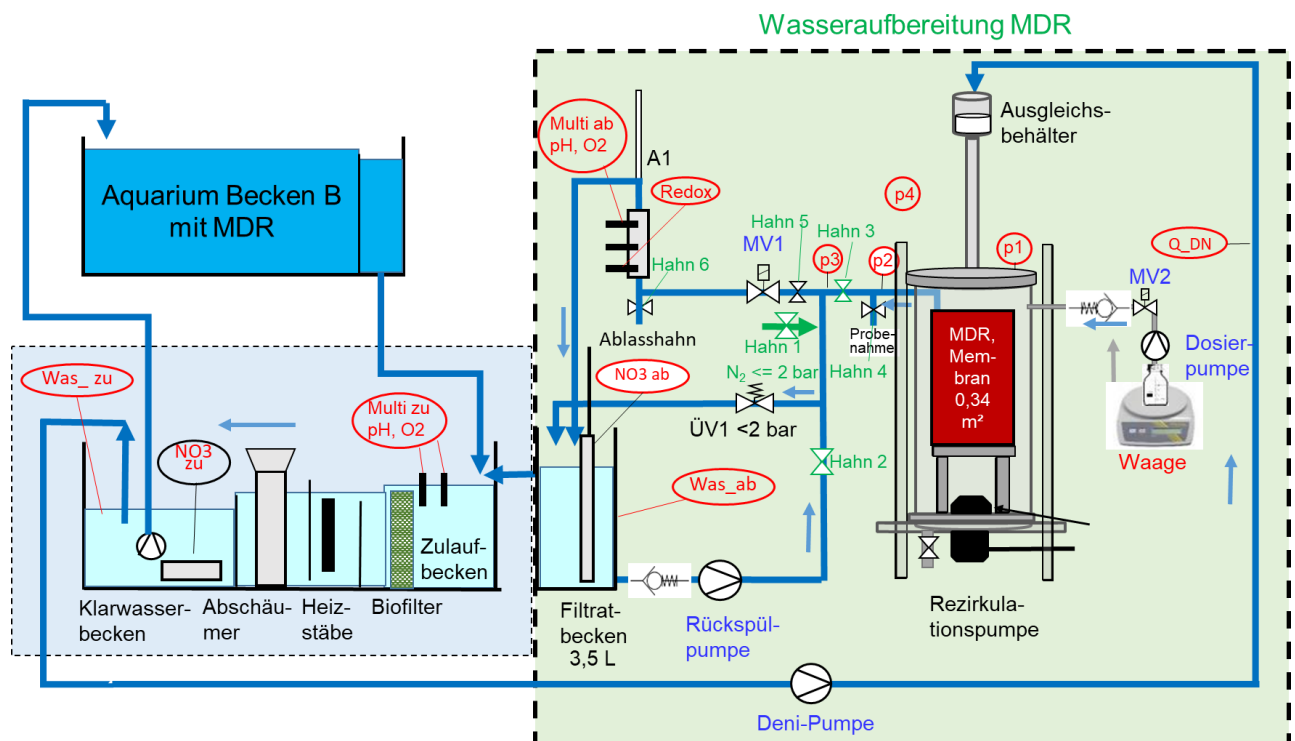


Abb. 19: Schema Wasserführung Becken B mit MDR, s. Tab. 6

Hellblauer Hintergrund: Standard-Wasseraufbereitung (Nitrifikation, Abschäumer = Technikbecken)
 Hellgrüner Hintergrund: Wasseraufbereitung MDR. **Blauer Text:** über PC geschaltete Geräte. **Roter Text:** Sensoren zur Messwerterfassung. **Grüner Text:** für Druckhaltetest. **Blaue Linien:** Wasserlauf.

Tab. 6 gibt eine Übersicht der Messgeräte, die über Schnittstellen mit dem Laptop verbunden waren. Die Messwerte dieser Geräte wurden kontinuierlich per PC erfasst und gespeichert.

Tab. 6: Messgeräte (Kurzbezeichnungen s. Abb. 19)

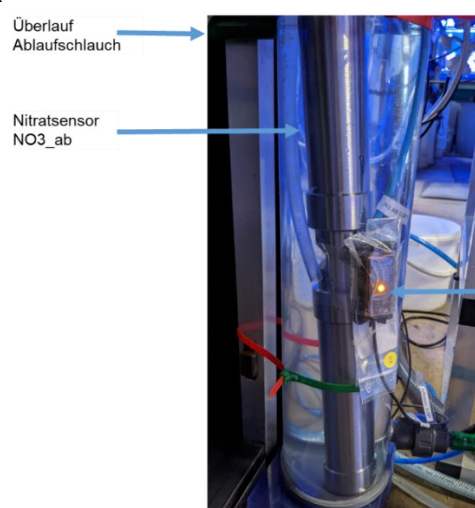
Kurzbezeichnung	Funktion	Typ (Hersteller) / Messprinzip
NO ₃ zu	Nitratmessung im Zulauf zum MDR	Nitratax (HACH, früher Dr. Lange) / spektrometrisch
NO ₃ ab	Nitratmessung im Ablauf vom MDR (Filtratbecken)	Spectrolyser (S::CAN) / spektrometrisch
Q_DN	Durchflussmessung Zulauf Reaktor	Flex-FIN 006 (Greisinger) / Kalorimetrisch
Waage	Messung der real dosierten Menge Ethanol, 50 g/kg	440-47N (Kern) max. 2 kg / Dehnmessstreifen, Autotracking off.
p1	Messung Druck im Deckel → TMP und Wasserstand im Ausgleichsbehälter	MSD 400 MRE (Greisinger) / (0 - 400) mbar relativ an GMH3156 (Greisinger)
p2	Messung Druck im Ablauf Reaktor, → TMP	MSD 400 MRE (Greisinger) / (0 - 400) mbar relativ an GMH3156
p3	Messung Druck Ablauf	MSD 7 BAE (Greisinger) (0 - 7 bar) absolut an GMH3156
p4	Messung Luftdruck (außen)	MSD 2,5 BAE (Greisinger) (0 - 2,5 bar) absolut an GMH3156
Was_Zu	Detektion Trockenlauf Deni-Pumpe (Zulauf)	KQ6001 (IFM) / Kapazitiv an VC820 (Multimeter, Voltcraft, Conrad Electronic SE, Hirschau)
Was_Ab	Detektion Überlauf (Filtratbecken)	KQ6001 (IFM) / Kapazitiv an VC820 (Voltcraft)
Multi zu pH	Messung pH im Zulauf Reaktor	Sentix41 (WTW, heute Xylem) mit Temperatursensor / Glaselektrode an Multiline P4 (WTW)
Multi zu O ₂	Messung O ₂ im Zulauf Reaktor	CellOx 325 (WTW) mit Temperatursensor / Galvanisch an Multiline P4 (WTW)
Multi ab pH	Messung pH im Ablauf Reaktor	Sentix41 (WTW) mit Temperatursensor / Glaselektrode an Multiline P4 (WTW)
Multi ab O ₂	Messung O ₂ im Ablauf Reaktor	CellOx 325 (WTW) mit Temperatursensor / Galvanisch an Multiline P4 (WTW)
Redox ¹	Messung ORP im Ablauf Reaktor	GR105 (Greisinger) / Potenzial an GMH3511 (Greisinger)

Die Messgeräte für die Online-Messungen werden in Abb. 20 gezeigt. Die transparenten Plastikabdeckungen schützen vor Spritzwasser

¹ Anmerkung: Nach DIN 38404 T.6 wird die Redoxspannung wie folgt berechnet: $U_H = U_G + U_B$ mit U_H = Redoxspannung, U_G = Gemessene Spannung = ORP, U_B = Standardspannung der Bezugselektrode („Referenzelektrode“), hier $U_B = 207 \text{ mV}$ bei 25°C (Ag/AgCl KCl 3 mol/L). Die „Redoxspannung“ berechnet sich daraus zu: $U_H = \text{ORP} + 207 \text{ mV}$ (bei 25°C). Da jedoch üblicherweise ORP gemessen und angegeben wird, soll das auch hier so erfolgen. („DIN 38404 T. 6 Bestimmung der Redox-Spannung (C6),“ 1984)

Multiline P4 Zulauf
O₂, pHMultiline P4 Ablauf
O₂, pHGMH 5500 Re-
doxpotential-ORP

Waage für Dosierlösung

GMH
3155/3156
Relativdruck
p1 Deckel
p2 FiltratleitungGMH
3155/3156
Absolutdruck
p3 Filtratleitung
p4 AußendruckVC820 Multi-
meter
Q_DN (mA)VC820 Multime-
ter „Was zu“ (V)VC820 Multimeter
„Was ab“ (V)Nitratsonde Zulauf (an Control-
ler sc100) und Wassersensor
(„Was_zu“ mit gelber LED)

Filtratbecken mit Nitratsensor Ablauf (S::CAN Spectrolyser), Anschluss zur Rückspülpumpe Nitratsonde und Wassersensor („Was_ab“ mit gelber LED)

Abb. 20: Messgeräte für online-Messungen

Um die Messwerte der Nitratsonde im Filtratbecken (Ablauf Reaktor) zu erfassen, muss die Software Ana::Pro der Firma S::CAN aktiv sein.

4.6.8 Abgeleitete Werte aus den Messwerten über Formeln

Die Formeln werden in der Software aus den jeweils aktuellen Messwerten berechnet, in der Messwert-Tabelle ausgegeben und z.B. für die Regelung verwendet. Die Variablen- und Formel-Definitionen sind in Tab. 7 und Tab. 8 aufgelistet.

Tab. 7: Definitionen der Variablen

Variablen	Zuordnung Messwert (Multimesst)	Messwert Definition	Dim
X0	VC840 Q_DN Wert	Zulauf-Volumenstrom (VC840, wie VC820: Multimeter zur Ermittlung des Wertes)	L/h
X1	p1-p2 TMP mbar	p1: Reaktor Deckel, p2: Ablauf MDR	mbar
X2	p1 TMP mbar	Druck Reaktor Deckel	mbar
X4	NO3-N Zu mg/L	Nitrat-Konz. Zulauf	mg/L
X5	O2 Zu mg/L	Sauerstoff-Konz. Zulauf	mg/L

Tab. 8: Verwendete Gleichungen („Formeln“)

Gleichung Nr	Gleichung („Formel“ in Multimesst)	Definition - Erläuterung
1	TMP in mbar = X1	TMP in mbar = p1 – p2 TMP mbar
2	Flux = X0 / 0.34	Flux in L/(m ² *h) = Q_DN / A _m = Q_DN/0,34 (A _m = 0,34 m ² Membranoberfläche)
3	Perm (L/(m ² h bar)) = 1000 * X0 / (0.34 * X1)	Permeabilität J _p in L/(m ² *h*bar) = 1000 * Q_DN / [A _m * (p1 – p2)]
4	Wasserst (cm) = X2 / 0.978	Wasserstand im Ausgleichsbehälter in cm = p1 / 0.978
5	N+O-Fracht (g/h) = X0 * (X4 + 0.46 * X5) / 1000	Nitrat+O ₂ -Fracht in g/h (s. Gl. (17), Gl. (19) = Q_DN · (NO3-N_Zu + 0.46 * O2_Zu) / 1000

4.6.9 Weitere Geräte

„Aktoren sind in der Mess-, Steuerungs- und Regelungstechnik signalwandlerbezogen das Gegenstück zu Sensoren und bilden die Stellglieder in einem Regelkreis. Sie setzen bei einem Regelungsvorgang die Signale in Wirkungen – durch mechanische Arbeit bei Bewegungsregelung – um, mit denen die Regelgröße beeinflusst wird.“ (Wikipedia, <https://de.wikipedia.org/wiki/Aktor>)

Hier sollen unter dem Begriff „Aktoren“ vereinfachend alle Geräte zusammengefasst werden, die von PC und Software im kontinuierlichen Betrieb sequenziell, Ereignis- oder Messwert-abhängig umgeschaltet werden (s. Tab. 9).

Tab. 9: Aktoren (Bezeichnungen s. Abb. 19)

Kurzbezeichnung	Funktion	Typ (Hersteller) / Funktionsprinzip
Deni-Pumpe	Zulauf Reaktor (Aktor, Relais 1)	DDA (Grundfoss) / Membrandosierpumpe
Dosierpumpe	Dosierung von Ethanol, 50 g/kg (Aktor, Relais 4)	Minipuls 2 (Gilson) / Schlauch-Dosierpumpe
Rückspülpumpe	Rückspülung der Membran (Aktor, Relais 3)	Gala (Prominent) / Membrandosierpumpe
MV1	Magnetventil stromlos offen, schließt bei Rückspülung (Aktor, Relais 2)	131 B (Bürkert) / Kipphebelventil direktwirkend
MV2	Magnetventil an Dosierung zur Verhinderung des Rücklaufs von Wasser aus dem Reaktor in die Dosierlösung (Aktor, Relais 4)	MV 1315 (Riegler) / direktgesteuert

Weitere Geräte wurden kontinuierlich betrieben (s. Tab. 10)

Tab. 10: Weitere Geräte (Bezeichnungen s. Abb. 19)

Kurzbezeichnung	Funktion	Typ (Hersteller) / Funktionsprinzip
Rezirkulationspumpe	Crossflow Strömung an der Membran	VorTech MP10 QD (Ecotech Marine) / Kreislumpumpe
ÜV1	Überströmventil (öffnet bei Druck > 2 bar) → Schutz vor Überdruck auf Membran bei Rückspülung	DHV-RM (Prominent) / Membran mit Feder

4.6.10 Betriebsarten Filtration, Rückspülung und Relax

Filtrations-, Rückspül- und Relax-Modus werden kontinuierlich wiederholt. Die Sequenz beim Start des Versuchs sah dabei (nach Empfehlung von Partner BFM) wie folgt aus (s. Tab. 11).

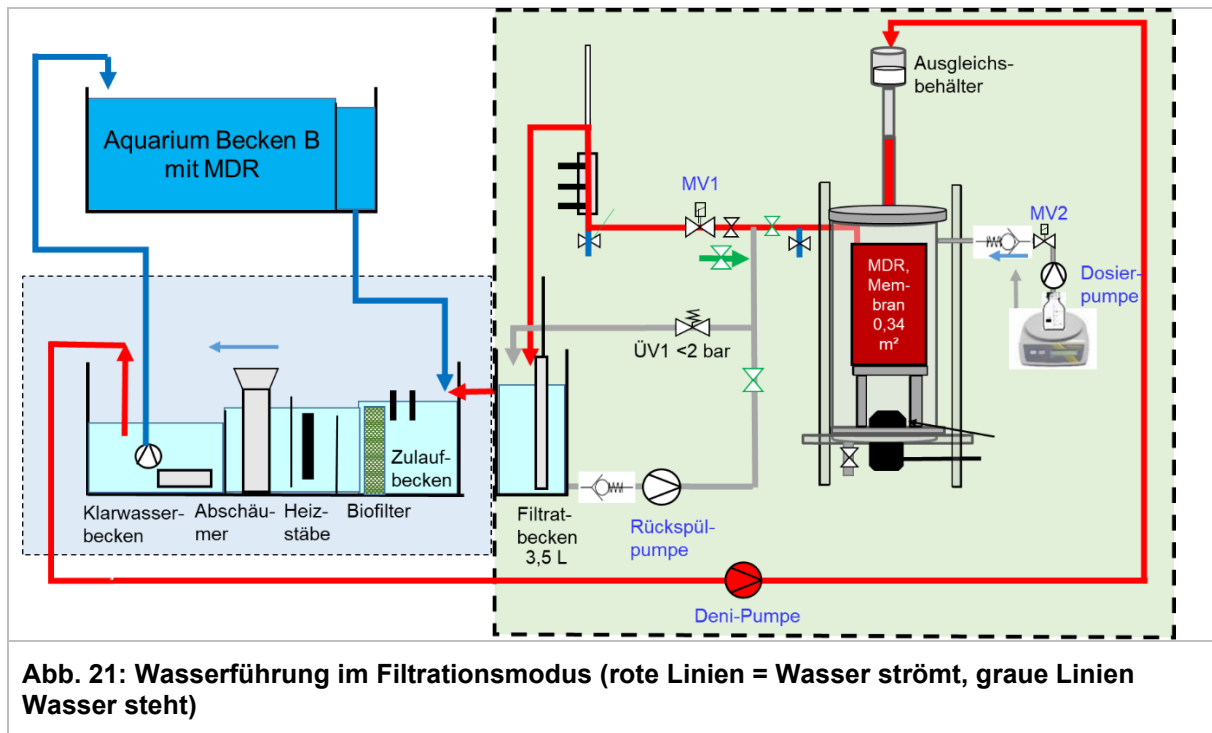
Tab. 11: Sequenz für Schaltung der Aktoren (Relais)

Dauer	Relais →	Relais 1	Relais 2	Relais 3	Relais 4
	Gerät → Modus ↓	Deni-Pumpe (MDR)	MV1 (normal offen)	Rückspülpumpe	Dosierpumpe (Ethanol 0,05 g/g)
4,5 min (270 s)	Filtration	EIN*	AUS (offen)*	AUS*	EIN*
15 s	Rückspülung	EIN*	EIN (zu)*	EIN*	EIN*
15 s	Relax	EIN*	EIN (zu)*	AUS*	EIN*

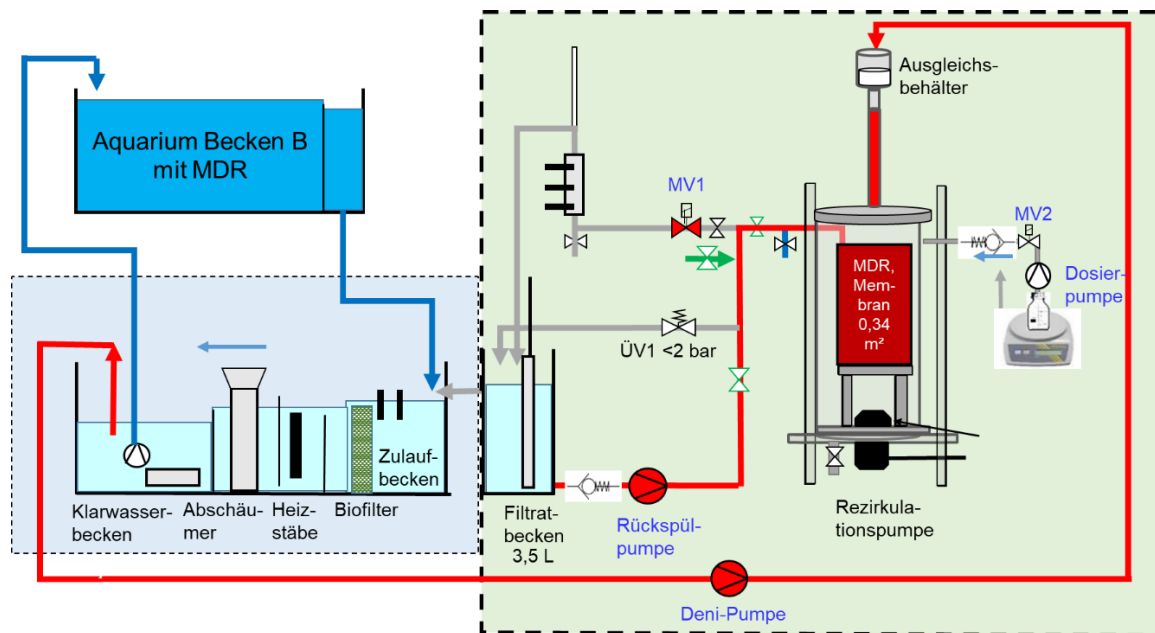
* Die Relaisstellungen werden zusätzlich von der Regelung beeinflusst.

4.6.11 Filtrationsmodus

Im Filtrationsmodus wird das Filtrat über das (hier offene) Magnetventil MV1 und über eine Messstrecke zur Messung von pH, O₂, Temperatur und ORP in das Filtratbecken geführt. Von dort fließt es im freien Überlauf zurück in das Zulaufbecken (s. Abb. 21).



4.6.12 Rückspülmodus



Im Rückspülmodus wird Wasser aus dem Filtratbecken mithilfe der Rückspülpumpe (s. Abb. 17) von der Filtrat-Seite in die Membran gedrückt, wobei das Wasser im Ausgleichsbehälter nach oben steigt (s. Abb. 22). Dabei ist das Membranventil MV1 geschlossen, da sonst das Wasser über die Messstrecke abfließen würde. Zur Schonung der Membran muss der Rückspüldruck begrenzt werden. Dazu wird ein Überströmventil (ÜV1) im Bypass zur Rückspülpumpe angebracht, das auf ca. 1,6 bar bis 1,8 bar eingestellt ist.

4.6.13 Relaxmodus

Danach folgt der Relax-Modus, bei dem die von der Membran abgelösten Partikel mit der Rezirkulationspumpe abtransportiert werden sollen (s. Abb. 23). Hier ist die Rückspülpumpe ausgeschaltet.

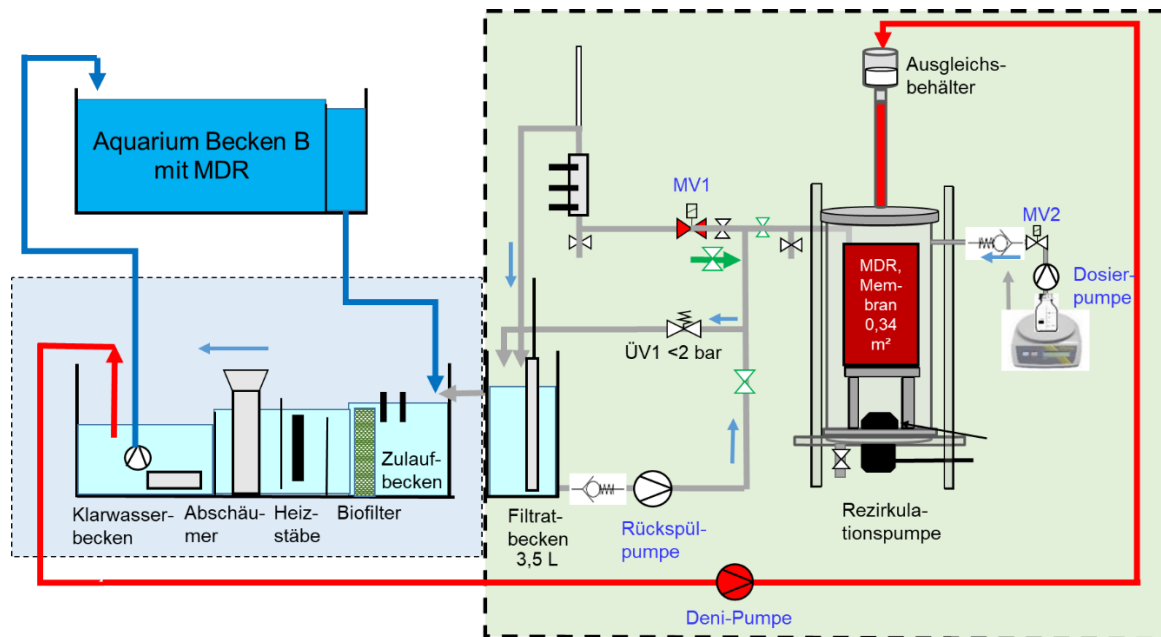


Abb. 23: Wasserführung im Relaxmodus (rote Linien = Wasser strömt, graue Linien Wasser steht)

4.6.14 Einstellungen der Regelungsparameter

Die Pumpen und Magnetventile werden in verschiedenen Regelkreisen (RK) vom PC über Relaisboxen ein- und ausgeschaltet. Hierbei werden folgende Randbedingungen definiert:

RK 1: Deni-Pumpe Ausgleichsbehälter. Ziel: Deni-Pumpe wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Ausgleichsbehälter größer als 122 cm ist

RK 2: Deni-Pumpe Klarwasserbecken. Ziel: Deni-Pumpe wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Klarwasserbecken zu niedrig ist

RK 3: MV1 Rückspülung. Ziel: Magnetventil 1(Rückspülung) wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Ausgleichsbehälter größer als 124 cm ist

RK 4: Rückspülpumpe. Ziel: Rückspülung wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Ausgleichsbehälter größer als 124 cm ist

RK 5: Rückspülpumpe Filtratbecken. Ziel: Rückspülpumpe wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Filtratbecken zu niedrig ist

RK 6: Dosierpumpe+MV2. Ziel: Einstellung Dosierpumpe (an/aus Sequenz) in Abhängigkeit von der Nitrat- und O₂- Fracht im Zulauf

4.6.15 Alarm-Einstellungen

Bestimmte Parameter sollten überwacht werden, um negative Auswirkungen auf Fische und Versuchsanlage zu vermeiden. So erscheint eine rote Alarm-Schaltfläche, wenn der Wert des betreffenden Parameters außerhalb des normalen Bereich ist. Diese Einstellungen sind unabhängig von Sequenzen und Regelungseinstellungen. Hier wurden z.B. der Wasserstand im Ausgleichsbehälter und die Temperatur im Technikbecken des Aquariums überwacht.

4.6.16 Bestimmung Gesamtkeimzahl, DNA und Cortisol im Wasser und in Biofilmen

Die Gesamtkeimzahl im Wasser sowie in Biofilmen in den Haltungs- und Filterbecken wurde bestimmt. Die Probenahme erfolgte an Tag 1, 15, 30, 52, 64, 79, 92, 105 und 122 Tage nach Start des MDRs. Zusätzlich wurde pro Entnahmezeitpunkt eine Wasserprobe aus dem Filtrat des Reaktors entnommen. Die Tupferproben wurden per sterilem Tupfer (Heinz

Herenz Medizinalbedarf GmbH, Hamburg) entnommen, in ein Reagenzgefäß mit RNA-Later gegeben und bei -80 °C (ultra-low temperature freezer, MDF-U73V, SANYO, Landgraf Laborsysteme, Langenhagen, Deutschland) eingefroren. Die entnommenen Wasserproben wurden bei -20 °C (beko MinFROST®, Beko, Deutschland) bis zur weiteren Bearbeitung eingefroren. Anschließend folgte die Bearbeitung und Analyse der Proben mittels nachfolgend beschriebener Protokolle durch Extraktion der DNA mittels kommerziell erhältlichen Testkit (QIAamp® DNA Mini-Kit, Qiagen, Hilden) und anschließender Quantifizierung der Gesamtkeimzahl mittels Real Time PCR. Die Bestimmung der Cortisol Konzentration erfolgte aus den Wasserproben einen Tag vor Anschluss sowie 27 Tage und 69 Tage nach Anschluss des MDRs. Wasserproben sowie Tupferproben aus den 3 Einzelbecken von System A und System B wurden einen Tag vor Start des MDRs, sowie 27 und 69 Tage nach Start des MDR ebenfalls zur weiteren Bearbeitung mittels Next Generation Sequenzierung durch Novogene (UK) Company Limited (Cambridge, United Kingdom) entnommen.

4.6.16.1 DNA-Extraktion

Für die Extraktion der DNA aus den Tupfer- und Wasserproben wurde ein kommerziell erhältliches Testkit (QIAamp® DNA Mini-Kit, Qiagen, Hilden) verwendet. Alle dafür vorgesehenen Lösungen wurden nach Herstellerangaben vorbereitet. Alle Bearbeitungsschritte sowie die Zentrifugation (HERAEUS PICO 21 Centrifuge, Thermo Scientific) erfolgten bei Raumtemperatur. Bei jeder Extraktion wurde zur Detektion von Kreuzkontaminationen eine Negativkontrolle mitgeführt. Nach der Zugabe einzelner Lösungen wurde die zu isolierende Probe immer durch Vortexen gemischt und kurz abzentrifugiert, um Probenbestandteile von den Rändern der Reaktionsgefäße wieder zu entfernen. Die resultierende DNA im Eluat wurde anschließend bei -20°C bis zur weiteren Bearbeitung gelagert.

4.6.16.1.1 Vorbereitung DNA-Isolation Tupferproben

Der Watteanteil der Tupferproben wurde nach dem Auftauen der Tupfer von dem Holzstiel mittels sterilen Skalpell (STERIL SURGICAL BLADES, CARBON STEEL, SMI AG Steinerberg, BEGLIUM) getrennt und in ein entsprechendes steriles 2 ml Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurde mit nachfolgendem Protokoll verfahren.

4.6.16.1.2 Vorbereitung DNA-Isolation Wasserproben

Die Wasserproben wurden nach dem Auftauen durch Schütteln homogenisiert. Mithilfe von sterilen 20 ml Einmalspritzen (HENKE-JECT®, HENKE, SASS, WOLF, Tuttlingen) und darauf aufgesetzten Druckfiltrationshaltern (Halter für Vakuumfilter, PC, 25 mm, Sartorius) mit manuell eingesetzten Membranfilter (NC 45, Membrane Filters, Cellulose nitrate, Cytiva, Whatman), wurden aus jeder Wasserprobe möglichst 100 ml filtriert. Der entnommene Membranfilter mit gefiltertem Material wurde sorgfältig in ein entsprechendes steriles 2 ml Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurde mit nachfolgendem Protokoll verfahren. Die verwendeten Druckfiltrationshalter wurden nach Gebrauch autoklaviert.

4.6.16.1.3 DNA-Extraktion von Bakterien aus den Proben

Jede aufgetaute Tupfer- und Wasserprobe wurde einem sterilen 2 ml Rotilabo®- Sicherheitsreaktionsgefäß (Rotilabo®-Sicherheitsreaktionsgefäß, 2 ml, Carl Roth GmbH + Co KG, Karlsruhe) zugeordnet und mit einer sterilen Stahlkugel versehen. Zu jedem Reaktionsgefäß wurden 180 µl Lysozym (20 mg/ml) pipettiert. Anschließend wurden die Proben mit dem TissueLyser (TissueLyser 2, QIAGEN, Retsch) bei 20 Hz für 2 min homogenisiert. Im nächsten Schritt wurden die Proben für 30 Minuten bei 37°C im Thermoschüttler (HLC BioTech, 37120 Bovenden, Deutschland) inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden den Proben in einzelnen Schritten 200 µL Buffer AL und 20 µL Proteinase K hinzugefügt. Nach kurzem Vortexen wurden die Proben für 30 min bei 56 °C ein weiteres Mal im Thermoschüttler inkubiert. Darauf folgte ein weiterer Inkubationsschritt von 15 min bei 95 °C. Nach der Inkubation und kurzer Zentrifugation wurden jeweils 200 µL Ethanol (99%) in die Reaktionsgefäße pipettiert. Nach Vortexen und kurzer Zentrifugation wurde das gut vermengte Gemisch vollständig in QIAamp Spinsäule überführt und für 2 min bei 12 000 rpm zentrifugiert. Die QIAamp Spinsäule wurde in ein neues 2,0 ml Reaktionsgefäß überführt und das entstandene Filtrat wurde verworfen. Anschließend wurden die Säulen für 2 min mit 500 µl Puffer AW1 bei

12 000 rpm gewaschen, in ein neues 2,0 ml Reaktionsgefäß überführt und erneut für 2 min mit Puffer AW1 bei 12 000 rpm gewaschen. Das Filtrat beider Waschschriffe wurde verworfen. Um die Restflüssigkeit aus der Säule zu entfernen, wurde die QIAamp Spinsäule ohne Zugabe ein weiteres Mal gewaschen und das restliche Filtrat verworfen. Als nächstes wurde die Säule auf ein steriles 1,5 mL Quali-Mikrozentrifugationsgefäße (Quali-Mikrozentrifugationsgefäße, 1,5 ml, Kisker Biotech GmbH) gegeben und jeweils 150 µL Reinstwasser in die Säule überführt und für 2 min bei 12 000 rpm zentrifugiert. Das gewonnene Eluat wurde dann im nachfolgenden Schritt vorsichtig in sterile 0,2 ml Quali-PCR-Tubes (Quali-PCR-Tubes, 0,2 ml, Kisker Biotech GmbH & Co. KG) umgefüllt. Im anschließenden Schritt wurde die DNA-Konzentration der Proben mit dem Nanodrop® Spectrophotometer ND-1000 (Nano-Drop ND-1000 Lab, peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Germany) gemessen. Bis zur weiteren Bearbeitung wurden die Proben bei -20°C eingefroren.

4.6.16.2 Quantifizierung der Gesamtkeimzahl mittels quantitativer Real Time PCR (qPCR)

16S rRNA-codierende Nukleotid-Sequenzen wurden aus einer Datenbank entnommen und dienten als Grundlage für die Entwicklung spezifischer Primer. Mit diesen Primern konnten Fragmente des 16S rRNA-Gens amplifiziert werden. Diese decken eine breite Palette von Bakterien ab (Adamek et al., 2013). Das 16S rRNA-Gen ist das am häufigsten verwendete Gen zur Klassifizierung von Bakterien. Diese Primer wurden in einer Real-Time-PCR eingesetzt. Für die PCR wurde folgender Reaktionsansatz verwendet.

Reaktionsansatz quantitative RT-PCR:

Maxima SYBR Green qPCR	5 µL
Primer F	0,2 µL
Primer R	0,2 µL
nukleasefreies Wasser	1,6 µL
ROX Solution	0,05 µL
Probe	3 µl
Endvolumen	10 µl

Temperaturprofil quantitative RT-PCR

10 min bei 95°C	Denaturierungsphase
40 Zyklen mit:	
30 sec 95°C	Denaturierung
30 sec 55°C	Annealing
30 sec 72°C	Elongation

Als Standard wurden Verdünnungsreihen von 10^7 bis 10^1 Bakterien erstellt. Die RT-PCR wurde in zweifacher Ausführung unter Verwendung von Maxima SYBR Green 2x Mastermix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) auf dem dem StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) durchgeführt. Die Reaktionsmischung enthielt 1 x 7µl Maxima SYBR Green Mastermix (5 µl Maxima SYBR Green qPCR, 0,2 µl Primer F, 0,2 µl Primer R, 1,6 µl nukleasefreies Wasser, 0,05 µl ROX-Solution) und 3,0 µL DNA, sodass ein Reaktionsgemisch aus 10 µl bestand. Das Amplifikationsprogramm enthielt zunächst eine Denaturierungsphase von 10 Minuten bei 95°C gefolgt von 40 identischen Zyklen mit Denaturierung für 30 Sekunden bei 95°C, Annealing bei 55°C für 30 Sekunden und Elongation bei 72°C für 30 Sekunden. Zur Detektion der Gesamtkeimzahl und *Vibrio* spp. wurden folgende Primer-Sequenzen verwendet:

unBact_16s_qF1	mit der Sequenz	5' - AGGATTAGATACCCTGGAGTCCA
unBact_16s_qR1	mit der Sequenz	5' - CATGCTCCACCGCTTGTGC

Die Messungen wurden gegen die DNA-Konzentration der Proben normalisiert.

4.7 Membran-Denitrifikations-Laborreaktor: Weiterbetrieb in der TiHo (AP2)

4.7.1 Aufbau des Reaktors und Fischbesatz

Um die Funktion des Membran-Denitrifikations-Laborreaktors zu verifizieren, wurde der Reaktor an der Tierärztlichen Hochschule Hannover erneut aufgebaut. Das Haltungssystem wurde inklusive Filtermaterial und Aquarienheizer aus Göttingen übernommen. Der MDR wurde wie in Göttingen installiert (s. Abb. 24).



Abb. 24: In Betrieb genommener MDR in Hannover inklusive technische Apparatur und Messseinheiten

Bei der Technik gab es keine Veränderungen und alle Messgeräte und Pumpen wurden in dem System erneut installiert und gleichermaßen betrieben. Auch in Hannover wurde das Wasser aus dem Klarwasserbecken des Filters dem MDR zugeführt.

Ergänzend wurden je System (System A, System B – mit MDR) jeweils 3 Einzelbecken á 61 L Wasservolumen verbunden und installiert (s. Abb. 25, Abb. 26). Jedes Einzelbecken wurde durch eine Pumpe (Eheim, universal 300) aus dem Haltungsbecken mit Wasser versorgt. Die Pumpe sorgte für einen Austausch des Wasservolumens der Einzelbecken von 3,27 x / h. Der Ablauf der Einzelbecken wurde mithilfe von Schläuchen in die Filterkammer des Haltungsbeckens geleitet. Das gesamte Wasservolumen pro System betrug 670 L. Aufgrund des Fassungsvermögens des Reaktors von 21 L und zusätzlicher Schläuche, betrug das Fassungsvermögen in System B insgesamt ca. 695 L Wasser.

Die Salinität wurde auf 32-34 PSU eingestellt. Der Salzgehalt wurde mittels eines digitalen Multimeters (HQ40d multi Digitales Multimeter-KIT, Hach) in Kombination mit einer entsprechenden Leitfähigkeitssonde und Refraktometer (Sybon, Series FG100sa Opticon) überprüft.

Jedes der Einzelbecken wurde mit einem handelsüblichen Thermometer (HOBBY, Präzisions-Thermometer) ausgestattet. Die Wassertemperatur betrug zwischen 23 – 25 °C. Zusätzlich wurde jedes Einzelbecken mit handelsüblichen Ausströmern (HOBBY, Ausströmerstein, 30 x 15 x 15 mm) für eine ausreichende Sauerstoffversorgung durch einen MEDO KOMPRESSOR 2,7 (Rebie, Deutschland) belüftet und mit einer Kunstpflanze (Tetra DecoArt Plant Red Ludwigia L, Hobby) als Enrichment versehen. Die Becken wurden 51 Tage vor Anschluss des Reaktors mit jeweils 50 Tilapien (*Oreochromis niloticus*) (System A: 4,46 g / Fisch, System B: 4,44 g / Fisch besetzt und mit 2 % der Körpermasse gefüttert. Folglich ergab sich eine Gesamtmasse für System A mit 150 Fischen und einer Gesamtmasse von 670 g und für System B mit 150 Fischen und einer Gesamtmasse von 667 g. Vor dem Einsetzen der Fische fand eine tierärztliche Kontrolluntersuchung der Tiere statt. Gefüttert wurden die Tilapien mit kommerziell erhältlichen Forellenaufzuchtfutter (F-1.8 Pro Aqua Brut) 2x täglich.

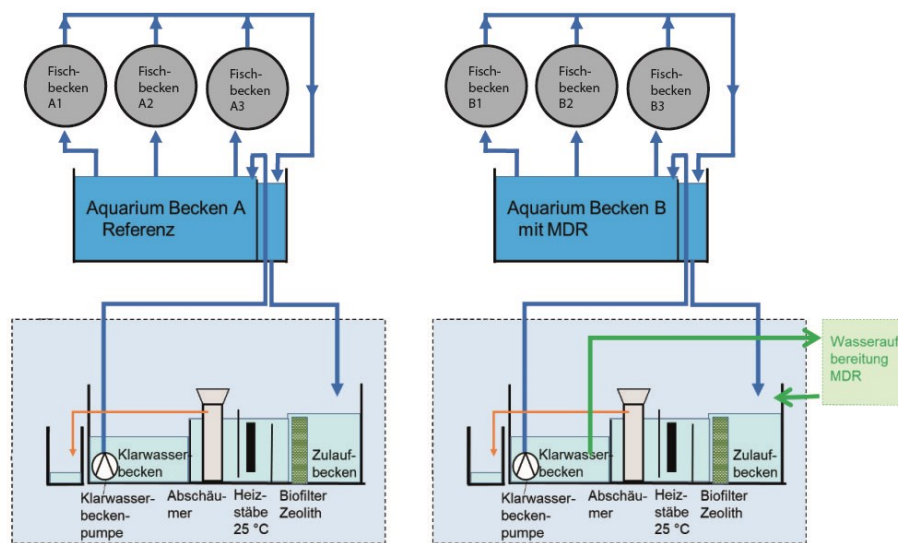


Abb. 25: Schema Übersicht Wasserführung System A und B (MDR) in Hannover.

Hellblauer Hintergrund: Standard Wasseraufbereitung (Nitrifikation, Abschäumer = „Technikbecken“). Hellgrüner Hintergrund: Wasseraufbereitung MDR, Blaue Linien: Wasserlauf. Gestrichelte Linien: Steuerung + Regelung.

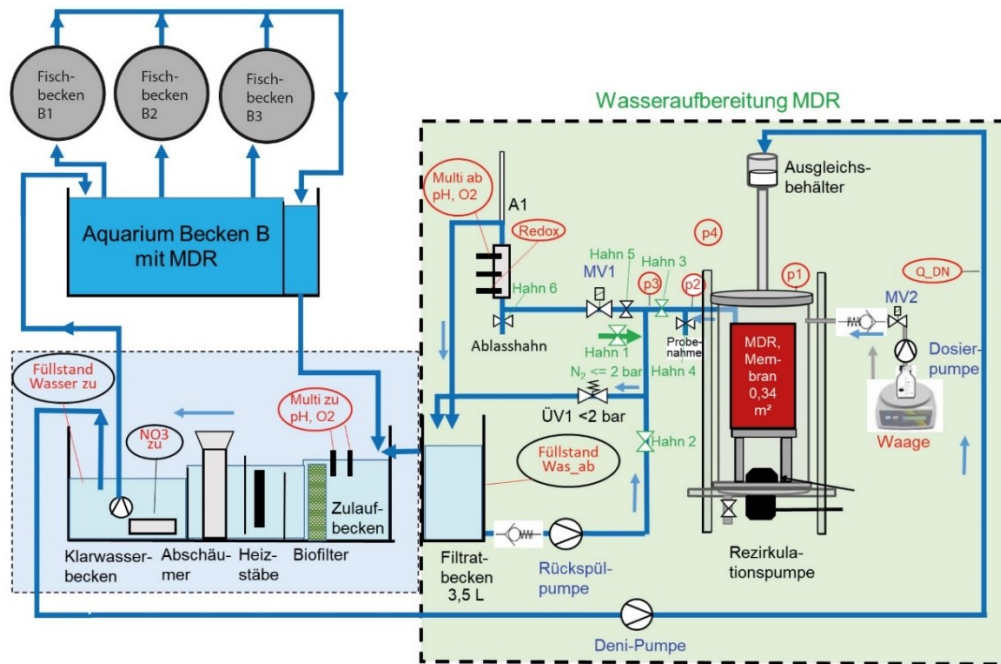


Abb. 26: Schema Wasserführung System B (MDR) in Hannover

Hellblauer Hintergrund: Standard-Wasseraufbereitung (Nitrifikation, Abschäumer = Technikbecken).

Hellgrüner Hintergrund: Wasseraufbereitung MDR.

Blauer Text: über PC geschaltete Geräte. Deni-Pumpe = Zulaufpumpe des MDR, MV1-2 = Magnetventile.

Roter Text: Sensoren zur Messwerterfassung. Multi zu = Multimeter mit Messwerten von pH und O₂ im Zulauf des Reaktors, NO₃ zu = Nitratwert im Zulauf des MDRs, Füllstand Wasser zu = Sensor für den Wasserstand im Zulaufbecken, Q_DN = Zulauf (Volumenstrom), p1-p4 = Drucksensoren, Multi ab = Multimeter mit Messwerten von pH, O₂ und dem Redoxpotential im Filtrat, Füllstand Was_ab = Sensor für den Wasserstand im Filtratbecken.

Grüner Text: für Druckhaltetest.

Blaue Linien: Wasserlauf.

4.7.2 Messungen zur Überprüfung der Reaktorfunktion

Alle Messwerte zur Überprüfung der Reaktorfunktion wurden analog wie beim Test des Reaktors in Göttingen gemessen. Aufgrund dessen, dass eine Nitratsonde zeitgleich im Versuch in Völklingen zur Verfügung stehen musste, wurde die Nitratsonde aus dem Filtratbecken entfernt und nach Völklingen verbracht. Die Nitratwerte aus dem Filtrat wurden in Hannover daraufhin regelmäßig photometrisch gemessen. Zusätzlich wurden die im folgenden beschriebenen Parameter ermittelt.

4.7.3 Mikrobiologische Untersuchungen von Wasser- und Biofilmp Proben

4.7.3.1 Probennahme

Wasserproben und Tupferproben von den Biofilmen der Einzelbecken sowie von der hinteren Filterkammer wurden einen Tag vor Anschluss des MDRs und 13, 27, 41, 55, 69, 83, 97, 111 und 127 Tage nach Start des MDRs sowohl aus dem System, an das der MDR angeschlossen war als auch aus dem Kontrollsystem entnommen. Zusätzlich wurde pro Entnahmezeitpunkt eine Wasserprobe aus dem Filtrat des Reaktors entnommen. Alle weiteren Bearbeitungsschritte wurden analog zur Beschreibung unter s. Kap. 4.6.16 durchgeführt.

4.7.3.2 DNA-Extraktion

s. Kap. 4.6.16

4.7.3.2.1 Vorbereitung DNA-Isolation Tupferproben

s. Kap. 4.6.16

4.7.3.2.2 Vorbereitung DNA-Isolation Wasserproben

s. Kap. 4.6.16

4.7.3.2.3 DNA-Extraktion von Bakterien aus den Proben

s. Kap. 4.6.16

4.7.3.3 Quantifizierung der Gesamtkeimzahl mittels quantitativer Real Time PCR (qPCR)

s. Kap. 4.6.16

4.7.3.4 Bestimmung des Cortisolgehaltes im Wasser

Die Messung der Cortisolkonzentration in den entnommenen Wasserproben wurde im Labor der Rinderklinik der Tierärztlichen Hochschule Hannover durchgeführt. Die Bestimmung der Cortisolkonzentration erfolgte mittels eines kommerziell erhältlichen ELISA-Testsystems. Der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) ist ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, das auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert, deren Intensität photometrisch gemessen wird. Die Wasserproben wurden zu folgenden Zeitpunkten entnommen: 1 Tag vor Anschluss des MDRs, sowie 27 Tage und 69 Tage nach Anschluss des MDRs. Proben wurden aus beiden Haltungssystemen (Anlage A und B) entnommen. Hierbei wurden jeweils 500 ml Wasser aus allen drei Fischhaltungsbecken der jeweiligen Anlage entnommen. Die Proben wurden sofort gekühlt und bis zur weiteren Bearbeitung bei -20°C im Labor der Abteilung Fischkrankheiten der Tierärztlichen Hochschule Hannover eingefroren und gelagert.

Vor der Messung ist es erforderlich das Cortisol aus dem Wasser anzureichern. Dies wurde mit entsprechendem Protokoll (Ruane and Komen, 2003) in der Abteilung Fischkrankheiten und Fischhaltung durchgeführt. Das Wasser wurde aufgetaut und über einen Papierfilter filtriert. Das in einer definierten Wassermenge von 100 mL enthaltene Cortisol wurde über eine Festphasenextraktionseinheit (Oasis HLB Extraction Cartridge) angereichert. Dazu wurden die Cartridges zunächst mit 5 mL Methanol befüllt und eine Einwirkzeit von 5 min eingehalten. Nach Entfernung des Methanols wurden die Extraktionseinheiten mit 5 mL destilliertem Wasser konditioniert und anschließend mit der Wasserprobe beschickt. Nachdem die Wasserproben durch die Cartridges gelaufen waren, wurden die Extraktionseinheiten erneut mit 5 ml destilliertem Wasser befüllt und anschließend bei voller Kraft getrocknet. Im anschließenden Elutionsschritt wurden die gebundenen Steroide in den Extraktionseinheiten mit 5 mL Methanol eluiert. Das Methanol wurde im Anschluss unter N_2 Bedampfung eingedampft. Bis zur weiteren Bearbeitung durch die Rinderklinik der Tierärztlichen Hochschule in Hannover wurde die Probe bei -20°C eingefroren.

4.7.4 Bestimmung der chemischen Wasserparameter

4.7.4.1 Stickstoffparameter

Zweimal wöchentlich wurden die Stickstoffverbindungen Ammonium (NH_4^+), Nitrit (NO_2^-) und Nitrat (NO_3^-) in beiden Systemen gemessen. Die Messung der Ammoniumkonzentration wurde mittels Ammonium-Test (Spectroquant, Ammonium-Test: 1.14752.001, Merck KGaA, Darmstadt) und die Nitritkonzentration mittels Nitrit-Test (Spectroquant, Nitrit-Test: 1.14776.0001, Merck KGaA, Darmstadt) durchgeführt und per Photometer (Spectroquant, Colorimeter Move 100, Merck KGaA, Darmstadt) bestimmt. Die Messung der Nitratkonzentration wurde mittels eines Nitrat-Tests speziell für Salzwasser (Spectroquant, Nitrat-Test: 1.14942.0001, Merck KGaA, Darmstadt) durchgeführt. Hier erfolgte die Auswertung mit einem anderen Photometer (photoLab 6100 VIS SERIES, Landgraf Laborsysteme, Langenhagen).

Die Proben wurden unmittelbar vor Bearbeitung entnommen und die Tests gemäß Gebrauchsanleitung durchgeführt. Nach Ablauf der Reaktionszeiten wurden die angesetzten

Proben in den jeweiligen Wellenlängenbereichen photometrisch bestimmt. Aufgrund der teilweise außerhalb des Messbereiches liegender Messergebnisse, wurden die Proben nach Bedarf mit destilliertem Wasser (Ammonium- und Nitrit-Test) oder mit frisch angesetztem Salzwasser (Nitrat-Test in Salzwasser) verdünnt. Laut Herstellerangaben kommt es ab einer Nitritkonzentration von 2.5 mg/L zu verfälschten Ergebnissen bei der Durchführung der Nitrat-Messung. Bei Überschreitung des Grenzwertes wurden daher durch eine Vorbehandlung der Proben mit Amidoschwefelsäure höhere Nitritkonzentrationen reduziert.

4.7.4.2 Wassertemperatur

Um eine dauerhaft gleichbleibende Wassertemperatur von 23-25°C zu gewährleisten, wurden konventionell erhältliche Aquariumheizstäbe in die vordere Filterkammer eingebracht und die Temperatur mittels handelsüblichem Thermometer (HOBBY, Präzisions-Thermometer) täglich kontrolliert.

4.7.4.3 Sauerstoff

Für eine optimale Sauerstoffversorgung in den Haltungsbecken, wurde ein MEDO KOM-PRESSOR 2,7 (Rebie, Deutschland) mit handelsüblichen Ausströmern (HOBBY, Ausströmerstein, 30 x 15 x 15 mm) in jedes Haltungsbecken installiert. Die Sauerstoffkonzentration und Sauerstoffsättigung wurden zweimal wöchentlich überwacht und kontrolliert. Hierfür wurde ein digitales Multimeter (HQ40d multi, Digitales Multimeter-KIT, Hach) in Kombination mit einer entsprechenden Sauerstoffsonde eingesetzt.

4.7.4.4 Salinität

Die Salinität wurde zwischen 32 und 33 PSU eingestellt. Zur regelmäßigen Kontrolle und Überwachung der Salinität wurden ein digitales Multimeter (HQ40d multi Digitales Multimeter-KIT, Hach) in Kombination mit einer entsprechenden Leitfähigkeitssonde sowie ein Refraktometer (Sybon, Series FG100sa Opticon) genutzt.

4.7.4.5 pH-Wert

Zur Kontrolle und Überwachung des pH-Wertes im Rahmen des Versuches wurde ein digitales Multimeter (HQ40d multi Digitales Multimeter-KIT, Hach) in Kombination mit einer entsprechenden pH-Sonde verwendet. Zweimal wöchentlich wurde der pH-Wert überprüft. Um den pH-Wert über weite Strecken konstant zu halten, wurde gegebenenfalls Natriumbicarbonat (NaHCO_3) ergänzt.

4.8 Konstruktion, Bau + Test halbtechnischer Membran-Deni-Reaktor (MDR) (AP6)

4.8.1 Konzeption

Eine wesentliche Erfahrung aus dem Versuch mit dem Laborreaktor (s. Kap. 5.3) war, dass die Reinigung der Membranoberflächen durch Rückspülung und Crossflow nicht ausreichte. Da die Abstände zwischen den Membranplatten in den Modulen zu gering waren, konnten hier keine Schaumstoffwürfel wie im Vorgänger-Projekt verwendet werden. Aus den Erfahrungen der früheren Projekte ist bekannt, dass auch Kunststoff-Granulate zur Reinigung verwendet werden können. Diese Möglichkeit sollte hier auch getestet werden.

Dazu wurde eine Rezirkulationspumpe mit einer höheren Leistung eingesetzt. Weiterhin wurde eine „Siebkonstruktion“ mittels 3D-Druck hergestellt, um zu vermeiden, dass Granulate in die Pumpe gelangen kann (s. Abb. 33).

4.8.2 Künstliches Meerwasser

Die Herstellung des künstlichen Meerwassers erfolgte bei InfiniteSea aus Meersalz und Wasser aus der Reversosmose-Anlage von InfiniteSea und war zum Zeitpunkt des Starts der Versuche bereits in der Kreislaufanlage vorhanden.

4.8.3 Wasseraufbereitung der Kreislaufanlage zur Fischproduktion von InfiniteSea (vorhanden)

Die kleine Kreislaufanlage in der Forschungshalle der InfiniteSea GmbH wurde für die Aufzucht von Jungfischen (Gelbschwanzmakrele, *Seriola lalandi*) konzipiert und war die ideale Umgebung für den Test des halbtechnischen Reaktors (s. Abb. 27).

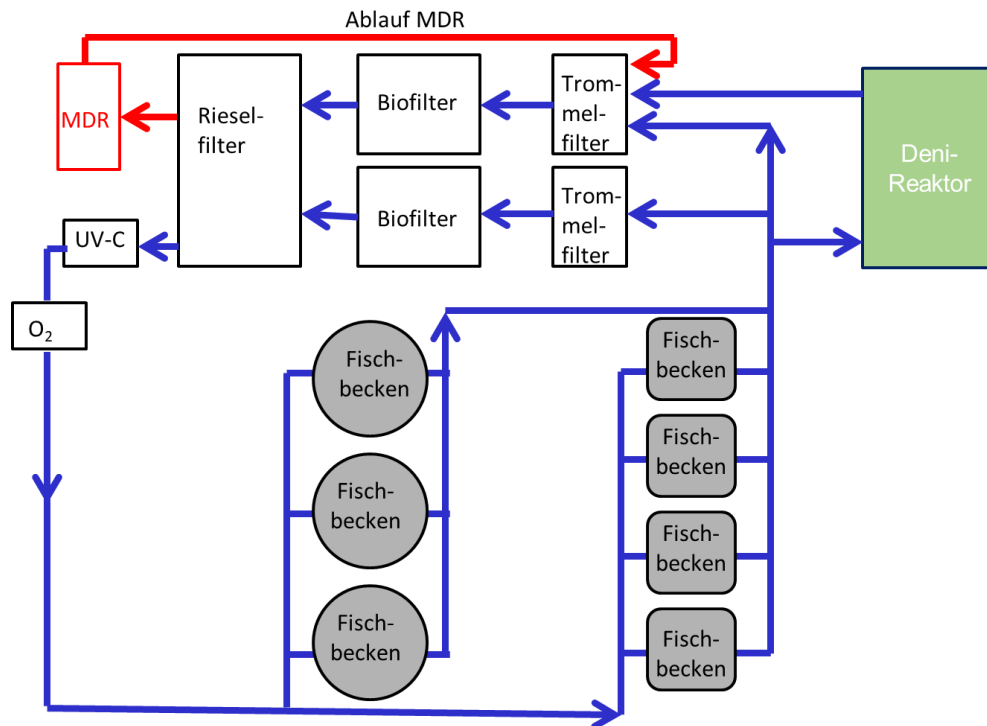


Abb. 27: Schema Prinzip der Wasserführung der Kreislaufanlage zur Fischproduktion in der Forschungshalle InfiniteSea (früher: FRESH), Völklingen.

Rote Linien und Text: Wasserführung MDR = Halbtechnischer Membran-Deni-Reaktor

UV-C = UV-Lampe zur Keimreduzierung; O₂ = Sauerstoffanreicherung des Wassers;

Als der Reaktor in der Anlage installiert wurde, waren die Fische bereits seit einiger Zeit in der Anlage und damit war die Nitratkonzentration im Kreislaufwasser bereits stark angestiegen. Das Wasservolumen des Kreislaufs war ca. 55 m³ und es wurden ca. 5 kg Futter je Tag verbraucht. Diese Menge stieg im Laufe der Betriebsdauer stark an, da die Fische heranwuchsen.

Ein Denitrifikationsreaktor („Denireaktor, grün in Abb. 27) war vorhanden und wurde mit einer Mischung aus Essigsäure, als C-Quelle, und Natronlauge, zur Neutralisation, betrieben. Jedoch schien die Leistung nicht auszureichen, so dass für den MDR noch genügend Nitrat vorhanden war.

4.8.4 Membranmodul für halbtechnischen Membran-Deni-Laborreaktor (MDR)

Für den Labor-Reaktor wurde von BFM ein Standard-Membranmodul zur Verfügung gestellt (s. Abb. 28). Die wichtigsten Eigenschaften sind in Tab. 12 zusammengestellt.



Abb. 28: Links: Membranmodul (BFM); Rechts: Membranmodul nach Einbau in Reaktor

Tab. 12: Kennwerte Membranmodul (IPC 25) für halbtechnischen Reaktor

Parameter	MDR
Membranmodul, Breite	0,385 m
Membranmodul, Länge	0,466 m
Membranmodul, Höhe	1,498 m
Membranmaterial	Polyvinylidenfluorid (PVDF)
Aktive Membranoberfläche A_m	25 m ²
Porenweite, ca.	40 nm

Abb. 29 zeigt dieses Membranmodul beim Start des Versuchs und nach 82 d Betriebsdauer.



Abb. 29: Membranmodul im halbtechnischen MDR von oben. Links: nach Einbau, Rechts: nach 82 d Betrieb, Teilstück rechts wurde von oben mit Wasser abgespritzt

4.8.5 Halbtechnischer Membran-Deni-Reaktor

Auch beim halbtechnischen Reaktor wurden die Maße an das Membranmodul angepasst, so dass ausreichend Raum für die Überströmung der Membran und die Rückströmung des Wassers an den Außenwänden des Moduls gewährleistet war. Dadurch ergaben sich die Kennwerte (s. Tab. 13).

Auch hier sollten Versuche mit Kunststoffgranulaten gemacht werden, um eine Oberflächenreinigung der Membranen zu unterstützen. Hierzu sollte ein biologisch abbaubares Festsubstrat eingesetzt (PCL TONE Polymer P767E-Granulat, Union Carbide, 1999 mit $\varnothing$ ca. 4 mm, Dichte: $\sim 1,14$ kg/L) eingesetzt werden. Es stellte sich dann aber heraus, dass die Rezirkulationspumpen zu schwach waren und das extra dafür konstruierte und 3D-gedruckte Sieb zu wenig durchlässig war (s. Abb. 33). Daher blieb es bei 940 g PCL, die versuchsweise in den Reaktor zugegeben wurden.

Der Aufbau des Reaktors in der Forschungshalle von InfiniteSea erfolgte ohne größere Probleme (s. Abb. 30, Abb. 31, Abb. 32).

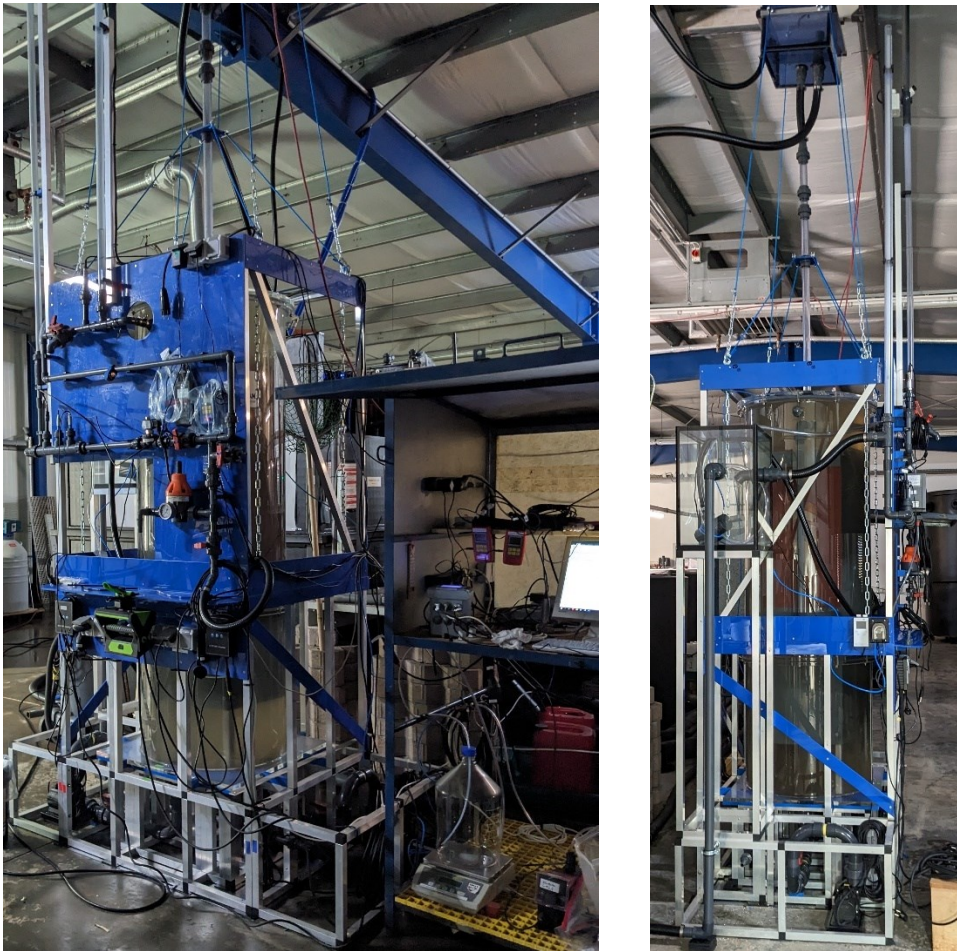


Abb. 30: Halbtechnischer Reaktor in der Forschungshalle InfiniteSea nach dem Aufbau. Links: Von vorne mit Messhütte und Dosiereinrichtung; Rechts: von hinten mit Steigrohr und Ausgleichsbehälter

Tab. 13: Kennwerte halbtechnischer Membran-Deni-Reaktor

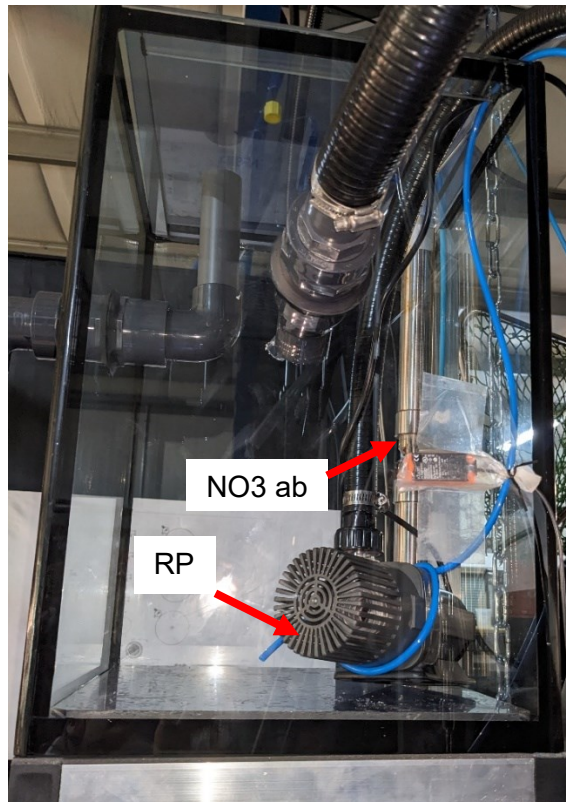
Parameter	Maß
Denitrifikationsreaktor, Durchmesser innen	0,65 m
Denitrifikationsreaktor, Höhe innen	2,00 m
Innenvolumen, Reaktor, leer ohne Einbauten	664 L
Wasservolumen, Reaktor, mit Einbauten (rechnerisch ermittelt)	535 L
Durchmesser Steigrohr (innen)	0,034 m
Höhe Steigrohr bei Start des Versuchs (innen)	1,83 m
Länge Ausgleichsbehälter innen	0,37 m
Breite Ausgleichsbehälter innen	0,37 m
Höhe Ausgleichsbehälter innen	0,18 m
Volumen Ausgleichsbehälter	24,6 L
Max. Gesamtwasserhöhe über Drucksensor p1	2,01 m
Max. Druck über Drucksensor p1	197 mbar



Abb. 31: Halbtechnischer Reaktor in der Forschungshalle InfiniteSea nach dem Aufbau. Links: Reaktor (von hinten); Rechts: Deckel, Steigrohr und Ausgleichsbehälter



Abb. 32: Li.: Zulaufbecken für Sensoren im Zulauf (mit Nitratsensor NO3 zu, s. Abb. 34)



Re.: Filtratbecken für Nitratsensor im Ablauf (NO3 ab) und Rückspülpumpe (RP) s. Abb. 34

Der Einbau des "Trichters" (3D-Druckteil, s. Abb. 33) in den Reaktor erfolgte später und war komplizierter (s. Kap. 5.5.1).

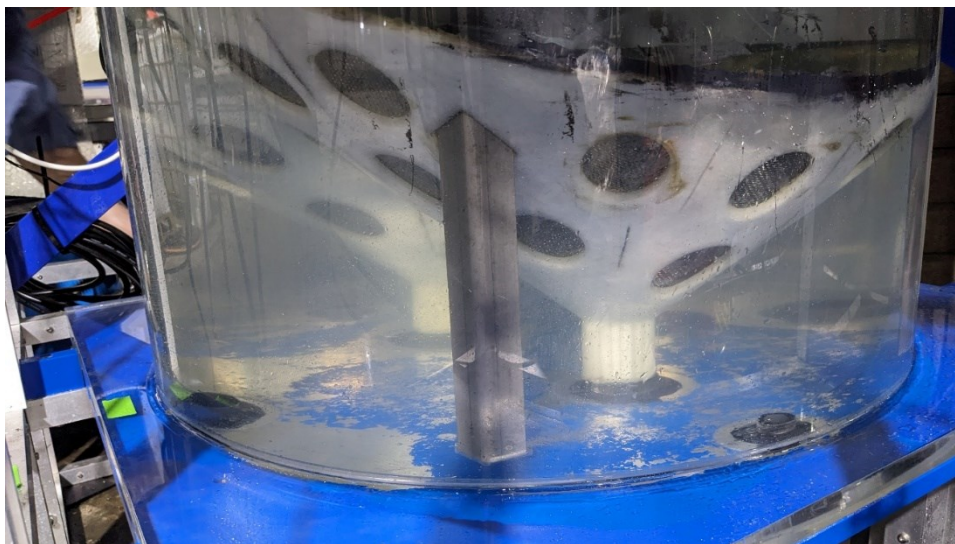


Abb. 33: Siebkonstruktion für den Rückhalt der Kunststoffgranulate („Trichter“) im halbtechnischen MDR. Oben: vor dem Einbau; Unten: nach Versuchsende

4.8.6 Übersicht Wasserführung halbtechnischer Reaktor

Die Wasserführung und die hier verwendeten Bezeichnungen gehen aus Abb. 34 hervor. Das Wasser wird aus dem Ablauf des Rieselfilters der Kreislaufanlage (KLA) mit der Zulauf-Pumpe in den Ausgleichsbehälter des MDR geleitet, wobei der Volumenstrom deutlich höher ist als der Volumenstrom durch den MDR. Ein Teil des Wassers (Überlauf) strömt zurück in den Rieselfilter, der andere Teil wird über das Steigrohr in den Reaktor geleitet, das Nitrat wird reduziert und das Wasser durch die Membran von Partikeln befreit und in das Filtratbecken geleitet, von dem es in den Zulauf des Trommelfilters der KLA fließt (s. Abb. 27). Dies ist eine Vorsichtsmaßnahme, falls im Reaktor unerwünschte Inhaltsstoffe produziert werden, denn so wird das Ablaufwasser Trommelfilter und Biofilter passieren, bevor das Wasser zu den Fischen gelangt.

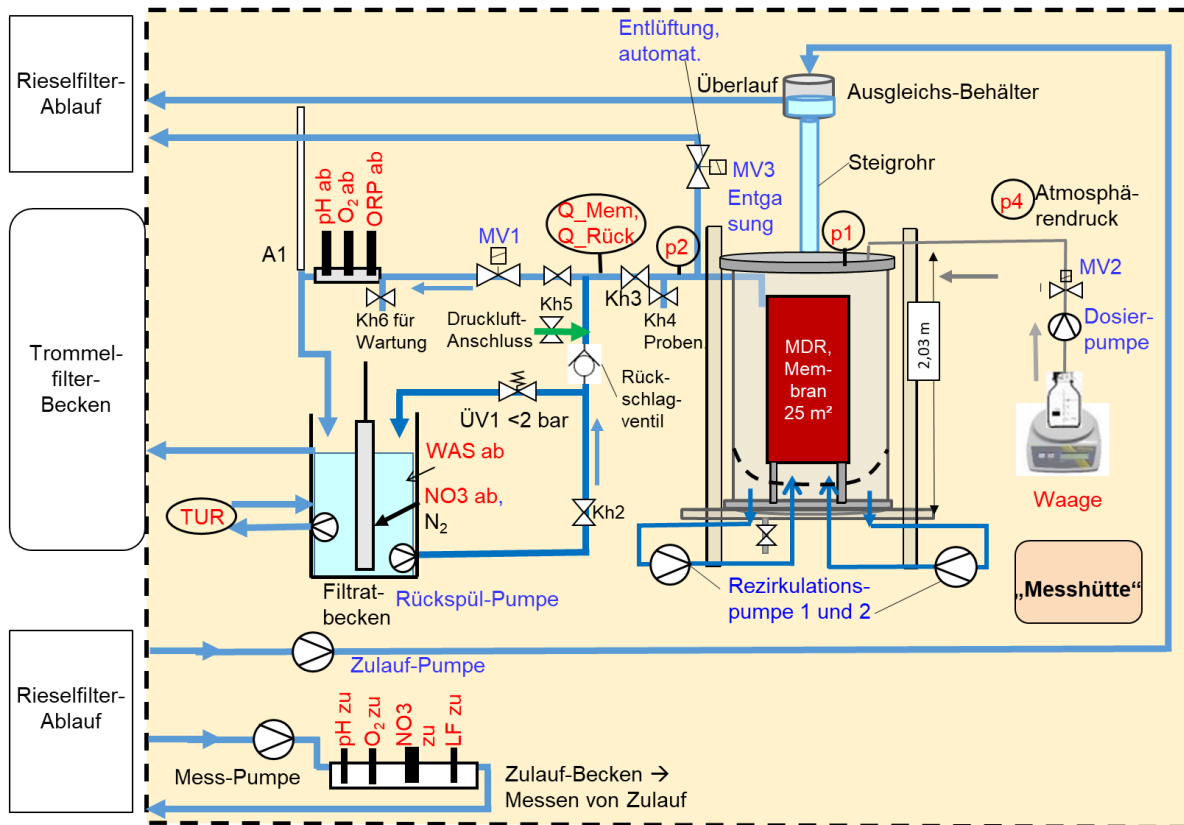


Abb. 34: Schema Übersicht Wasserführung halbtechnischer Reaktor in der Forschungshalle InfiniteSea (früher: FRESH), Völklingen

Hellgelber Hintergrund: Wasseraufbereitung für halbtechnischen Reaktor.

Links: Rieselfilter-Ablauf und Trommelfilter-Becken: Anlagenteile der Standard-Wasseraufbereitung der Kreislaufanlage zur Fischproduktion von InfiniteSea

Blaue Linien: Wasserlauf. Roter Text: Sensoren. Blauer Text: Aktoren

MV = Magnetventil; ÜV = Überströmventil; Kh = Kugelhahn, sonstige Messgeräte s. Tabelle

4.8.7 Messgeräte für die Online-Messdatenerfassung

Tab. 14 zeigt eine Übersicht der Messgeräte, die über Schnittstellen mit dem Laptop verbunden waren. Die Messwerte dieser Geräte wurden kontinuierlich per PC erfasst und gespeichert.

Tab. 14: Messgeräte (Kurzbezeichnungen s. Abb. 34)

Kurzbezeichnung	Funktion	Typ (Hersteller) / Messprinzip
NO3 zu	Nitratmessung im Zulauf zum MDR	Nitratax an sc200 (HACH, früher Dr. Lange) / spektrometrisch
NO3 ab	Nitratmessung im Ablauf vom MDR (Filtratbecken)	Spectrolyser (S::CAN) / spektrometrisch
Q_DN	Durchflussmessung Ablauf Reaktor (Ultraschall-Sensor)	PCE-TDS 100 mit Sensoren TDS-S1 (PCE) / Ultraschall
Q_DN	Durchflussmessung Ablauf Reaktor (MID)	IFC 020 D (Krohne) / Magnetisch-Induktiv
Waage	Messung der real dosierten Menge Ethanol, (0,1 g/g bzw. 0,2 g/g)	FCB 30K1 (Kern) max. 30 kg / Dehnmessstreifen, Autotracking off.
p1	Messung Druck im Deckel → TMP und Wasserstand im Ausgleichsbehälter	MSD 4 BAE (Greisinger) / (0 ... 4000 mbar abs.) mbar absolut an GMH3156 (Greisinger)
p2	Messung Druck im Ablauf Reaktor, → TMP	MSD 4 BAE (Greisinger) / (0 ... 4000 mbar abs.) mbar absolut an GMH3156 (Greisinger)
p4	Messung Luftdruck (außen)	MSD 2,5 BAE (Greisinger) (0 - 2,5 bar) absolut an GMH3156
WAS ab	Detektion Wasserstand im Filtratbecken als Trockenlaufschutz Rückspülpumpe	KQ6001 (IFM) / Kapazitiv an VC820 (Votcraft)
pH zu	Messung pH im Zulauf Reaktor	Sentix41 (WTW) mit Temperatursensor / Glaselektrode an Multiline P4 (WTW)
O2 zu	Messung O ₂ im Zulauf Reaktor	CellOx 325 (WTW) mit Temperatursensor / Galvanisch an Multiline P4 (WTW)
LF zu	Messung elektrische Leitfähigkeit im Zulauf Reaktor	Tetracon 325 mit Temperatursensor an Multiline P4 (WTW) / Widerstandsmessung
pH ab	Messung pH im Ablauf Reaktor	Sentix41 (WTW) mit Temperatursensor / Glaselektrode an Multiline P4 (WTW)
O2 ab	Messung O ₂ im Ablauf Reaktor	CellOx 325 (WTW) mit Temperatursensor / Galvanisch an Multiline P4 (WTW)
ORP ab	Messung ORP im Ablauf Reaktor	GR105 (Greisinger) / Potenzial an GMH3500 (Greisinger)
TUR	Messung Trübung im Ablauf Reaktor	Ultraturb Plus sc an sc200 (HACH, früher Dr. Lange) / 90° Infrarotpuls-Streulicht-Verfahren (2-Strahl) nach DIN EN ISO 7027

Die Messgeräte für die Online-Messungen waren im Allgemeinen ähnlich wie die Messgeräte beim Laborreaktor. Abb. 35 zeigt die hier neu hinzu gekommenen Geräte.

Da bei den Partnern kein Gerät für die Volumenstrom-Messung vorhanden war, das Meerwasser-geeignet gewesen wäre, wurde von Aqua Schwarz ein mobiles Messgerät angeschafft. Die Sensoren werden dabei von außen an dem (PVC)-Rohr befestigt (s. Abb. 35, li oben) und die Kontaktflächen dabei mit Ultraschall-Gel belegt. Leider konnten damit keine zuverlässigen Werte gemessen werden, weshalb daraufhin ein - nicht meerwassergeeigneter - MID zum Einsatz kam (s. Abb. 35, re oben), der dafür aber sehr gut funktionierte.



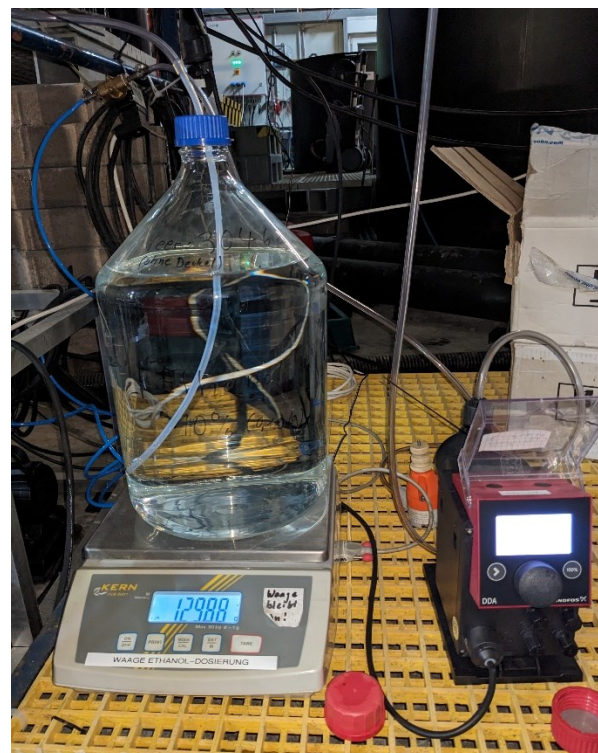
Ultraschall-Durchflussmessung PCE-TDS 100 mit Sensoren TDS-S1



MID IFC 020 D (Krohne)



Trübungsmessung Ultraturb Plus sc, (links davon O₂, pH und ORP Messeinrichtung)



Waage mit Dosierlösung und Dosierpumpe

Abb. 35: Messgeräte für online-Messungen

Um die Messwerte der Nitratsonde im Filtratbecken (Ablauf Reaktor) zu erfassen, muss die Software Ana::Pro der Firma S::CAN aktiv sein.

4.8.8 Abgeleitete Werte aus den Messwerten über Formeln

Die abgeleiteten Werte, die aus den Gleichungen (Formeln) in der Software hinterlegt waren, sind die gleichen wie in Kap. 4.6.8 beschrieben (s. Tab. 7, Tab. 8), nur die aktive Membranoberfläche A_m ist hier 25 m² und die Gleichung für die N+O-Fracht wurde angepasst, s. Gl. (19).

4.8.9 Weitere Geräte

Die softwaregesteuerten Geräte mussten hier an die größeren Abmessungen des Reaktors angepasst werden (Aktoren, s. Tab. 15).

Tab. 15: Aktoren (s. Abb. 19)

Kurzbezeichnung	Funktion	Typ (Hersteller) / Funktionsprinzip
Zulaufpumpe	Zulauf Reaktor (Aktor, Relais 1)	DC Runner 5.3 (AQUA MEDIC) / Kreislumpumpe
Dosierpumpe	Dosierung von Ethanol, 100 g/kg bzw. 200 g/kg (Aktor, Relais 4)	DDA (Grundfoss) / Membrandosierpumpe
Rückspülpumpe	Rückspülung der Membran (Aktor, Relais 3)	DC Runner 5.3 (AQUA MEDIC) / Kreislumpumpe
MV1	Magnetventil stromlos offen, schließt bei Rückspülung (Aktor, Relais 2)	131 B (Bürkert) / Kipphebelventil direktwirkend
MV2	Magnetventil an Dosierung zur Verhinderung des Rücklaufs von Wasser aus dem Reaktor in die Dosierlösung (Aktor, Relais 4)	MV 1315 (Riegler) / direktgesteuert
MV3	Magnetventil zur Entlüftung zu Beginn des Rückspülprozesses	(Bürkert), Typ unbekannt
Rezirkulationspumpen	Crossflow Strömung an der Membran	EasyPumpe (20 m ³ /h, h=8 m, 200 W) (AQUALIGHT) / Kreislumpumpe

Zusätzlich wurden weitere Geräte eingesetzt, die unabhängig von der Software kontinuierlich arbeiteten (s. Tab. 16).

Tab. 16: Weitere Geräte (s. Abb. 19)

Kurzbezeichnung	Funktion	Typ (Hersteller) / Funktionsprinzip
Ultraturb-Pumpe	Wasser vom Filtratbecken zum Trübungsmessgerät und zurück transportieren (Messgerät erfordert bestimmten Volumenstrom)	SP 3000 (Aqua Medic, Bissendorf) / Schlauchpumpe
Messpumpe	InfiniteSea, Messpumpe für weitere Sensoren	DC-Runner 9.3 (Aqua Medic, Bissendorf) / Kreislumpumpe
ÜV1	Überströmventil (öffnet bei Druck > 2 bar) Schutz vor Überdruck auf Membran bei Rückspülung	DHV-RM (Prominent) / Membran mit Feder

Mit Hilfe von Schaltsteckdosen (s. Kap. 4.3) wurden sowohl Sequenzen programmiert, die sich ständig wiederholten, als auch die Regelung der Ethanol dosierung (s. Kap. 4.4.7) und Schutzmaßnahmen wie das Abschalten der Deni-Pumpe bei zu hohem Wasserstand im Ausgleichsbehälter (s. Kap. 4.6.14).

4.8.10 Sequenz für Filtration, Rückspülung und Relax

Filtrations-, Rückspül- und Relax-Modus werden kontinuierlich wiederholt. Die Sequenz bei Start sah dabei wie folgt aus (s. Tab. 17).

Tab. 17: Sequenz für Schaltung der Aktoren (Relais)

Dauer	Relais →	Relais 1	Relais 2	Relais 3	Relais 4	Relais 6	Relais 7
	Gerät →	MV1 (normal offen)	MV3	Rückspül-pumpe	Dosierpumpe (Dosierl. + MV2)	Rezirkulations-Pumpe 1	Rezirkulations-Pumpe 2
	Modus ↓						
8 min	Filtration1	AUS	AUS	AUS	EIN*	EIN*	AUS
7 min	Filtration2	AUS	AUS	AUS	EIN*	AUS	EIN*
2 s	Ventil Gas auf	EIN*	EIN*	EIN*	EIN*	AUS	EIN*
20 s	Rückspülung	EIN*	AUS	EIN*	EIN*	AUS	EIN*
5 s	Relax	EIN*	AUS	AUS	EIN*	EIN*	AUS

* Die Relaisstellungen werden zusätzlich von der Regelung beeinflusst.

4.8.11 Einstellungen der Regelungsparameter

Die Pumpen und Magnetventile werden in verschiedenen Regelkreisen (RK) vom PC über Relaisboxen ein- und ausgeschaltet. Hierbei werden folgende Randbedingungen definiert:

RK 1: MV1 Rückspülung. Ziel: Magnetventil 1(Rückspülung) wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Ausgleichsbehälter größer als 207 cm ist.

RK 2: Rückspülpumpe. Ziel: Rückspülung wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Ausgleichsbehälter größer als 207 cm ist

RK 3: Rückspülpumpe Filtratbecken. Ziel: Rückspülpumpe wird ausgeschaltet, wenn der Wasserstand im Filtratbecken zu niedrig ist

RK 4: Dosierpumpe+MV2. Ziel: Einstellung der Dosierpumpe in Abhängigkeit von der Nitrat- und O₂- Fracht im Zulauf (s. Kap. 4.4.7).

4.8.12 Beurteilung von Fischen und Wasser

4.8.12.1 Gehaltene Fische

In der Kreislaufanlage in Völklingen wurden Gelbschwanzmakrelen (*Seriola lalandi*) in einem Wasservolumen von 55 m³, einer Wassertemperatur von 24-25 °C und einem Salzgehalt des Haltungswassers von ca. 35 PSU gehalten. Gefüttert wurden die Tiere mit kommerziell erhältlichem Trockenfutter (Skretting, *Seriola Protec* 5 mm).

4.8.12.2 Mikrobiologische Untersuchungen von Wasser- und Biofilmpuben

4.8.12.2.1 Probennahmen

Wasser und Tupferproben von den Biofilmen der Rundbecken sowie von der hinteren Filterkammer wurden 64 Tage vor Anschluss des MDRs und 5, 19, 35, 50, 67 und 82 Tage nach Start des MDR genommen. Zusätzlich wurde pro Entnahmezeitpunkt ab Installation des MDRs eine Wasserprobe aus dem Filtrat des Reaktors entnommen. Alle weiteren Bearbeitungsschritte wurden analog zur Beschreibung unter Kap. 4.6.16 durchgeführt.

4.8.12.2.2 DNA-Extraktion

s. Kap. 4.6.16

4.8.12.2.2.1 Vorbereitung DNA-Isolation Tupferproben

s. Kap. 4.6.16

4.8.12.2.2.2 Vorbereitung DNA-Isolation Wasserproben

s. Kap. 4.6.16

4.8.12.2.2.3 DNA-Extraktion von Bakterien aus den Proben

s. Kap. 4.6.16

4.8.12.2.3 Quantifizierung der Gesamtkeimzahl mittels quantitativer Real Time PCR (qPCR)

s. Kap. 4.6.16

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Eignung von analytischen Schnell-Tests für Meerwasser (AP3)

Zunächst wurde geprüft, welche Schnelltests für die Verwendung mit Meerwasser geeignet sind. Dazu wurden Versuche durchgeführt. Hier eine Übersicht der Ergebnisse (s. Tab. 18,

Tab. 19 Tab. 19). Die Tests wurden mit dem Photometer DR3900 von HACH durchgeführt.

Tab. 18 Küvetten-Testsätze (Hersteller: HACH-Lange, Düsseldorf)

Parameter	Küvetten-tests / Schnell-tests	Messbereich	Eignung für Meerwasser (geprüft)
Ammonium	LCK304	(0,015...2) mg/L $\text{NH}_4^+\text{-N}$	Nein, eventuell pH-Puffereffekt?
Ammonium	LCK303	(2...47) mg/L $\text{NH}_4^+\text{-N}$	Ja
Chlorid	LCK311	(1...70) mg/L Cl^-	Ja
CSB	LCK1414	(5...60) mg/L O_2	Nein
CSB	LCK1814	(7...70) mg/L O_2	Ja
CSB	LCK1914	(70...1000) mg/L O_2	Ja
Nitrat	LCK339	(0,23...13,5) mg/L $\text{NO}_3^-\text{-N}$	Ja, aber nur mit Probenaufbereitung Chlorid-Eliminierungsset LCW 925!
	LCK340	(5...35) mg/L $\text{NO}_3^-\text{-N}$	Ja, aber nur mit Probenaufbereitung Chlorid-Eliminierungsset LCW 925!
Nitrit	LCK341	(0,015...0,6) mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$	Ja
	LCK342	(0,6...6,0) mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$	Ja
Phosphat	LCK349	(0,05...1,5) mg/L $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$	Ja
	LCK348	(0,5...5,0) mg/L $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$	Ja
Eisen	LCW021	(0,005...2,0) mg/L Fe	Ja, mit Probenaufbereitung Crackset Reagenziensatz für Metall-Aufschlüsse (LCW902) (Wert korrekt - kein Unterschied zw. Meerwasser und deion.Wasser)

Tab. 19 Weitere Schnelltests

Parameter	Schnelltests	Messbereich	Eignung für Meerwasser geprüft
Ammonium	Best.-Nr. 2668000 mit Methode 8155 (HACH)	(0,01...0,5) mg/L $\text{NH}_4^+\text{-N}$	Ja, aber nur nach Verdünnung mit deion. Wasser, $F \geq 2$
Nitrat	Best.-Nr. 1.14942.0001 (Merckmillipore Spectroquant® Nitrat-Test in Seewasser)	(0,2...17,0) mg/L $\text{NO}_3^-\text{-N}$	Ja, aber Dauer der Analyse ca. 2 h
Nitrat	Best.-Nr. 2106169 Methode 8039 (HACH)	(0,3...30,0) mg/L $\text{NO}_3^-\text{-N}$	Ja, aber Werte schwanken stark ($\pm 10\%$)
Nitrit	Best.-Nr. 2107169 Methode 8507 (HACH)	(0,002 ... 0,300) mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$	Ja
Phosphat	Best.-Nr. 2244100 mit Methode 8178 (HACH)	(0,1...10) mg/L $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$	Ja, aber Messwert ca. 10% über Realwert (kein Unterschied zw. Meerwasser und deion.Wasser)

Fazit

Bei hohen $\text{NH}_4^+\text{-N}$ Konzentrationen ab 2 mg/L kann LCK 303 verwendet werden, bei kleineren Konzentrationen können HACH Pulverkissen (Methode 8155) verwendet werden, nach Verdünnung mit deionisiertem Wasser (Verdünnungsfaktor 2) und nachdem der pH auf ca. 7 eingestellt worden ist (s. Abb. 36).

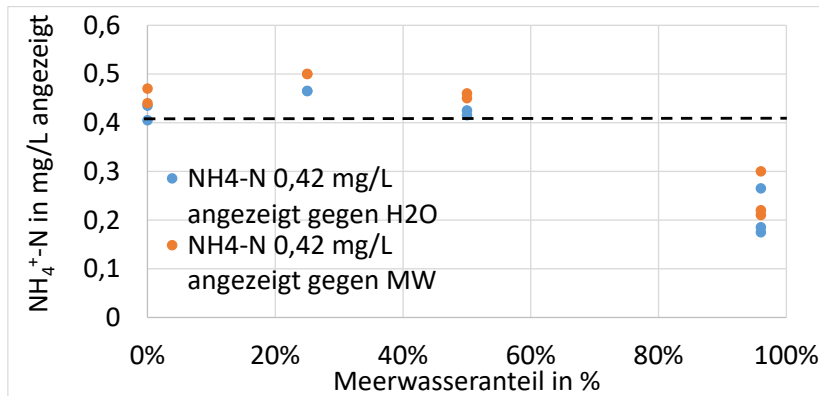


Abb. 36: Einfluss Anteil künstl. Meerwasser Ammonium-Test (Methode HACH 8155 Prg 385 $\text{NH}_4^+\text{-N}$). MW: Meerwasser; gestrichelte Linie: Sollwert 0,42 mg/L

Für die Nitratbestimmung wurden die Methoden LCK 339 und LCK 340 mit vorheriger Probenaufbereitung LCW 925 gewählt. Sie sind zwar am teuersten, dafür aber zuverlässig und schnell durchführbar.

Auch der Nitrat-Test von Merckmillipore - Supelco wäre gut geeignet für Meerwasser (s. Abb. 37), jedoch dauert die Vorbereitung und Ausführung des Tests ca. 1,5 h bis 2 h, so dass er für die Bestimmungen vor Ort nicht geeignet war.

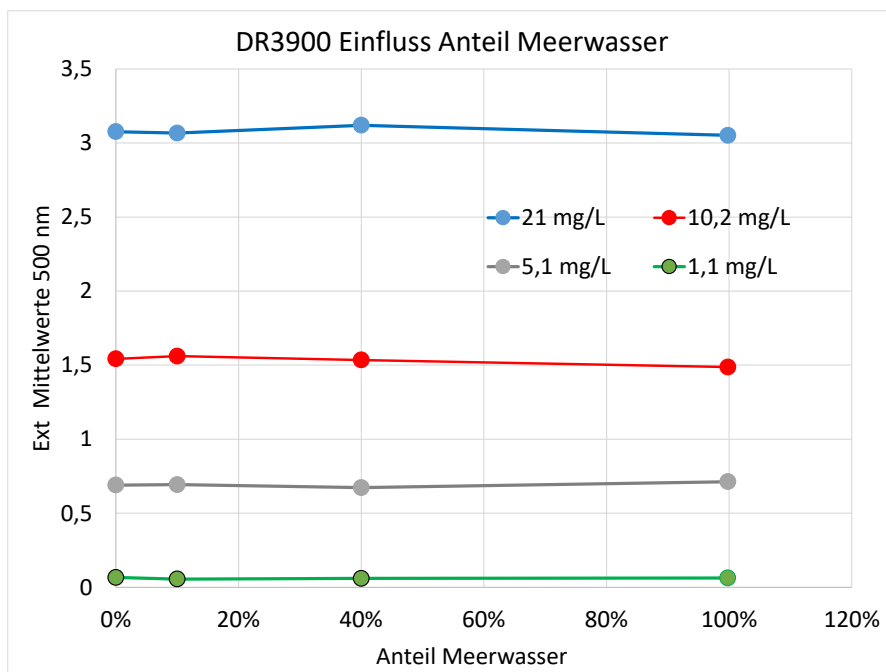


Abb. 37: Einfluss des Anteils künstl. Meerwasser mit 13 mm Küvette, Photometer DR3900 Spectroquant auf Nitrat-Test in Meerwasser (Merckmillipore - Supelco Anleitung 1.14942.0001) bei den $\text{NO}_3\text{-N}$ Konz. 1,1 mg/L, 5,1 mg/L, 10,2 mg/L und 21 mg/L

Alle anderen Parameter können mit den LCK-Küvettestests von HACH-Lange bestimmt werden (s. Tab. 18).

5.2 Batchtests (AP4)

5.2.1 Batchversuch 1 (Versuchsbeschreibung s. Kap. 4.5.2)

5.2.1.1 Probenahmen für Ermittlung der Gesamtkeimzahl (TiHo)

Zur Bestimmung der Bakterien-Keimzahlen im Wasser der Reaktoren und in den Biofilmen der Trägermaterialien wurden zu verschiedenen Zeitpunkten Proben genommen, s. Tab. 20. Die erste Probenahme (P1 in Tab. 20) erfolgte direkt vor der Inbetriebnahme der Denitrifikationsreaktoren.

Zu jedem Probenahme-Zeitpunkt wurden folgende Proben genommen:

- 40 mL Wasser aus dem Nitrifikationsreaktor
- ein paar Aufwuchskörper aus dem Nitrifikationsreaktor (Biofilm)
- 40 mL Wasser aus dem Denitrifikationsreaktor (außer 1. Probenahme)
- ein paar Aufwuchskörper aus dem Denitrifikationsreaktor (Biofilm) (außer 1. Probenahme)

Tab. 20: Zeitpunkte der Probenahme nach Versuchsstart Batchversuch 1

Name	Zeit in d
P1	103
P2	110
P3	131
P4	181
P5	189

Die Aufbereitung der Proben und die Quantifizierung erfolgte analog zu Kap. 4.6.16, die Ergebnisse sind in Kap. 5.2.1.4 zu finden.

5.2.1.2 Ergebnisse Ammonium und Nitrifikationsrate

Im ersten Batchversuch sollte untersucht werden, wie lange die Lag-Phase bei der Nitrifikation in Meerwasser ist.

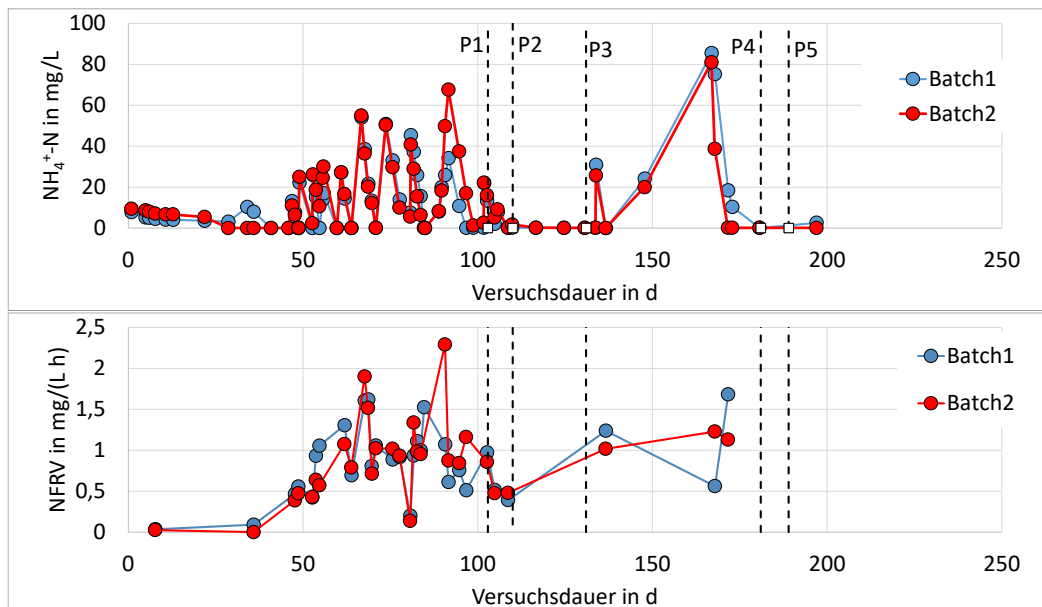


Abb. 38: Oben: Ammonium Konzentrationen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter

Unten: Volumenbezogene Nitrifikationsrate (NFRV, s. Gl. (1)) Batch 1 (PCL) u. Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) (gestrichelte Linien P1 bis P5 sind die Probenahme-Zeitpunkte, s. Tab. 20)

Die Analysen der Ammonium-Konz. im Mischbehälter zeigen, dass es in beiden Systemen (Batch 1 und Batch 2), trotz Beimpfung, ca. 40 d bis 50 d dauerte bis eine messbare Nitrifikationsaktivität zu beobachten war (s. Abb. 38).

Da die Zugabe von Ammonium-Salzen manuell erfolgte, sind Schwankungen bei den NH_4^+ -N Konz. und den Nitrifikationsraten erkennbar. Die beiden Batch-Systeme verhielten sich dabei sehr ähnlich.

Auch die Nitratkonzentrationen zeigen, dass die Nitrifikationsaktivität erst nach 40 d messbar wird (s. Abb. 39). Bei den Nitritkonzentrationen zeigt sich allerdings ein Unterschied zwischen Batch 1 und Batch 2. In Batch2 stiegen die NO_2^- -N-Konz. beim Anfangs-Nitrit-Peak zwischen 20 d und 40 d auf maximal 15 mg/L, während die Konz. bei Batch 1 nur auf maximal 1,4 mg/L anstiegen. Auch danach waren in Batch 2 noch zwei weitere höhere Nitrit-Peaks zu beobachten, die vermutlich die Reaktion auf die Stoßbelastung mit hohen Ammoniumkonzentrationen war. Warum diese Reaktionen bei Batch 1 geringer ausgeprägt waren, konnte nicht geklärt werden.

5.2.1.3 Ergebnisse Nitrit, Nitrat und Denitrifikationsrate

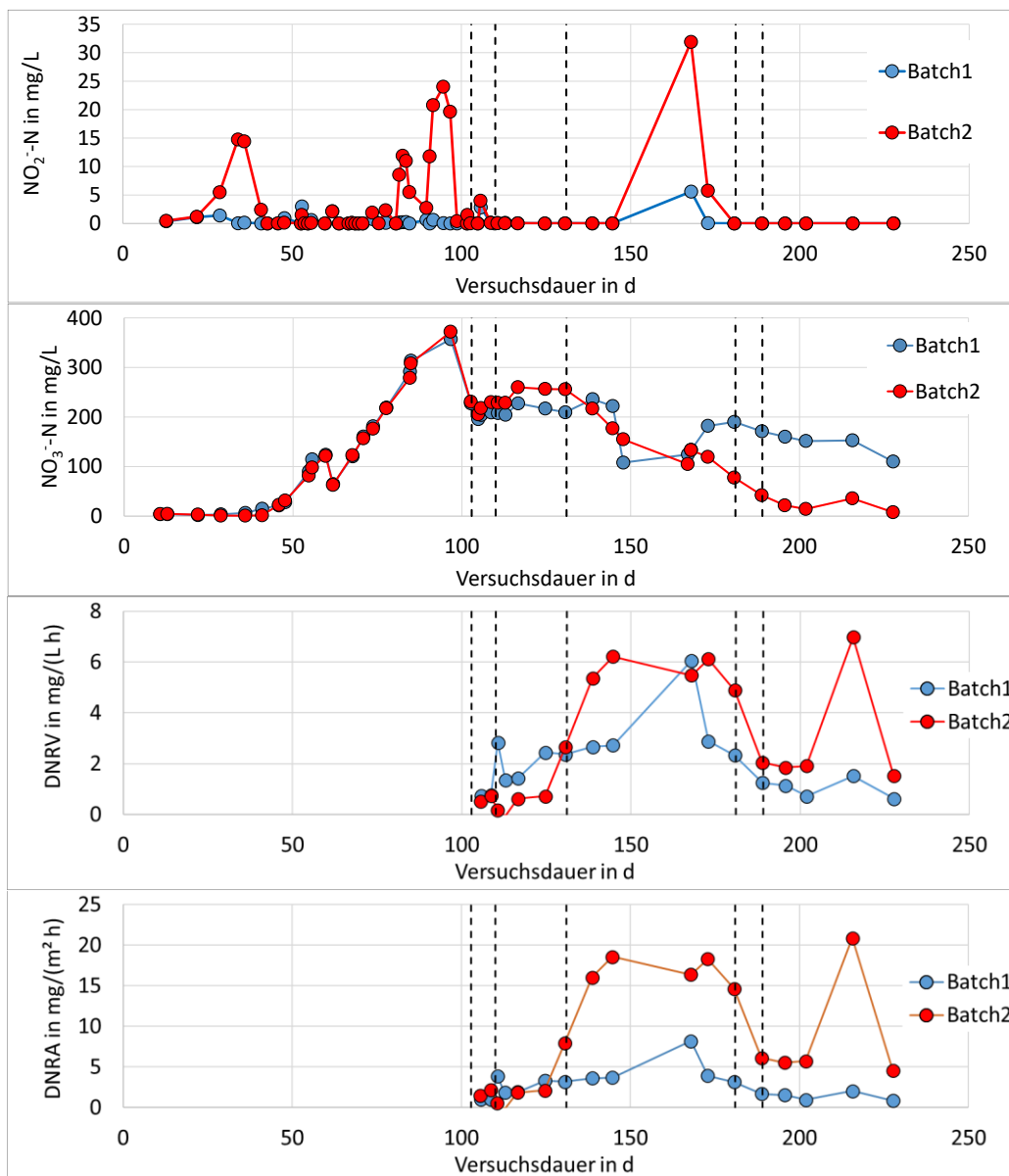


Abb. 39: Oben: Nitrit Konz. Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln)
 Mitte oben: Nitrat Konz. Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln)
 Mitte unten: Volumenbezogene Denitrifikationsrate (DNRV) Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln)
 Unten: Oberflächenbezogene Denitrifikationsrate (DNRA) Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) jeweils im Mischbehälter (gestrichelte Linien: Probenahme-Zeitpunkte, s. Abb. 38)

In Phase 2 (ab 103. d) kam jeweils ein Denitrifikationsreaktor zum Batch-System hinzu (s. Abb. 39, Probenahme P1). Von da an wurde das Nitrat wieder reduziert, das davor durch die Nitrifikation angestiegen war. Es wurde auch in Phase 2 immer wieder Ammonium zugegeben. Die Denitrifikationsraten waren bei PCL (Batch 1) im Vergleich zu Batchversuch 2 niedriger, bei Cellulose-Fettkugeln (Batch 2) waren die Maximalwerte ähnlich.

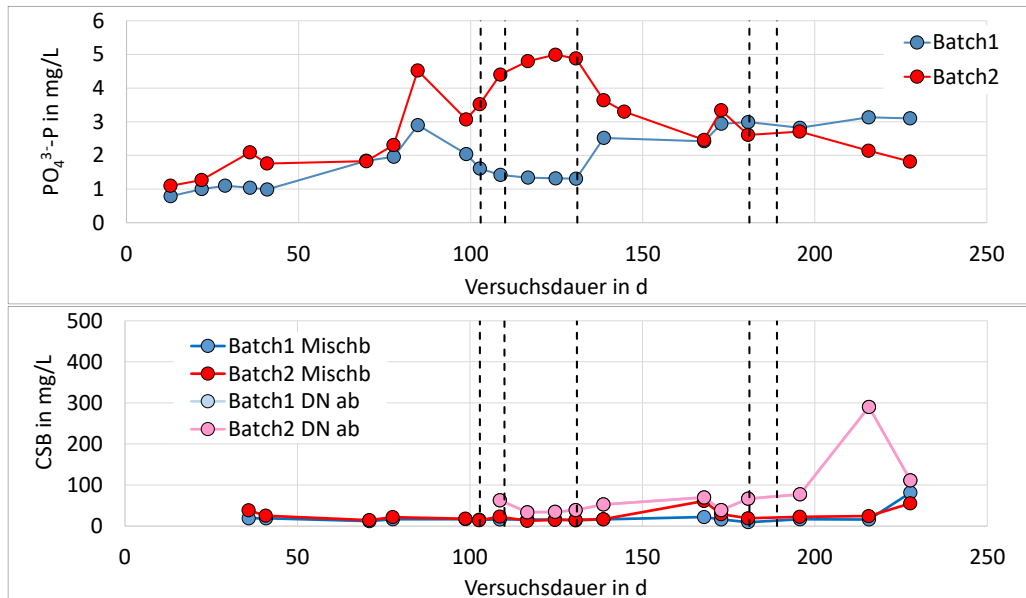


Abb. 40: Oben: Phosphat Konzentrationen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter

Unten: CSB Konzentrationen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter und im Ablauf des Denitrifikationsreaktors (gestrichelte Linien P1 bis P5 sind die Probenahme-Zeitpunkte)

Die Phosphat-Konzentrationen lagen über die Versuchsdauer immer über 1 mg/L (s. Abb. 40). Die CSB-Werte blieben konstant unter 100 mg/L im Ablauf des Denitrifikationsreaktors außer am Ende des Versuchs in Batch 2 (s. Abb. 40). Die pH-Werte schwankten zwischen 6,5 und 9, da hier eine manuelle Zugabe von Na₂CO₃ zur pH-Regulierung erfolgte, während die Temperaturen überwiegend bei ca. 26 °C lagen (s. Abb. 41).

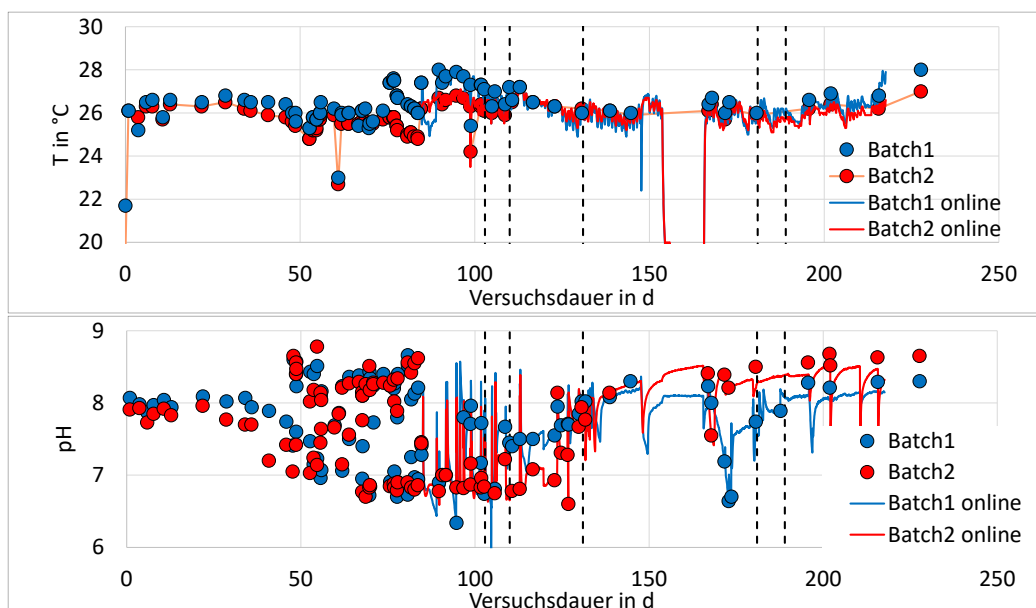


Abb. 41:

Oben: Temperaturen Batch 1 (PCL) und Batch 2 (Cellulose-Fettkugeln) im Mischbehälter

Unten: pH-Werte im Mischbehälter

Auch die Sauerstoff Konzentrationen schwankten, aufgrund der unregelmäßigen Belüftung im Mischbehälter (s. Abb. 42).

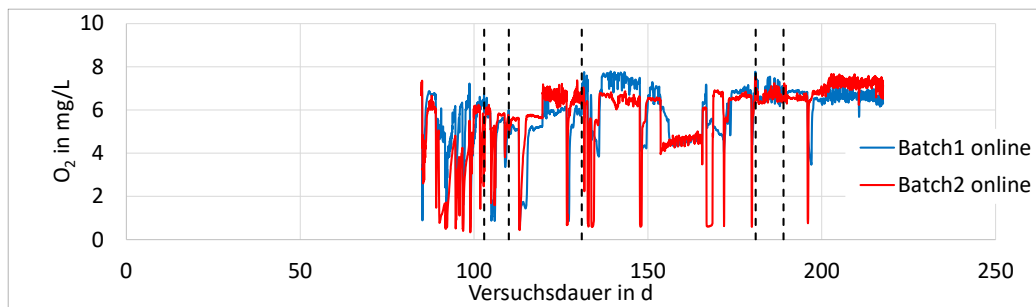


Abb. 42: Sauerstoff-Konzentrationen im Mischbehälter (gestrichelte Linien P1 bis P5 sind die Probenahme-Zeitpunkte)

5.2.1.4 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen Batchversuch 1

Die Gesamtkeimzahlen der Wasserproben der Nitrifikation aus Anlage 1 lagen im Durchschnitt bei $1,32 \cdot 10^4$ und waren damit etwas niedriger als die Werte aus Anlage 2 ($2,18 \cdot 10^4$), s. Abb. 43. Dabei unterlagen beide Wasserproben über die Versuchsdauer ähnlichen Schwankungen von $3,28 \cdot 10^2 - 4,07 \cdot 10^4$ (Anlage 1) und $2,84 \cdot 10^2 - 7,5 \cdot 10^4$ (Anlage 2). In den Wasserproben der Denitrifikation aus Anlage 1 (PCL) wurde mit etwa $6,96 \cdot 10^5 \pm 2,68 \cdot 10^5$ mehr als doppelt so viele Gesamtbakterien nachgewiesen wie in den Proben von Anlage 2 (Cellulose-Fettkugeln), die $2,76 \cdot 10^5 \pm 8,56 \cdot 10^4$ Bakterien enthielten. Insgesamt wurden in den Denitrifikationsproben deutlich mehr Bakterien isoliert als in den Nitrifikationsproben.

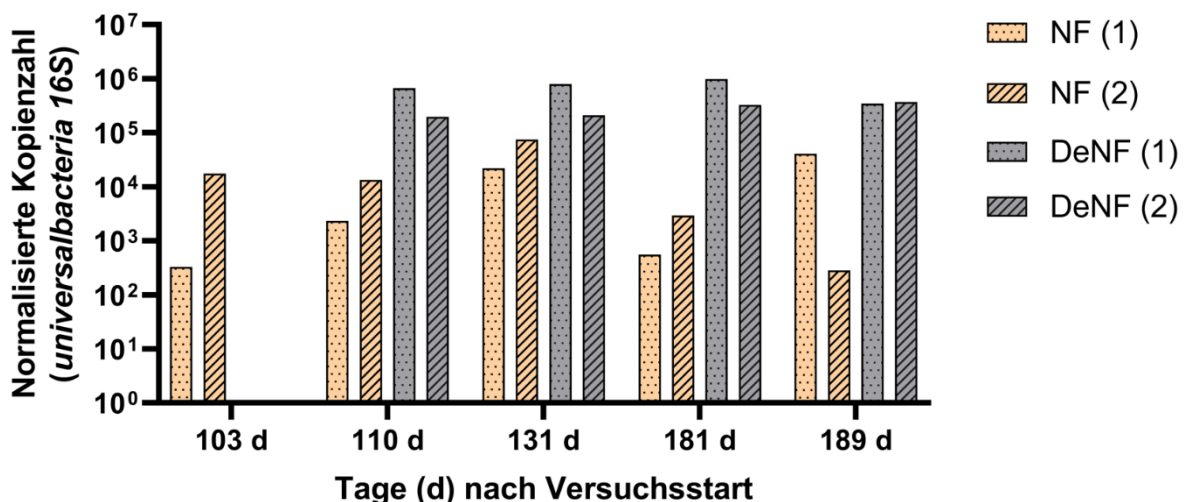


Abb. 43: Wasserproben aus dem Nitrifikationsreaktor der Anlage 1 (NF(1)), Nitrifikationsreaktor der Anlage 2 (NF(2)), Denitrifikationsreaktor der Anlage 1 (DeNF (1)) und dem Denitrifikationsreaktor der Anlage 2 (DeNF (2)). Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 103, 110, 131, 181 und 189 Tage nach Versuchsstart.

Zusätzlich zu den Wasserproben wurde die bakterielle Besiedlung der Aufwuchskörper in Bezug auf die Gesamtkeimzahl untersucht (s. Abb. 44). Im Vergleich zeigten die „Turbo FilterPerlen“ der Nitrifikation in Anlage 1 über den gesamten Versuchszeitraum hinweg mit durchschnittlich $8,67 \cdot 10^3$ Kopien eine geringere Bakterienanzahl als das „Bio FilterGranulat“ in Anlage 2 ($2,93 \cdot 10^4$). Dabei schwankten die Keimzahlen aus Anlage 1 zwischen $3,6 \cdot 10^2 - 4,13 \cdot 10^4$ Kopien und Anlage 2 zwischen $1,23 \cdot 10^4 - 6,16 \cdot 10^4$ Kopien. Ab dem 110. Versuchstag wurden zudem Proben der Aufwuchsmaterialien aus den Denitrifikationsreaktoren entnommen. Aus dem PCL-Material der Denitrifikation in Anlage 1 ergaben sich über den gesamten Versuchszeitraum durchschnittliche Keimzahlen von $1,83 \cdot 10^5$ (mit einem Bereich von $4,29 \cdot 10^4$ bis $4,29 \cdot 10^5$). Im Vergleich dazu wiesen die Ratz-

Kugeln mit durchschnittlich $4,49 \cdot 10^4$ Kopien deutlich geringere Keimzahlen auf. Dabei ist zu beachten, dass bei drei Messungen der Ratz-Kugeln kaum Bakterien nachgewiesen werden konnten. Insbesondere das PCL-Material scheint sich somit als effektives Aufwuchsmaterial für Bakterien für die Denitrifikation zu eignen.

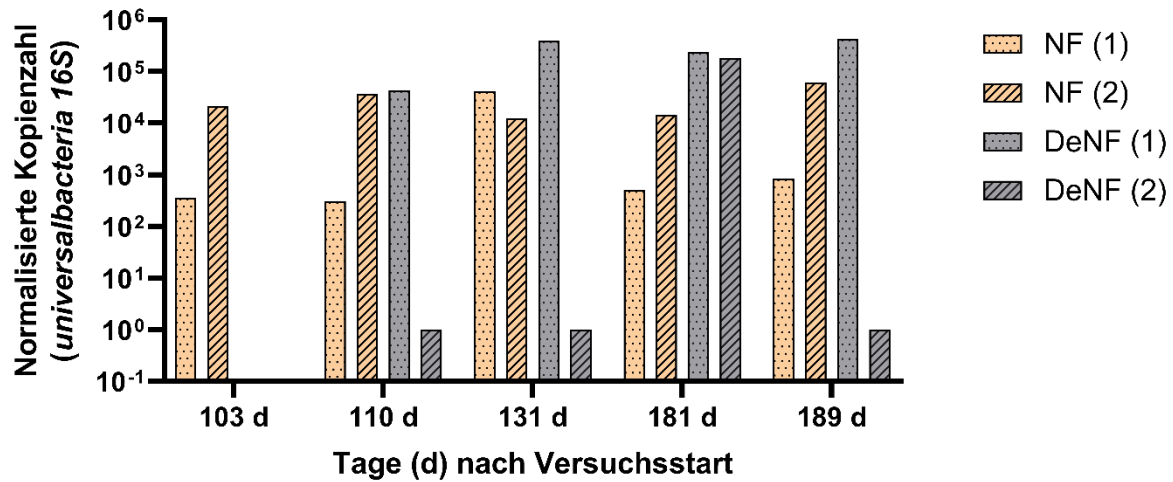


Abb. 44: Proben der Aufwuchsmaterialien aus dem Nitrifikationsreaktor der Anlage 1 (NF(1)), Nitrifikationsreaktor der Anlage 2 (NF(2)), Denitrifikationsreaktor der Anlage 1 (DeNF (1)) und dem Denitrifikationsreaktor der Anlage 2 (DeNF (2)). Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 103, 110, 131, 181 und 189 Tage nach Versuchsstart.

5.2.2 Batchversuch 2 (Versuchsbeschreibung s. Kap. 4.5.3)

Das Ziel des Versuchs war es, die Denitrifikation mit BAFs in Meerwasser zu untersuchen. Im Gegensatz zum Batchversuch 1 wurde hier kein Nitrifikationsreaktor eingesetzt.

5.2.2.1 Probenahmen für Ermittlung der Gesamtkeimzahl (TiHo)

Zur Bestimmung der Bakterien-Keimzahlen im Wasser der Reaktoren und in den Biofilmen der Trägermaterialien wurden zu verschiedenen Zeitpunkten Proben genommen, s. Tab. 21 und Tab. 22.

Die erste Probenahme erfolgte nach dem Anfahren der Denitrifikationsreaktoren

An jedem Probenahme-Zeitpunkt wurden folgende Proben genommen:

40 mL Wasser aus dem Denitrifikationsreaktor

ein paar Aufwuchskörper aus dem Denitrifikationsreaktor (Biofilm)

Die Aufbereitung der Proben und die Quantifizierung erfolgte analog zu Kap. 4.6.16, die Ergebnisse werden in Kap. 5.2.2.5 gezeigt.

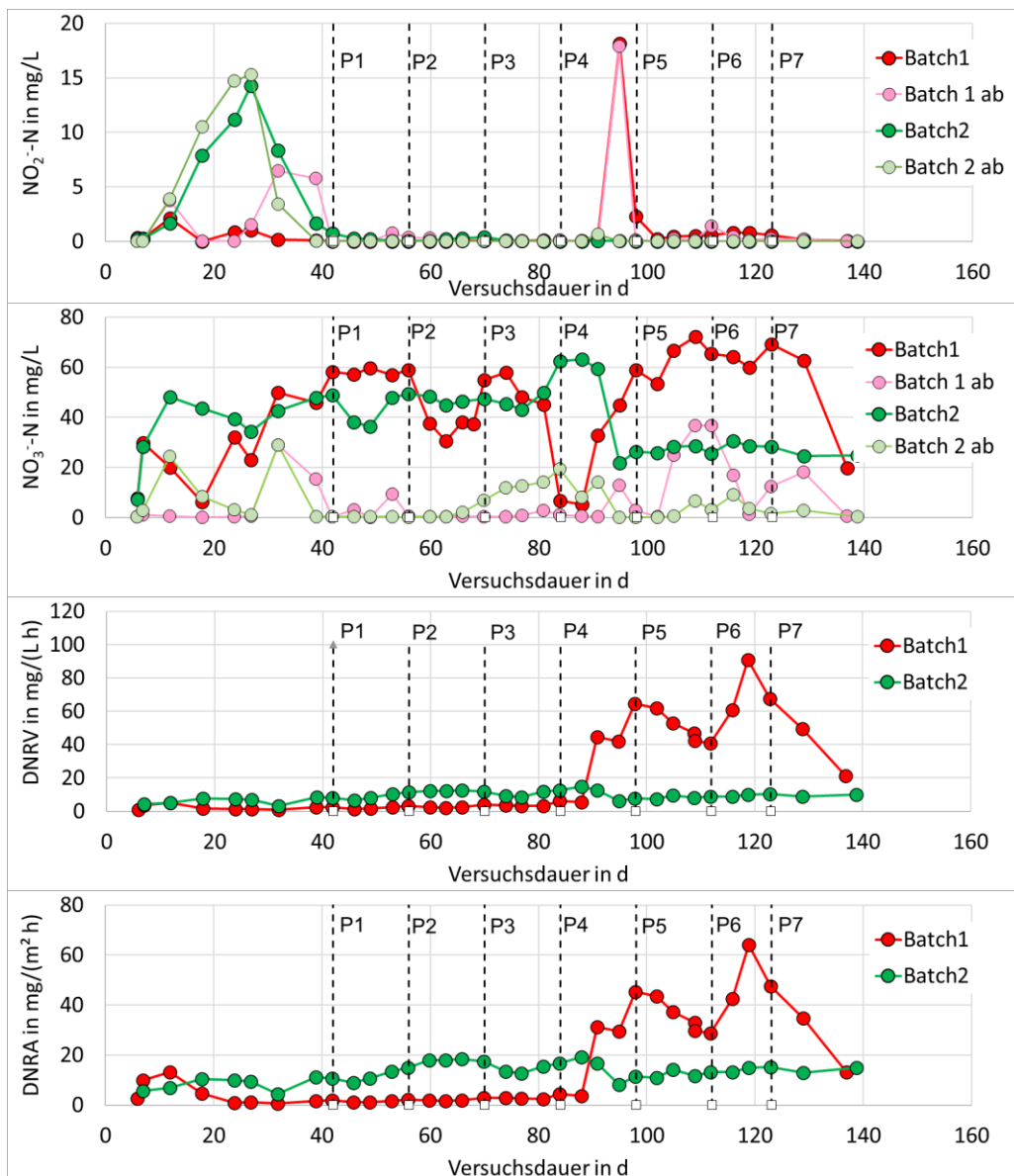
Tab. 21: Batchversuch 1 Materialien für Denitrifikationsreaktor

Anlage	Material
Batch 1	PHB in Meerwasser
Batch 2	PCL in Meerwasser
Batch 3	Ratz-Kugeln (Cellulose-Fett) in Meerwasser
Batch 4	Ratz-Kugeln (Cellulose-Fett) in Süßwasser

Tab. 22: Zeitpunkte der Probenahme Batchversuch 2

Name	Zeit in d Batch 1	Zeit in d Batch 2	Zeit in d Batch 3	Zeit in d Batch 4
P1	42	42	22	21
P2	56	56	36	35
P3	70	70	50	49
P4	84	84	64	63
P5	98	98	78	77
P6	112	112	92	91
P7	123	123	103	102

5.2.2.2 Ergebnisse Nitrit, Nitrat und Denitrifikationsrate

Abb. 45: Oben: NO₂-N Konz. Batch 1 (PHB Meerwasser) u. Batch 2 (PCL Meerwasser) in Mischbehälter (Batch1, Batch2) u. Ablauf Reaktor (Batch1 ab, Batch2 ab)Mitte oben: NO₃-N Konz. (gleiche Bezeichnungen)

Mitte unten: Volumenbezogene Denitrifikationsraten (DNRV, Batch1: 22 °C 27 °C, Batch2: 20 °C ... 22 °C, s. Gl. (3))

Unten: Oberflächenbezogene Denitrifikationsraten (DNRA, Batch1: 22 °C ...27 °C, Batch2: 20 °C ... 22 °C, s. Gl. (5)), Gestrichelte Linien: Probenahme-Zeitpunkte P1...P7, s. Tab. 22

Die Konzentrationen von Nitrat und Nitrit wurden verfolgt, um die Denitrifikationsraten zu bestimmen (s. Abb. 45, Abb. 46). Auch war es so möglich korrektive Eingriffe vorzunehmen. So führt eine niedrige Nitratkonzentration im Mischbehälter (Zulauf) bei geringen Volumenströmen zur Reduktion der Aktivität von Denitrifikanten im Reaktor und in extremen Fällen zu anaerobem Milieu. Die Nitratkonzentration wurde durch automatische Dosierung von HNO_3 und teilweise auch durch manuelle Zugabe von NaNO_3 in den Mischbehälter aufrechterhalten.

Eine hohe Nitritkonzentration im Ablauf ist ein Indikator, dass der Denitrifikationsprozess inkomplett ist. Die Ursache dafür ist oft eine niedrige hydraulische Verweilzeit, was durch hohen Durchfluss verursacht wird. Daher wurde bei hohen Nitritkonzentrationen der Durchfluss reduziert, um wieder eine akzeptable Nitrit-Konzentration im Ablauf zu erhalten ($< 1 \text{ mg/L}$). Andererseits wurden bei niedrigen Nitrat- und Nitritkonzentrationen im Ablauf der Durchfluss erhöht, um die Denitrifikationsrate zu erhöhen.

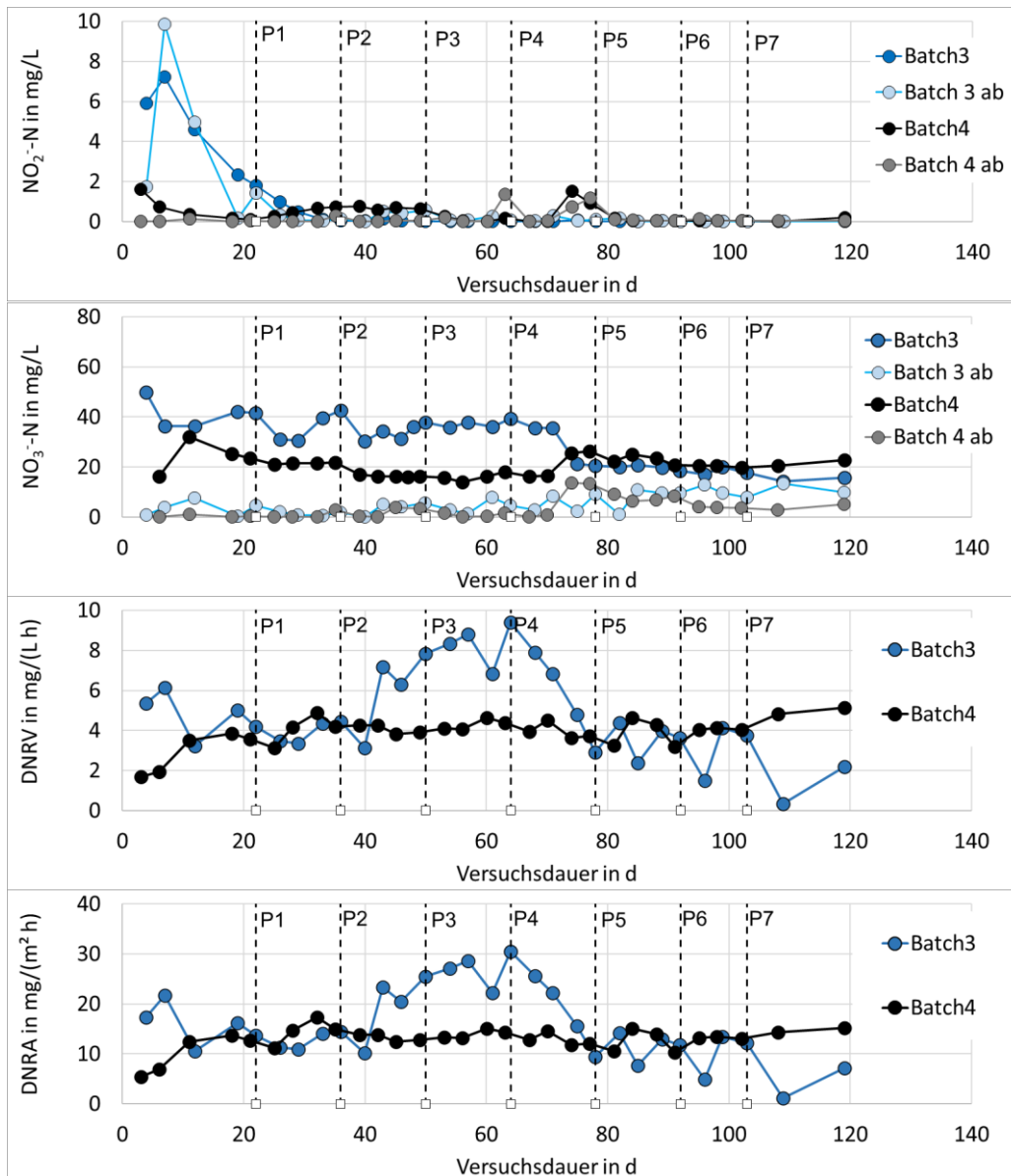


Abb. 46: Oben: Nitrit Konzentrationen Batch 3 (Ratz-Kugeln Meerwasser) und Batch 4 (Ratz-Kugeln Süßwasser) in Mischbehälter (Batch3, Batch4) und Ablauf Reaktor (Batch3 ab, Batch4 ab)
 Mitte oben: Nitrat Konzentrationen (Bezeichnungen wie oben)
 Mitte unten: Volumenbezogene Denitrifikationsraten (DNRV, 20 °C bis 22 °C, s. Gl. (3))
 Unten: Oberflächenbezogene Denitrifikationsraten (DNRA, 20 °C bis 22 °C, s. Gl. (5))
 Gestrichelte Linien: Probenahme-Zeitpunkte P1...P7)

Bei den Denitrifikationsraten (s. Abb. 45, Abb. 46) fällt auf, dass sie bei PCL (Batch 2) mit Mittelwerten von 9 mg/(L h) bzw. $13 \text{ mg/(m}^2 \text{ h)}$ relativ stabil waren, während sie bei Batch 1 (PHB) in den ersten 80 d sehr niedrig waren, danach aber bis zu 90 mg/(L h) bzw. $64 \text{ mg/(m}^2 \text{ h)}$ anstiegen.

Ein Grund dafür könnten die höheren Temperaturen (bis zu 27 °C) im Batchversuch 1 sein (s. Abb. 47). Eine weitere Ursache waren die zu niedrigen Volumenströme durch den Reaktor zu Beginn der Versuche, so dass sich anaerobe Bedingungen einstellten, was auch an den CSB-Konzentrationen im Ablauf des Reaktors erkennbar ist (s. Abb. 49). Nach Erhöhung der Volumenströme stiegen auch die Denitrifikationsraten an.

Der Vergleich der Cellulose-Fett-Kugeln in Meerwasser und in Süßwasser zeigte deutlich höhere Nitritkonzentrationen in der Anlaufphase im Meerwasser (s. Abb. 50). Die Denitrifikationsraten waren überwiegend in einer ähnlichen Größenordnung mit Mittelwerten von 5 mg/(L h) bzw. 16 mg/(m² h) bei Meerwasser und 4 mg/(L h) bzw. 13 mg/(m² h) bei Süßwasser. Im Süßwasser war die Denitrifikationsleistung gleichmäßiger.

5.2.2.3 Sauerstoff, pH und Temperatur

Die Temperaturen lagen bei allen Batchtest bei ca. 20 °C bis 22 °C, nur bei Batch 1 waren sie höher und schwankten zudem (s. Abb. 47 und Abb. 48). Dies lag an einem unzuverlässigen Magnetrührer, der sich zu stark erhitze und außerdem immer wieder den Dienst einstellte.

Die pH-Werte blieben durch die Regelung über eine HNO₃-Dosierung weitgehend konstant. Da die Sauerstoffkonzentrationen im Mischbehälter immer wieder absanken, musste die Belüftung jeweils manuell nachreguliert werden.

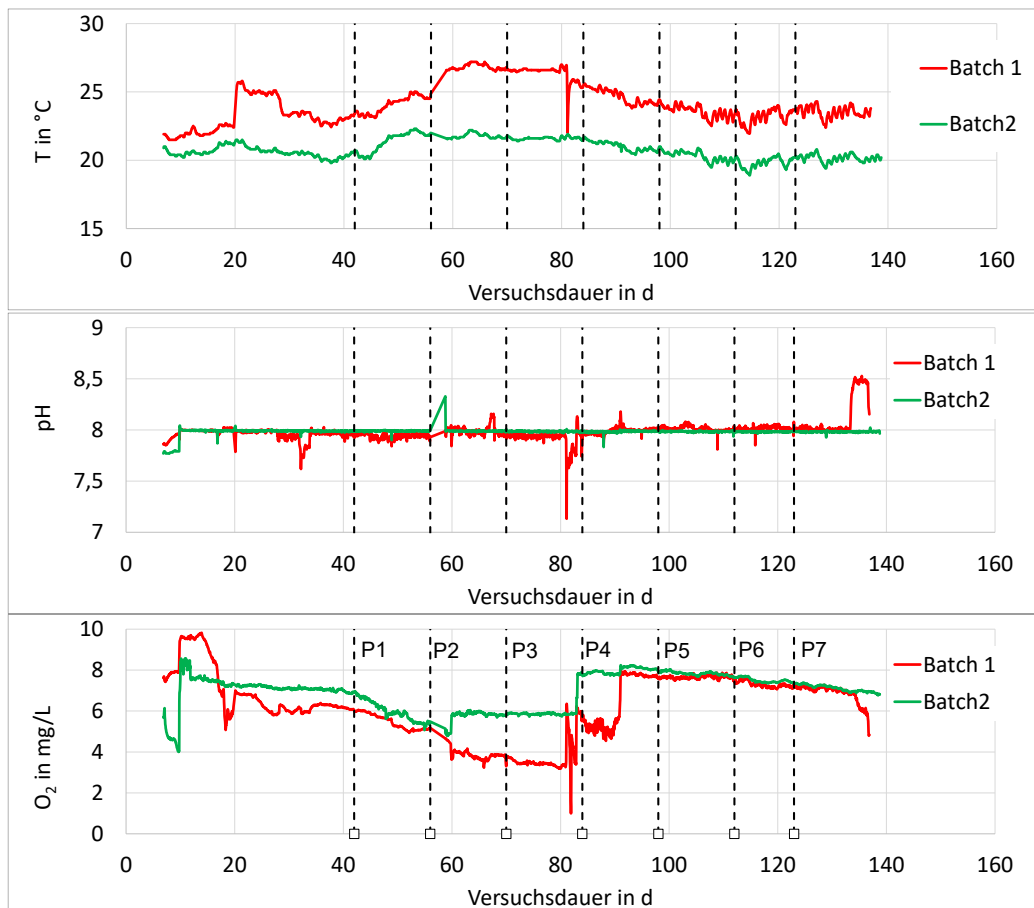


Abb. 47: Oben: Temperaturen Batch 1 (PHB) und Batch 2 (PCL) im Mischbehälter

Mitte: pH-Werte im Mischbehälter

Unten: Sauerstoff-Konzentrationen im Mischbehälter (gestrichelte Linien P1 bis P7 sind die Probenahme-Zeitpunkte)

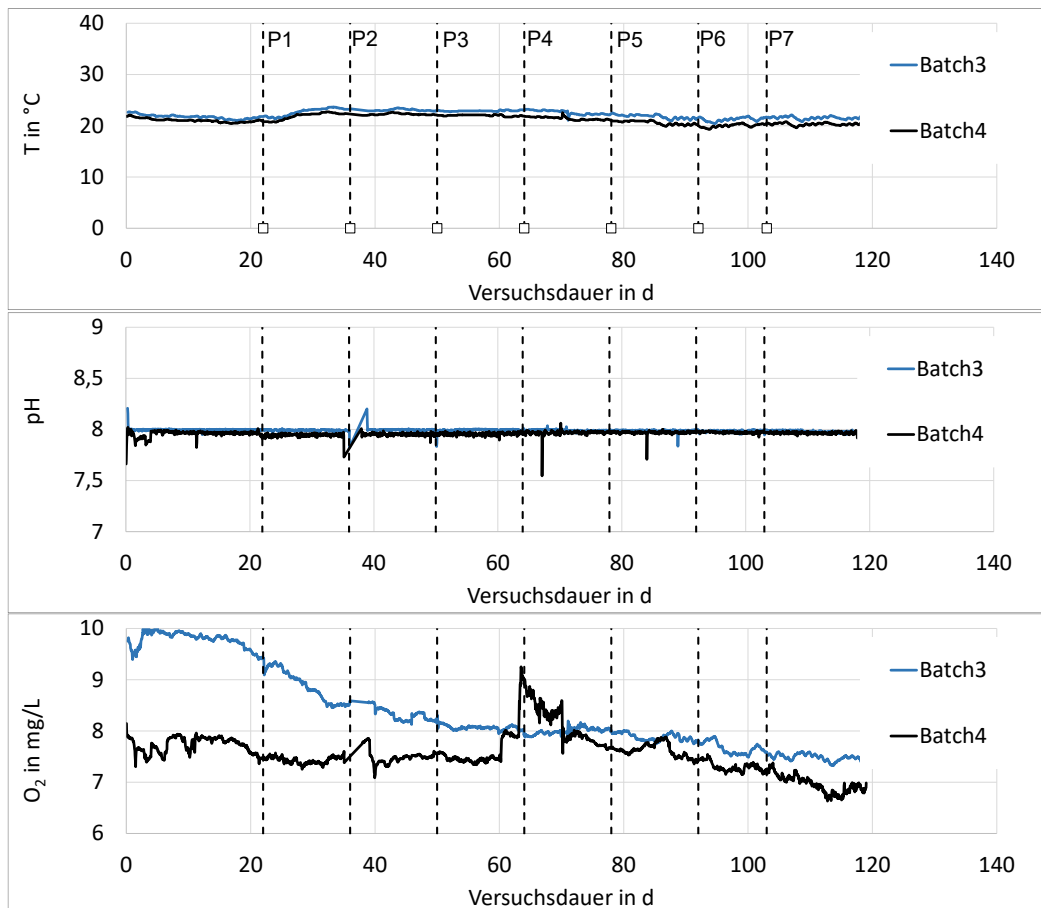


Abb. 48: Oben: Temperaturen Konzentrationen Batch 3 (Ratz-Kugeln Meerwasser) und Batch 4 (Ratz-Kugeln Süßwasser) im Mischbehälter

Mitte: pH-Werte im Mischbehälter

Unten: Sauerstoff-Konzentrationen im Mischbehälter (gestrichelte Linien P1 bis P7 sind die Probenahme-Zeitpunkte)

5.2.2.4 Weitere Inhaltsstoffe

Die CSB-Konzentrationen waren im Ablauf immer höher als im Zulauf (s. Abb. 49, Abb. 50). In Batch 1 stiegen im Laufe der Zeit die CSB-Konzentrationen auch im Mischbehälter an. Dies könnte auf das beobachtete starke Biomassewachstum im Mischbehälter zurück zu führen sein. Phosphat musste mehrfach manuell nachdosiert werden, um ausreichende Konzentrationen (ca. 1 mg/L $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) zu gewährleisten.

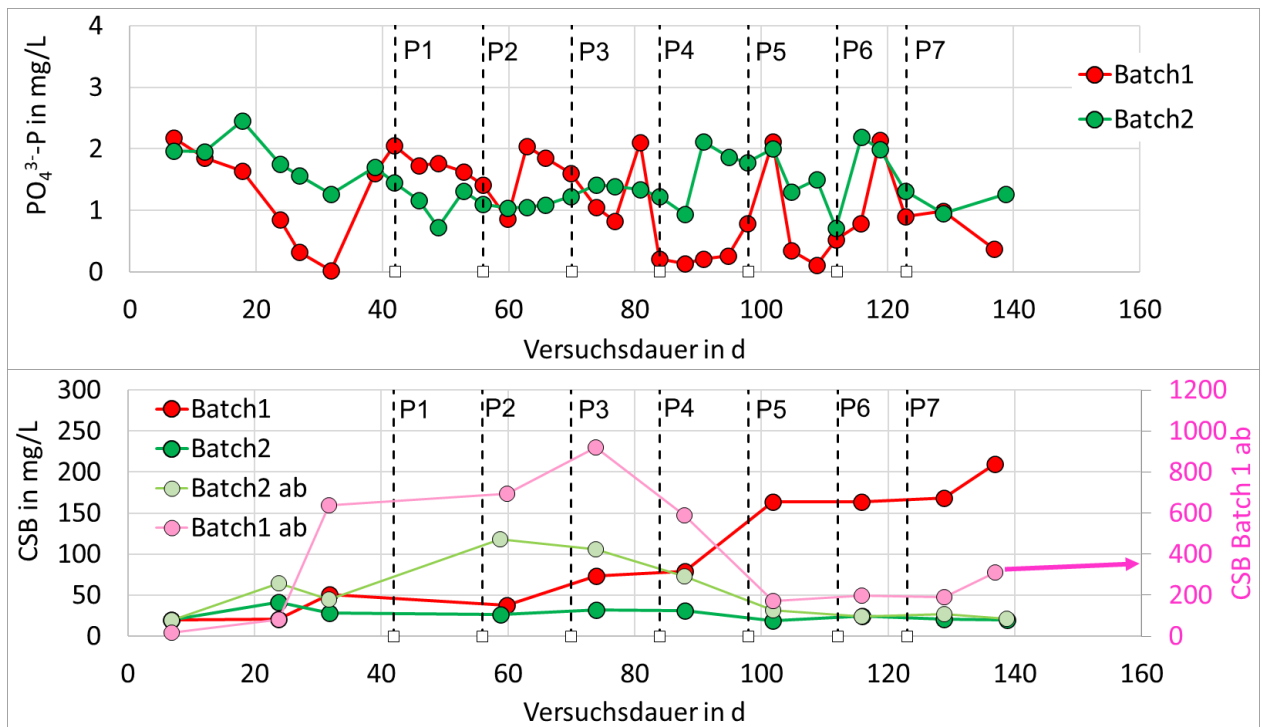


Abb. 49: Oben: Phosphat Konz. Batch 1 (PHB) u. Batch 2 (PCL) im Mischbehälter
 Unten: CSB Konz. im Mischbehälter (Batch1, Batch2) u. im Ablauf des Denitrifikationsreaktors (Batch1 ab, Batch2 ab)
 gestrichelte Linien P1 ... P7 sind die Probenahme-Zeitpunkte; („Batch 1 ab“ korrespondiert zur rechten Ordinatenachse)

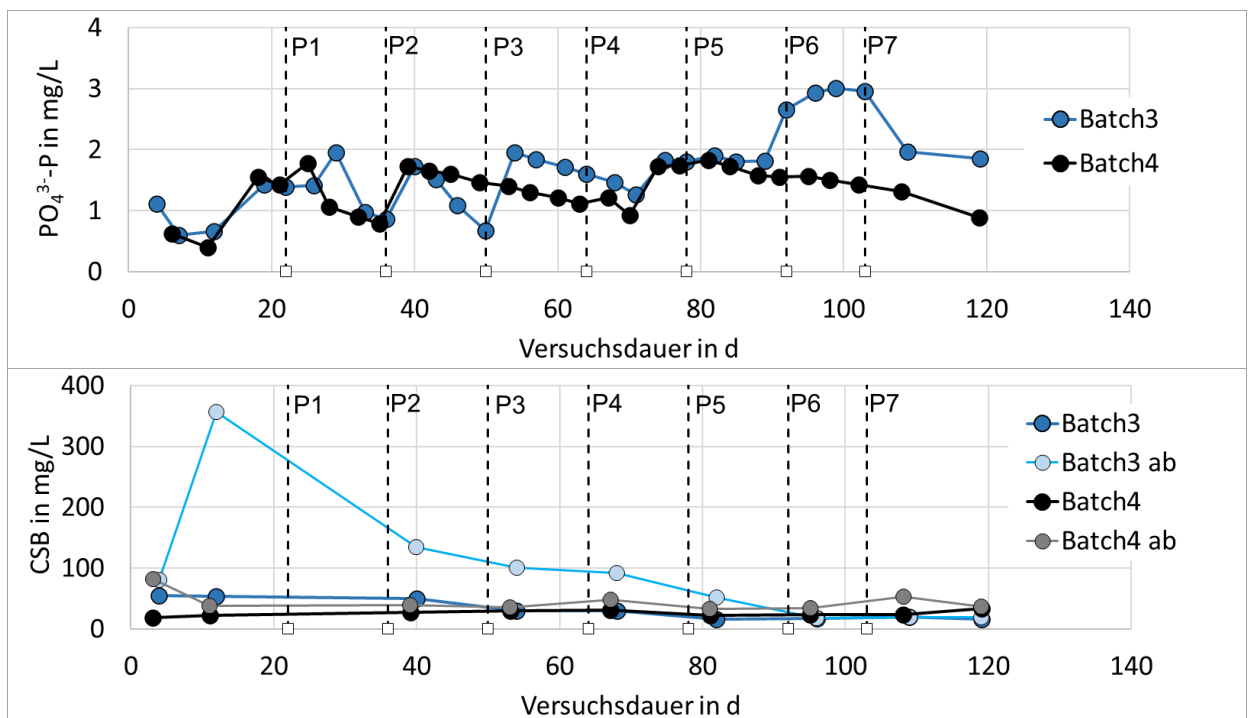


Abb. 50: Oben: Phosphat Konz. Batch 3 (Ratz-Kugeln Meerwasser) u. Batch 4 (Ratz-Kugeln Süßwasser) im Mischbehälter
 Unten: CSB Konz. im Mischbehälter (Batch3, Batch4) u. im Ablauf des Denitrifikationsreaktors (Batch3 ab, Batch4 ab)
 Gestrichelte Linien P1 ... P7 sind die Probenahme-Zeitpunkte

5.2.2.5 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen Batchversuch 2

In den Wasserproben der Denitrifikationsreaktoren konnten in allen Proben hohe Gesamtbakterienzahlen mittels PCR nachgewiesen werden (s. Abb. 51 und Abb. 52). Die niedrigsten Keimzahlen wurden in den Ratz-Kugeln der Süßwasser-Anlage ermittelt ($3,75 \cdot 10^5 \pm 7,02 \cdot 10^4$). In den Denitrifikationsreaktoren mit den Materialien PHB ($5,49 \cdot 10^5 \pm 3,15 \cdot 10^5$) und PCL ($5,72 \cdot 10^5 \pm 5,41 \cdot 10^5$) wurden im Durchschnitt nahezu identische Keimzahlen nachgewiesen. Die höchsten Keimzahlen fanden sich in den Wasserproben der Meerwasser-Anlage mit den Ratz-Kugeln ($7,76 \cdot 10^5 \pm 4,38 \cdot 10^5$), wobei die Bakterienanzahl in der Meerwasser-Anlage fast doppelt so hoch war wie in der Süßwasser-Anlage.

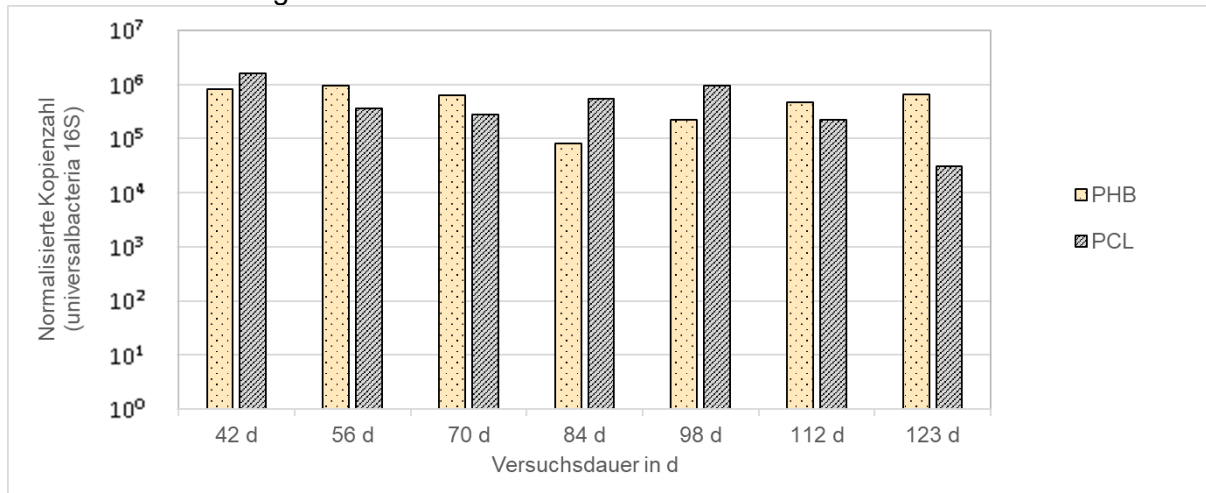


Abb. 51: Wasserproben aus den Denitrifikationsreaktoren mit biologisch abbaubaren Festsubstraten. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 42 d, 56 d, 70 d, 84 d, 98 d, 112 d und 123 d (Tage) nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). PHB = Biopol D400G Natural Monsanto Europe 03/1998, PCL = Tone Polymer P767E Union Carbide 11/2000

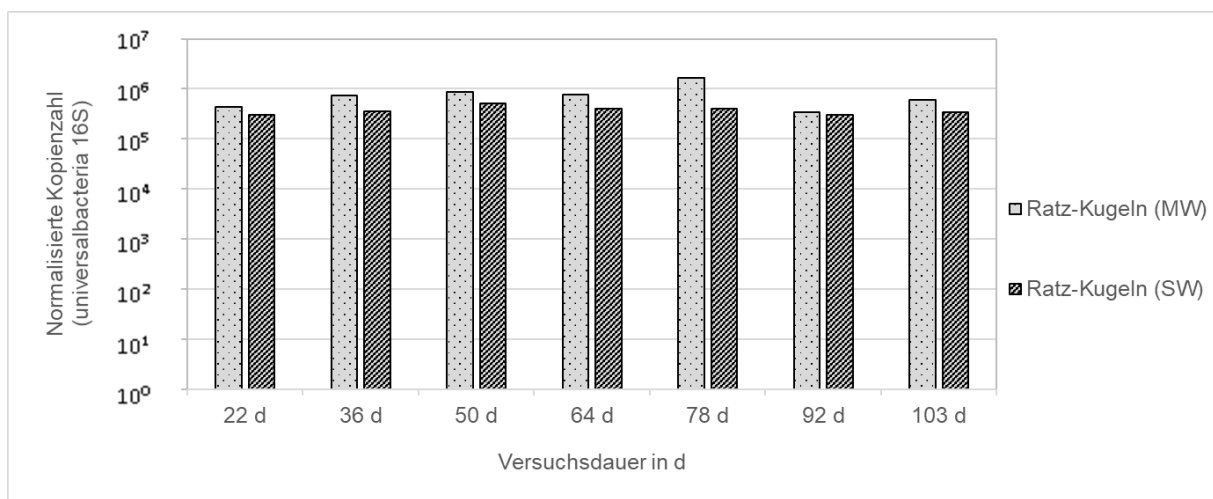


Abb. 52: Wasserproben aus den Denitrifikationsreaktoren mit biologisch abbaubaren Festsubstraten. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 22 d, 36 d, 50 d, 64 d, 78 d, 92 d und 103 d nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). Ratz-Kugeln (MW) = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln $\varnothing$ 10 mm) Meerwasser, Ratz-Kugeln (SW) = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln $\varnothing$ 10 mm) Süßwasser.

Im Gegensatz zu den Wasserproben wiesen die Proben der Aufwuchsmaterialien eine deutlich höhere Varianz in den quantitativen Bakteriennachweisen auf (s. Abb. 53, Abb. 54). Die niedrigsten Keimzahlen wurden in den Denitrifikationsreaktoren mit den Ratz-Kugeln als Aufwuchsmaterial festgestellt. Trotz der hohen Mittelwerte war die Varianz zwischen den Proben eines Reaktors sehr groß: In der Meerwasser-Anlage lag diese bei $1,99 \cdot 10^5 \pm 4,02 \cdot 10^5$, in der Süßwasser-Anlage bei $3,42 \cdot 10^5 \pm 8,01 \cdot 10^5$. Die höchsten Keimzahlen wurden, ähnlich wie im Batchversuch 1, aus den PCL-

Materialien als Aufwuchsmaterial nachgewiesen. Mit Gesamtkeimzahlen von $1,72 \cdot 10^6 \pm 1,08 \cdot 10^6$ Kopien wurden deutlich mehr Bakterien detektiert als im Denitrifikationsreaktor mit PHB als Aufwuchsmaterial, dessen Keimzahlen bei $3,47 \cdot 10^5 \pm 4,72 \cdot 10^5$ lagen. Batchversuch 2 bestätigt die Hinweise aus Batchversuch 1 einer guten bakteriellen Ansiedlung von PCL-Material für die Denitrifikation

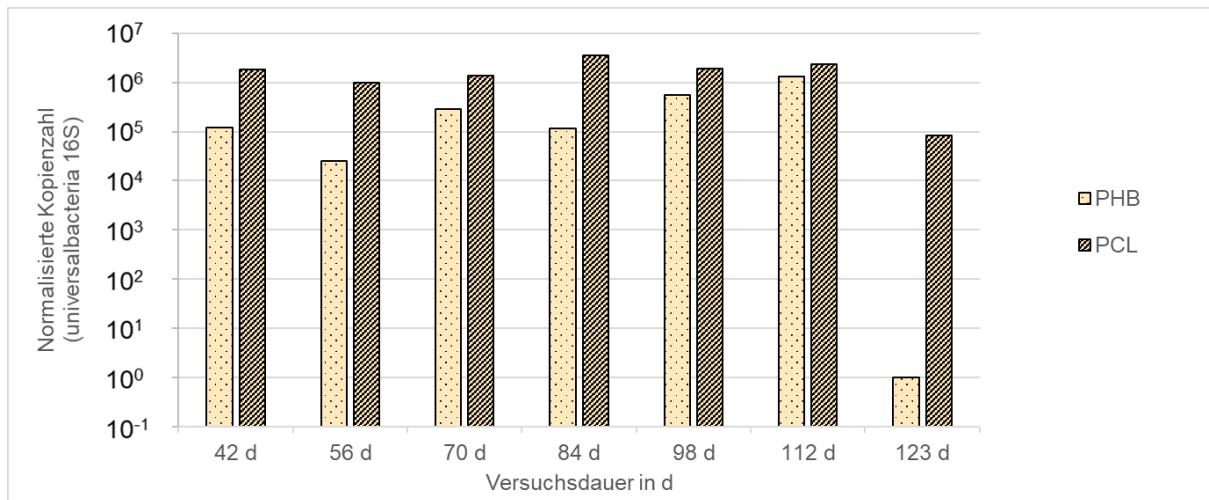


Abb. 53: Proben der Aufwuchsmaterialien aus den Denitrifikationsreaktoren mit unterschiedlichen Aufwuchsmaterialien. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 42 d, 56 d, 70 d, 84 d, 98 d, 112 d und 123 d (Tage) nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). PHB = Biopol D400G Natural Monsanto Europe 03/1998, PCL = Tone Polymer P767E Union Carbide 11/2000

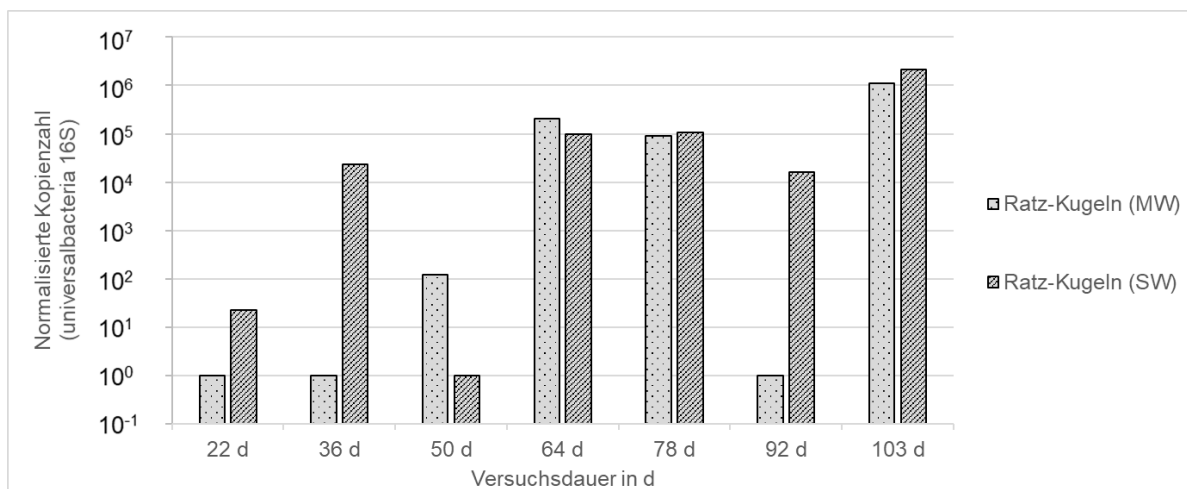


Abb. 54: Proben der Aufwuchsmaterialien aus den Denitrifikationsreaktoren mit unterschiedlichen Aufwuchsmaterialien. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 22 d, 36 d, 50 d, 64 d, 78 d, 92 d und 103 d nach Versuchsstart (entsprechend P1...P7). Ratz-Kugeln = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln $\varnothing$ 10 mm) Meerwasser, Ratz-Kugeln (SW) = Ratzkugeln (Fett-Cellulose-Kugeln $\varnothing$ 10 mm) Süßwasser.

5.3 Versuch mit dem MDR-Laborreaktor im Meerwasser-Aquarium von Aqua Schwarz (AP5, Versuchsbeschreibung s. Kap. 0)

Zunächst wurden beide Aquarien (Referenz und mit MDR) mit je ca. 100 Fischen (*Pterapogon kauderni*, Kardinalbarsch) besetzt. Mit diesen Fischen lagen bereits langjährige Erfahrungen vor. Zunächst nahmen diese Fische das Futter (Artemia, gefroren und aufgetaut) gut an. Im weiteren Verlauf, verendeten jedoch nach und nach viele Fische, so dass bei der Inbetriebnahme des Reaktors nur noch ca. 20 Tiere je Becken übrig waren. Partner TiHo untersuchte die Fische, jedoch konnte die Ursache des Problems nicht ermittelt werden.

Daher wurde entschieden, dass hier eine andere Fischart zum Einsatz kommen soll. So wurden die Becken nach 33 d neu besetzt und je 60 Azur Demoisellen (*Chrysiptera hemicyanea*, Länge ca. 3 cm ... 4 cm) in Referenz- und MDR-Becken eingesetzt (s. Abb. 55).

Gesamtmasse im Referenzbecken bei Start: 66,3 g

Gesamtmasse im MDR-Becken bei Start: 69,4 g

Futtermenge: ca. 0,015 g / (g Fisch * d)

Futterart: Organix Flakes (Söll)

Inhaltsstoffe: Rohprotein 41%; Rohfett 17%; Rohfaser 1%; Rohasche 6%



Abb. 55: Fischneubesatz nach 33 d.

Erst 28 d nach Start des Reaktors konnte auch die Steuerung und Dosierung, sowie die Aufzeichnung der Werte dauerhaft in Betrieb gehen. (Start des Reaktors = Tag 0).

Die folgenden Diagramme in diesem Kapitel (5.3) zeigen 60 min Mittelwerte, die aus den Daten der Online-Werte mit jeweils 1 min Abstand errechnet wurden. Ausnahmen sind gekennzeichnet

5.3.1 Vorversuch mit Membranmodul im Laborreaktor

Um die Funktion der Rezirkulationspumpe zu testen, wurden Fäden an die Membran-Oberkanten geklebt und die Rezirkulationspumpe angeschaltet (s. Abb. 56). Die Fäden zeigen eine gute Verteilung der Strömung über die Oberfläche des Membranmoduls an.

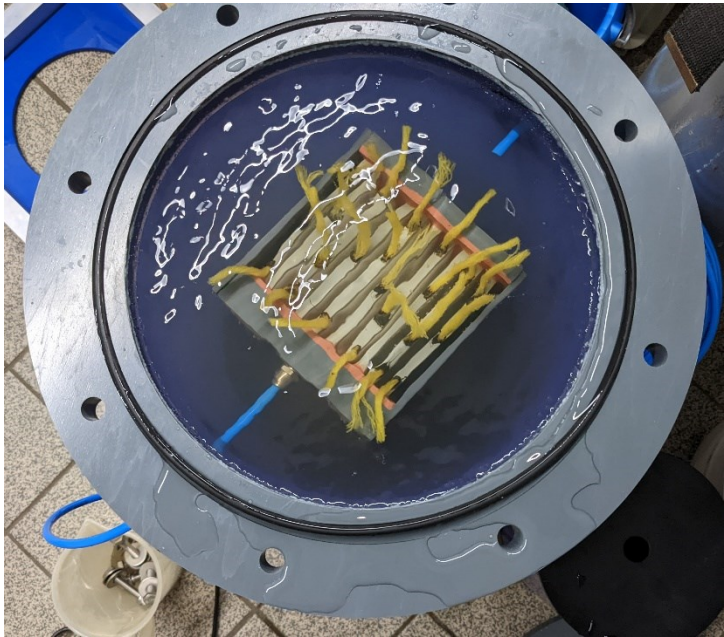


Abb. 56: Strömungsversuch im Laborreaktor

5.3.2 Nitrat-Konzentrationen, Volumenströme

Die Nitratkonzentrationen im Ablauf des Reaktors gingen sehr schnell zurück (s. Abb. 57), was daraufhin deutet, dass die Denitrifikation sehr schnell einsetzte. Vermutlich waren im Aquarienwasser bereits denitrifizierende Bakterien vorhanden, die sich durch die Ethanol-Dosierung schnell vermehrten. Die Konzentrationen im Becken B (Referenz) blieben ca. bis zum 100. d in etwa konstant.

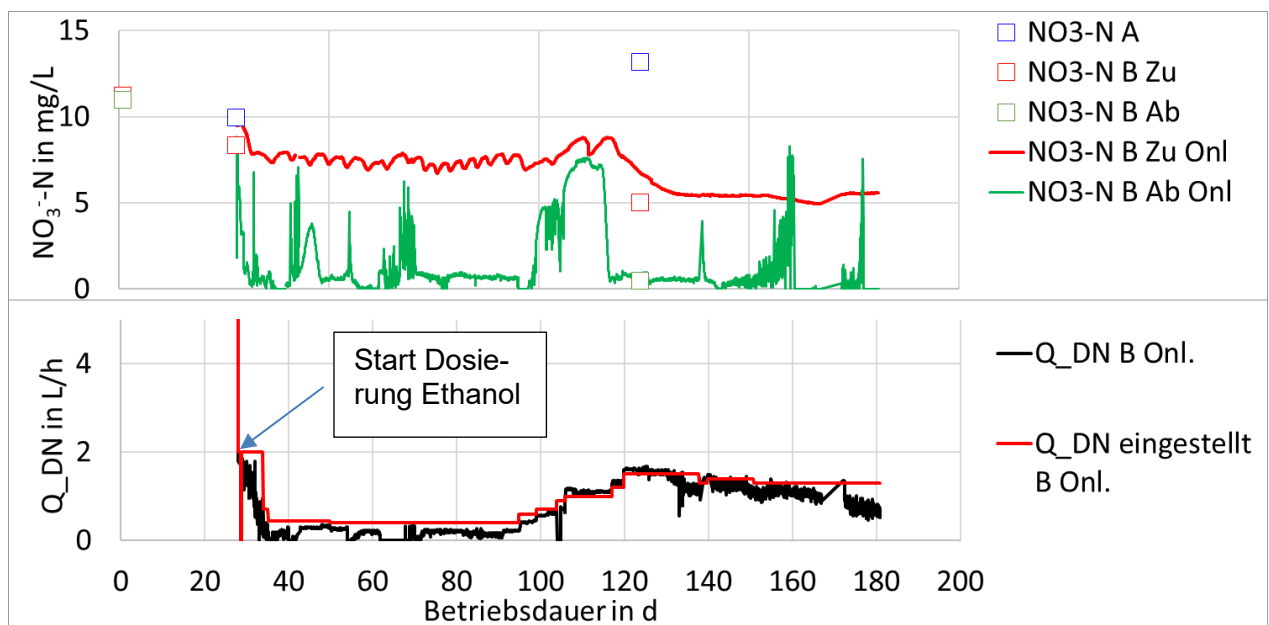


Abb. 57: Nitratkonzentrationen im Zu- und Ablauf des Laborreaktors.

NO₃-N A : NO₃⁻-N Analytik, Becken A;

NO₃-N B Zu: NO₃⁻-N Analytik, Zulauf Reaktor;

NO₃-N B Ab: NO₃⁻-N Analytik, Ablauf Reaktor;

NO₃-N B Zu Onl: NO₃⁻-N Sensor, Zulauf Reaktor;

NO₃-N B Ab Onl: NO₃⁻-N Sensor, Ablauf Reaktor;

Q_DN B Onl.: Volumenstrom durch den Reaktor;

Q_DN eingestellt B Onl.: An der Zulauf-Pumpe eingestellter Volumenstrom durch den Reaktor

Nachdem am 91. d das Steigrohr um ca. 70 cm erhöht wurde, und sich damit der TMP erhöhte (s. Kap. 5.3.5), konnte auch mehr Wasser die Membran passieren und der Zulauf-Volumenstrom erhöht werden (s. Abb. 57 unten). Da die Zulaufpumpe durch die Steuerung abgeschaltet wird, wenn der Wasserstand im Ausgleichsbehälter zu hochsteigt, ist der tatsächliche Volumenstrom (Mittelwerte) meistens kleiner als der eingestellte Volumenstrom.

5.3.3 Denitrifikationsraten, Nitrat und ORP

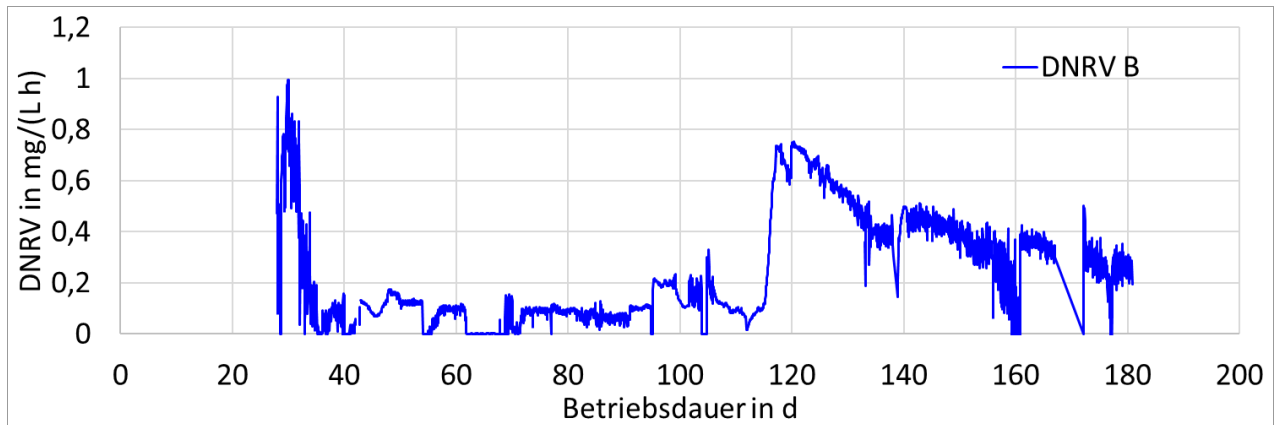


Abb. 58: Denitrifikationsraten System B mit MDR (DNRV B), berechnet aus Onlinewerten von NO_3^- -N im Zu- u. Ablauf, sowie Q_{DN} , s. Gl. (3))

DNRV: auf Reaktor-Volumen bezogene Denitrifikationsrate in mg/(L·h)

Mit den Volumenströmen stiegen auch die Denitrifikationsraten, jedoch erst nach einer gewissen Verzögerung von ca. 20 d, die nicht nur auf die erforderliche Adaptation der Mikroorganismen, sondern auch auf verschiedene Probleme an der Anlage zurückgeführt werden konnten (s. Abb. 58). Beispielsweise war die Dosierung von Ethanol zeitweise nicht in Betrieb, da ein Magnetventil ausgefallen war. Auch wurde nach einer Reinigung des Durchflusssensors (d 106) klar, dass die Werte davor zu niedrig angezeigt wurden.

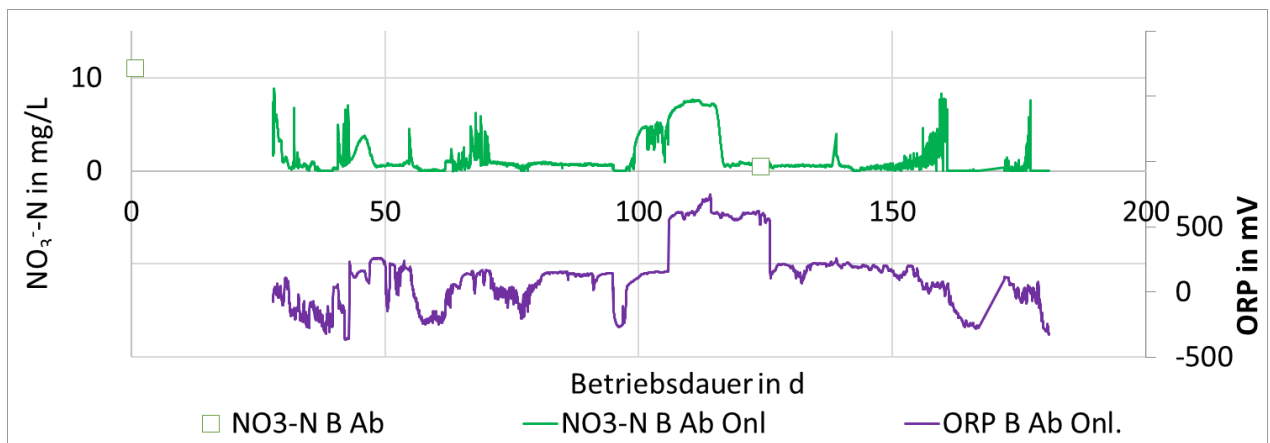


Abb. 59: ORP und Nitratkonzentrationen im Ablauf des MDR-Laborreaktors.

NO_3^- -N B Ab: NO_3^- -N Analytik, Ablauf Reaktor, System B mit MDR

NO_3^- -N B Ab Onl.: NO_3^- -N Sensor, Ablauf Reaktor, System B mit MDR

ORP B Ab Onl.: Oxidations-Reduktions-Potential, Ablauf Reaktor, Online-Werte, System B mit MDR

Vergleicht man die Nitrat-Konzentrationen im Ablauf des Reaktors mit den ORP-Werten (s. Abb. 59), kann man zwar tendenziell eine gewisse Abhängigkeit vermuten, jedoch keineswegs eine verlässliche Aussage über die Nitratkonzentration ableiten (s. Abb. 60). Obwohl die Messtrecke bei

der Rückspülung abgetrennt war, war beim Start der Filtrationsphase noch sauerstoffreiches Wasser von der Rückspülphase in den Rohren vorhanden. So ließ sich hier nicht vermeiden, dass hier auch immer wieder Sauerstoffreiches Wasser mit hohem ORP in die Messstrecke gelangen konnte.

Daher kann man hier die ORP-Werte keinesfalls zur Steuerung der Denitrifikation einsetzen. Eventuell könnte man sie jedoch als Alarmwert verwenden, falls die Nitratkonzentration für längere Zeit nahe 0 mg/L sein sollte.

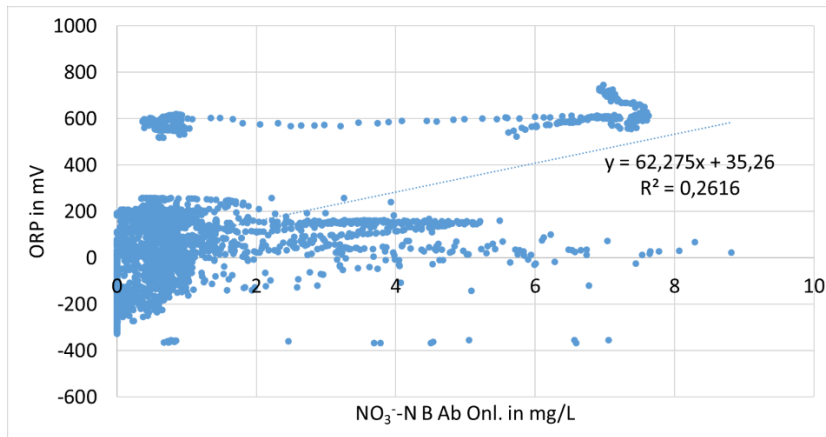


Abb. 60: Versuch der Korrelation von Nitratkonzentrationen und den entsprechenden ORP-Werten im Ablauf des Reaktors

5.3.4 Dosierung Ethanol

Wie effizient die Ethanoldosierung bei diesem Versuch war, kann anhand der berechneten Frachten in Abb. 61 beurteilt werden. Wenn die Fracht in Zulauf die reduzierte Fracht deutlich übersteigt, bedeutet das, dass im Ablauf des Reaktors noch Nitrat und/oder Sauerstoff vorhanden waren. Dies war bei Start der Dosierung und nach der schnellen Erhöhung der Zulauf-Fracht am 91. d durch die Erhöhung des Transmembrandrucks der Fall. Die wahrscheinlichste Ursache hierfür ist eine noch nicht angepasste Konzentration der denitrifizierenden Biomasse im Reaktor.

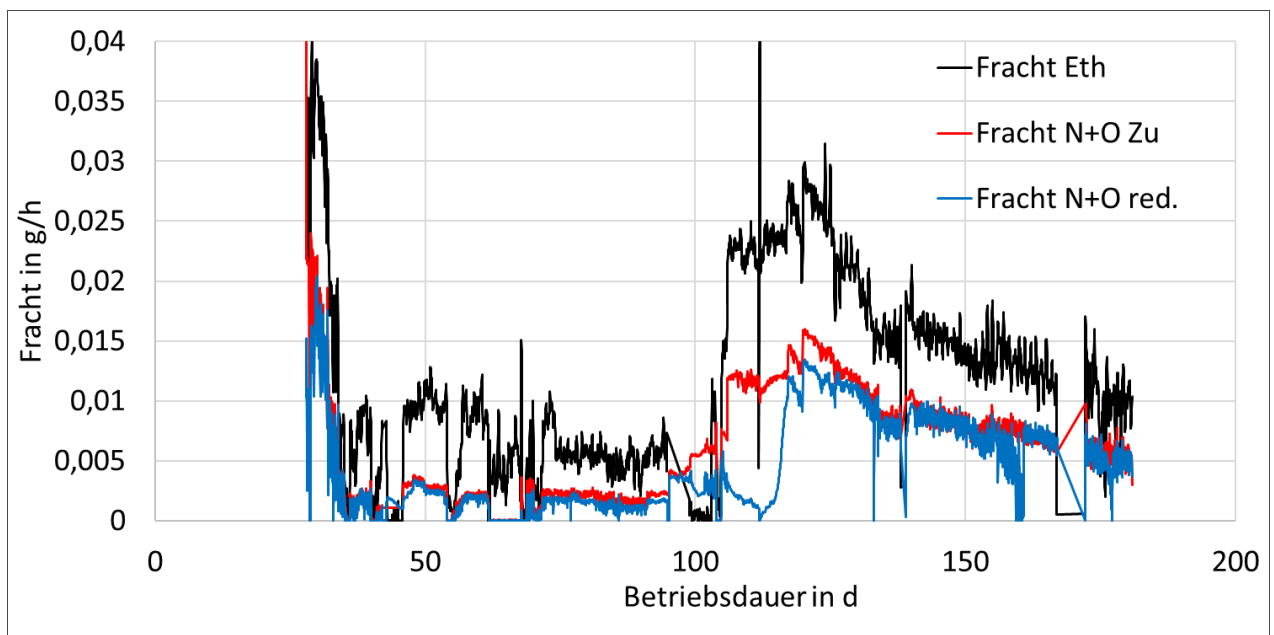


Abb. 61: N+O-Fracht Zulauf (Fracht N+O Zu, s. Gl. (17)), N+O-Fracht reduziert (Fracht N+O red., s. Gl. (20)) und dosierte Ethanol-Fracht (Fracht Eth, s. Gl. (18)) im Vergleich - System B mit MDR

Die Summierung aller dosierten Mengen an Ethanol, sowie der Mengen an reduziertem Nitrat-N (mit Sauerstoff) ergibt eine geschätzte Relation von Ethanol (100%) zu reduziertem NO_3^- -N von ca. 2,6 g Ethanol je g NO_3^- -N.

5.3.5 Transmembrandruck und Wasserstand

Die Membranoberflächen wurden durch zunehmende Biofilmschichten undurchlässiger, was sich durch einen Anstieg der Transmembrandrücke (s. Abb. 62) bemerkbar machte. Damit der Wasserstand im Ausgleichsbehälter nicht anstieg, wurde die Pumpe temporär automatisch ausgeschaltet, um ein Überlaufen des Ausgleichsbehälters (s. Abb. 19) zu verhindern. Um die Permeabilität der Membran zu verbessern, wurde am 43. d eine Reinigung des Membranmoduls mit Wasserstoffperoxid und Citronensäure durchgeführt, was zu einer Verbesserung führte. Durch die Reinigung konnte der Transmembrandruck niedriger gehalten werden und stieg nach ca. 4 d wieder auf den maximal möglichen Wert von ca. 80 mbar an (s. Abb. 62).

Der Betrieb mit lediglich 80 mbar Transmembrandruck stellte sich als ineffizient dar. Daher wurde am 91. d das Steigrohr um ca. 70 cm verlängert, um den Wasserstand und damit den möglichen Transmembrandruck (TMP) zu erhöhen. Diese Maßnahme war erfolgreich denn der zulässige und reale TMP erhöhte sich auf ca. 150 mbar und der Volumenstrom konnte auf bis zu 1,5 L/h erhöht werden.

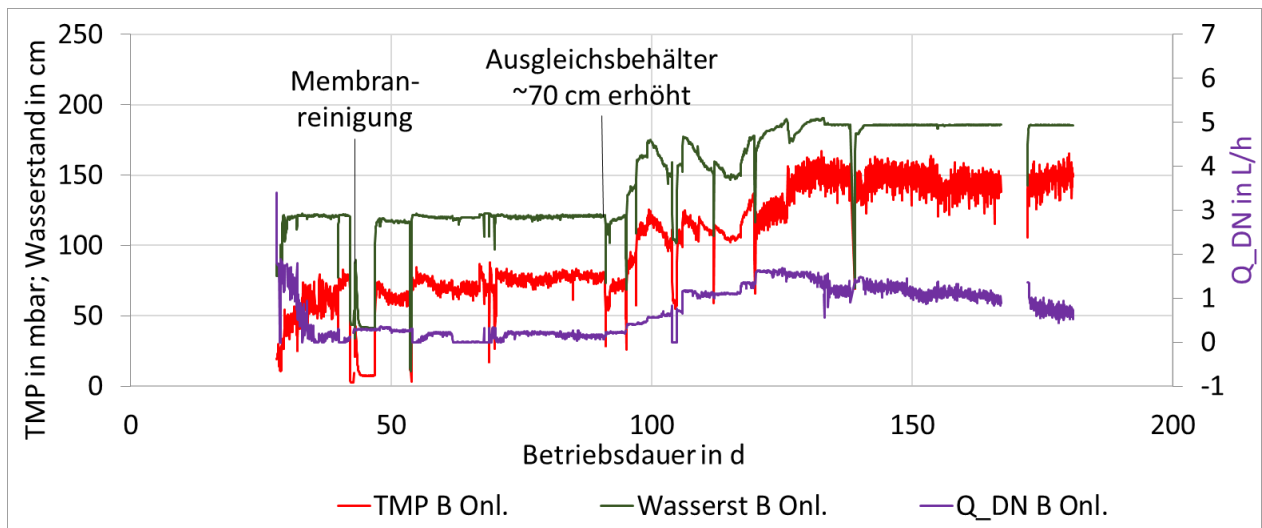


Abb. 62: Transmembrandruck (TMP), Wasserstand im Ausgleichsbehälter über dem Laborreaktor und Volumenstrom (Q_{DN}) - System B mit MDR

5.3.6 Permeatfluss

Durch die zunehmende Biofilmanlagerung auf den Membranoberflächen verringerte sich der effektive Permeatfluss (Flux, gemessen im Zulauf zum Reaktor), wobei die Werte durch den Intervall-Betrieb der Pumpe starken Schwankungen unterlagen und deshalb hier Mittelwerte gezeigt werden (s. Abb. 63). Durch die Erhöhung des Steigrohrs stieg auch der Permeatfluss an, allerdings erst mit Verzögerung, da der Volumenstrom der Deni-Pumpe nur langsam manuell angepasst wurde. So war das Maximum des Permeatflusses erst nach ca. 120 d erreicht. Danach verringerte sich der Permeatfluss bei gleichbleibendem TMP wieder langsam.

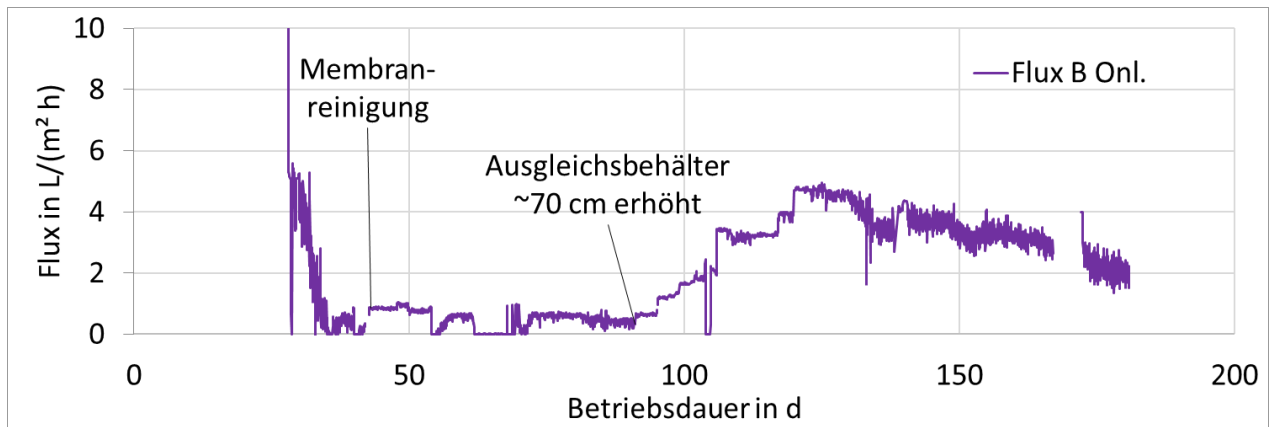


Abb. 63: Permeatfluss (Flux) durch den MDR-Laborreaktor - System B

5.3.7 Sauerstoff, pH und Temperatur

Es zeigte sich hier, dass der pH-Wert im Ablauf des Denitrifikationsreaktors leicht niedriger war, als im Zulauf, obwohl man erwarten kann, dass die Denitrifikation eine pH-Erhöhung bewirkt.

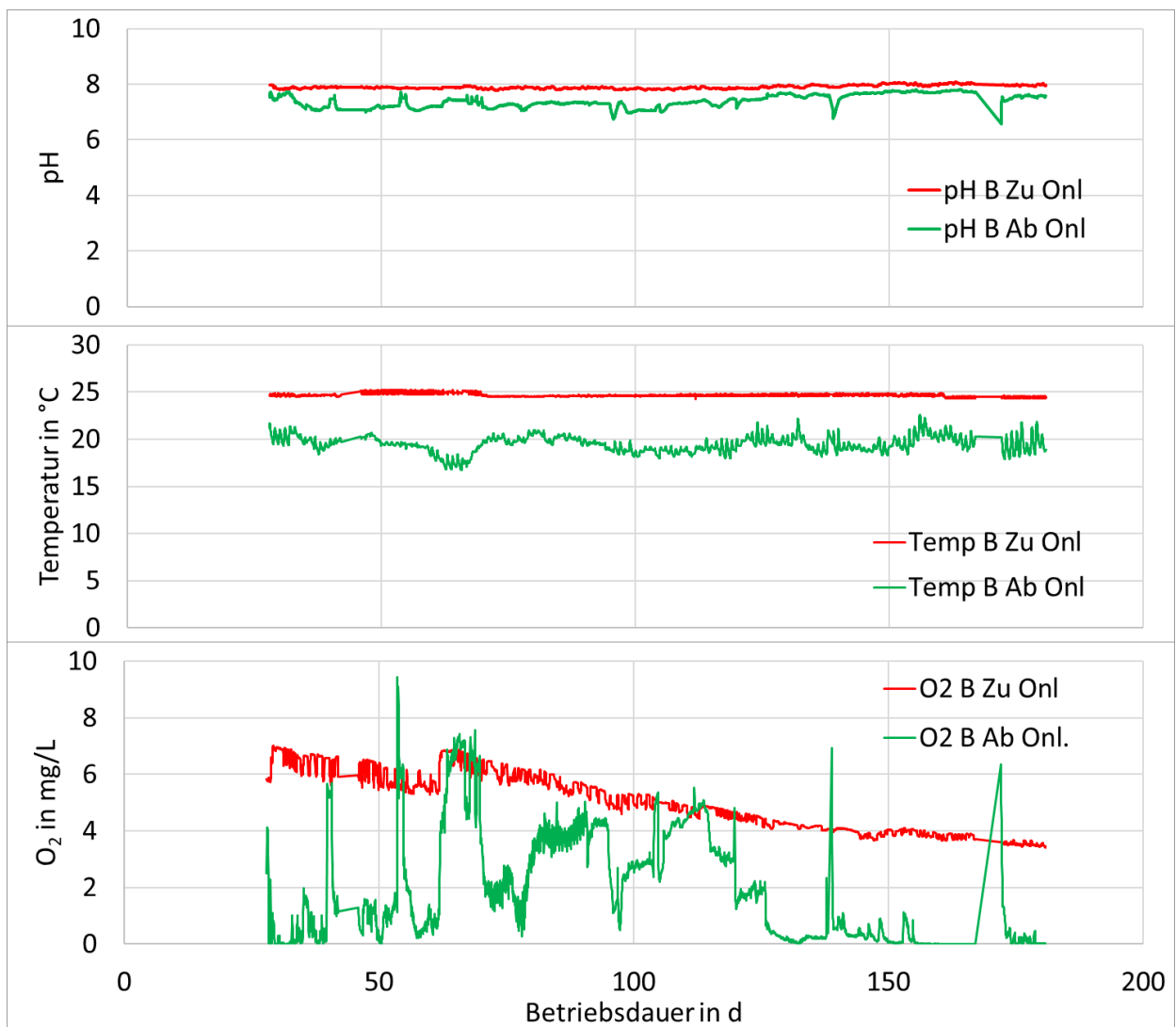


Abb. 64: pH, Temperatur und Sauerstoffkonzentration in Zu- und Ablauf des MDR-Laborreaktors

Diesen Effekt kann man damit erklären, dass bei der Denitrifikation nicht nur Nitrat reduziert und dabei OH⁻ gebildet, sondern auch CO₂ als Säurebildner produziert wird. Auch beim aeroben Abbau von Ethanol entsteht CO₂. Nach Gl. (16) kommt es dabei auf das Verhältnis von NO₃⁻-N zu O₂

an. Aufgrund der niedrigen Nitratkonzentrationen war es in diesem Versuch $< 3,5$. Damit überwiegt der pH-senkende Effekt von CO_2 .

Die Temperaturen im Zulauf und Ablauf unterscheiden sich um ca. 5°C , da die Aquarien auf 25°C geheizt wurden und sich das Wasser im Denitrifikationsreaktor durch die langen Aufenthaltszeiten im Kontakt mit der Außenluft abkühlte.

Aus Abb. 64 kann man erkennen, dass die Sauerstoff-Konzentrationen im Ablauf des MDR sehr lange noch relativ hoch waren, obwohl bereits eine Denitrifikation stattfand. Dies könnte ein artifizieller Effekt sein, der auf einen eventuellen Lufteintrag in der Rückspülphase zurückzuführen ist. Abb. 65 zeigt Sauerstoff-Peaks im Ablauf, die mit den regelmäßigen Rückspülvorgängen korrelieren. Dieser Zusammenhang konnte jedoch nicht bewiesen werden.

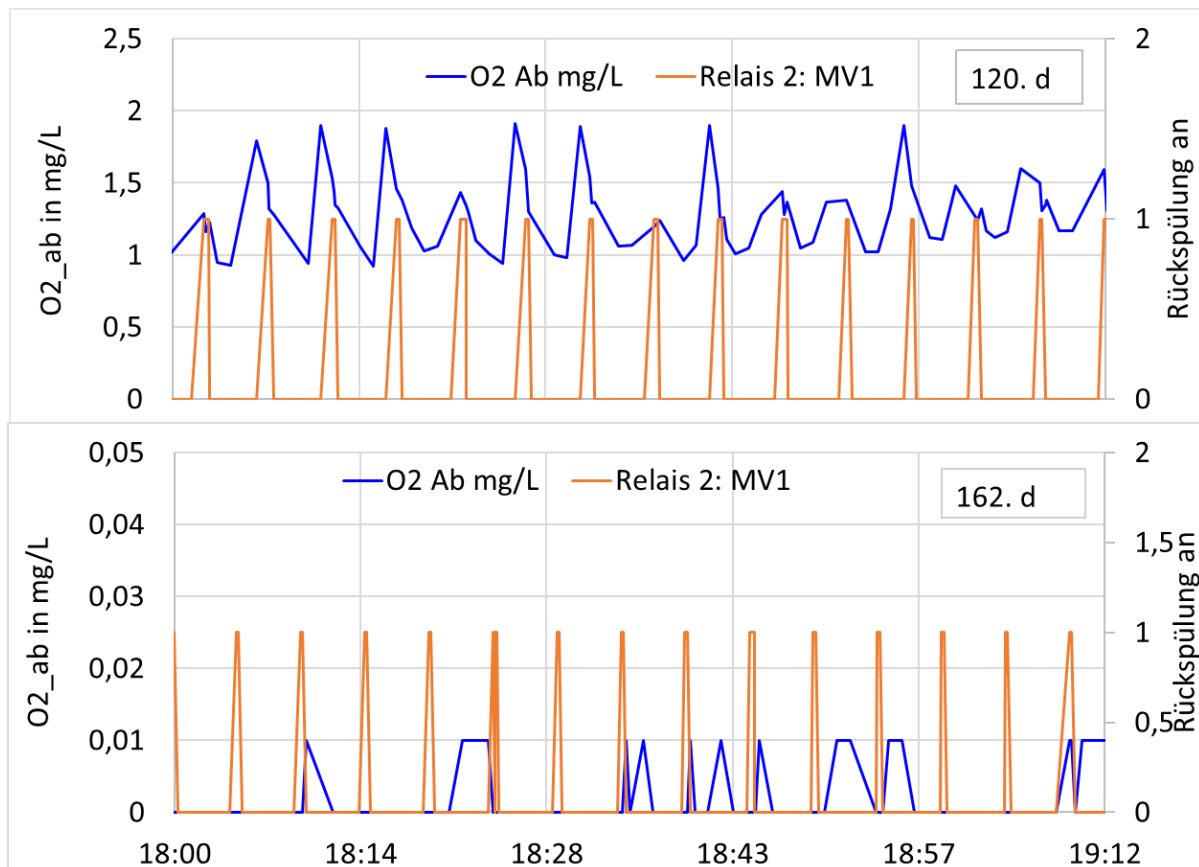


Abb. 65: O_2 Konz. im Ablauf des MDR-Laborreaktors (O_2_{ab}) und Rückspülung (Relais 2: MV1) am 120. d (oben) bzw. 162. d (unten)

5.3.8 Andere Wasserinhaltsstoffe

Die Nitrifikationsreaktoren (Biofilter) der beiden Anlagen waren bereits einige Zeit vor dem Start des MDR-Laborreaktors in Betrieb. In dieser Zeit konnten die Nitrifikationsreaktoren (Biofilter) eingefahren werden. Nach dem Start der beiden Anlagen waren in beiden Becken sehr niedrige Ammonium- und Nitrit-Konzentrationen zu finden (s. Abb. 66).

Phosphat ist in Futtermitteln enthalten und wird von den Fischen ausgeschieden. Daher stiegen die Phosphatkonzentrationen in beiden Anlagen moderat an (s. Abb. 66).

Da die Denitrifikation mit einer Ethanol dosierung in den MDR-Reaktor angetrieben wurde, sollte sichergestellt werden, dass diese C-Quelle vollständig aufgebraucht wird, wenn das Wasser den Reaktor verlässt. Da Ethanol, wie andere organische Stoffe, mit Kaliumdichromat oxidiert werden kann, wird damit auch der CSB erhöht, der mit den CSB-Küvettentests für Meerwasser gemessen werden kann. Nur direkt nach dem Start wurde eine etwas erhöhte CSB-Konzentration im Ablauf des MDR-Reaktors gemessen aufgrund einer noch nicht angepassten Ethanol dosierung. Danach waren die alle CSB-Konzentrationen, als Maß für die organischen Inhaltsstoffe des Wassers, im Zu- und Ablauf des Reaktors, wie auch im Referenzbecken sehr gering und sind vermutlich auf

Futter- und Kot-Reste zurückzuführen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass kein Ethanol aus dem Reaktor austreten konnte.

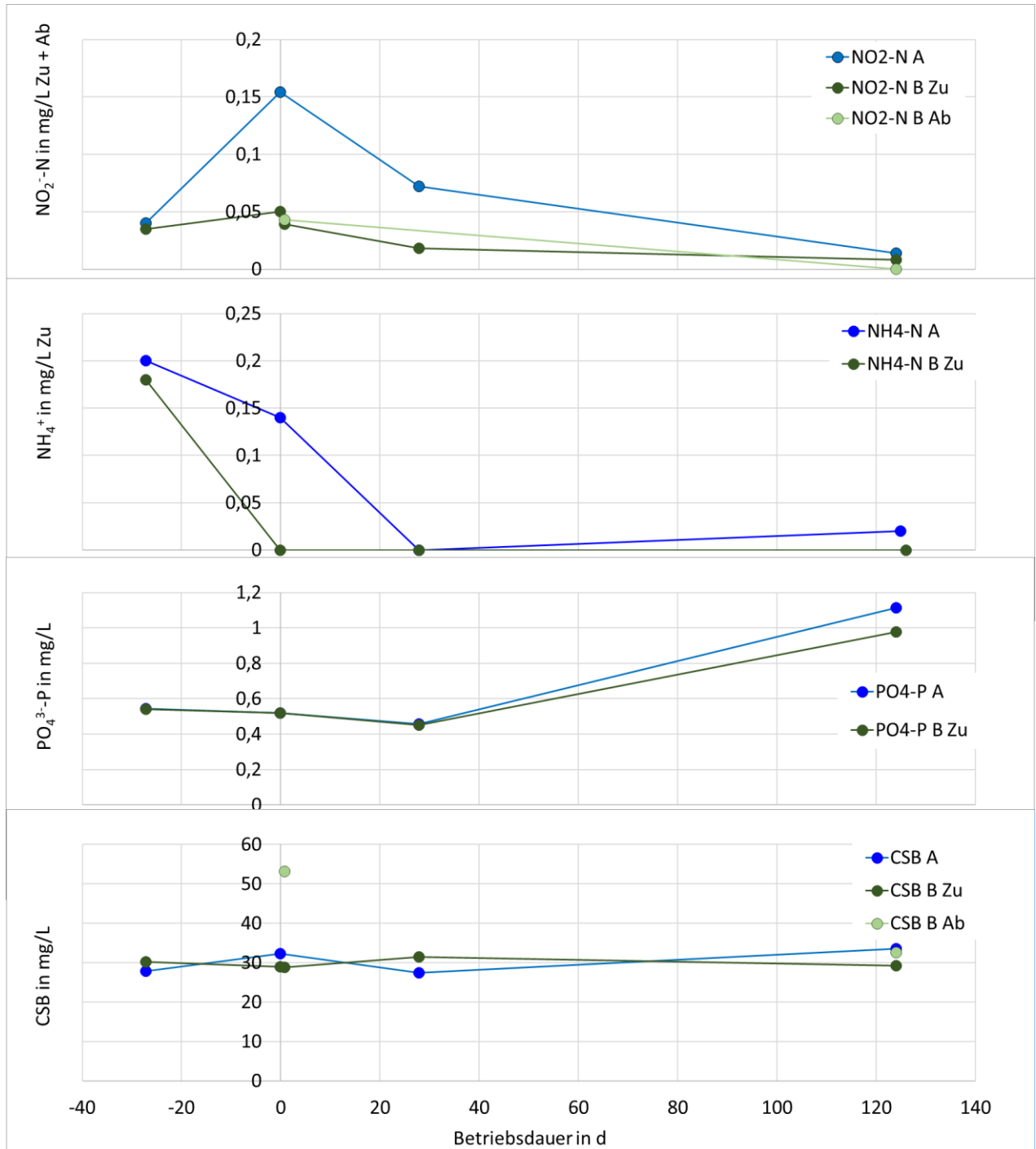


Abb. 66: Nitrit-, Ammonium-, Phosphat- und CSB-Konzentrationen im Zu- und Ablauf des Laborreaktors.

NO_2^- -N A : NO_2^- -N Analytik, Anlage A, Referenzbecken;
 NO_2^- -N B Zu: NO_2^- -N Analytik, Zulauf Reaktor, Anlage B;
 NO_2^- -N B Ab: NO_2^- -N Analytik, Ablauf Reaktor, Anlage B;
 NH_4^+ -N A: NH_4^+ -N Analytik, Anlage A, Referenzbecken;
 NH_4^+ -N B Zu: NH_4^+ -N Analytik, Anlage B;
 PO_4^{3-} -P A: PO_4^{3-} -P Analytik, Anlage A, Referenzbecken;
 PO_4^{3-} -P B Zu: PO_4^{3-} -P Analytik, Anlage B;
 CSB A: CSB Analytik, Anlage A, Referenzbecken;
 CSB B Zu: CSB Analytik, Anlage B;
 CSB B Ab: CSB Analytik, Ablauf Reaktor, Anlage B

5.3.9 Beurteilung von Fischen und mikrobiologische Bewertung des Wassers

5.3.9.1 Untersuchungen der mikrobiellen Gemeinschaften im MDR- und im Kontrollsystem

5.3.9.1.1 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft im Haltungswasser

Zum Zeitpunkt der ersten Probennahme einen Tag nach Installation des MDRs lag die Gesamtkeimzahl mit $3,9 \cdot 10^1$ Kopienzahlen im Wasser des MDR-Systems unter der Gesamtkeimzahl im Kontrollsystem mit $8,01 \cdot 10^2$ Kopienzahlen. Im Verlauf des 122-tägigen Versuchszeitraums zeigten die Gesamtkeimzahlen in beiden Systemen Schwankungen, die im Kontrollsystem jedoch stärker ausgeprägt waren als im MDR-System. Dabei wurden im Kontrollsystem Kopienzahlen zwischen $8,5 \cdot 10^1$ und $3,68 \cdot 10^4$ gemessen, während im MDR-System Kopienzahlen von $2,45 \cdot 10^1$ bis $3,36 \cdot 10^3$ ermittelt wurden. Mit durchschnittlichen Gesamtkeimzahlen von $5,36 \cdot 10^3 \pm 1,19 \cdot 10^4$ im Kontrollsystem konnten im Vergleich zum MDR-System, in dem $7,04 \cdot 10^2 \pm 1,04 \cdot 10^3$ Kopienzahlen gemessen wurden, signifikant höhere Gesamtkeimzahlen nachgewiesen werden. Da nur ein System mit angeschlossenen MDR und ein Kontrollsystem zur Verfügung standen, war eine statistische Auswertung der Änderungen der mikrobiellen Gemeinschaften im Wasser nicht möglich.

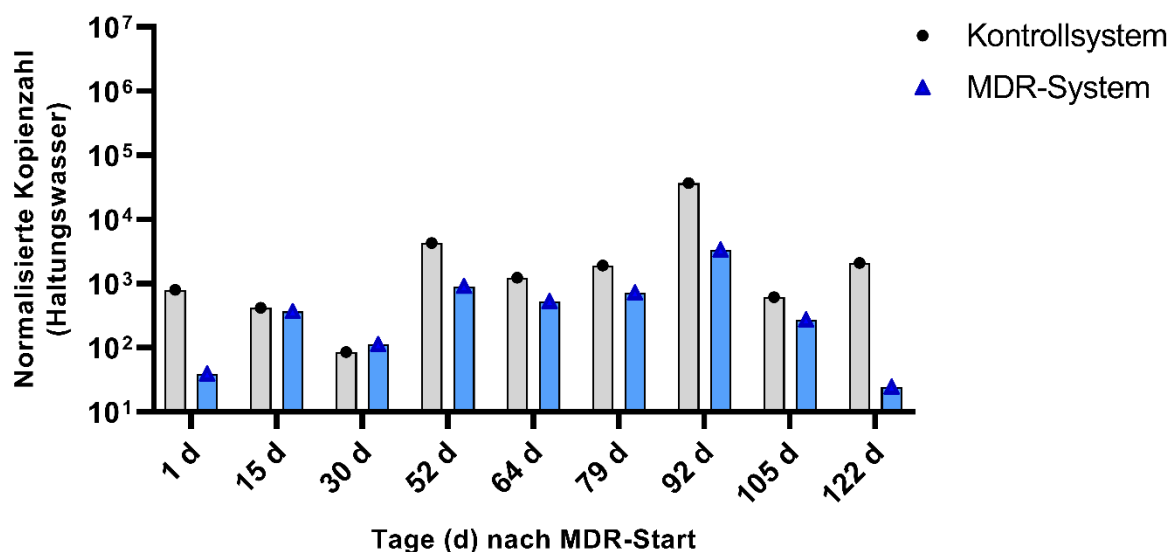


Abb. 67: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Wasserproben aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR an den Tagen 1, 15, 30, 52, 64, 79, 92, 105 und 122 nach MDR-Start. Gezeigt wird jeweils eine Probe pro Entnahmedatum.

5.3.9.1.2 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in den Biofilmen

Die Analysen der Biofilmpuben ergaben im Kontrollsystem über den gesamten Versuchszeitraum keine signifikanten Unterschiede zwischen den Beprobungen. Die mittels qPCR gemessene bakterielle Gesamtkeimzahl des Biofilms blieb weitgehend konstant und zeigte mit durchschnittliche Kopienzahlen zwischen $9,13 \cdot 10^4$ – $3,08 \cdot 10^5$ nur geringe Schwankungen. Über den gesamten Versuchszeitraum lag die durchschnittliche Gesamtkeimzahl im Kontrollsystem bei $1,81 \cdot 10^5 \pm 6,86 \cdot 10^4$ Kopienzahlen. Am ersten Tag nach MDR-Start wurden im MDR-System mit $7,94 \cdot 10^5$ geringfügig höhere Kopienzahlen als im Kontrollsystem detektiert. Anschließend sanken die Keimzahlen und blieben bis Tag 52 nach MDR-Start auf einem ähnlichen Niveau wie im Kontrollsystem, bevor sie an Tag 64 nach MDR-Start auf $2,05 \cdot 10^5$ abnahmen. In den darauffolgenden Wochen zeigte sich ein Anstieg der Keimzahlen, der bis zum Tag 122 nach MDR-Start mit $3,77 \cdot 10^5$ Kopienzahlen andauerte. Insgesamt lag die durchschnittliche Gesamtkeimzahl im MDR-System bei $2,68 \cdot 10^5 \pm 2,26 \cdot 10^5$, was ebenfalls keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zum Kontrollsystem aufzeigte. Aufgrund einer leichten Reduktion der Gesamtkeimzahl an Tag 64 im Kontrollsystem und einer Reduktion auf $2,05 \cdot 10^4$ im MDR-System, zeigten die Systeme an diesem Tag insgesamt signifikant geringere Gesamtkeimzahlen im Vergleich zu 1 Tag, 30, 105 und 122 Tagen nach Inbetriebnahme des Membran-Denitrifikationsreaktors.

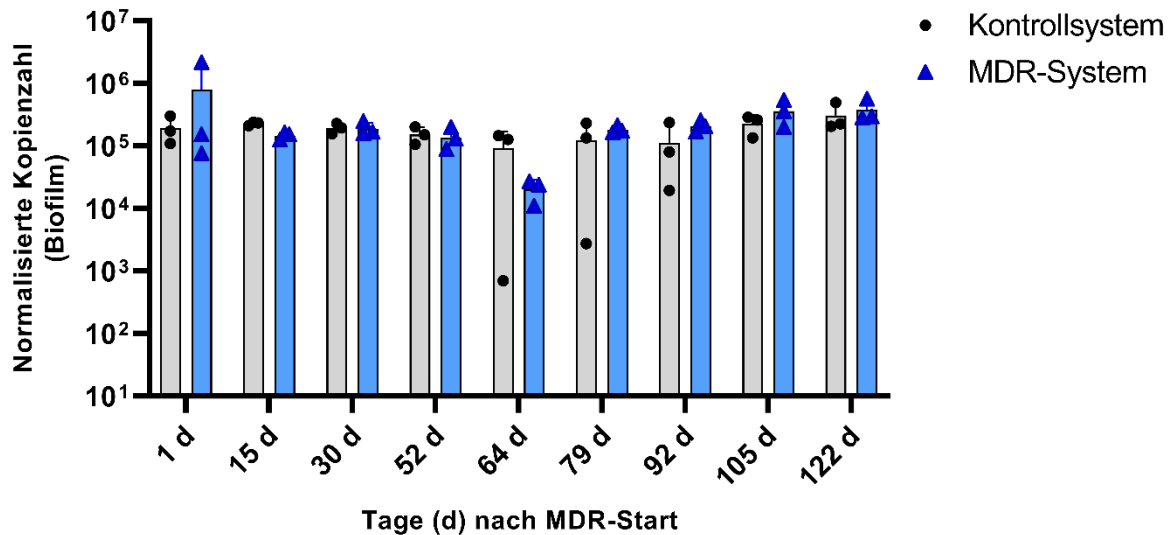


Abb. 68: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR an Tag 1, 15, 30, 52, 64, 79, 92, 105 und 122 nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils Mittelwert und Standardabweichung der Ergebnisse der Messungen von drei Proben pro Entnahmedatum.

5.3.9.1.3 Bakterienbelastung der Fischhaut

Im Rahmen von tierärztlichen Kontrolluntersuchung (einen Tag nach Reaktorstart und an Tag 64 und 122 nach Reaktorstart) wurden Proben der Schleimhaut der äußeren Haut genommen. Diese wurden parasitologisch untersucht, wobei keine Parasiten nachgewiesen wurden. Eine molekularbiologische Analyse der Gesamtkeimzahlen im Schleim der Haut zeigte bereits einen Tag nach Installation des Membran-Denitrifikationsreaktors (MDR) geringfügig höhere Bakterienkonzentrationen bei Fischen aus dem MDR-System ($2,09 \cdot 10^2 \pm 1,47 \cdot 10^2$) im Vergleich zu Proben von Fischen aus dem Kontrollsystem ($8,85 \cdot 10^1 \pm 1,17 \cdot 10^2$). An Tag 64 nach Reaktorstart wurden bei Fischen aus beiden Systemen signifikant höhere Keimgehalte im Hautschleim nachgewiesen. Im Kontrollsystem wurden Werte von $3,84 \cdot 10^2 \pm 2,21 \cdot 10^2$ ermittelt und im MDR-System konnten Gehalte von $1,61 \cdot 10^3 \pm 2,57 \cdot 10^3$ gemessen werden. Die Abschlussuntersuchung der Tiere an Tag 122 nach Reaktorstart ergab Bakteriengehalte von $6,04 \cdot 10^2 \pm 6,57 \cdot 10^2$ im Kontrollsystem, und $1,23 \cdot 10^3 \pm 1,09 \cdot 10^3$ im MDR-System. Trotz der Reduktion blieb demnach in beiden Systemen eine signifikant höhere Keimzahl im Hautschleim der Fische im Vergleich zur ersten Probenahme bestehen. Der Vergleich der durchschnittlichen Gesamtkeimzahlen über den gesamten Versuchszeitraum zeigte, dass das Kontrollsystem mit $3,59 \cdot 10^2 \pm 4,39 \cdot 10^2$ signifikant niedrigere Keimzahlen aufwies als das MDR-System, in dem durchschnittlich $1,02 \cdot 10^3 \pm 1,5 \cdot 10^3$ Keimzahlen detektiert wurden.

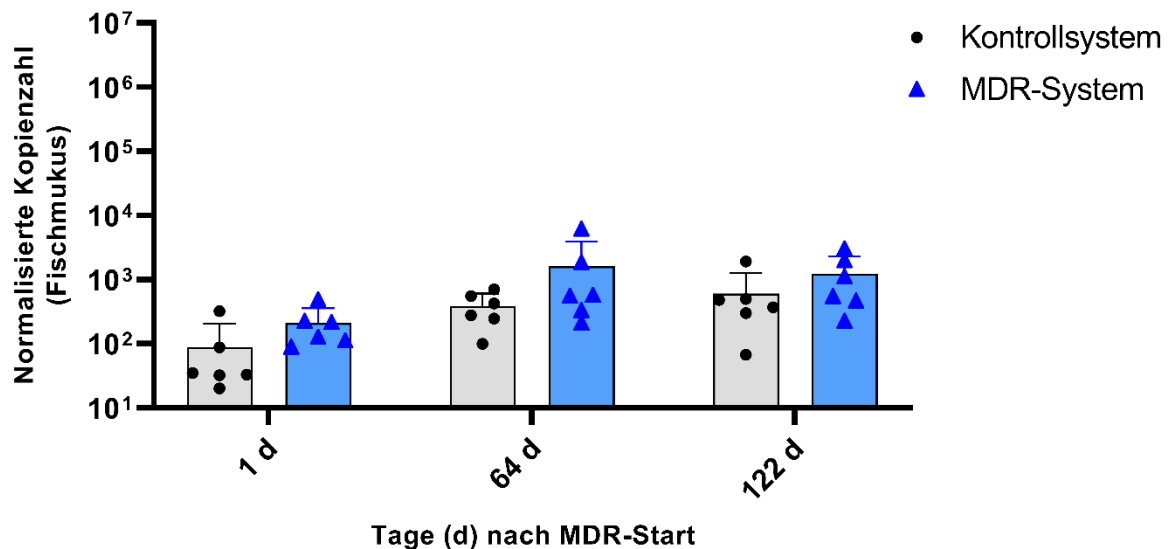


Abb. 69: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus dem Mukus der Fische aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag, 64 und 122 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils Proben von 6 Fischen je Anlage und Entnahmezeitpunkt mit Mittelwert und Standardabweichung.

5.3.10 Fazit Laborreaktor im Meerwasseraquarium bei Aqua-Schwarz

Die Reinigung der Membranoberflächen nur durch Rückspülung und Wasserströmung reichte nicht aus für die vorgesehenen Volumenströme. Da die Abstände zwischen den Membranplatten in den Modulen geringer waren, konnten hier keine Schaumstoffwürfel wie im Vorgänger-Projekt verwendet werden. Die Nitratkonzentrationen in beiden Becken waren sehr niedrig, im Becken mit Denitrifikationsreaktor waren sie etwas kleiner als im Referenzbecken. Da gleichzeitig auch die Volumenströme sehr niedrig waren, konnten auch die Denitrifikationsraten nicht höher steigen. Erst nach der Erhöhung des Transmembrandrucks konnten die Denitrifikationsraten durch die Erhöhung des Volumenstroms auf ca. 0,7 mg/(L h) gesteigert werden.

Die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen auf den Gehalt an Bakterien zeigten, dass im MDR-System sowohl im Wasser als auch in den Biofilmen der Becken tendenziell weniger Bakterien nachgewiesen werden konnten als im Kontrollsystem. Auf der Haut der Fische konnte dieser Effekt jedoch nicht beobachtet werden. Da pro System nur ein Becken zur Verfügung stand, konnten die Daten nicht statistisch abgesichert werden.

5.4 Versuch mit dem MDR-Laborreaktor im Technikum der TiHo (AP5, Versuchsbeschreibung s. Kap. 0)

Nach dem Ende der Versuche mit dem Meerwasseraquarium in Göttingen, wurde beschlossen, dass der Laborreaktor in dem Technikum der TiHo weiter betrieben werden sollte. Der Versuchszeitraum für den Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR) im Labormaßstab in Hannover betrug 127 Tage nach Inbetriebnahme.

5.4.1 Chemische und physikalische Wasseranalyse

Während des Betriebes wurden neben den Online-Messwerten des Multimesssystemes des MDRs auch chemische Wasserparameter zur Beurteilung der Fischgesundheit und der Wasserqualität erfasst. Hierfür wurden die Temperatur, Salinität, Sauerstoff, Sauerstoffsättigung und der pH-Wert regelmäßig überprüft. Des Weiteren wurden die chemischen Wasserparameter Ammonium/Ammoniak ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$), Nitrit (NO_2^-) und Nitrat (NO_3^-) mittels Photometer zu erfassende Wasserparameter gemessen und analysiert.

5.4.1.1 Wassertemperatur

Im Haltungswasser des Kontrollsystems war die Wassertemperatur $24,6 \pm 0,6$ °C. Die Wassertemperatur des MDR-Systems konnte zu $24,5 \pm 0,7$ °C gemessen werden.

5.4.1.2 Salinität

Über den gesamten Versuchszeitraum wurde im Kontrollsystem eine Salinität von $32,9 \pm 0,7$ (PSU) und im MDR-System von $32,8 \pm 0,6$ (PSU) gemessen.

5.4.1.3 Sauerstoff

Über den gesamten Versuchszeitraum wurden im Kontrollsystem Sauerstoffkonzentrationen von $7,1 \pm 0,43$ mg/L bei einer Sättigung von $83,3 \pm 7,3$ % erreicht. Im MDR-System betrug die Sauerstoffkonzentration im gleichen Zeitraum $7,2 \pm 0,4$ mg/L bei einer Sättigung von $87,5 \pm 4,4$ %.

5.4.1.4 pH-Wert

Über den gesamten Versuchszeitraum wurden im Kontrollsystem pH-Werte von $6,3 \pm 0,6$ im Mittelwert gemessen. Der gemessene pH aus dem MDR-System zeigte mit $6,9 \pm 0,5$ im Mittelwert höhere Werte als das Kontrollsystem. Dabei waren die pH-Werte im Durchschnitt im MDR-System um mehr als eine halbe pH-Stufe (0,6) höher. Damit keine negativen Auswirkungen auf die Fischgesundheit durch geringe pH-Werte entstehen, wurde gegebenenfalls Natriumbicarbonat dem Wasser als Puffer hinzugefügt. Bis zum 7. Tag nach Inbetriebnahme des MDR-Systems blieben die pH-Werte beider Systeme auf einem ähnlichen Niveau. Ab dem 7. Tag konnte in beiden Systemen ein Abfall der pH-Werte registriert werden. Im Kontrollsystem wurde in nur wenigen Tagen ein deutlicher Rückgang von pH 7,28 (Tag 7) auf 5,66 (Tag 18) detektiert werden, wohingegen im MDR-System ein deutlich langsamerer Rückgang von 7,45 (Tag 7) auf 6,82 (Tag 18) festgestellt werden konnte. Der niedrigste Wert von 5,66 erreichte das MDR-System erst an Tag 33. Vom 11.- bis zum 21. Tag nach Inbetriebnahme unterschieden sich beide im Mittel um mehr als eine pH-Stufe (Kontrollsystem: 5,88; MDR-System: 6,9). Ab Tag 22 bis Tag 35 glichen sich die pH-Werte beider Systeme auf ein ähnliches und sehr niedriges Niveau an (Kontrollsystem: 5,83; MDR-System: 5,96). In langsamen Mengen wurde ab Tag 27 in beiden Systemen Natriumbicarbonat als Puffer hinzugegeben. Ab dem 33. Tag wurden pro System fast täglich 7 Gramm Natriumbicarbonat hinzugefügt. Im MDR-System wurde ab dem 35. Tag nach Inbetriebnahme erneut ein höherer pH-Wert als im Kontrollsystem gemessen. Insbesondere ab Tag 56 bis Ende des Versuchszeitraums unterschieden sich beide Systeme um fast eine pH-Stufe (0,94). Dabei erreichte im Mittelwert das Kontrollsystem einen pH-Wert von 6,23 und das MDR-System einen pH-Wert von 7,17. Ab Tag 85 wurde die Menge des Natriumbicarbonats von 7 g auf 10 g erhöht. Im MDR-System wurde die Gabe des Natriumbicarbonats ab Tag 96 eingestellt, sodass lediglich im Kontrollsystem eine Pufferung des Haltungswassers erfolgt. Während des Versuchszeitraums wurden im Kontrollsystem insgesamt 572,5 g Natriumbicarbonat

verwendet, wohingegen im MDR-System mit 336,5 g ca. 58,8 % weniger Natriumbicarbonat verbraucht wurde. Trotz der vermehrten Verwendung des Natriumbicarbonats wurde im MDR-System ein deutlich höherer und stabilerer pH-Wert erreicht.

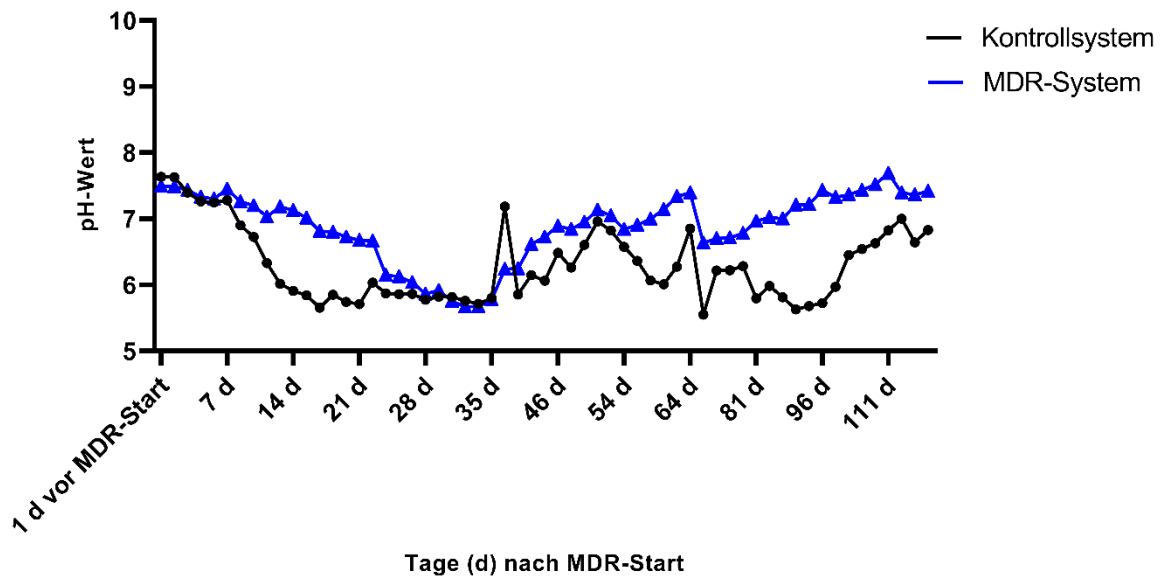


Abb. 70: pH-Werte aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro System und Entnahmedatum im Mittelwert.

5.4.1.5 Ammoniak-/Ammonium

Kurz nach Inbetriebnahme bis zum 11. Tag nach Installation des Membran-Denitrifikationsreaktors (MDR) waren die Ammoniak-Konzentrationen beider Systeme (Kontrollsystem = $0,23 \pm 0,11$ mg/L; MDR-System = $0,37 \pm 0,23$ mg/L) auf einem stabilen und niedrigen Niveau. Nachfolgend kam es im Kontrollsystem zu einer deutlichen Erhöhung der Konzentration. Diese erreichte an Tag 35 des Versuchszeitraum mit $19 \pm 0,72$ mg/L den Höhepunkt. Mit dem Ziel einer Reduktion der Ammoniak-Konzentration wurde nach Absprache anschließend im Kontrollsystem ein Wasserwechsel von 30% durchgeführt. Über die nächsten 15 Tage kam es zur deutlichen Reduktion und zum Angleich an die Messergebnisse vom MDR-System (Kontrollsystem = $0,27 \pm 0,01$ mg/L; MDR-System = $0,29 \pm 0,04$ mg/L). Im weiteren Versuchszeitraum wurden im Durchschnitt in beiden Systemen konstant niedrige Werte mit $0,51 \pm 0,41$ mg/L im Kontrollsystem und $0,32 \pm 0,16$ mg/L im MDR-System gemessen. Im Gegensatz zum Kontrollsystem kam es im MDR-System an Tag 35 zu einer kurzen und geringeren Konzentrationserhöhung. Mit einem Mittelwert von $1,54 \pm 0,02$ mg/L lagen die gemessenen Konzentrationen um mehr als das 12-fache niedriger als im Kontrollsystem. Über den gesamten Versuchszeitraum wurden im Kontrollsystem im Durchschnitt Ammoniak-Konzentrationen von 3,13 mg/L erreicht. Im MDR-System konnten mit 0,43 mg/L im Vergleich ca. 7,3-mal geringere Konzentrationen gemessen werden. Die Ammoniak-Konzentrationen im Filtrat erreichten im Durchschnitt 0,36 mg/L und blieben über den gesamten Versuchszeitraum konstant.

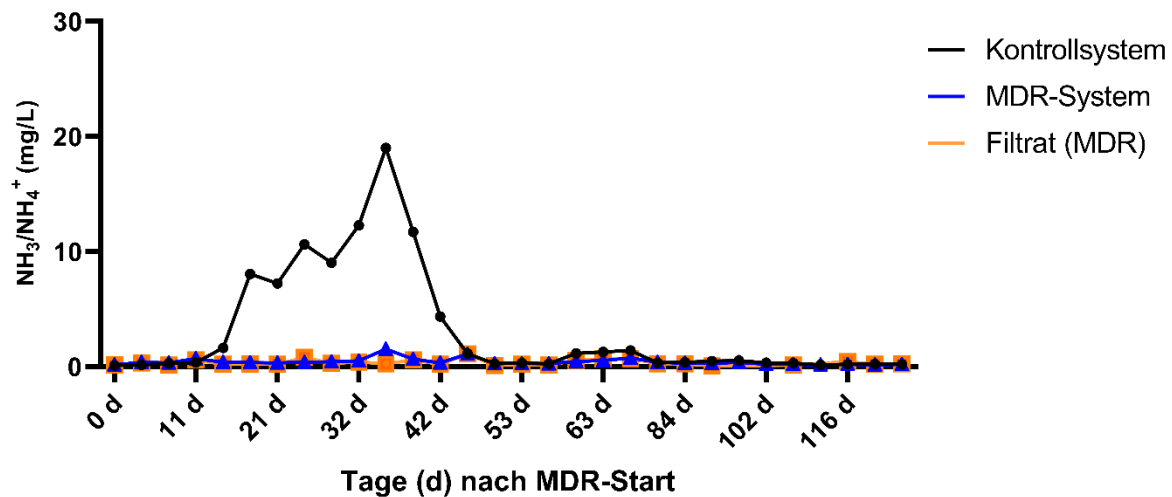


Abb. 71: Ammoniak/Ammonium-Konzentration ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils der Mittelwert aus drei Proben je System und Entnahmedatum. Im Filtrat wurden jeweils Einzelwerte gemessen.

5.4.1.6 Nitrit

Kurz nach Inbetriebnahme des MDRs wurden Nitrit-Konzentrationen von $0,27 \pm 0,01$ mg/L im Kontrollsystem und $0,14 \pm 0,01$ mg/L im MDR-System gemessen. Im Kontrollsystem stiegen die Nitrit-Konzentrationen ab Versuchsbeginn kontinuierlich an und erreichten am 14. Tag mit $7,5 \pm 0,53$ mg/L ihren Höchstwert. Anschließend kam es bis zum 21. Tag nach Inbetriebnahme zur deutlichen Reduktion der Konzentrationen auf $1,97 \pm 0,05$ mg/L. Zwischen Tag 21 und 42 lagen die Nitritkonzentrationen im Kontrollsystem durchschnittlich bei $1,48 \pm 0,44$ mg/L. Ab diesem Zeitpunkt blieben die Werte bis zum Ende des Versuchszeitraums (Tag 127) konstant niedrig bei $0,52 \pm 0,25$ mg/L. Im MDR-System folgte der Anstieg der Nitrit-Konzentration zunächst dem Verlauf des Kontrollsystems und erreichte bis zum 11. Versuchstag ähnliche Werte. Anschließend kam es bis zum 14. Tag ebenfalls zum deutlichen Anstieg, wobei das Maximum mit Konzentrationen von $4,75 \pm 0,07$ mg/L erreicht wurde. Die Reduktion der Nitrit-Konzentrationen folgte bis zum 32. Versuchstag, an dem beide Systeme annähernd die gleichen Konzentrationen aufwiesen (Kontrollsystem = $1,26 \pm 0,05$ mg/L; MDR-System = $1,13 \pm 0,06$ mg/L). Ähnlich dem Kontrollsystem wurden im MDR-System bis zum 42. Tag stabile Konzentrationen von durchschnittlich mit $1,04 \pm 0,43$ mg/L erreicht. Auch im MDR-System blieben die Nitrit-Konzentrationen bis zum Ende des Versuchszeitraums (Tag 127) auf einem konstant niedrigen Niveau bei $0,47 \pm 0,25$ mg/L. Im Vergleich zum Kontrollsystem war der Nitrit-Peak im MDR-System geringer (**$4,75 \pm 0,07$ mg/L** gegenüber **$7,5 \pm 0,53$ mg/L**), erstreckte sich jedoch über einen längeren Zeitraum. Während die Konzentration im Kontrollsystem bereits ab Tag 14 deutlich abnahm, erfolgte die Reduktion im MDR-System langsamer und dauerte bis zum 32. Versuchstag an. Über den gesamten Versuchszeitraum wurden im Kontrollsystem im Durchschnitt Nitrit-Konzentrationen von $1,31 \pm 1,66$ mg/L und im MDR-System $1,29 \pm 1,4$ mg/L erreicht. Die Nitrit-Konzentrationen im Filtrat variierten stark ($6,34 \pm 6,18$) und lagen durchschnittlich 4,87-mal höher als die Konzentrationen beider Systeme.

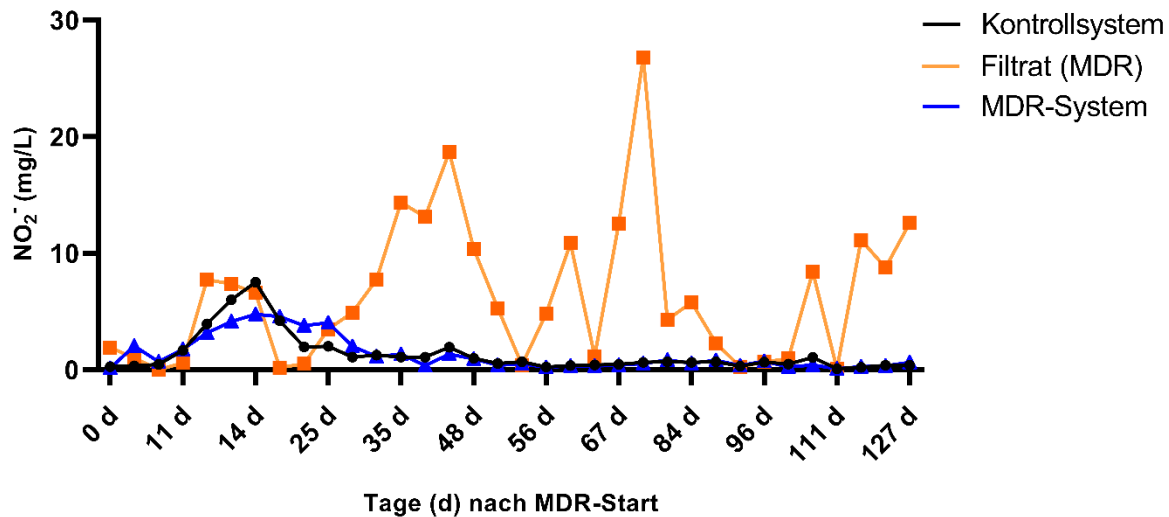


Abb. 72: Nitrit-Konzentrationen (NO_2^-) aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro System und Entnahmedatum im Mittelwert. Das Filtrat zeigt einen Einzelwert.

5.4.1.7 Nitrat

Nach identischer Handhabung beider Systeme in der Einlaufphase unterschieden sich beide Systeme zum Startzeitpunkt des MDRs um $32,6 \text{ mg/L}$ Nitrat im Haltungswasser (Kontrollsystem: $197,6 \pm 15,95$; MDR-System: $165 \pm 2,65 \text{ mg/L}$). Bis zum 25. Tag nach Installation des MDRs entwickelten sich die Nitrat-Konzentrationen in beiden Systemen nahezu parallel und linear. Die Differenz der Konzentrationen stieg geringfügig um 5 mg/L auf $37,5 \text{ mg/L}$ mit gemessenen Werten von $266 \pm 7,21 \text{ mg/L NO}_3^-$ im Kontrollsystem und $228,3 \pm 4,72 \text{ mg/L NO}_3^-$ im MDR-System. In den folgenden 10 Tagen stiegen die Nitrat-Konzentrationen weiter an, wobei im Kontrollsystem nach 35 Tagen ein $135,67 \text{ mg/L}$ höherer Wert als im MDR-System gemessen wurde. Aufgrund der erhöhten Ammoniak-Konzentrationen wurde im Kontrollsystem ein Wasserwechsel von 200 L vorgenommen, wodurch rechnerisch $75,4 \text{ g}$ Nitrat aus dem System entfernt wurden. Parallel dazu erfolgte im MDR-System ein Wasserwechsel von 35 L , wodurch $8,46 \text{ g}$ Nitrat entfernt wurden. Nach diesen Eingriffen war die Differenz der Nitrat-Konzentrationen zwischen den Systemen am 39. Tag auf nur **$14,3 \text{ mg/L}$** reduziert. Bis zum 53. Tag stiegen die Nitrat-Konzentration in beiden Systemen erneut an und erreichten im Kontrollsystem $671,33 \pm 9,87 \text{ mg/L NO}_3^-$ und im MDR-System $515,66 \pm 67,57 \text{ mg/L NO}_3^-$. Eine stärkere Reduktion im Kontrollsystem führte dazu, dass die Differenz bis zur nächsten Messung von $155,67 \text{ mg/L}$ auf $37,67 \text{ mg/L}$ verringert wurde. Im weiteren Verlauf wurde eine Konzentrationserhöhung im Kontrollsystem auf $1070 \pm 100,66 \text{ mg/L}$ und im MDR-System auf $594,67 \pm 76,01 \text{ mg/L}$ beobachtet. Die Nitrat-Konzentrationen im Filtrat zeigten bis zum 4. Tag nahezu identische Nitrat-Konzentrationen wie im MDR-System. Bis zum 14. Tag wurden im Filtrat geringere Werte von $10,96 \pm 12,46 \text{ mg/L}$ gemessen. Auf eine folgende schwankende Steigerung der NO_3^- -Konzentrationen folgte der Nitratverlauf im Filtrat dem des MDR-Systems, jedoch auf einem geringeren Niveau. Zwischen dem 53. und 67. Tag kam es im Filtrat zu einer Reduktion der Nitrat-Konzentrationen auf **101 mg/L** , weniger als ein Fünftel der Werte des MDR-Systems. Anschließend stiegen die Nitrat-Konzentrationen im Filtrat innerhalb von 21 Tagen auf **403 mg/L** an, bevor sie bei der nächsten Messung auf **45 mg/L** absanken. Bis zum Versuchsende an Tag 127 lagen die Nitrat-Konzentrationen im Filtrat bei durchschnittlich **$96,12 \pm 50,11 \text{ mg/L}$** , was weniger als einem Sechstel der Werte des MDR-Systems entspricht. Über den gesamten Versuchszeitraum zeigten die Nitrat-Konzentrationen im Filtrat deutliche Schwankungen. Im Mittel wurden im Filtrat (**$153,99 \text{ mg/L}$**) deutlich geringere Nitrat-Konzentrationen gemessen als im MDR-System (**$403,21 \text{ mg/L}$**) und im Kontrollsystem (**$556,93 \text{ mg/L}$**). Insgesamt zeigte das MDR-System über den gesamten Versuchsverlauf eine deutlich geringere Steigerung der Nitrat-Konzentration, sodass die Nitratwerte im Kontrollsystem bei der letzten Probenahme etwa **1,8-fach höher** waren als im MDR-System.

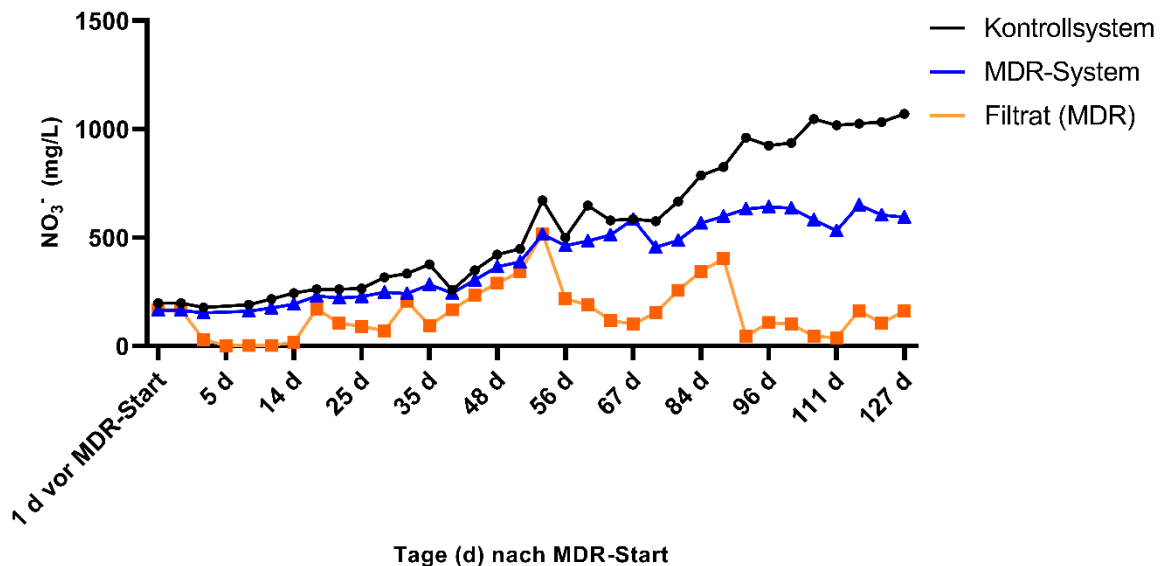


Abb. 73: Nitrat (NO_3^-)-Konzentrationen aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro System und Entnahmedatum im Mittelwert. Das Filtrat zeigt einen Einzelwert.

5.4.1.8 Sauerstoff-Konzentration und pH-Wert des Membran-Denitrifikationsreaktors

Die Sauerstoff-Konzentrationen im Zulauf blieben dabei mit durchschnittlich $5,59 \pm 0,51$ mg/L konstant. Im Ablauf wurden bis zum 86. Versuchstag sehr niedrige Werte von $0,05 \pm 0,14$ mg/L gemessen. Ab Tag 86 zeigten die Messwerte der Sauerstoff-Sonde jedoch stärkere Schwankungen, wodurch die mittleren Konzentrationen im Ablauf auf $2,02 \pm 1,22$ mg/L anstiegen. Wahrscheinlich war der Sauerstoff-Sensor defekt, so dass die Werte ab Tag 86 nicht die realen Zustände im Ablauf widerspiegeln. Insgesamt wurde die Sauerstoff-Konzentration durch die Zirkulation im Reaktor bis zur Rückführung in das System um das **7,46-Fache** auf ca. 13,4 % der Konzentration im Zulauf reduziert.

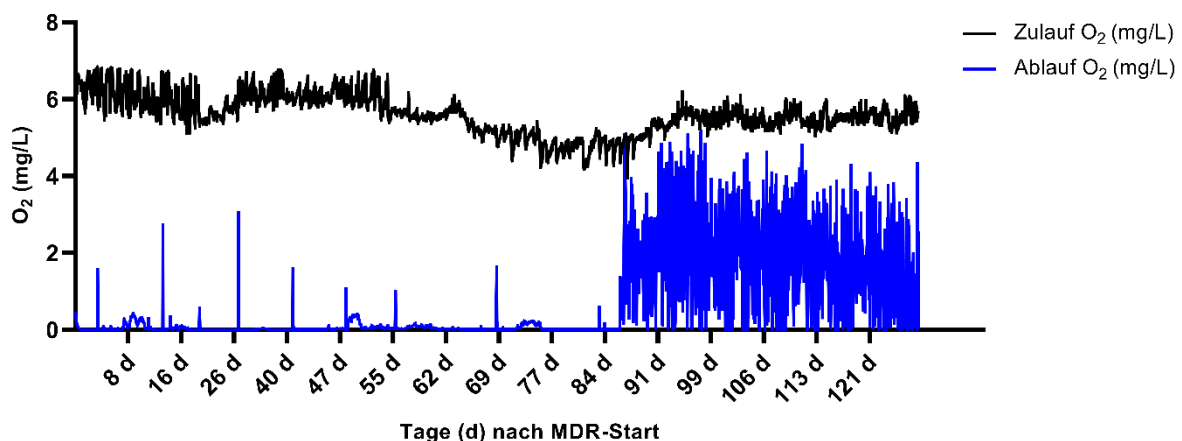


Abb. 74: Sauerstoff (O_2)-Konzentrationen aus dem Zulauf und dem Ablauf des MDRs. Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messung.

Im Zulauf wurden über den gesamten Versuchszeitraum pH-Werte von durchschnittlich $7,07 \pm 0,42$ gemessen. Im Gegensatz zum Zulauf wurden im Ablauf mit Werten von $7,55 \pm 0,42$ ungefähr 7% höhere pH-Werte

festgestellt. Auffällig sind die Schwankungen in der ersten Hälfte des Versuches. In der zweiten Hälfte schienen die pH-Messwerte stabiler zu sein.

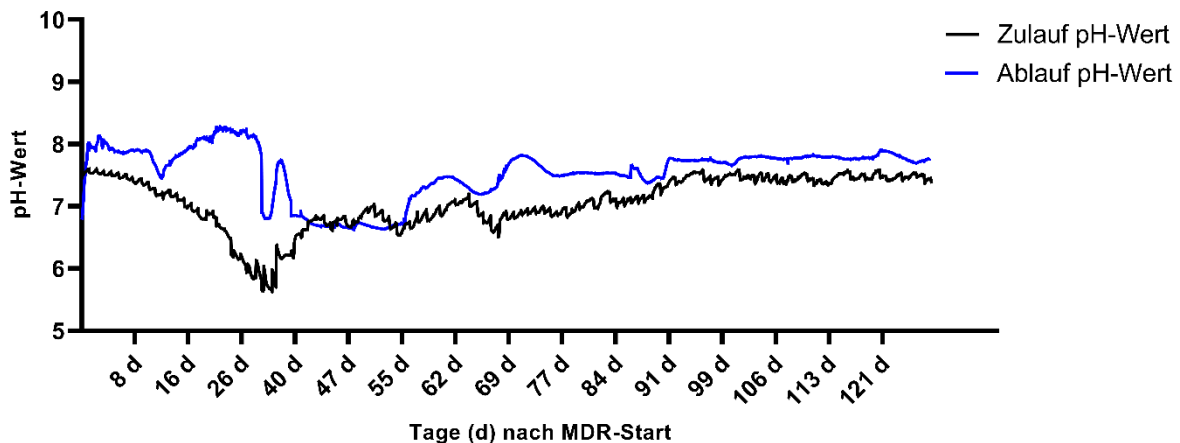


Abb. 75: pH-Werte aus dem Zulauf und dem Ablauf des MDRs. Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messung.

5.4.2 Durchfluss, Permeatfluss (Flux), Permeabilität und Transmembrandruck des MDRs

In den darauffolgenden Betriebstagen setzte sich der Abfall von Durchfluss und Flux kontinuierlich fort, bis ein dauerhaft niedriges Niveau am 18. Tag erreicht wurde. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine mechanische Reinigung der Membran durchgeführt, wonach die Membran wieder in den Reaktor integriert wurde. Dies führte zu einem drastischen Anstieg von Durchfluss und Flux nach der erneuten Inbetriebnahme des Reaktors. Die erhöhten Durchsatzraten konnten jedoch nur für vier Tage aufrechterhalten werden, bevor Durchfluss und Flux erneut rasch abnahmen und sich bis zum 30. Tag auf einem stabilen, jedoch niedrigen Niveau einpendelten. Eine effektive Zirkulation der biologisch abbaubaren Polymere innerhalb des Reaktors konnte nicht erreicht werden. Stattdessen sammelten sich die Polymere am Trichterboden an und verklebten zunehmend, wodurch eine dauerhafte Membranreinigung durch die Polymere verhindert wurde. Bis zum Ende des Versuchszeitraums nahmen sowohl der Durchfluss als auch der Flux weiter ab, bis nahezu kein Wasser mehr durch den MDR befördert wurde. Die Online-Messungen der Permeabilität (s. Abb. 13) zeigten ein ähnliches Verhalten: Nach der Inbetriebnahme des Reaktors sank die Permeabilität rasch ab. Nach der Membranreinigung am 18. Tag konnte die Permeabilität jedoch bis etwa zum 60. Tag auf einem hohen Niveau gehalten werden, bevor sie ebenfalls kontinuierlich bis nahe null abfiel. Über den gesamten Versuchszeitraum wiesen die Permeabilitätswerte erhebliche Schwankungen auf. Diese Schwankungen resultierten aus variierenden Zulauf-Volumenströmen, da die Zulaufpumpe bei einem zu hohen Wasserstand im Reaktor automatisch abgeschaltet wurde. Der Transmembrandruck (TMP) (s. Abb. 14) konnte bis zum 68. Tag auf einem hohen Niveau von $108,4 \pm 25,1$ mbar stabil gehalten werden. Danach sank der TMP auf ein niedrigeres Niveau von $29,39 \pm 23,40$ mbar, wobei starke Schwankungen auftraten. Insgesamt nahm der Transmembrandruck begleitet von erheblichen Schwankungen über den Versuchszeitraum deutlich ab.

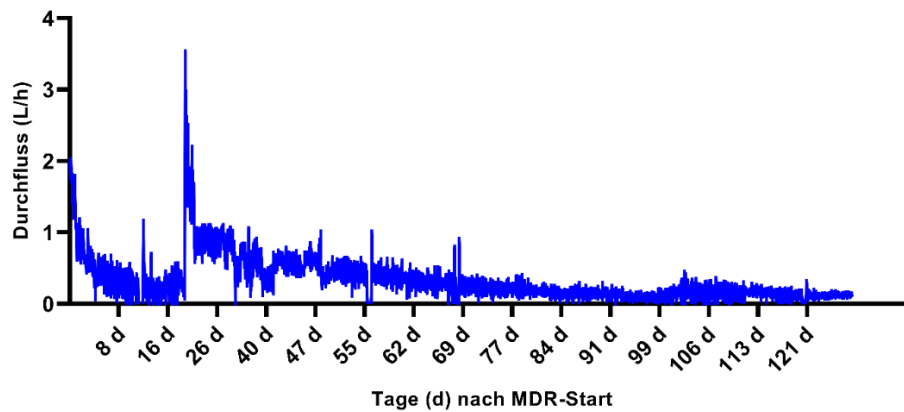


Abb. 76: Verlauf vom Durchfluss durch den Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.

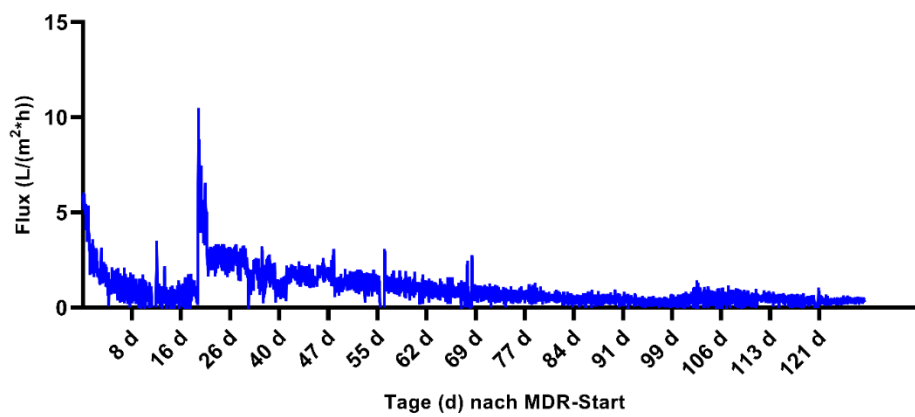


Abb. 77: Verlauf vom Permeatfluss (Flux) durch die Membran im Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.

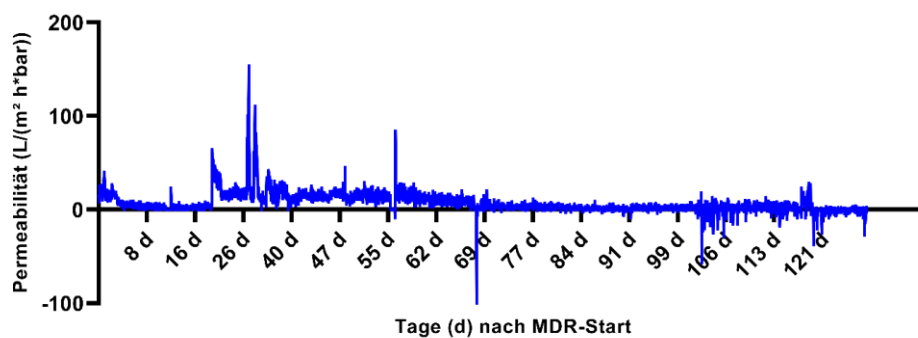


Abb. 78: Verlauf der Permeabilität durch die Membran im Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.

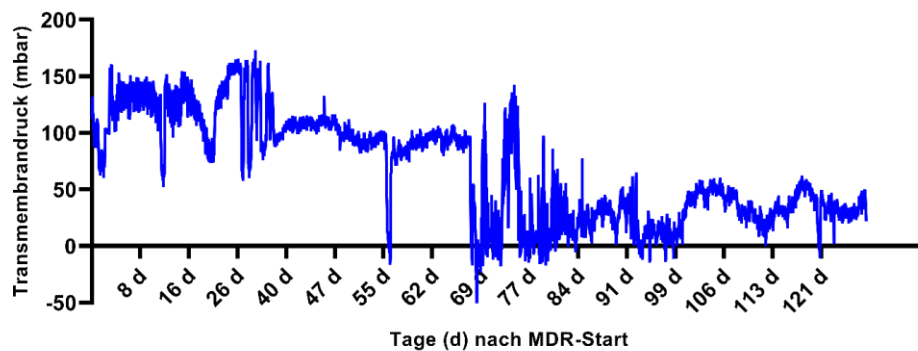


Abb. 79: Verlauf vom Transmembrandruck der Membranen im Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR). Dargestellt sind die Mittelwerte der Online-Messwerte.

5.4.3 Beurteilung von Fischen und mikrobiologische Bewertung des Wassers

5.4.3.1 Ergebnisse des Bakteriengehaltes im Wasser, in den Biofilmen und im Mukus der Haut der Fische

5.4.3.1.1 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft im Haltungswasser

Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl ergab im Haltungswasser des Kontrollsystems seit der ersten Probenahme eine stetige Erhöhung bakterieller Kopien bis zum 55. Tag nach Inbetriebnahme des Reaktors von $2,1 \cdot 10^4$ auf $1,9 \cdot 10^6$ Kopien. Bis zur folgenden Messung (69 d) sank die Gesamtkeimzahl im Kontrollsystem wieder auf ein ähnliches Niveau der beiden vorausgegangenen Werte auf $6,3 \cdot 10^5$ Kopien und stabilisierte sich über die folgenden Messungen bis zur vorletzten Probenahme (111 d) auf ein gleichbleibendes Niveau. Am 127. Tag nach Versuchsstart kam es zu einer Reduktion der Gesamtkeimzahl des Kontrollsystems auf $3,1 \cdot 10^5$ Kopien. Innerhalb des Kontrollsystems konnten statistische Unterschiede zwischen der ersten Probenahme und den Probennahmen zwischen dem 27. - und dem 111. Tag nachgewiesen werden. Mit $3,3 \cdot 10^5$ Kopien, konnte dem MDR-System ein signifikant höherer Ausgangswert vor Inbetriebnahme des Reaktors zugeordnet werden. Nach Reduktion der Gesamtkeimzahl bis zum 13. Tag des Versuchszeitraumes auf $1,2 \cdot 10^5$ Kopien, kam es zur Steigerung auf $8,1 \cdot 10^5$ Kopien 27 Tage nach MDR-Start und einer Aufhebung signifikanter Unterschiede zwischen Kontroll- und MDR-System. Ab der dritten Probenahme (27. Tag) konnte eine deutliche Reduktion der Gesamtkeimzahl von $8,1 \cdot 10^5$ (27. Tag) auf $3,3 \cdot 10^3$ Kopien (83. Tag) bis zur siebenten Probenahme festgestellt werden. Über die folgenden zwei Probenahmen (97. und 111. Tag) konnte ein höheres nahezu gleiches Niveau der Gesamtkeimzahlen ($3,6 \cdot 10^4$ und $3,2 \cdot 10^4$) erreicht werden. Erst zur letzten Probenahme 127 Tage nach MDR-Start, kam es zum Angleich der Gesamtkeimzahlen beider Systeme (Kontrollsystem = $3,1 \cdot 10^5$; MDR-System = $3,6 \cdot 10^5$). Durch die Reduktion der Gesamtkeimzahlen des MDR-Systems kam es zu signifikant geringeren Keimzahlen des MDR-Systems gegenüber dem Kontrollsystem zwischen dem 55. Tag und 111. Tag nach Inbetriebnahme des Systems. Innerhalb des MDR-Systems traten ebenfalls deutliche Unterschiede in den ermittelten bakteriellen Kopien auf. Nach dem Anstieg zu Beginn wurden signifikant höhere Messwerte 27 Tage nach MDR-Start ($8,1 \cdot 10^5$) gegenüber 83 Tagen ($3,3 \cdot 10^3$), 97 Tagen ($3,6 \cdot 10^4$) und 111 Tagen ($3,2 \cdot 10^4$) gemessen. Die Probenahme 83 Tage nach MDR-Start zeigte signifikant niedrigere Keimzahlen als die gemessenen Werte der ersten 5, sowie der letzten Probenahme. Zudem zeigten die achte und neunte Probennahme signifikant niedrigere Gesamtkeimzahlen als die erste und vierte Probennahme. Aufgrund des deutlichen Anstieges am Ende der Versuchsperiode zeigte die Messung 97 Tage nach MDR-Start signifikant niedrigere Gesamtkeimzahlen als die letzte Messung 127 Tage nach MDR-Start.

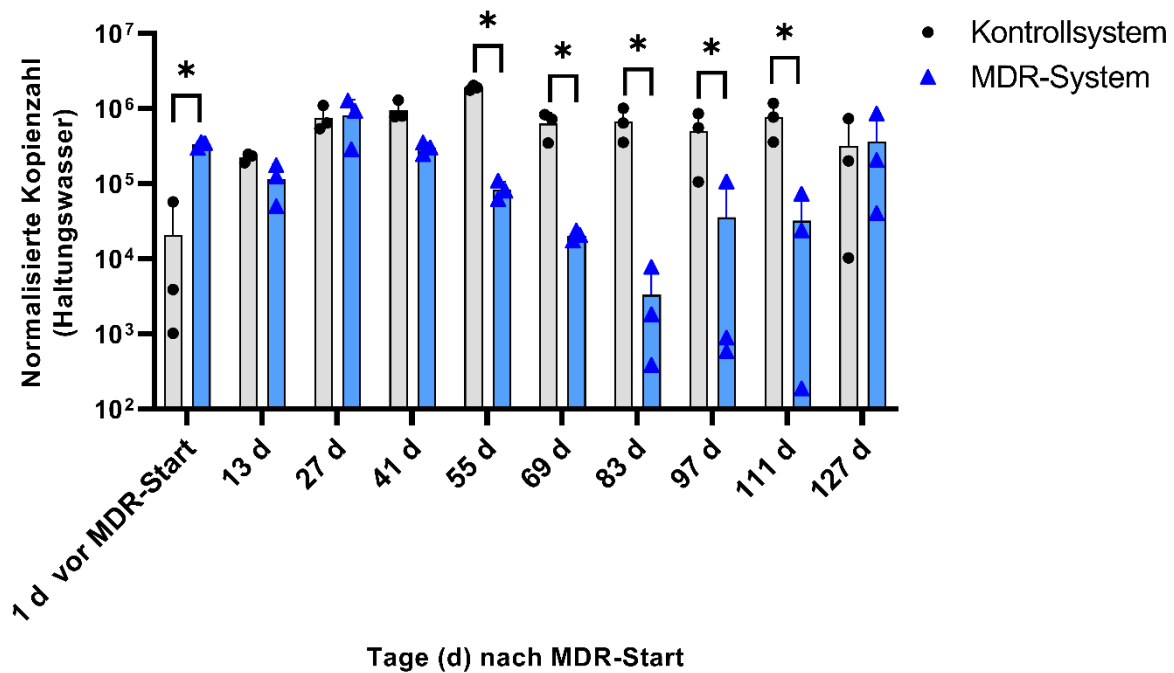


Abb. 80: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Wasserproben aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 13, 27, 41, 55, 69, 83, 97, 111 und 127 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. * = $p < 0,05$.

5.4.3.1.2 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in den Biofilmen

Die Analysen der Biofilmpuben ergaben zu Beginn einen deutlichen Anstieg der Gesamtkeimzahl im Biofilm der Haltungsbecken des Kontrollsystems vom ersten (1 d vor MDR = $1,24 \cdot 10^6$) zum vierten Probenahmezeitpunkt (41 Tage Betriebsdauer = $4,79 \cdot 10^6$) um das Vierfache. Anschließend sank der mittels qPCR gemessene bakterielle Gesamtgehalt des Biofilms im Kontrollsystem zur folgenden Probenahme (55 Tage nach MDR-Start) signifikant um das 15-Fache auf $3,1 \cdot 10^5$ Kopien. Im weiteren Verlauf stabilisierten sich die Keimzahlen im Kontrollsystem des Biofilms bis 127 Tage nach MDR-Start und veränderten sich nicht signifikant. Im Gegensatz zum Kontrollsystem, konnte ein Anstieg der Gesamtkeimzahlen im Biofilm des MDR-Systems nur bis zur 2. Probenahme festgestellt werden. Dabei kam es zur Steigerung um ungefähr dem doppelten von $1,44 \cdot 10^6$ auf $2,44 \cdot 10^6$. Bis zur Probenahme 41 Tage nach MDR-Start trat allerdings keine Erhöhung der Keimzahlen auf, sondern eine Verringerung auf $1,14 \cdot 10^6$ Kopien auf unter den Ausgangswert. Im weiteren Verlauf sank die Keimzahl von 41 Tage bis 55 Tage nach MDR-Start signifikant auf $2,3 \cdot 10^5$ Kopien um das 5-Fache. Ähnlich zu den Gesamtkeimzahlen der Biofilme im Kontrollsystem stabilisierten sich die Keimzahlen im MDR-System auf ein gleichbleibendes Niveau und signifikante Veränderungen konnten nicht mehr gemessen werden. Aufgrund der unterschiedlichen Entwicklung zu Beginn, wurden im MDR-System statistisch signifikant geringere Keimzahlen zu den Probenahmen am 27.- sowie am 41. Tag nach Inbetriebnahme des MDRs festgestellt. In beiden Systemen zeigten die ersten 4 Probenahmen jeweils signifikante Keimzahlunterschiede zu den Probenahmen ab dem 55. Tag nach Inbetriebnahme des Membran-Denitrifikationsreaktors.

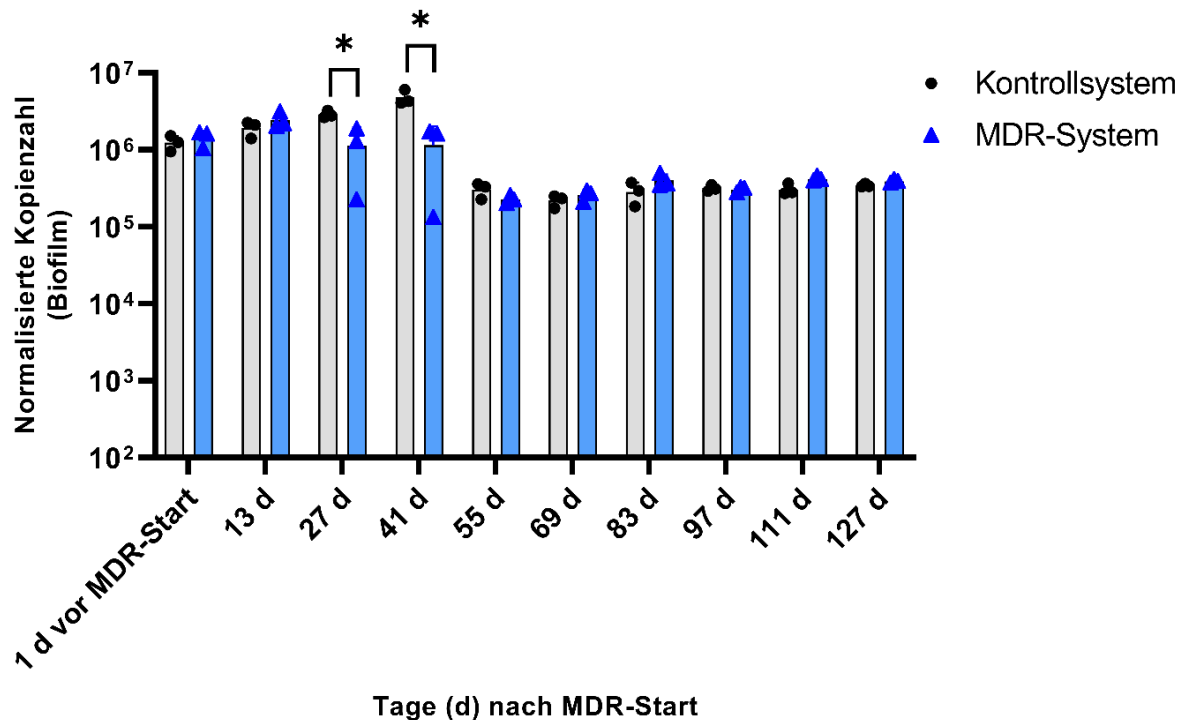


Abb. 81: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 13, 27, 41, 55, 69, 83, 97, 111 und 127 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. * = $p < 0,05$.

5.4.3.1.3 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in den Mukusproben der Fische

Bei der molekularbiologischen Untersuchung auf die Bakteriengehalte auf dem Fischmukus der Haut wurden einen Tag vor Inbetriebnahme der Systeme keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Die Bakteriengehalte im Mittelwert von $7,0 \times 10^2$ Kopien im Kontrollsystem waren geringfügig niedriger als im MDR-System mit $1,9 \times 10^3$ Kopien. Die diagnostische Untersuchung der Tilapien nach einer Betriebsdauer von 122 Tagen ergab eine signifikante Erhöhung der Bakteriengehalte auf dem Fischmukus in beiden Anlagen. Im Kontrollsystem kam es zu einem Anstieg im Mittelwert von $7,0 \times 10^2$ auf $5,74 \times 10^5$ Kopien in der Probe. Im MDR-System konnte ein Anstieg von $1,9 \times 10^3$ auf $1,24 \times 10^4$ gemessen werden. Die Bakteriengehalte zeigten insgesamt einen signifikanten Anstieg über den Versuchsabschnitt. Im Gegensatz zur ersten Untersuchung konnte im MDR-System ein weniger deutlicher Anstieg der Bakteriengehalte als im Kontrollsystem beobachtet werden. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Anlagen konnte nicht festgestellt werden.

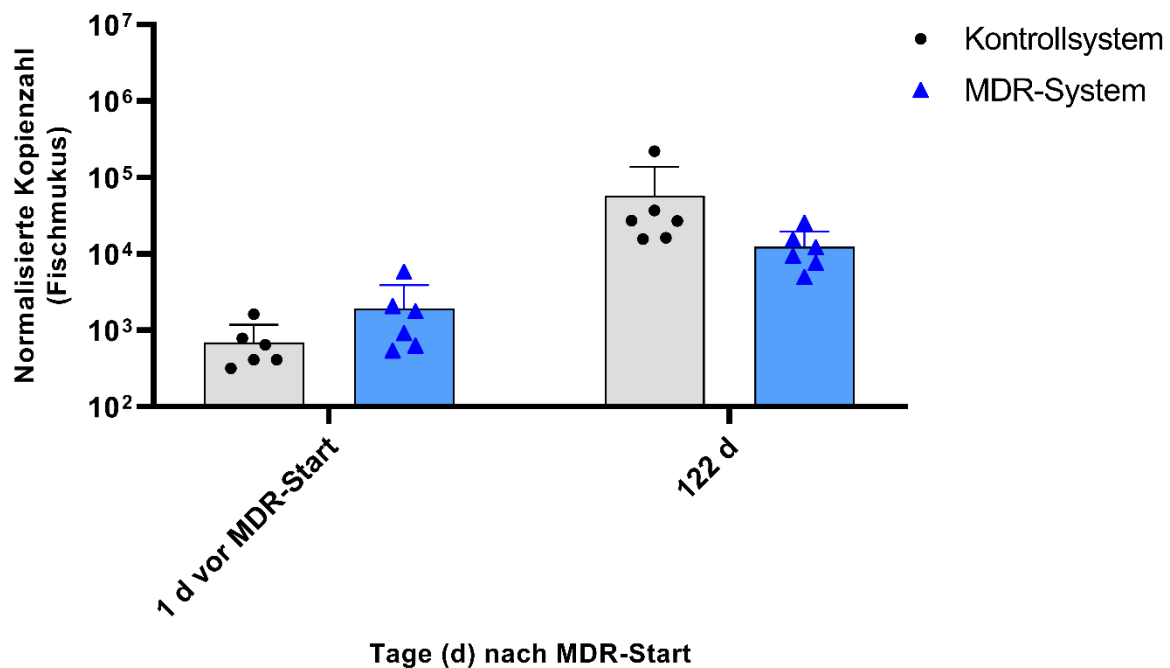


Abb. 82: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus dem Mukus der Fische aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 122 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils Proben von 6 Tilapien je Anlage und Entnahmezeitpunkt mit Mittelwert und Standardabweichung.

5.4.3.1.4 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in den Biofilmen

Die Analysen der Biofilmpuben ergaben zu Beginn einen deutlichen Anstieg der Gesamtkeimzahl im Biofilm der Haltungsbecken des Kontrollsystems vom ersten (1 d vor MDR = $1,24 \cdot 10^6$) zum vierten Probenahmezeitpunkt (41 Tage Betriebsdauer = $4,79 \cdot 10^6$) um das Vierfache. Anschließend sank der mittels qPCR gemessene bakterielle Gesamtgehalt des Biofilms im Kontrollsystem zur folgenden Probenahme (55 Tage nach MDR-Start) signifikant um das 15-Fache auf $3,1 \cdot 10^5$ Kopien. Im weiteren Verlauf stabilisierten sich die Keimzahlen im Kontrollsystem des Biofilms bis 127 Tage nach MDR-Start und veränderten sich nicht signifikant. Im Gegensatz zum Kontrollsystem, konnte ein Anstieg der Gesamtkeimzahlen im Biofilm des MDR-Systems nur bis zur 2. Probenahme festgestellt werden. Dabei kam es zur Steigerung um ungefähr dem doppelten von $1,44 \cdot 10^6$ auf $2,44 \cdot 10^6$. Bis zur Probenahme 41 Tage nach MDR-Start trat allerdings keine Erhöhung der Keimzahlen auf, sondern eine Verringerung auf $1,14 \cdot 10^6$ Kopien auf unter den Ausgangswert. Im weiteren Verlauf sank die Keimzahl von 41 Tage bis 55 Tage nach MDR-Start signifikant auf $2,3 \cdot 10^5$ Kopien um das 5-Fache. Ähnlich zu den Gesamtkeimzahlen der Biofilme im Kontrollsystem stabilisierten sich die Keimzahlen im MDR-System auf einem gleichbleibenden Niveau und signifikante Veränderungen konnten nicht mehr gemessen werden. Aufgrund der unterschiedlichen Entwicklung zu Beginn, wurden im MDR-System statistisch signifikant geringere Keimzahlen zu den Probenahmen am 27.- sowie am 41. Tag nach Inbetriebnahme des MDRs festgestellt. In beiden Systemen zeigten die ersten 4 Probennahmen jeweils signifikante Keimzahlunterschiede zu den Probenahmen ab dem 55. Tag nach Inbetriebnahme des Membran-Denitrifikationsreaktors.

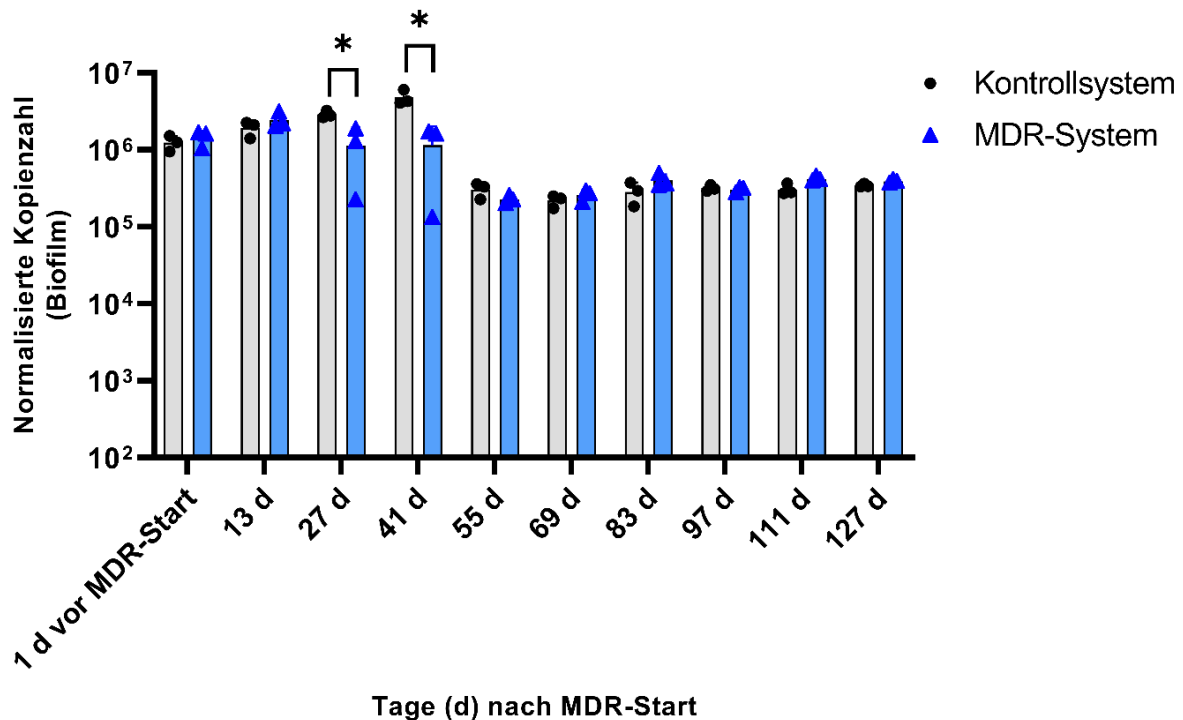


Abb. 83: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 1 Tag vor- und 13, 27, 41, 55, 69, 83, 97, 111 und 127 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. * = $p < 0,05$.

5.4.3.2 Ergebnisse der Next-Generation Sequencing (NGS)-Analyse

Zur detaillierten Analyse der mikrobiellen Zusammensetzung wurden die Biofilm- und Wasserproben aus dem Kontroll- und dem MDR-System des Laborreaktors aus Hannover mittels Next-Generation Sequencing (NGS) untersucht. Es wurden einen Tag vor MDR-Start und 27 und 69 Tage nach MDR-Start Proben entnommen und untersucht.

In den analysierten Wasserproben vor der Inbetriebnahme des MDRs stellten die Proteobakterien in beiden Systemen die am häufigsten vertretene Bakterien-Abteilung dar. Allerdings war der Anteil der Proteobakterien im Kontrollsystem mit weniger als 75 % deutlich geringer als im MDR-System, wo etwa 90 % dieser Bakterien-Abteilung nachgewiesen wurden. Zudem wiesen die Proben des Kontrollsystems einen höheren Anteil an Bacteroidota auf. Im Verlauf zur zweiten Probenahme am Tag 27 kam es zur deutlichen Verschiebung der Bakterien-Abteilungen. Der Anteil der Proteobakterien sank in beiden Systemen deutlich auf knapp über 50 %. Besonders im MDR-System war dieser Rückgang ausgeprägt. Dahingegen stieg der Anteil der Bacteroidota in beiden Systemen an. Besonders auffällig war der starke Zuwachs der Fusobacteriota. Diese nahmen am 27. Tag nach Inbetriebnahme des MDRs in beiden Systemen die zweithäufigste Bakterien-Abteilung ein. Insbesondere im MDR-System konnte im Vergleich zum Kontrollsystem ein höherer prozentualer Anteil gezeigt werden. Auch andere Bakterien-Abteilungen nahmen in beiden Systemen prozentual zu. Am dritten Analysedatum, Tag 69 nach MDR-Start, stieg der Anteil der Proteobakterien in beiden Systemen wieder an und erreichte etwa 75 %. Der Anteil der Fusobacteriota nahm hingegen deutlich ab. Ein ähnlicher Rückgang war bei den Bacteroidota zu beobachten. Im Gegensatz dazu stieg der Anteil der Actinobacteriota in beiden Systemen an, sodass diese drei Bakterien-Abteilungen (Fusobacteriota, Bacteroidota und Actinobacteriota) am Tag 69 nahezu denselben prozentualen Anteil ausmachten. Zudem nahmen die Dependientiae im Kontrollsystem wieder einen höheren Stellenwert ein, nachdem ihr Anteil am Tag 27 nur gering war. Insgesamt konnte eine klare Verschiebung der Bakterien-Abteilungen im Verlauf der Probenahmen nach der Inbetriebnahme des MDRs in beiden Systemen festgestellt werden.

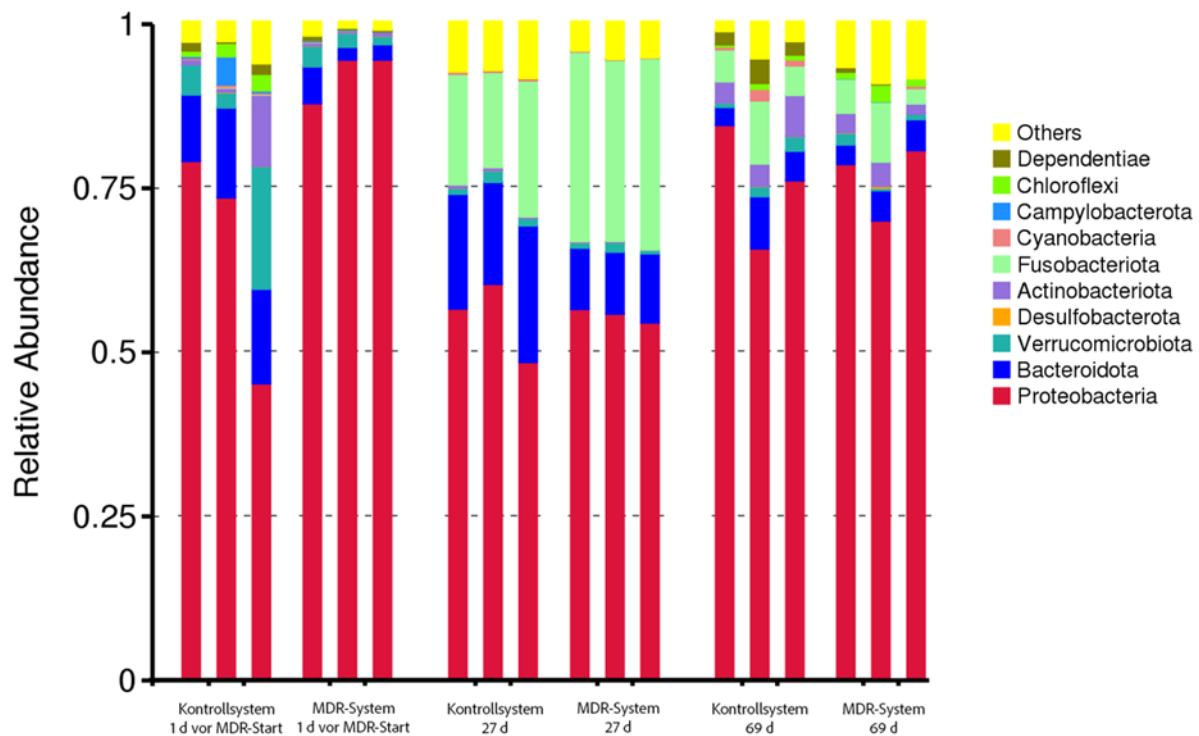


Abb. 84: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Abteilungen in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

In den analysierten Tupferproben des Biofilms aus den Haltungsbecken in Hannover stellten die Proteobakterien vor der Inbetriebnahme des MDRs in beiden Systemen die am häufigsten vertretene Bakterien-Abteilung dar. Der Anteil der Proteobakterien war im Kontrollsystem mit etwa 62 % und im MDR-System mit ca. 70 % relativ ähnlich. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den Wasserproben waren die Bacteroidota in beiden Systemen die zweithäufigste vertretene Bakterien-Abteilung. Sowohl die Actinobacteriota als auch die Verrucomicrobiota waren in beiden Systemen in einem nicht unerheblichen Teil vertreten. Besonders im MDR-System konnte ein höherer Anteil der Chloroflexi nachgewiesen werden. Insgesamt ähnelte sich die Zusammensetzung der Bakterien-Abteilungen in beiden Systemen. Im Verlauf der zweiten Probenahme an Tag 27 zeigte sich ein leichter Rückgang des Anteils der Proteobakterien. Gleichzeitig stieg der Anteil der Bacteroidota in beiden Systemen, wobei dieser Anstieg insbesondere im Kontrollsystem ausgeprägter war. Die Actinobacteriota nahmen im MDR-System leicht zu, während im Kontrollsystem ein geringer Rückgang zu beobachten war. In Übereinstimmung mit den Wasserproben war auch in den Biofilmproben am Tag 27 eine Abnahme des Anteils anderer Bakterien-Abteilungen zu verzeichnen, sodass sich die Bakterienzusammensetzung auf wenige Abteilungen konzentrierte. Die mittels NGS analysierten Proben 69 Tage nach MDR-Start zeigten, dass der Anteil der Proteobakterien im Kontrollsystem leicht anstieg, während er im MDR-System auf unter 50% fiel. Im Gegensatz dazu sank der Anteil der Bacteroidota im Kontrollsystem, während er im MDR-System deutlich anstieg. Sowohl im Kontroll- als auch im MDR-System war ein Anstieg der Chloroflexi im gleichen Maß festzustellen. Insgesamt deutet die Veränderung der Bakterien-Abteilungen in den Biofilmen auf eine ähnliche Dynamik hin wie in den Wasserproben, wobei beide Systeme im Verlauf des MDR-Einsatzes vergleichbare Verschiebungen aufwiesen. Die Bakterienzusammensetzung in den Biofilmen blieb jedoch in beiden Systemen stabiler im Vergleich zur Zusammensetzung in den Wasserproben.

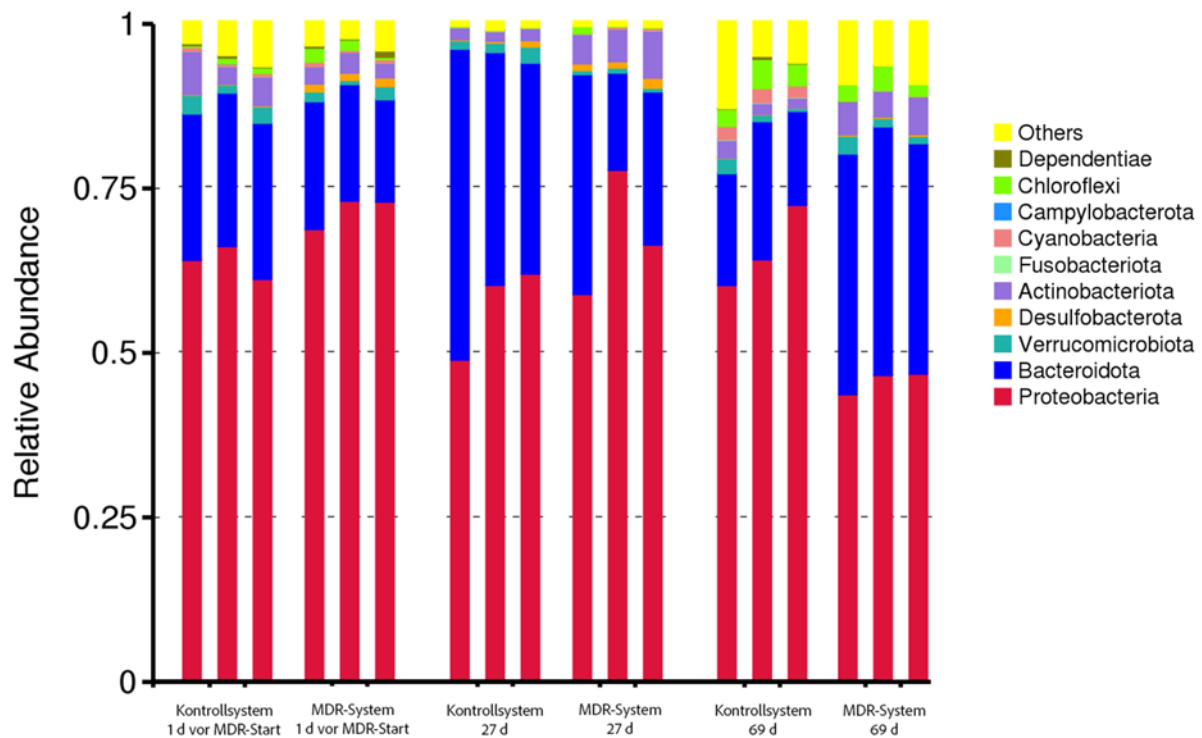


Abb. 85: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Abteilungen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

Beim Vergleich der Bakterien-Klassen in den Wasserproben zwischen dem Kontroll- und dem MDR-System zu verschiedenen Zeitpunkten zeigte sich vor dem Anschluss des MDRs im Kontrollsystem ein sehr geringer Anteil an Alphaproteobakterien sowie ein hoher Anteil an Gammaproteobakterien. Im Gegensatz dazu bestand das Bakterienprofil im MDR-System nahezu ausschließlich aus Alpha-proteobakterien, die einen Gesamtanteil von über 80 % ausmachten, während Gammaproteobakterien nur einen marginalen Anteil hatten. Die Klasse der Bacteroidia war im Kontrollsystem in höherem Maß vertreten als im MDR-System. Andere nicht näher bezeichnete Klassen zeigten ebenfalls einen höheren Anteil im Kontrollsystem. Besonders auffällig war der deutliche Unterschied in der Anwesenheit von Alphaproteobakterien und Gammaproteobakterien zwischen den beiden Systemen. Bei der Analyse 27 Tage nach Inbetriebnahme des MDRs zeigte sich eine nahezu vollständige Angleichung der Bakterien-Klassen zwischen den Systemen. Besonders bemerkenswert war der Anstieg der Fusobacteriia. Diese Klasse machte im Kontrollsystem etwa 15 % und im MDR-System etwa 25 % der Bakterien aus. Zum Zeitpunkt der ersten Analyse war diese Klasse kaum vertreten. Der Anteil der Alphaproteobakterien war nun nahezu gleich dem der Gammaproteobakterien und betrug jeweils etwa 25 %. Zudem wurde im MDR-System eine Zunahme des relativen Anteils der Bacteroidia festgestellt. Die Anteile anderer, nicht spezifizierter Klassen waren in beiden Systemen ähnlich. Insgesamt kam es in beiden Systemen zu einer gleichmäßigen Verteilung der Bakterien-Klassen, mit einer vergleichbaren Aufteilung auf Alphaproteobakterien, Gammaproteobakterien, Bacteroidia und Fusobacteriia. Nach 69 Tagen zeigte sich im Kontrollsystem ein erneuter Anstieg der Alphaproteobakterien auf etwa 70 %, begleitet von einer deutlichen Abnahme der Gammaproteobakterien sowie der Bacteroidia und Fusobacteriia. Im MDR-System war hingegen nur ein leichter Anstieg der Alphaproteobakterien zu verzeichnen, während die Gammaproteobakterien stark anstiegen und etwa 30 % ausmachten. Die Anteile der Fusobacteriia, Actinobacteria und Bacteroidia im MDR-System entsprachen weitgehend denen des Kontrollsystems.

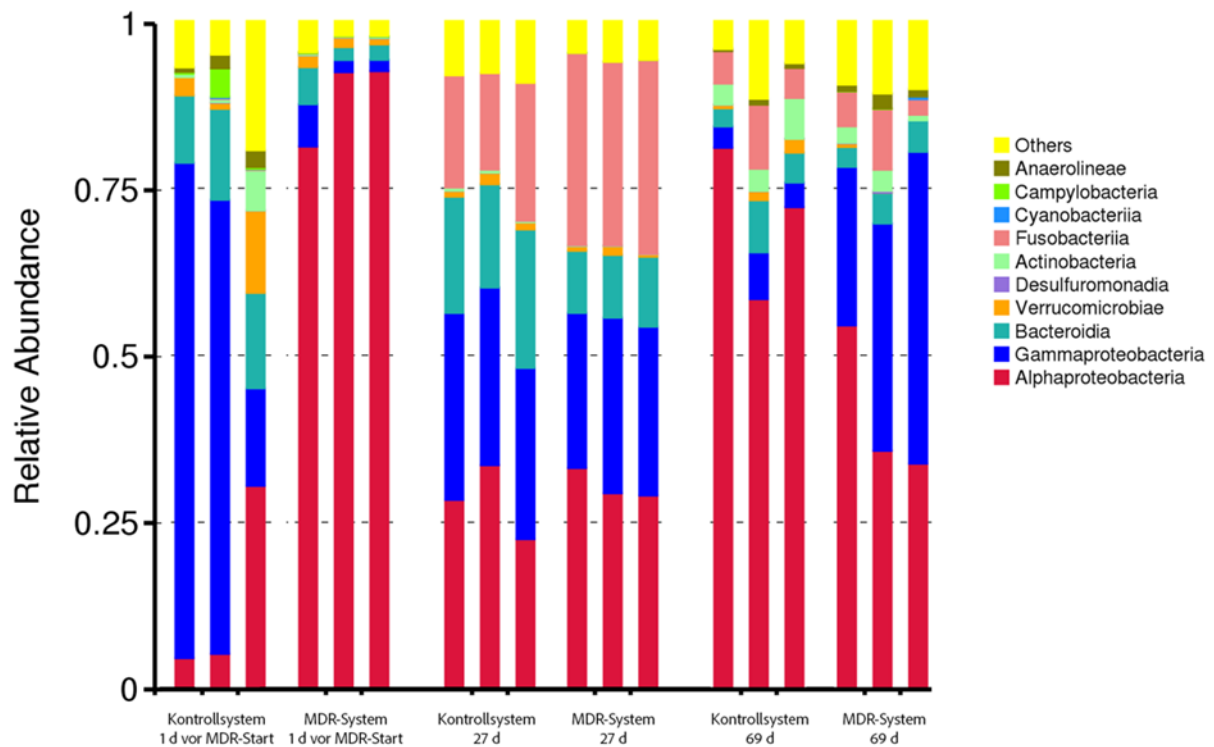


Abb. 86: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Klassen in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

Beim Vergleich der Bakterien-Klassen des Biofilms zeigte sich einen Tag vor dem Anschluss des MDRs eine deutlich ähnlichere und gleichmäßigere Aufteilung der bakteriellen Klassen in beiden Systemen. Im Kontrollsystem war der Anteil der Alphaproteobakterien mit 50 % im Vergleich zu den Wasserproben deutlich höher. Die Gammaproteobakterien machten einen prozentualen Anteil von etwa 12,5 % aus. Im MDR-System konnte mit ca. 62,5 % ein geringfügig höherer Anteil an Alphaproteobakterien nachgewiesen werden. Sowohl im Kontroll- als auch im MDR-System war der Anteil der Bacteroidia mit etwa 20 % in den Tupferproben höher als in den Wasserproben. Die Klasse der Verrucomicrobiae war im Kontrollsystem stärker vertreten, während die Klassen der Desulfuromonadia und Anaerolineae im MDR-System leicht häufiger nachgewiesen wurden. Bis Tag 27 nach Inbetriebnahme des MDRs zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Bacteroidia im Kontrollsystem, deren Anteil auf über 30 % anstieg. Im MDR-System war der Anstieg der Bacteroidia nur geringfügig. In Bezug auf die Proteobakterien nahm der Anteil der Gammaproteobakterien in beiden Systemen gleichzeitig auf einen vergleichbar niedrigen Wert ab. Der Anteil der Alphaproteobakterien blieb im Kontroll- und im MDR-System nahezu konstant. Der Anteil nicht näher spezifizierter Bakterien-Klassen nahm im Kontrollsystem ab. Am dritten Analysedatum, 69 Tage nach MDR-Start, blieb der Anteil der Alphaproteobakterien im Kontrollsystem stabil, während er im MDR-System auf unter 40 % fiel. Der Anteil der Gammaproteobakterien stieg in beiden Systemen geringfügig an. Im Kontrollsystem nahm der Anteil der Bacteroidia ab, während im MDR-System eine deutliche Zunahme auf über 30 % zu verzeichnen war. Besonders auffällig war die zuvor nur minimal vertretene Klasse der Anaerolineae, die am 69. Tag nach Inbetriebnahme in beiden Systemen die viertgrößte Bakterien-Klasse bildete. Der Anteil der nicht differenzierten Bakterien-Klassen stieg in beiden Systemen ohne signifikante systemabhängige Unterschiede.

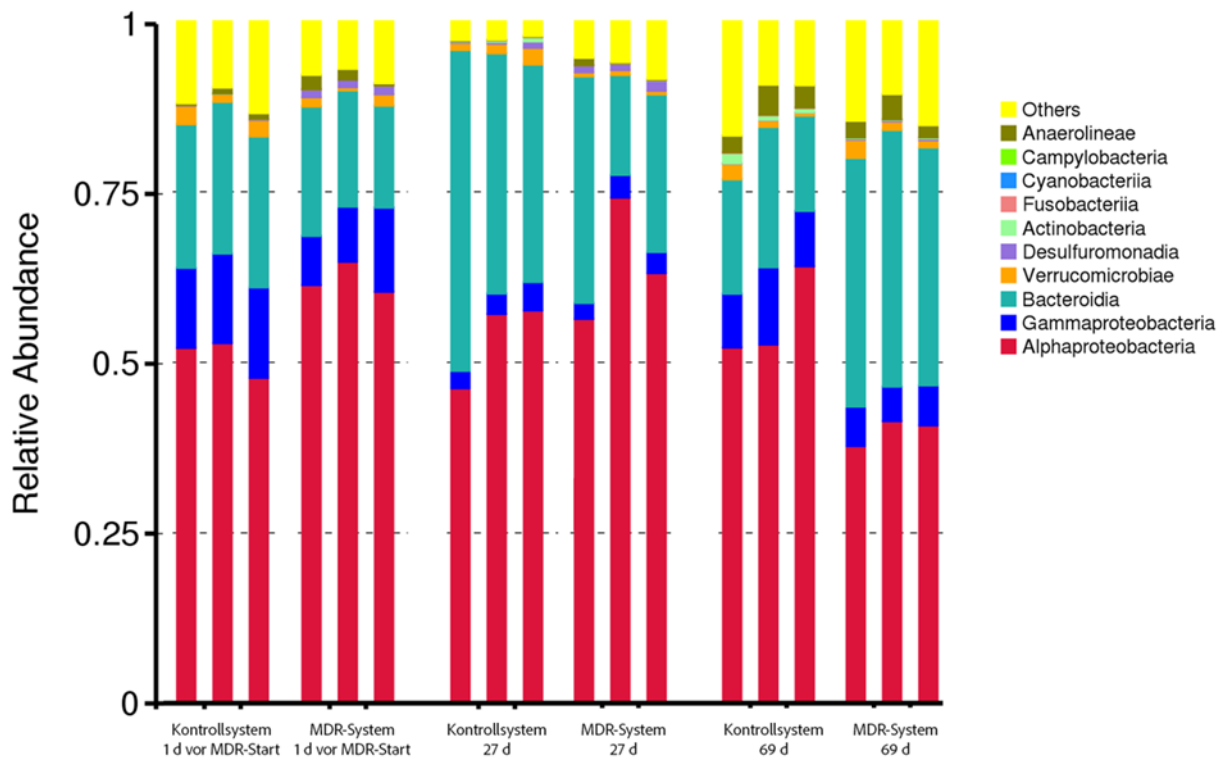


Abb. 87: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Klassen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

Bei der Analyse des Vorkommens bakterieller Ordnungen in den Wasserproben zeigten sich zwischen den Systemen deutliche Unterschiede. Im Kontrollsystem war die Ordnung der Burkholderiales mit einem Anteil von über 50 % stark dominant. Auch die Flavobacteriales nahmen im Kontrollsystem mit etwa 10 % einen erheblichen Anteil ein. Im Gegensatz dazu war die Ordnung der Rhodobacterales im Kontrollsystem kaum vertreten. Im MDR-System hingegen dominierten die Rhodobacterales mit über 80 %, während die Burkholderiales kaum nachweisbar waren. Der Anteil nicht differenzierter Ordnungen war im Kontrollsystem mit etwa 25 % höher als im MDR-System (ca. 10 %). Bei der zweiten Analyse am Tag 27 zeigte sich eine deutliche Veränderung in der Verteilung der bakteriellen Ordnungen. Im Kontrollsystem waren die Burkholderiales nicht mehr nachweisbar, während es zu einer signifikanten Zunahme der Enterobacterales (etwa 25 %) und einem leichten Anstieg der Flavobacteriales kam. Der Anteil nicht differenzierter Ordnungen stieg in beiden Systemen auf über 50 %. Auch im MDR-System war ein markanter Anstieg der Enterobacterales zu verzeichnen. Die Rhodobacterales reduzierten sich von etwa 80 % auf nur noch 20 %, was eine deutliche Veränderung darstellt. Die NGS-Analyse am Tag 69 zeigte erneut erhebliche Veränderungen in der Verteilung der Bakterien. Im Kontrollsystem stieg der Anteil der Rhodobacterales von zuvor keinem Anteil in den ersten beiden Analysen auf über 60 %. Im Gegensatz dazu nahm der Anteil der Enterobacterales und Flavobacteriales ab. Auch im MDR-System nahm der Anteil der Rhodobacterales zu und erreichte mehr als 30 %. In beiden Systemen reduzierte sich der Anteil nicht differenzierter Ordnungen auf knapp über 25 %.

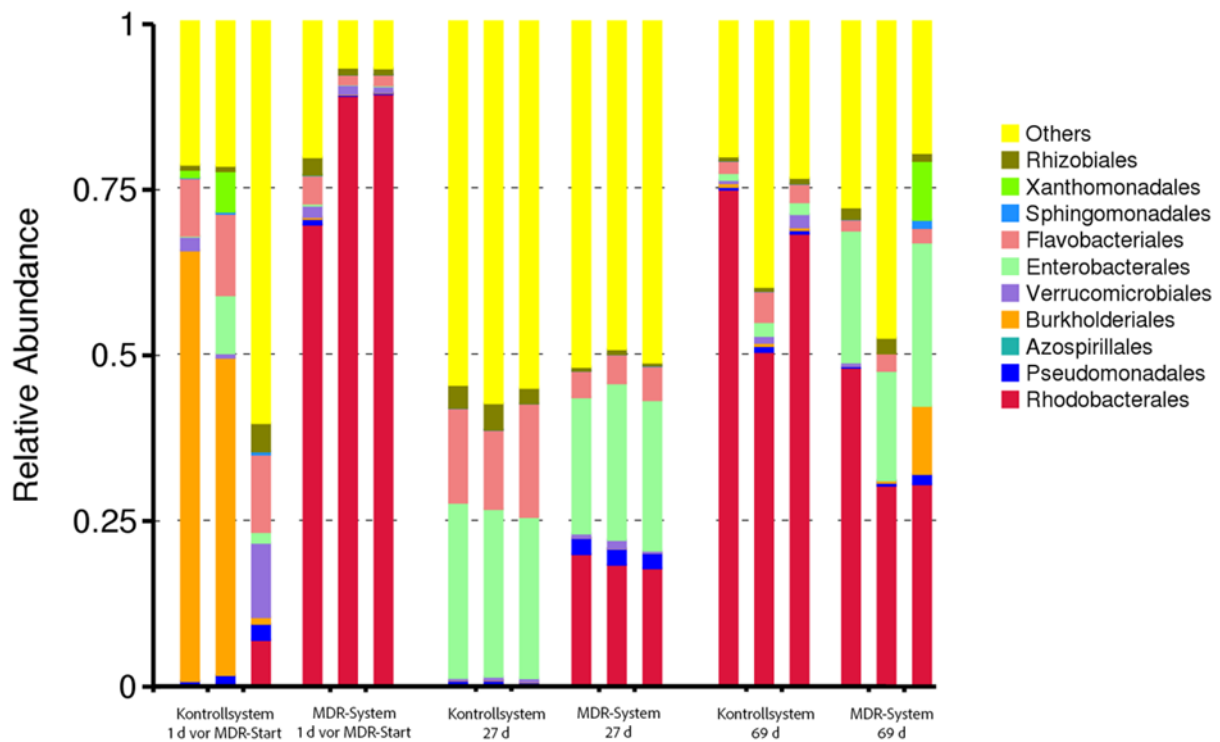


Abb. 88: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Ordnungen in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

In Bezug auf die am häufigsten vorkommenden bakteriellen Ordnungen zeigen die Proben aus dem Kontroll- und MDR-System vor der Inbetriebnahme des Reaktors nahezu eine identische Verteilung. Der Anteil der Rhodobacterales ist im MDR-System mit etwa 35 % etwas höher als im Kontrollsystem (ca. 25 %). Die Ordnung der Pseudomonadales ist im Kontrollsystem vermehrt nachweisbar. Die prozentualen Anteile der Ordnungen Burkholderiales, Verrucomicrobiales, Flavobacteriales, Sphingomonadales und Rhizobiales sind in beiden Systemen mit geringen Abweichungen nahezu identisch. 27 Tage nach Inbetriebnahme des Reaktors sank der Anteil der Rhodobacterales im Kontrollsystem auf etwa 12,5 %, während im MDR-System keine nennenswerten Veränderungen zu verzeichnen waren. Besonders auffällig war der vermehrte Nachweis der Flavobacteriales in beiden Systemen, der mindestens 25 % ausmachte. Insbesondere im Kontrollsystem, aber auch im MDR-System, war die Ordnung der Rhizobiales 27 Tage nach Inbetriebnahme vermehrt nachweisbar. Im Vergleich zur ersten Analyse sank der Anteil nicht differenzierter Ordnungen in beiden Systemen von etwa 50 % auf etwa 25 %. Am dritten Analysezeitpunkt, 69 Tage nach Inbetriebnahme, war im MDR-System eine Reduktion der Rhodobacterales zu beobachten. Zusätzlich zeigte sich eine Abnahme der Flavobacteriales und Rhizobiales im Kontrollsystem, während die Ordnung der Burkholderiales in beiden Systemen anstieg. Die Reduktion der nicht differenzierten Ordnungen, die bereits am Tag 27 verzeichnet wurde, stieg am Tag 69 wieder auf etwa 50 % im Kontrollsystem und etwa 37,5 % im MDR-System.

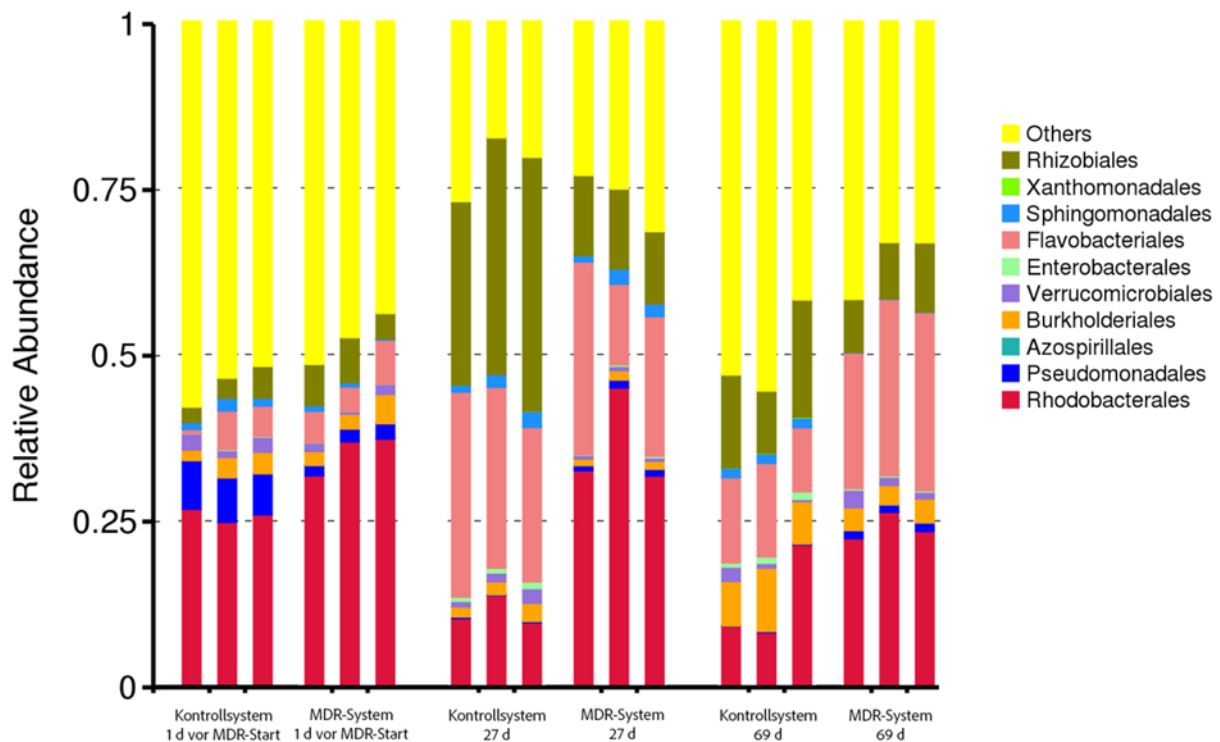


Abb. 89: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Ordnungen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

Auch hinsichtlich der Verteilung der bakteriellen Familien zeigten sich vor dem Start des MDRs in beiden Systemen in den Wasserproben signifikante Unterschiede. Im Kontrollsystem war in zwei Proben ein hoher Anteil der Familie Comamonadaceae nachweisbar, während diese im MDR-System nicht detektiert werden konnte. Die zweithäufigste Familie im Kontrollsystem waren die Flavobacteriaceae. Nicht näher spezifizierte Familien machten im Kontrollsystem knapp unter 50 % und im MDR-System etwa 20 % der Gesamtproben aus. Im MDR-System dominierten die Rhodobacteraceae mit einem Anteil von etwa 80 %. Bei der Analyse am Tag 27 war eine deutliche Veränderung in der Verteilung der Familien erkennbar. Die Comamonadaceae konnten im Kontrollsystem kaum mehr nachgewiesen werden, während die Flavobacteriaceae mit etwa 15 % den größten Anteil ausmachten. Die verbleibenden 85 % entfielen auf nicht differenzierte bakterielle Familien. Im MDR-System war ein starker Rückgang der Rhodobacteraceae von 80 % auf etwa 20 % zu beobachten. Die Flavobacteriaceae machten mit etwa 5 % nur noch einen kleinen Anteil aus, während der Anteil nicht differenzierter Familien auf 75 % anstieg. Zur dritten Probenahme, 69 Tage nach Inbetriebnahme des MDRs, stieg der Anteil der Rhodobacteraceae im Kontrollsystem auf etwa 60 %. Der Anteil der Flavobacteriaceae nahm sowohl im Kontrollsystem (auf unter 5 %) als auch im MDR-System ab. Im MDR-System stieg der Anteil der Rhodobacteraceae leicht auf knapp über 30 %. Der Anteil nicht differenzierter Familien sank im Kontrollsystem auf etwa 35 % und im MDR-System auf knapp über 50 %.

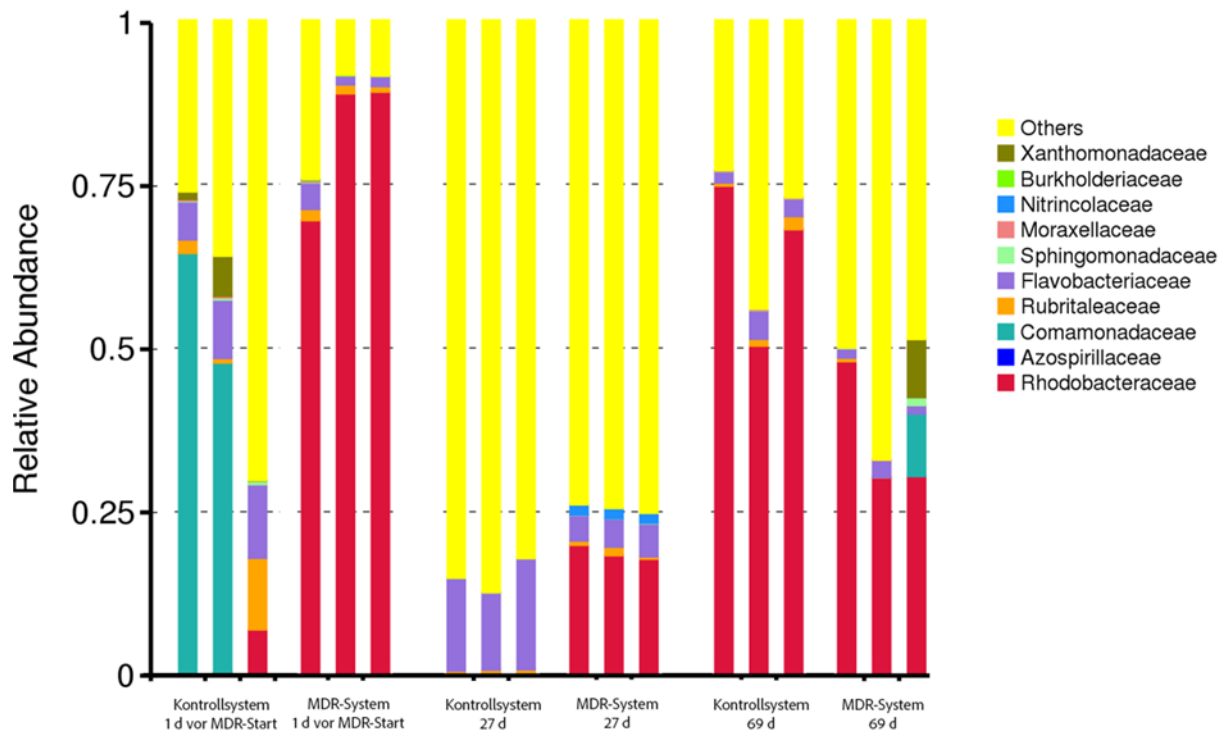


Abb. 90: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Familien in den Wasserproben des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

In den Tupferproben zeigten sich vor der Inbetriebnahme des MDRs zwischen den Systemen kaum Unterschiede. Die Familien Burkholderiaceae, Flavobacteriaceae und Rubritaleaceae waren in beiden Systemen in ähnlichen Anteilen vertreten. Der Anteil der Rhodobacteraceae war im MDR-System leicht höher. Im Kontrollsystem wurde mit etwa 70 % ein etwas höherer Anteil nicht differenzierter Familien nachgewiesen, verglichen mit etwa 60 % im MDR-System. Im Verlauf des Betriebs kam es in beiden Systemen zu einem deutlichen Anstieg der Flavobacteriaceae am Tag 27. Im Kontrollsystem erreichten die Flavobacteriaceae einen Anteil von etwa 25 % und stellten somit die häufigste Bakterienfamilie dar. Gleichzeitig sank der Anteil der Rhodobacteraceae auf etwa 10 %. Die Anteile der nicht differenzierten Familien veränderten sich nur geringfügig, wobei sie etwa 60 % im Kontrollsystem und etwa 40 % im MDR-System ausmachten. 69 Tage nach Inbetriebnahme des MDRs zeigte die Analyse eine Reduktion der Flavobacteriaceae im Kontrollsystem auf etwa 10 %. Im MDR-System sank der Anteil der Rhodobacteraceae auf etwa 25 %. Der Anteil nicht differenzierter Bakterienfamilien stieg im Kontrollsystem auf etwa 75 % und im MDR-System auf etwa 50 %.

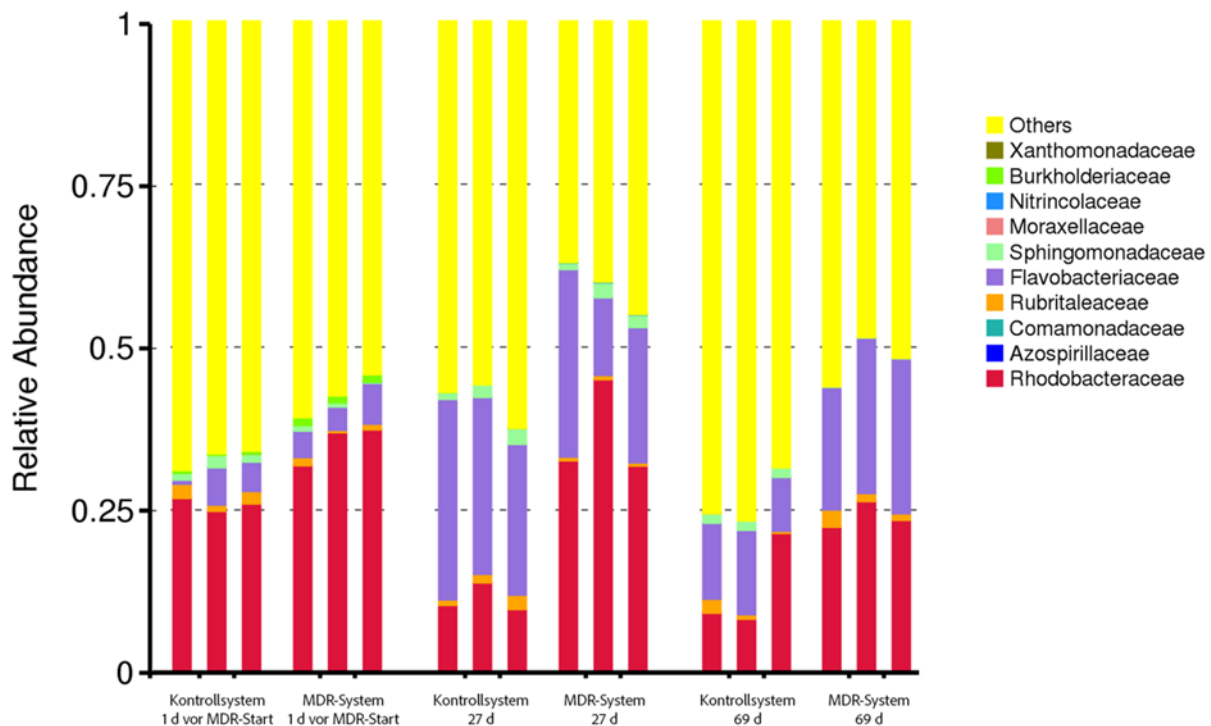


Abb. 91: Relativer Anteil der 10 am häufigsten vorkommenden Bakterien-Ordnungen in den Tupferproben der Biofilme des Kontroll- und des MDR-Systems. Gezeigt werden mittels Next-Generation Sequencing (NGS) analysierte Daten einer Probe pro Entnahmezeitpunkt.

Insgesamt zeigte die bakterielle Zusammensetzung im Mikrobiom der Wasserproben in beiden Systemen eine deutlich höhere Variabilität im Vergleich zur bakteriellen Gemeinschaft in den Biofilmen. In den Wasserproben wurden erhebliche Schwankungen in der bakteriellen Zusammensetzung zwischen den verschiedenen Analysetagen festgestellt. In den Biofilmen war die bakterielle Zusammensetzung deutlich stabiler und teilweise konnten kaum Unterschiede zwischen den Analysetagen erkannt werden. Dies ist zu erwarten, da Bakterien im Wasser direkt allen Einflüssen, wie Futterzugaben, Wasseraustausch und Abgabe von Ausscheidungsprodukten durch die Tiere ausgesetzt sind. Bakterien im Biofilm werden geschützt durch eine extrazelluläre Matrix und sind aus diesem Grund Umwelteinflüssen nicht direkt ausgesetzt. Diese Stabilität der Biofilme bietet eine grundlegende Voraussetzung für die Etablierung einer dauerhaft stabilen bakteriellen Gemeinschaft. Die Daten geben Hinweise auf eine Unterstützung eines stabilen Mikrobioms durch Einsatz des MDRs. Dennoch ist die bakterielle Zusammensetzung insgesamt sehr dynamisch und ändert sich schnell, wobei sie von einer Vielzahl von Faktoren abhängig ist. Kleinste Veränderungen im System können diese Zusammensetzung signifikant beeinflussen. Diese Veränderungen können auch durch den MDR nur begrenzt beeinflusst werden.

5.4.3.3 Cortisol-Konzentration im Haltungswasser

Bei der Messung der Cortisolgehalte mittels ELISA im Haltungswasser konnten für die Probenahme vor Inbetriebnahme des Reaktors sowohl für das Kontrollsystem (4,93 ng / 100 mL Wasser) als auch für das MDR-System (4,07 ng / 100 mL Wasser) vergleichbare, niedrige Werte festgestellt werden (s. Abb. 3). 27 Tage nach Inbetriebnahme stiegen die Cortisolgehalte im Wasser beider Anlagen um nahezu das doppelte der vorangegangenen Messung auf 8,93 ng / 100 mL Wasser (Kontrollsystem) und 7,33 ng / 100 mL Wasser (MDR-System) an. Im Vergleich zur ersten Messung vor Inbetriebnahme, konnte in beiden Systemen eine signifikante Erhöhung der Cortisol-Konzentration im Haltungswasser festgestellt werden. Die dritte Messung 69 Tage nach Inbetriebnahme der Systeme zeigte eine signifikante Verringerung der Cortisol-Konzentrationen im Kontrollsystem (5,71 ng / 100 mL Wasser) jedoch keine signifikante Verringerung im MDR-System (5,46 ng / 100 mL Wasser) im Vergleich zur letzten Messung. Einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, konnte nicht verzeichnet werden.

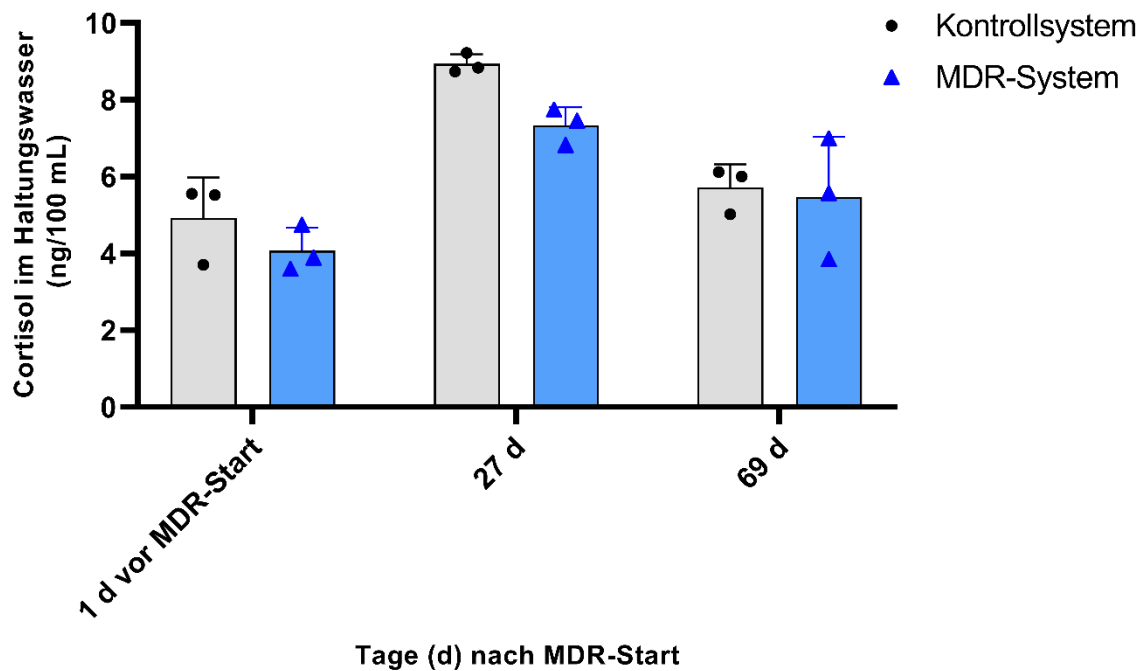


Abb. 92: Cortisolgehalte im Haltungswasser (ng/100ml) aus dem Kontrollsystem und dem Membran-Denitrifikationsreaktor (MDR)-System. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen von drei Messungen pro Zeitpunkt und System jeweils 1 d vor und 27 d und 69 d nach MDR-Start.

5.4.4 Fazit Laborreaktor

Während des Betriebs des Laborreaktors in Hannover konnten positive Effekte auf das Wohlbefinden der Fische festgestellt werden. Insbesondere zeigte sich, dass der pH-Wert in den Becken des MDR-Systems im Vergleich zum Kontrollsystem signifikant höher und stabiler war. Zudem konnte im MDR-System über den gesamten Versuchszeitraum eine deutliche Reduktion der Gesamtkeimzahl im Wasser nachgewiesen werden. Trotz dieser positiven Ergebnisse war ein durchgehend stabiler Betrieb des Reaktors nicht möglich. Der Versuch, ein Zusetzen der Membran durch Mikropartikeln mit durch Strömung bewegten Polymergranulaten zu verhindern, gelang nicht. Die Polymergranulate lagerten sich auf dem Boden der speziell installierten 3D-Druck-Siebe ab, wobei sie miteinander verklebten. Dies führte im Verlauf des Betriebs zu einer Verringerung des Durchflusses und einem Anstieg des Transmembrandrucks. Auch eine Rückspülung zur Reinigung der Membranoberflächen erwies sich als unzureichend. Insgesamt lässt sich ein positiver Einfluss des MDR-Systems auf die Fischgesundheit vermuten. Sollte es gelingen, den Reaktor mit durchlässigen Membranen stabil zu betreiben, ist ein deutlicherer positiver Effekt auf die Gesundheit der Fische auch im Hinblick auf andere Parameter zu erwarten.

5.5 Halbtechnischer MDR in der Meerwasser-Aquakultur-Kreislaufanlage bei InfiniteSea (AP7, Versuchsbeschreibung s. Kap. 4.8)

5.5.1 Versuchsverlauf AP7 (Völklingen)

Zum Zeitpunkt der Installation des Reaktors waren bereits viele Fische in den Becken vorhanden und trotz Denitrifikationsreaktor waren die Nitratkonzentrationen bereits stark angestiegen.

Allerdings konnte mit dem eigentlichen Betrieb nicht sofort begonnen werden, da zunächst alle Messgeräte und Aktoren geprüft und eingerichtet werden mussten. Die pH-Elektroden, Leitfähigkeits- und Sauerstoffsensoren wurden kalibriert, bei den Drucksensoren wurde der Nullpunkt eingestellt und die Druckhöhe überprüft. Die kapazitiven Sensoren für die Überprüfung ob Wasser im Becken ist wurden eingestellt. Die Nitratsonde im Ablauf des Reaktors konnte ohne zusätzliche Anpassung verwendet werden, aber zeigte nach 11 d eine Fehlermeldung, die vermutlich durch Korrosion und zunehmender Verunreinigung verursacht war. Mehrere Reinigungsversuche zeigten nur mäßigen Erfolg, daher wurde ab dem 33. d auf eine andere ältere Sonde zurückgegriffen, die bis zum Ende des Versuchs ihren Dienst tat.

Da für die Steuerung der Ethanol-Dosierung nicht nur Nitrat- und Sauerstoff-Konzentration im Zulauf, sondern auch der Volumenstrom erforderlich war, musste zunächst die Software Multimes für das neue Ultraschall-Messgerät angepasst werden. Als der Reaktor aufgebaut war, war diese Software-Erweiterung fertig. Die Kurzzeittests funktionierten nach einigen Einstellungen im Gerät und Verschieben der Sensoren, jedoch eine Messung über einen längeren Zeitraum als ein paar Stunden scheiterten an unzuverlässigen, stark schwankenden und schließlich völlig falschen Volumenstrom-Messwerten. Dies wurde auch nach Beratung durch den Hersteller und vielen vergeblichen Versuchen mit dem Gerät nicht besser. Schließlich wurden diese Versuche aufgegeben und ein älterer magnetisch induktiver Durchflussmesser eingesetzt, der eigentlich nicht für Meerwasser geeignet war. Auch hier funktionierte es erst nach Veränderung in der Software und dem Austausch eines Konverters (RS-422 zu RS232). Dann wurden endlich zuverlässige Werte erhalten, die durch manuelle Bestimmung des Volumenstroms (Auslitern) bestätigt wurden. Erst danach konnte mit der Dosierung von Ethanol begonnen werden (Tag 0).

Auch der Einbau des "Trichters" (3D-Druckteil, s. Abb. 33) in den Reaktor war kompliziert, da der Reaktor und die gesamte Peripherie (Messgeräte, Verrohrung, Stromanschluss usw.) dazu abgebaut werden musste. Es wurde zum Testen zunächst nur 939 g PCL-Granulat hinzugegeben. Danach wurde der Reaktor wieder zusammengebaut und die Rezirkulationspumpen angeschaltet. Zunächst ergab sich eine sichtbare Strömung, nach kurzer Zeit jedoch waren die Granulate jedoch nicht mehr sichtbar. Da sie eventuell in der Membran stecken geblieben waren, wurden daher keine weiteren Mengen PCL zugegeben.

Danach sollte der PC wieder in Betrieb zu genommen werden, aber es stellte sich heraus, dass er defekt war. Vermutlich war der Stillstand, die sehr hohe Luftfeuchtigkeit und die salzhaltige Luft in der Halle dafür verantwortlich. Nachdem ein neuer Laptop beschafft wurde, musste dieser zunächst eingerichtet werden.

Alle diese Probleme führten dazu, dass der Reaktor erst 63 d nach dem Aufbau des Reaktors mit Ethanol-Dosierung, also als Denitrifikationsreaktor, in Betrieb gehen konnte.

Aber auch während der eigentlichen Betriebsdauer traten einige Probleme auf. Diverse Stromausfälle führten zu Störungen, einer davon wurde durch die eine Rezirkulationspumpe ausgelöst. Diese Störungen wurden meist erst durch die Überwachung mittels Remote-Verbindung mit dem Messrechner entdeckt und führten so zu Funktionseinschränkungen des Reaktors.

Die folgenden Diagramme in diesem Kapitel (5.5) zeigen 60 min Mittelwerte, die aus den Daten der Online-Werte mit jeweils 1 min Abstand errechnet wurden. Ausnahmen sind gekennzeichnet.

5.5.2 Nitrat-Konzentrationen, Volumenströme

Die Nitratkonzentrationen im Zulauf des Reaktors waren abhängig von den Futtermengen im Kreislauf und von Funktion und Leistungsfähigkeit des deutlich größeren Denitrifikationsreaktors der Anlage (s. Abb. 27). Aufgrund des schnellen Wachstums der Fische und damit verbundenen anwachsenden Futtermengen stiegen die Nitratkonzentrationen im Kreislaufwasser schnell an, so dass bereits ab dem 15. d Werte über 100 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ zu verzeichnen waren. Diese hohen Konzentrationen liegen jedoch oberhalb des Messbereichs des Nitratsensors, woraufhin dieser in der

gesamten folgenden Versuchsdauer 100 mg/L anzeigte (s. Abb. 93). Anhand der Analysendaten kann man erkennen, dass die NO_3^- -N Konzentrationen tatsächlich bis auf ca. 150 mg/L anstiegen.

Im Ablauf des Reaktors zeigte der Nitratsensor aufgrund eines unbekannten Fehlers im Ablauf keine Werte an, jedoch zeigen die Analysendaten, dass die Konzentrationen zu Beginn schnell zurückgingen (s. Abb. 93). Dann blieben die Nitratkonzentrationen im Ablauf allerdings auf recht hohen Werten von ca. 50 mg/L NO_3^- -N. Als die Nitratkonzentrationen im Zulauf weiter anstiegen, wurde am 35. d die Gleichung für die Ethanoldosierung angepasst und die Nitratkonzentration im Ablauf für die Berechnung mit einbezogen (s. Gl. (19)).

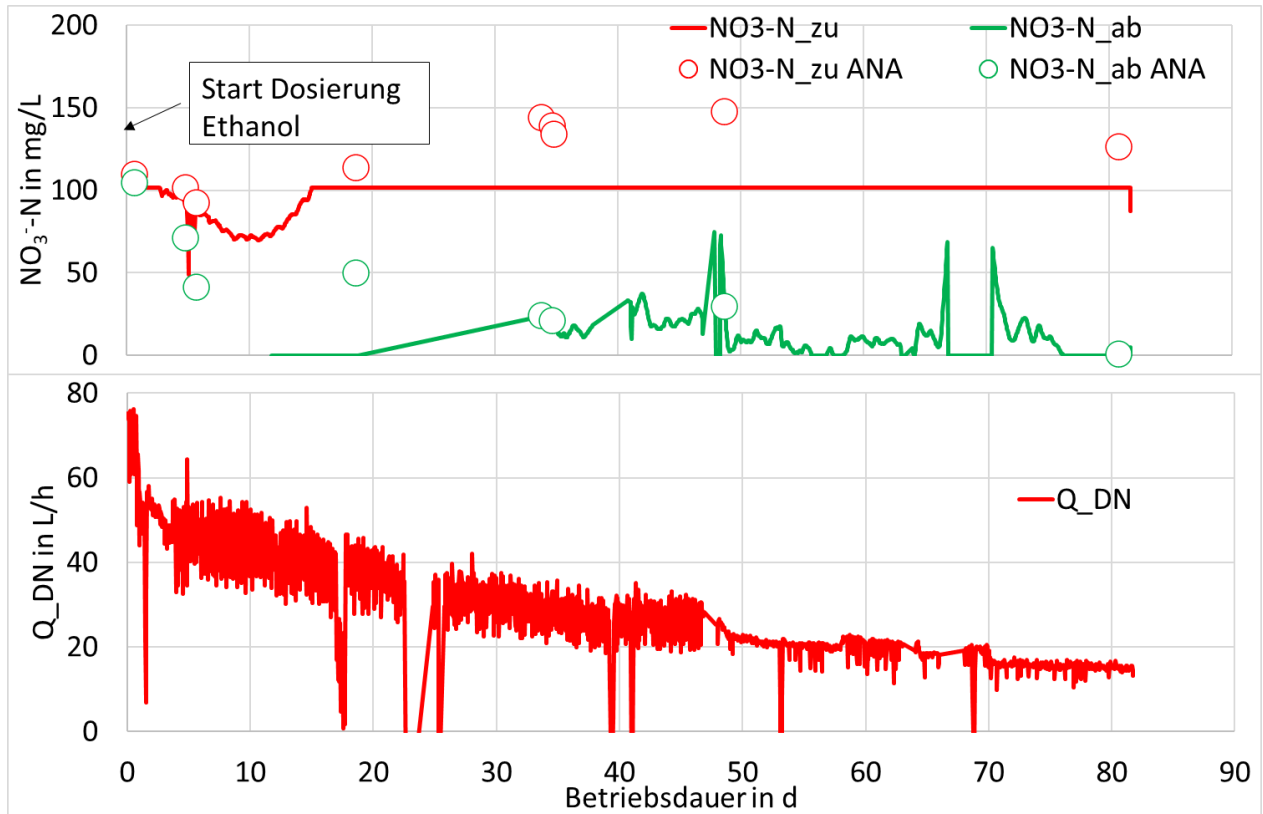


Abb. 93: Nitratkonzentrationen im Zu- und Ablauf des halbertechnischen Reaktors und Volumenströme

NO_3^- -N _{zu} :	NO_3^- -N Sensor, Zulauf Reaktor;
NO_3^- -N _{ab} :	NO_3^- -N Sensor, Ablauf Reaktor;
NO_3^- -N _{zu} ANA:	NO_3^- -N Analytik Zulauf Reaktor;
NO_3^- -N _{ab} ANA:	NO_3^- -N Analytik Ablauf Reaktor;
Q_{DN} :	Volumenstrom durch den Reaktor (gemessen im Ablauf)

Der Volumenstrom nahm über die Betriebsdauer kontinuierlich ab, was wahrscheinlich mit der zunehmenden Belegung der Membran mit Biomasse in Zusammenhang steht.

5.5.3 Denitrifikationsraten, Nitrat und ORP

Mit abnehmenden Volumenströmen wurden auch die daraus berechneten Denitrifikationsraten niedriger (s. Abb. 94). Ab dem 35. d sind die aus den Analysenwerten berechneten Daten (DNRV ANA) höher als die aus Online-Daten berechneten Werte (DNRV), da der Nitratsensor im Zulauf nur maximal 100 mg/L NO_3^- -N anzeigte, während mit den Analytik-Werten die tatsächlichen Konzentrationen erfasst wurden, die deutlich höher lagen.

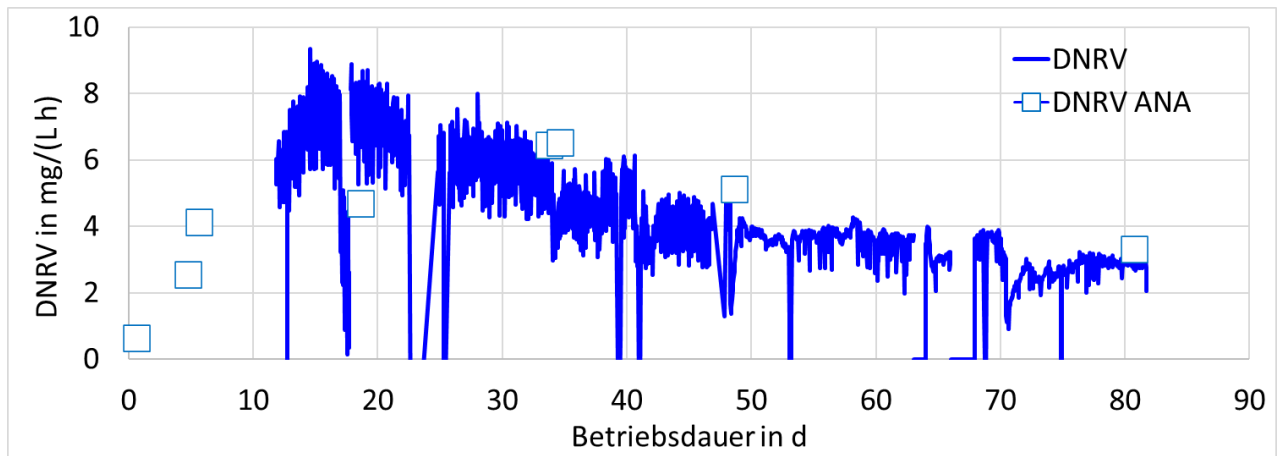


Abb. 94: Denitrifikationsraten (berechnet aus Onlinewerten von $\text{NO}_3\text{-N}$ im Zu- und Ablauf, sowie Q_{DN})

DNRV: auf Reaktor-Volumen bezogene Denitrifikationsrate in $\text{mg}/(\text{L h})$;

DNRV ANA: auf Reaktor-Volumen bezogene Denitrifikationsrate aus Analytik-Werten in $\text{mg}/(\text{L h})$;

Die Redoxpotenziale (ORP) schwankten zu Beginn zwischen -150 und + 200 mV, man sieht auch deutlich, dass bei sehr niedrigen Nitratkonzentrationen im Ablauf die ORP-Werte im negativen Bereich des ORP lagen (s. Abb. 95). Allerdings bewirkten die kontinuierlichen Rückspülungen mit Filtrat, dass Wasser, das noch in der Leitung vorhanden war, auch kurzzeitig in die Ablaufleitung gelangte und damit auch das ORP beeinflusste.

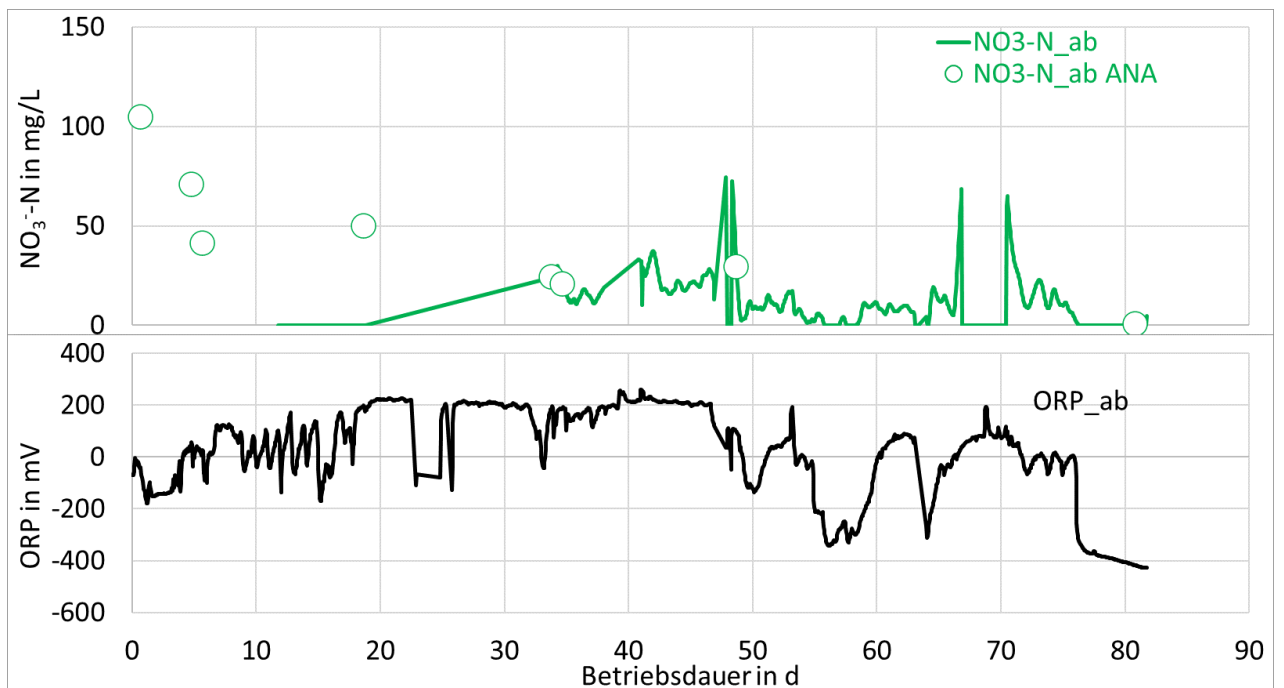


Abb. 95: ORP und Nitratkonzentrationen im Ablauf des halbtechnischen Reaktors.

$\text{NO}_3\text{-N}_{\text{ab}}$: $\text{NO}_3\text{-N}$ Sensor, Ablauf Reaktor;

$\text{NO}_3\text{-N}_{\text{ab ANA}}$: $\text{NO}_3\text{-N}$ Analytik, Ablauf Reaktor

ORP_{ab} : Oxidations-Reduktions-Potential, Ablauf Reaktor, Online-Werte

Damit zeigt auch hier die Korrelation der ORP-Werte mit den Nitratkonzentrationen im Ablauf des Reaktors nur einen vagen Zusammenhang (s. Abb. 96).

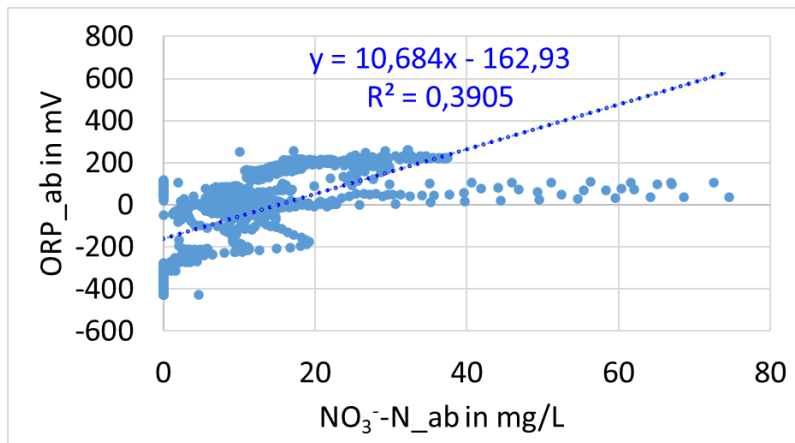


Abb. 96: Versuch der Korrelation von Nitratkonzentrationen und den entsprechenden ORP-Werten im Ablauf des Reaktors

5.5.4 Dosierung Ethanol

In den ca. 80 d Betrieb wurde insgesamt ca. 8 kg Ethanol (berechnet als 100% Ethanol) verbraucht (s. Abb. 97).

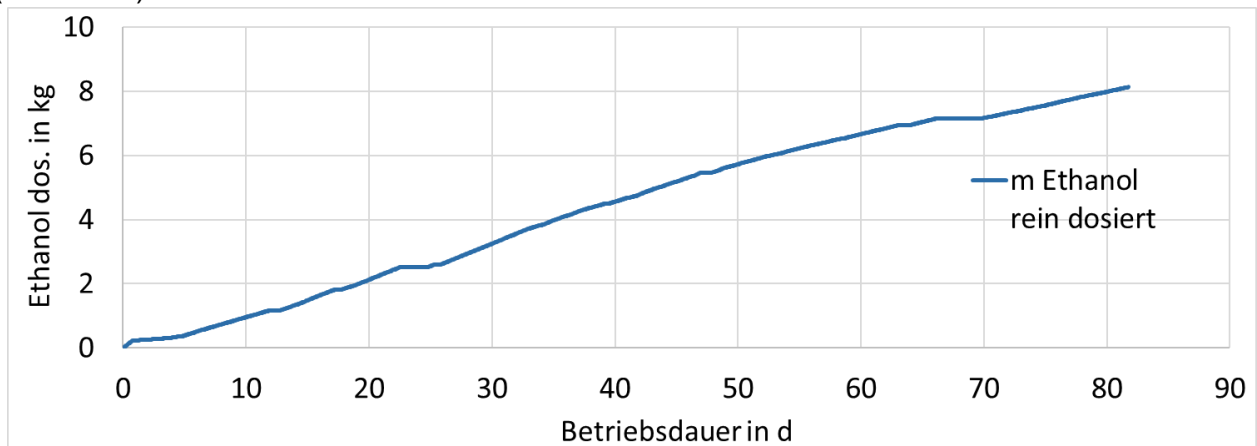


Abb. 97: Kumulierte Ethanoldosen, die in den Reaktor dosiert wurden

m Ethanol rein, dosiert = Summe der dosierten Ethanoldosen, berechnet als Ethanol 100%

Wie effizient die Ethanoldosierung bei diesem Versuch war, kann anhand der berechneten Frachten in Abb. 98 beurteilt werden. Die Berechnung der Frachten erfolgte nach den Gleichungen Gl. (17), Gl. (18) und Gl. (20). Da die NO_3^- -N Fracht in Zulauf (Fracht N+O Zu) im Mittel der reduzierten NO_3^- -N Fracht (Fracht N+O red) entsprach, war die Dosierung offenbar gut eingestellt. Allerdings gab der Parameter „Fracht N+O Zu“ nicht die tatsächliche Fracht an, da die realen Nitratwerte weit über die Bestimmungsgrenzen des Nitrat-Sensors hinausgingen, die Werte für „Fracht N+O Zu“ jedoch mit den Nitratsensor-Werten berechnet wurden. Da die Ethanol-Frachten (Fracht Eth) in Abb. 98 daraus berechnet wurden, führte dies dazu, dass auch die NO_3^- -N Konzentrationen im Ablauf entsprechend höher waren.

Der Vergleich mit der Ethanol-Fracht sieht ähnlich aus wie bei den Versuchen mit dem Laborreaktor. Die Summierung aller dosierten Mengen an Ethanol im Versuch, sowie der Mengen an reduziertem Nitrat-N (mit Sauerstoff) ergibt eine geschätzte Relation von Ethanol (100%) zu reduziertem NO_3^- -N von ca. 1,7 g Ethanol je g NO_3^- -N und liegt somit im erwarteten Bereich.

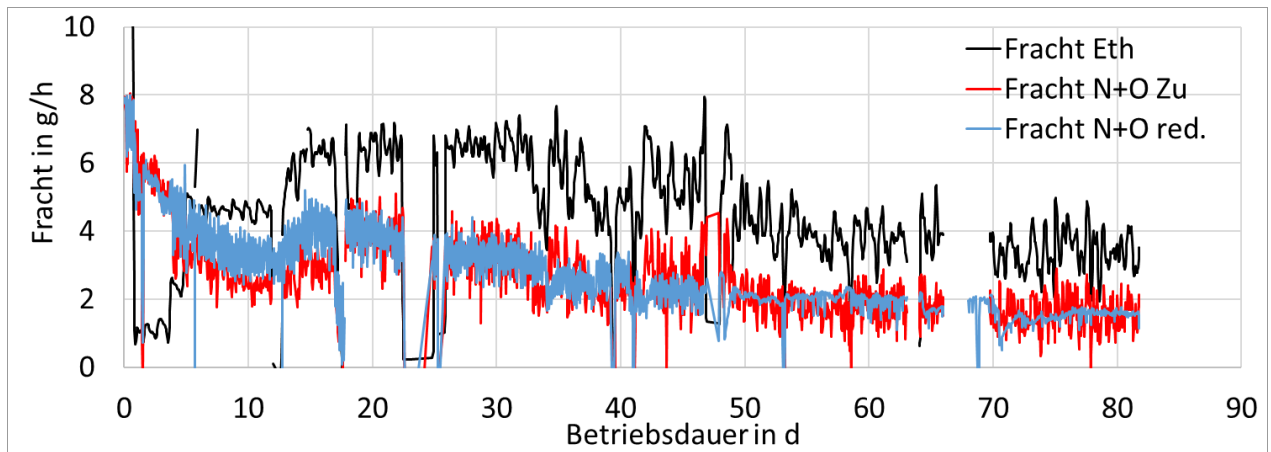


Abb. 98: N+O-Frachten im Vergleich

Fracht Eth: Real dosierte Ethanol-Fracht in g/h Ethanol (100%), s. Gl. (18);

Fracht N+O Zu: N+O-Fracht im Zulauf zum Reaktor in g/h NO_3^- -N, s. Gl. (17)

Fracht N+O red.: N+O-Fracht reduziert (durch Denitrifikation + Atmung) in g/h NO_3^- -N (s. Gl. (20))

5.5.5 Transmembrandruck und Wasserstand

Leider wurden auch bei diesem Versuch die Membranoberflächen zunehmend undurchlässiger, was sich durch einen Anstieg der Transmembrandrücke (s. Abb. 99, Mittelwerte nur aus Filtrationsphasen) zeigte, während gleichzeitig der Volumenstrom durch den Reaktor immer geringer wurde.

Hier blieb der Wasserstand im Ausgleichsbehälter über dem Deckel durch den stetigen Zulauf zum Ausgleichsbehälter und den Überlauf konstant.

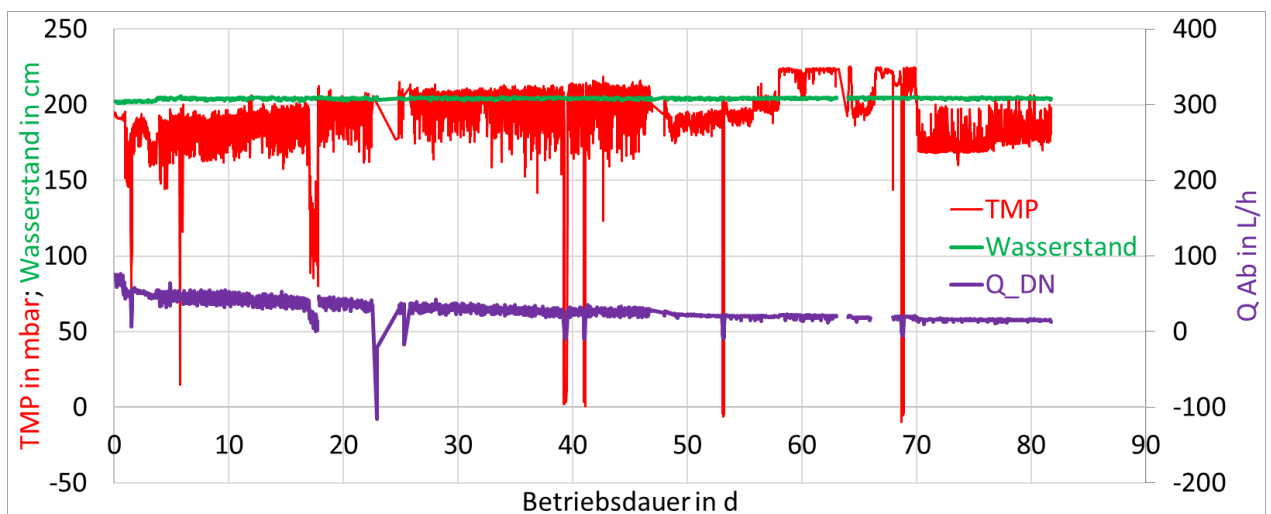


Abb. 99: Transmembrandruck (TMP), Wasserstand im Ausgleichsbehälter über dem Reaktor und Volumenstrom (Q_{Ab})

5.5.6 Permeatfluss und Permeabilität

Die Permeabilität und der effektive Permeatfluss (Flux) verringerten sich kontinuierlich, vermutlich durch die zunehmende Biofilmanlagerung auf den Membranoberflächen (s. Abb. 100).

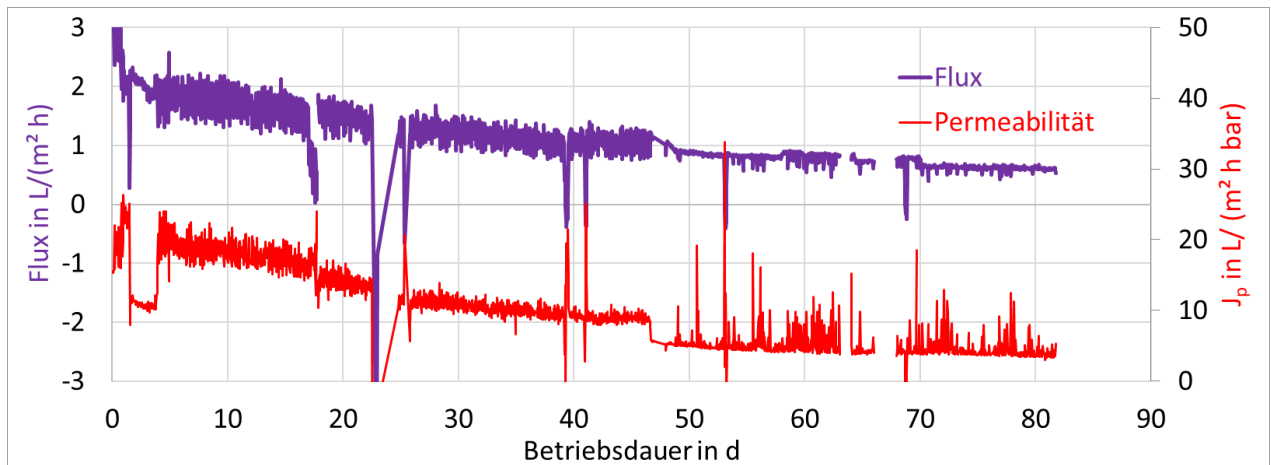


Abb. 100: Permeatfluss (Flux) und Permeabilität (J_p) beim halbtechnischen Reaktor

5.5.7 Elektrische Leitfähigkeit

Je nachdem wann das Wasser der Kreislaufanlage mit Wasser aus der Umkehrosmose-Anlage verdünnt wurde, bzw. wann die Salzmischung zugegeben wurde, schwankte die elektrische Leitfähigkeit zwischen ca. 44 und 50 mS/cm (s. Abb. 101). Die Temperatur im Zulauf lag weitgehend konstant zwischen 24 °C und 26 °C.

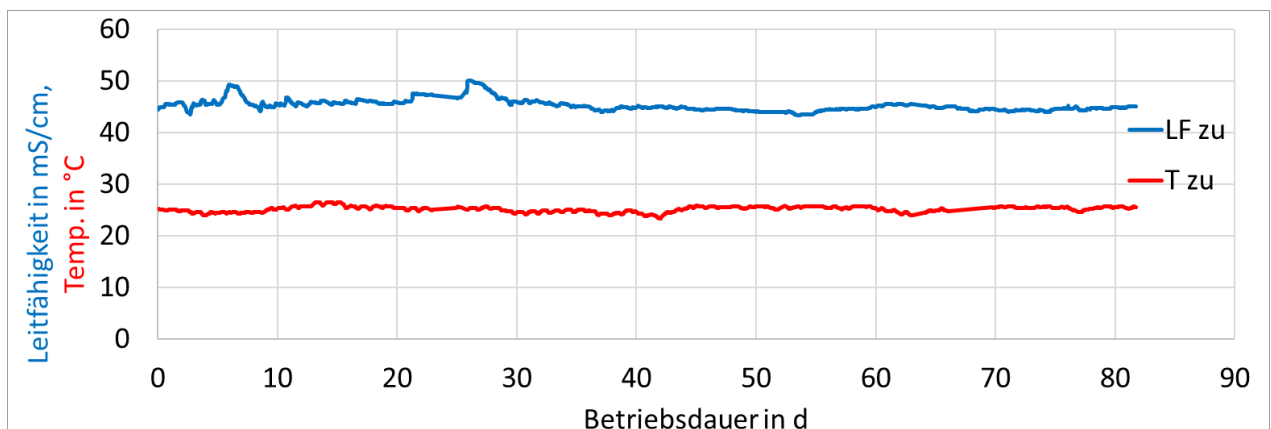


Abb. 101: Elektrische Leitfähigkeit (LF) und Temperatur (T) im Zulauf (zu) des halbtechnischen Reaktors

5.5.8 Sauerstoff, pH und Temperatur

Im Gegensatz zum Versuch mit dem Laborreaktor im Meerwasseraquarium waren hier die pH-Werte im Ablauf des Denitrifikationsreaktors erwartungsgemäß höher als im Zulauf (s. Abb. 102). Dies ist wahrscheinlich auf die hohen Nitratkonzentrationen im Zulauf zurückzuführen. Nach Gl. (16) war das Verhältnis der NO_3^- -N- zu den O_2 -Konzentrationen im Zulauf immer $\gg 3,5$. Dadurch war der Einfluss des aeroben Abbaus des Ethanol durch den im Wasser enthaltenen Sauerstoff (mit ausschließlicher CO_2 Produktion) im Vergleich zur Denitrifikation (mit CO_2 und OH^- Produktion) geringer und die OH^- Produktion bei der Denitrifikation bewirkte eine Erhöhung des pH-Wertes.

Während die Temperaturen im Zulauf durch die Temperaturregelung im Gesamt-Kreislauf die ganze Zeit über nahezu konstant blieben, sanken die Temperaturen im Ablauf ca. ab dem 50. d etwas ab (s. Abb. 102). Der Grund dafür war wahrscheinlich die witterungsbedingte Abkühlung im Herbst. Man erkennt auch deutlich die Temperatur-Schwankungen im Tagesrhythmus.

Die gemessenen Sauerstoff-Konzentrationen im Zulauf lagen überwiegend im Bereich zwischen (6 und 8) mg/L. Zu Beginn der Dosierung schwankten die Sauerstoffkonzentrationen im Ablauf noch zwischen 0 mg/L und 0,5 mg/L, ab ca. dem 20. d lagen sie im Mittel zwischen 0,1 mg/L und

0,2 mg/L. Woher die drei Peaks kamen, lässt sich nicht mit Sicherheit nachvollziehen. Gleichzeitig sanken auch die TMP und Volumenstromwerte plötzlich ab, so dass vermutlich eine Störung des Betriebs zugrunde lag.

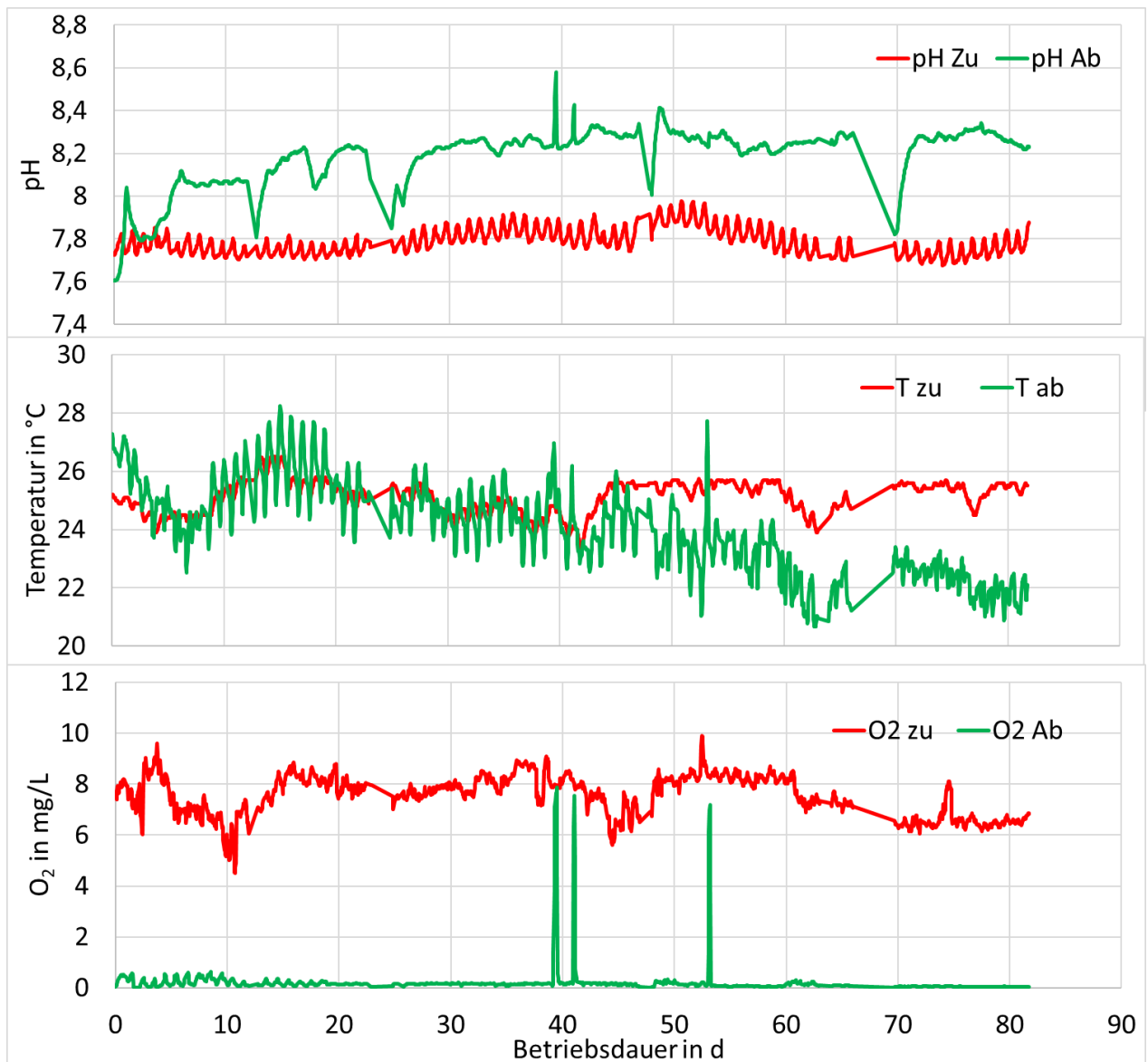


Abb. 102: pH (pH), Temperatur (T) und Sauerstoffkonzentrationen (O₂) in Zulauf (Zu) und Ablauf (Ab) des halbtechnischen Reaktors.

5.5.9 Trübung

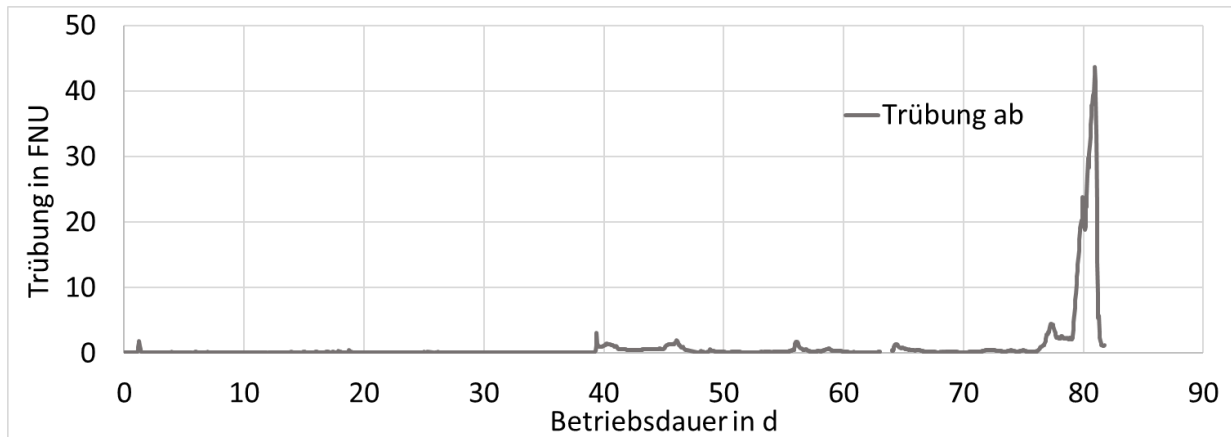


Abb. 103: Trübung im Ablauf des halbtechnischen Reaktors

Die Trübungswerte wurden nur im Ablauf des Reaktors gemessen (Online-Messung) und lagen erwartungsgemäß meist um ca. 0,1 FNU (s. Abb. 103). Allerdings wurde nach einiger Zeit eine Verunreinigung des Filtratbeckens (s. Abb. 34) durch kleine Schlammflocken beobachtet, die durch Reinigungsarbeiten (z.B. Reinigung der Nitratsonde) hin und wieder aufgewirbelt wurden und damit eine Trübung des Ablaufwassers bewirkten.

5.5.10 Andere Wasserinhaltsstoffe

Neben den Nitratkonzentrationen wurden noch weitere charakteristische Wasserparameter bestimmt.

Die Nitritkonzentrationen im Ablauf waren meist leicht erhöht gegenüber den Nitritkonzentrationen im Zulauf, jedoch waren die Werte insgesamt nicht stark erhöht (s. Abb. 104).

Auch bei den Ammoniumkonzentrationen waren die Werte niedrig, nur bei der letzten Messung am 81. d wurde ein deutlich erhöhter Wert gemessen. Hierfür waren vermutlich die niedrigen Volumenströme und eventuell eine dafür zu hohe Ethanoldosierung verantwortlich, was sich auch durch erhöhte CSB-Konzentrationen im Ablauf am 81. d zeigt. Ansonsten waren die CSB-Werte im Ablauf zumeist niedriger als im Zulauf. Nur bei der ersten Messung beim Start waren CSB Werte deutlich höher, da die Denitrifikation noch nicht eingesetzt hatte. In diesem Fall war die Regelung der Dosierung noch nicht optimal.

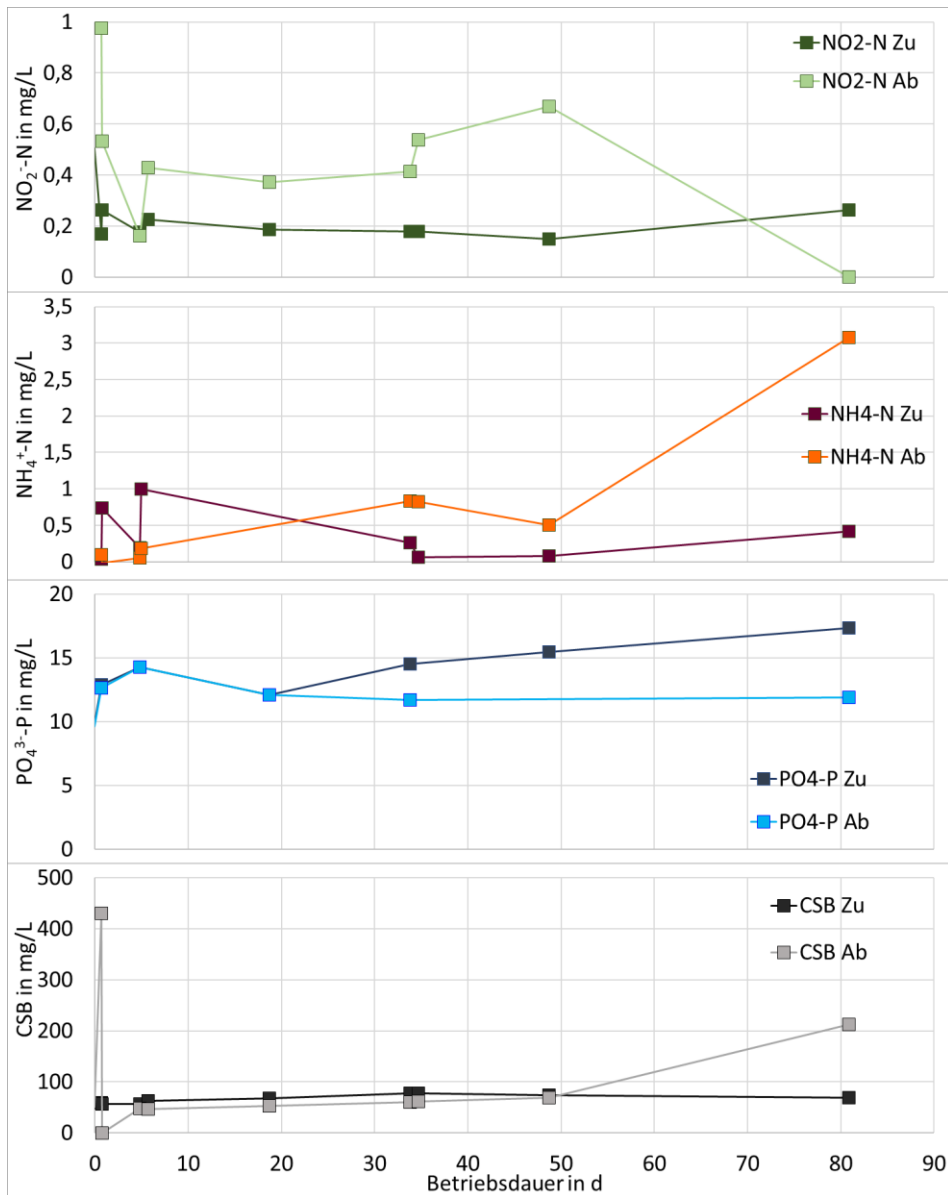


Abb. 104: Analytisch bestimmte Nitrit-, Ammonium-, Phosphat- und CSB-Konzentrationen im Zu- und Ablauf des halbatechnischen Reaktors.

NO₂-N Zu: NO₂⁻-N, Zulauf Reaktor; NO₂-N Ab: NO₂⁻-N, Ablauf Reaktor;
 NH₄-N Zu: NH₄⁺-N, Zulauf Reaktor; NH₄-N Ab: NH₄⁺-N, Ablauf Reaktor;
 PO₄-P Zu: PO₄³⁻-P, Zulauf Reaktor; PO₄-P Ab: PO₄³⁻-P, Ablauf Reaktor;
 CSB Zu: CSB, Zulauf Reaktor; CSB Ab: CSB, Ablauf Reaktor

5.5.11 Beurteilung von Fischen und mikrobiologische Bewertung des Wassers

5.5.11.1 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in den Biofilmen

Die Analyse der Biofilmp Proben zeigte, dass sich die Gesamtkopienzahl der Bakterien im Haltungssystem während des gesamten Versuchszeitraums, einschließlich der 64 Tage vor Inbetriebnahme des MDRs, mit einem Wert von $3,69 \times 10^5 \pm 1,29 \times 10^5$ Kopien pro Probe nur geringfügig veränderte. Dabei wiesen die Tupferproben an Tag 5 ($4,46 \times 10^5 \pm 1,0^5 \times 10^5$) und 35 ($5,26 \times 10^5 \pm 1,70 \times 10^5$) signifikant höhere Keimzahlen auf als an Tag 19, an dem die geringsten Keimzahlen während der Versuchsphase detektiert werden konnten ($2,09 \times 10^5 \pm 5,45 \times 10^4$). Die mit qPCR gemessene bakterielle Gesamtzahl im Biofilm des Filters im Fischhaltungssystem zeigte ähnliche Ergebnisse. Im Durchschnitt wurden im Filter mit $4,43 \times 10^5 \pm 1,30 \times 10^5$ Kopien nahezu gleiche Bakterienzahlen

wie im Biofilm der Haltungsbecken ($3,69 \times 10^5 \pm 1,29 \times 10^5$) nachgewiesen. Im Vergleich zum Maximalwert an Tag 83, zeigte die Probenahme an Tag 19 ($2,94 \times 10^5 \pm 7,95 \times 10^4$) signifikant geringere Kopienzahlen.

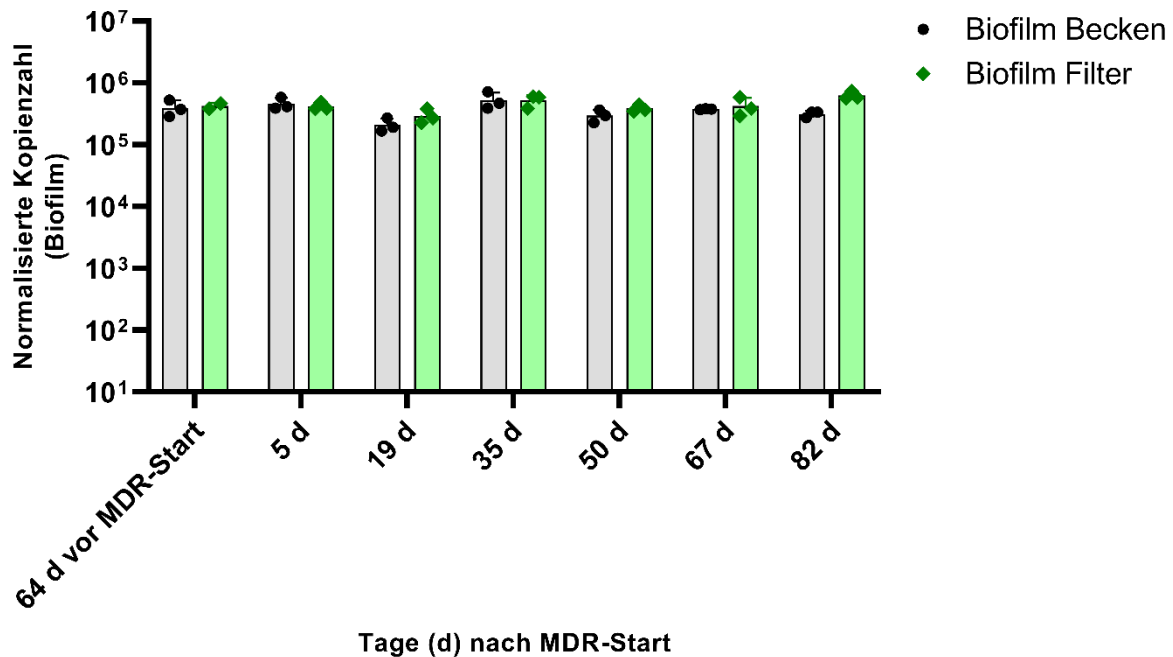


Abb. 105: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Tupferproben des Biofilms aus den Haltungsbecken und des Filters. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 64 Tag vor- und 5, 19, 35, 50, 67 und 82 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung.

5.5.11.2 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft im Haltungswasser

Im Rahmen der praktischen Anwendung des Membran-Denitrifikationsreaktors (MDR) im Aquakultur-System konnten aufgrund des Fehlens eines Kontrollsystems ausschließlich die im System integrierten Fischbecken sowie der Filterablauf beprobt werden. Zum Zeitpunkt der ersten Probenahme, 64 Tage vor der Installation des MDRs, wurden mit $3,23 \times 10^4 \pm 1,03 \times 10^4$ signifikant höhere Kopienzahlen festgestellt als bei den späteren Probenahmen nach dem Anschluss des MDRs. Bis zur nächsten Probenahme am Tag 5 nach Inbetriebnahme des Systems war eine deutliche Reduktion der Gesamtkeimzahl auf $5,42 \times 10^0 \pm 2,55 \times 10^0$ zu verzeichnen. Im weiteren Verlauf stieg die Keimzahl bis Tag 35 auf $5,68 \times 10^2 \pm 9,81 \times 10^3$ an. Ab dem 67. Tag war erneut eine Reduktion auf $3,85 \times 10^0 \pm 1,18 \times 10^0$ zu beobachten, gefolgt von einem erneuten Anstieg der Kopienzahl auf $8,82 \times 10^3 \pm 1,52 \times 10^4$. Der Verlauf der Keimgehalte im Abfluss des Filters folgte einem ähnlichen Muster wie die Wasserproben aus den Haltungsbecken. Insgesamt wiesen die Keimgehalte in den Wasserproben einen wellenförmigen Verlauf auf, mit einem durchschnittlichen Keimgehalt von $6,73 \times 10^3 \pm 1,3 \times 10^4$. Dabei unterliegen den Wasserproben sowohl abhängig vom Tag der Probenahme als auch innerhalb des Systems erheblichen Schwankungen.

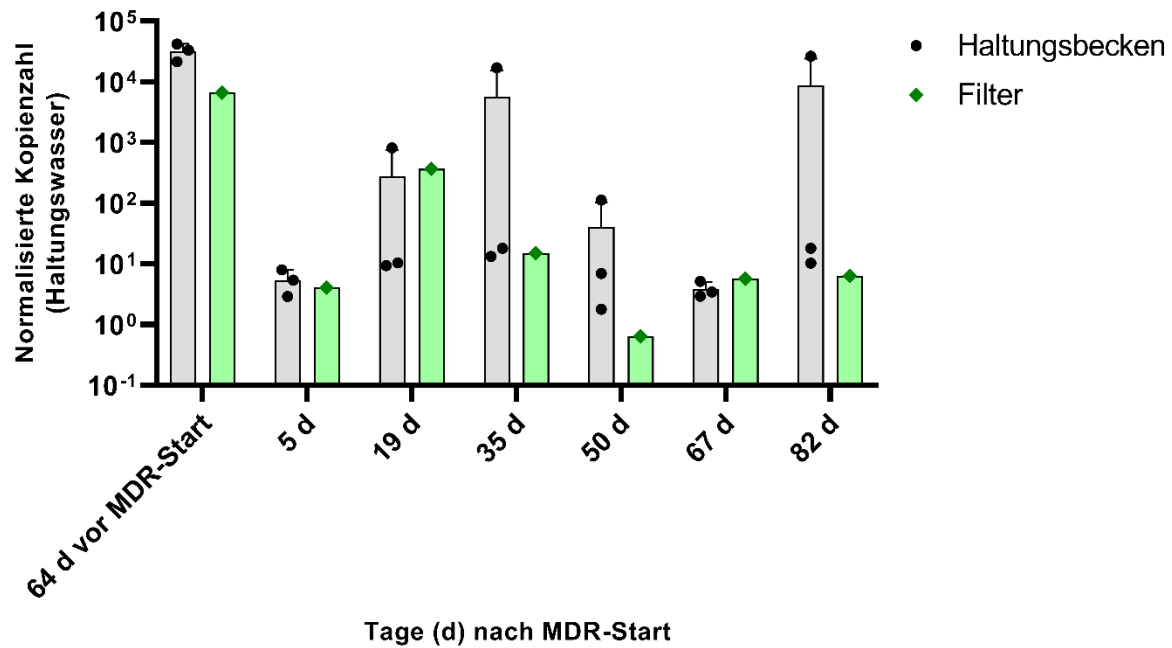


Abb. 106: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien aus Wasserproben der Haltungsbecken und des Filters. Dargestellt ist die Kopienzahl der 16S rDNA mittels quantitativer PCR 64 Tag vor- und 5, 19, 35, 50, 67 und 82 Tage nach MDR-Start. Gezeigt werden jeweils drei Proben aus den Haltungsbecken pro Entnahmedatum mit Mittelwert und Standardabweichung. Die Wasserprobe des Filters zeigt einen Einzelwert.

5.5.12 Fazit halbtechnischer Reaktor

Auch beim halbtechnischen Reaktor reichte die Rückspülung zur Reinigung der Membranoberflächen nicht aus. Offenbar ist eine starke, turbulente Crossflow-Strömung an den Membranen entlang unverzichtbar. Ein Versuch die Strömung durch bewegte Polymergranulate zu unterstützen, war nicht erfolgreich, da die extra dafür eingebauten 3D-Druck-Siebe zu schnell verstopften und damit die Pumpenleistung für die Fluidisation der Granulate nicht ausreichte.

6 Fazit

6.1 Vergleich der Ergebnisse mit den ursprünglichen Zielen

Das wichtigste Ziel dieses Projektes war es, die Praxistauglichkeit des Konzeptes in der Meerwasser-Aquakultur zu prüfen. Dazu sollte zunächst ein Laborreaktor in einem Aquariensystem getestet werden und nach einer Überprüfung und Verbesserung des Konzeptes in einem halbtechnischen Reaktor umgesetzt werden. Dieser „Membran-Deni-Reaktor“ (MDR) sollte dann in einer kommerziellen Meerwasser-Aquakultur-Kreislaufanlage getestet werden.

Die Erkundung der Leistungsfähigkeit des Reaktors unter Praxisbedingungen wurde mit Labor- und Online-Messungen durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigten bei beiden Systemen, dass ein solcher Reaktor auch im Meerwasser-Aquarium und in der Meerwasser-Aquakultur eingesetzt werden kann. Sehr gut funktioniert hat die Konstanzhaltung des Transmembrandrucks über die durch Steigrohr und Ausgleichsbehälter erzeugte Druckhöhe.

Obwohl der Einsatz von rückspülbaren Membranmodulen eine deutliche Erhöhung der Durchlässigkeit der Membranen erwarten ließen, stellte sich heraus, dass nur durch Rückspülung allein die Leistungsfähigkeit der Membranmodule nicht aufrecht gehalten werden konnte. Die Idee einer Reinigung mit Polymergranulaten konnte im praktischen Versuch noch nicht realistisch getestet werden, da die Konstruktion hierfür nicht geeignet war.

Die Dosierung der Kohlenstoffquelle konnte so eingestellt werden, dass weder höhere Nitritkonzentrationen, noch anaerobe Bedingungen auftraten, es wurde also eine für die Bedingungen optimale Denitrifikationsaktivität erreicht. Mit der Verminderung der Durchlässigkeit der Membranen nahmen zwangsläufig auch die Denitrifikationsraten ab.

Die Denitrifikation mit biologisch abbaubaren Festsubstraten (BAF) konnte auch im Meerwasser verifiziert werden.

6.2 Weiterführende Fragestellungen

Im Prinzip wird eine Reinigung des Wassers in der Aquakultur mit Ultrafiltrations-Membranen weiterhin als wünschenswert angesehen, um Mikropartikel zu eliminieren. Bei der technischen Umsetzung sind jedoch noch einige Herausforderungen zu bewältigen.

Bei dem Vorgänger-Projekt wurde die Reinigung der Membran-Oberflächen mit bewegten Schaumstoffwürfeln realisiert, dafür mussten die Abstände zwischen den Membranen vergrößert werden, damit die Würfel nicht stecken bleiben. Der Nachteil war damals, dass damit die wirksame Membranoberfläche klein war. In diesem, hier beschriebenen Projekt wurde ein Standard-Membran-Modul verwendet mit normal kleinen Abständen und damit größerer Membranoberfläche bei gleichem Volumen. Wenn die hier installierte Rückspülung für eine effektive Reinigung ausgereicht hätte, hätte dies einen deutlichen Gewinn an Leistungsfähigkeit (Volumenstrom) erbringen können. Die Versuche einer zusätzlichen Reinigung mit Polymer-Granulaten gelangen noch nicht, aber könnten in Zukunft mit besseren Voraussetzungen durchaus erfolgreich sein. Hier könnte man z.B. Granulate mit verminderter Dichte einsetzen um den Energieeintrag durch die Pumpen zu vermindern, oder es könnte eine Spülung mit Stickstoffgas erfolgen, so ähnlich wie bei der Luftspülung bei aeroben Umgebungen. Auch sollte die Konstruktion von Sieben und die Auswahl von Pumpen verbessert werden.

6.3 Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung

Auch in der Meerwasser-Aquakultur entsteht ein großer Bedarf für eine solche Denitrifikationseinheit. Die Ergebnisse der Versuche zeigen, dass die Projektidee auch hier technisch umsetzbar ist und sehr vielversprechende Ansätze bietet. Allerdings besteht weiterer Forschungs- und Entwicklungsbedarf, wie in Kap. 6.2 beschrieben.

7 Literatur und Software

Adamek, M., Syakuri, H., Harris, S., Rakus, K.Ł., Brogden, G., Matras, M., Ilnazarow, I., Steinhagen, D., 2013. Cyprinid herpesvirus 3 infection disrupts the skin barrier of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Veterinary microbiology* 162, 456–470.

Bakke, I., Åm, A.L., Kolarevic, J., Ytrestøyl, T., Vadstein, O., Attramadal, K.J.K., Terjesen, B.F., 2017. Microbial community dynamics in semi-commercial RAS for production of Atlantic salmon post-smolts at different salinities. *Aquacultural Engineering* 78, 42–49.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.10.002>

Becke, C., Beeck, P., Momme, M., Brinker, A., Fey, D., Focken, U., Füllner, G., Hanel, R., Har-der, H., Lasner, T., Lemcke, R., Momme, M., Posselt, U., Reiser, S., Reiter, R., Stapel, J., Schar-sack, J., Schiller, T., Schmekel, K., Schmidt, G., Schumann, M., Wedekind, H., Weigel, A., Weniger, U., Wessels, S., 2020. NASTAQ 2021-2030 Nationaler Strategieplan Aquakultur. Bundesmi-nisterium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL).

Boley, A., Bauer, J., Könecke, K., Basilico, A., Müller W.-R., Steinhagen, D., Richter, S., 2019. Entwicklung einer umweltschonenden Technologie in der Aquakultur zur Entnahme von Stickstoff und Mikropartikeln in Kreislaufanlagen (Abschlussbericht).

Boley, A., Boley, G., 2000. Multimes: Software zur Datenerfassung und Regelung 2000 - 2024.

Boley, A., Korshun, G., Boley, S., Jung-Schroers, V., Adamek, M., Steinhagen, D., Richter, S., 2017. A new reactor for denitrification and micro-particle removal in recirculated aquaculture sys-tems. *Water Sci Technol* 75, 1204–1210. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.596>

Boley, A., Müller, W.-R., Haider, G., 2000. Biodegradable polymers as solid substrate and bio-film carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 22, 75–85. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(00\)00033-9](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(00)00033-9)

Boley, A., Steinhagen, D., Abt, A., 2012. Entwicklung einer umwelt- und fischgesundheits-freundlichen Technologie zur Verringerung der Stickstoff- und Mikropartikelfracht in Aquakultur-Kreislaufanlagen: -Abschlussbericht DBU-Projekt AZ 28092/1.

Boley, A., Wiss, K., Muller, C., Weideler, A., Müller, W.-R., 2002. Einsatz von neuen biolo-gisch abbaubaren Kunststoffen zur Verringerung der Nitratbelastung in der Fischproduktion: -Ab-schlussbericht zum DBU-Projekt AZ 13750.

DIN 38404 T. 6 Bestimmung der Redox-Spannung (C6), 1984.

Ruane, N.M., Komen, H., 2003. Measuring cortisol in the water as an indicator of stress caused by increased loading density in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 218, 685–693.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00422-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00422-2)

Westhoek, H., Rood, T., van den Berg, M., Janse, J., Nijdam, D., Reudink, M., Stehfest, E., PBL Netherlands Environmental Assessment Agency, 2011. The protein puzzle-The consumption and production of meat, dairy and fish in the European Union. PBL Netherlands Environmen-tal Assessment Agency, The Hague.