

UFZ-Bericht

UFZ-UMWELTFORSCHUNGSZENTRUM LEIPZIG-HALLE GMBH

Nr. 5/2001

Dissertation

**Untersuchungen zu Mechanismen der
Stickstoffumsetzung in Wässern bei der
Passage durch bewachsene Bodenfilter
(Pflanzenkläranlagen)**

Uwe Kappelmeyer

ISSN 0948-9452

Untersuchungen zu Mechanismen der Stickstoffumsetzung in
Wässern bei der Passage durch bewachsene Bodenfilter
(Pflanzenkläranlagen)

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)
an der
Technischen Universität Dresden
Fakultät für Forst-, Geo- und Hydrowissenschaften
akzeptierte Dissertation

vorgelegt von

Dipl.-Ing. Uwe Kappelmeyer

Archiv

Dresden, November 2000

Die vorliegende Veröffentlichung ist zugleich die von der Fakultät für Forst-, Geo- und Hydrowissenschaften der Technischen Universität Dresden genehmigte Dissertation des Autors zur Erlangung des akademischen Grades Doktor rerum naturalium (Dr. rer. nat.). Titel der Dissertation: „Untersuchungen zu Mechanismen der Stickstoffumsetzung in Wässern bei der Passage durch bewachsene Bodenfilter (Pflanzenkläranlagen)“.

Tag der mündlichen Prüfung: 7. November 2000
Ort: Dresden

Promotionskommission:

Vorsitzender: Prof. H. Wingrich
Gutachter: Prof. P. Werner
 Prof. I. Röske
 Prof. U. Stottmeister
Prüfer: Prof. P. Werner
 Prof. K. Lützner

UFT-Umweltforschungszentrum
Leipzig-Halle GmbH
Zentralbibliothek
Permoserstraße 15
04318 Leipzig

01-0731

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des Stipendienprogramms der Deutschen Bundesstiftung Umwelt und durch ein Auslandsstipendium des Deutschen Akademischen Austauschdienstes gefördert.

*Was man an der Natur Geheimnisvolles pries,
Das wagen wir verständig zu probieren,
Und was sie sonst organisieren ließ,
Das lassen wir kristallisieren.*

Johann Wolfgang Goethe, Faust II

Die vorliegende Arbeit wurde am Umweltforschungszentrum Leipzig Sektion Sanierungsforschung angefertigt.

Inhalt

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Bewachsene Bodenfilter – Pflanzenkläranlagen	3
2.2	Einflußfaktoren auf die Nitrifikation und Modellansätze zur Beschreibung der Umsatzgeschwindigkeit bei der Nitrifikation	6
2.3	Einflußfaktoren auf die Denitrifikation und Modell zur Beschreibung der Denitrifikationsgeschwindigkeit	16
2.4	Mechanismus und Einflußfaktoren der anoxischen Ammoniumoxidation ..	18
2.5	Stickstoffumsetzung durch die Chemodenitrifikation	20
3	Ziel der Arbeit und Aufgabenstellung	21
4	Material und Methoden	25
4.1	Verwendete Chemikalien und benutztes Pflanzenmaterial	26
4.2	Aufbau eines Wurzelraumreaktors	26
4.3	Medium für die Versuche im Wurzelraumreaktor	29
4.4	Beschreibung des Inoculum für den Wurzelraumreaktor	30
4.5	Methoden zur Untersuchung der Umsetzungen in Pflanzenkläranlagen	33
4.5.1	GC-System	33
4.5.2	Acetylenreduktionsmethode zum Nachweis der Stickstofffixierung .	36
4.5.3	Chemische Analytik der flüssigen Phase	37
4.5.3.1	Bestimmung der Konzentration und der ¹⁵ N-Häufigkeit des Ammoniums und Nitrats	37
4.5.3.2	Photometrische Bestimmung des Nitrits	38
4.5.3.3	Photometrische Bestimmung des Hydrazins	38
4.6	Mikrobiologische Untersuchungen	38
4.6.1	Bestimmung der Anzahl an Nitrifikanten	38
4.6.2	Bestimmung der Anzahl an Denitrifikanten – MPN	40
4.6.3	Spatelplattenverfahren zur Ermittlung der Gesamtkeimzahl	40
4.6.4	Medium zur Untersuchung der anoxischen Ammoniumoxidation ..	41
4.6.5	Stammhaltung der Mischpopulation für die Versuche im Wurzelraumreaktor	42

4.6.6	rRNA-gerichtete fluoreszenzmarkierte Sonden	42
5	Ergebnisse und Diskussion	45
5.1	Versuche im Wurzelraumreaktor zur Bestimmung kinetischer Parameter der Stickstoffumsetzungen	45
5.1.1	Strömungstechnische Beschreibung der Versuchsanlage	49
5.1.2	Ergebnisse zur Bestimmung der kinetischen Parameter der N-Umsetzungen im Wurzelraumreaktor	54
5.1.3	Diskussion der Ergebnisse der Versuche zur Bestimmung der N-Umsetzungen im Wurzelraumreaktor	79
5.2	Bestimmung der Verteilung von Denitrifikanten im Wurzelraum	94
5.2.1	Ergebnisse zur Verteilung der Denitrifikanten im Wurzelraum	94
5.2.2	Diskussion der Ergebnisse zur Verteilung der Denitrifikanten im Wurzelbereich in Abhängigkeit der C-Quellen	97
5.3	Untersuchung der anoxischen Ammoniumoxidation an unterschiedlichen Habitaten	99
5.3.1	V Versuchsergebnisse zur Bestimmung der anoxischen Ammoniumoxidation in Proben unterschiedlicher Habitate	99
5.3.2	Diskussion der Ergebnisse zur Bestimmung der Fähigkeit unterschiedlicher Habitate zur anoxischen Ammoniumoxidation	104
5.4	Chemodenitrifikation	105
5.4.1	Ergebnisse zur Chemodenitrifikation	106
5.4.2	Diskussion der Ergebnisse zur Chemodenitrifikation	114
5.5	Modellrechnungen zur Beschreibung der N-Umsetzungen in einem Wurzelraumreaktor	121
6	Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlußfolgerungen	130
7	Ausblick auf den zukünftigen Forschungsbedarf	133
	Quellenverzeichnis	134
	Anhang A Strömungsuntersuchungen im Wurzelraumreaktor	A - 1
	Anhang B Anoxische Ammoniumoxidation	B - 1

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Abs.	Abschnitt
AD	analog digital
ATV	Abwassertechnische Vereinigung
At. %	Atomprozent
CSB	chemischer Sauerstoffbedarf
DAPI	4,6-Diamidino-2-phenylindol
DGL	Differentialgleichung
DOC	Dissolved Organic Carbon - gelöster organischer Kohlenstoff
dest.	destilliert
ECD	Elektroneneinfangdetektor
EDTA	Ethylenediamine Tetraacetic Acid
FID	Flammenionisationsdetektor
FISH	fluoreszenzmarkierte in situ Hybridisierung
GC	Gaschromatograph
GNF	glukosehaltiges, stickstoffreies Nährmedium
HPIC	Hochdruckionenchromatographie
ID	innerer Durchmesser
n.d.	nicht detektierbar
MPN	Most Probability Number – Wahrscheinliche Anzahl
NCBI	National Centre for Biotechnology Information
PBS	Phosphate-buffered-saline - Phosphatpuffer
PCR	Polymerase Chain Reaction – Polymerasekettenreaktion
PKA	Pflanzenkläranlage, besser bewachsener Bodenfilter
PTFE	Polytetrafluorethylen
RNA	Ribonucleic Acid – Ribonukleinsäure
SDS	Sodiumdodecylsulfate – Natriumdodecylsulfat
SV	Braunkohle-Schwelwasserdeponie – „Schwelvollert“
Tab.	Tabelle
TOC	Total Organic Carbon – gesamter organischer Kohlenstoff

Tris/HCl	Tris[hydroxymethyl]aminomethane – Hydrochlorid
TS	Trockensubstanz
TSBA	Tryptic Soy Broth Agar – tryptischer Sojaagar
UBA	Umweltbundesamt
UV	Ultraviolett
VIS	visuell
VS	Volatile Suspended Solids – suspendierter Feststoff
WLD	Wärmeleitfähigkeitsdetektor
z. B.	zum Beispiel

Formelzeichen/Einheiten

A_0	Oberfläche [m^2]
a_i	Isotopenhäufigkeit des Atoms i in [At. %]
c_i	Konzentration des Stoffes i in [mg/L] oder [mol/L]
D	Dispersionstensor
d_p	Partikeldurchmesser in [mm]
E_h	Redoxpotential in [mV]
ΔG^\ominus	Standardreaktionsenthalpie in [kJ/mol]
I_i	Inhibierungskonzentration des Stoffes I in [mol/L]
K_I	Inhibierungskonstante in [-]
$K_S^{m, i}$	Sättigungskoeffizient in [mol/L]
K_a	Dissoziationskonstante für Salpetersäure in [-]
K_b	Dissoziationskonstante für Ammoniak in [-]
K_w	Dissoziationskonstante für Wasser in [-]
m_S^m	Erhaltungskoeffizient in [mol N/(kg Biomasse s)]
N	Umdrehung in [min^{-1}]
$r_{m, S}^i$	Reaktionsgeschwindigkeit des Stoffes S der Reaktion i in [mol/(L h)]
r_{max}^i	Maximale Reaktionsgeschwindigkeit der Reaktion i in [mol/(L h)]
$r_S^{I, m}$	Reaktionsgeschwindigkeit des Substrates S mit dem limitierenden Substrat I des Organismus m in [mol/(L h)]
q_{max}	flächenbezogene maximale Reaktionsgeschwindigkeit in [mg/(m^2 h)]

R	allgemeine Gaskonstante $R = 8,31441 \text{ J}/(\text{mol K})$
RV	Rücklaufverhältnis in [-]
S^i	Konzentration des Stoffes i in [mol/L]
T	Temperatur in [K]
t	Zeit in [h]
v_a	Abstandsgeschwindigkeit in [m/s]
V	Volumen in [L]
\dot{V}	Volumenstrom in [L/h]
\dot{V}_{zu}	Volumenstrom im Zulauf in [L/h]
\dot{V}_k	Kreislaufvolumenstrom in [L/h]
w_a	Abstandsgeschwindigkeit in [m/s]
X^m	Zellzahl des Organismus m in [kg Biomasse/L]
Y^m	Ertragskoeffizient des Organismus m in [kg Biomasse/mol N]
z	Ortskoordinate in [mm]
ε	Porosität in [-]
θ	Temperatur in [°C]
ρ	Dichte in [kg/L]
μ^m	Wachstumsrate des Organismus m in [s^{-1}]

Indizes

ab	Ablauf
i	Stoff, Atom, Reaktion
K	Kreislauf
m	Organismus
max	maximal
Ns	Ammoniumoxidierer
Nb	Nitritoxidierer
p	Partikel
S	Substrat
zu	Zulauf

⊖

Standardbedingungen (Temperatur = 273,2 K und Druck = 101,32 kPa)

Tab. I: Wissenschaftliche Namen der in dieser Arbeit angeführten Pflanzen

Lateinische Pflanzennamen	Deutsche Pflanzennamen
<i>Cucumis sativus</i>	Gurke
<i>Glyceria maxima</i>	Wasserschwaden
<i>Phalaris arundinacea</i>	Rohrglanzgras
<i>Phragmites australis</i>	Schilf
<i>Schoenoplectus lacustris</i>	Gemeine Teichsimse
<i>Scirpus validus</i>	Simse
<i>Typha latifolia</i>	Breitblättriger Rohrkolben

1 Einleitung

Zur Reinigung von Abwässern existieren die unterschiedlichsten Methoden, die sich unter anderem in technisch intensiviert und naturnahe Verfahren einteilen lassen. Die technisch intensivierten Verfahren können weiter in Verfahren mit suspendierter (z. B. Belebtschlammverfahren) und adhärenter Biomasse (Tropfkörper-, Drehscheibenverfahren, etc.) unterteilt werden. Die Eignung des jeweiligen Verfahrens und der detaillierten Technologie muß immer am realen Fall im Kontext der Zielgrößen und der ökonomischen Randparameter untersucht werden. Prinzipiell läßt sich aber feststellen, daß sich naturnahe Verfahren für die dezentrale Abwasserreinigung für kleine Orte und Saisonbetriebe eignen. Der Vorteil dieser naturnahen Verfahren ist die Möglichkeit des Verzichts auf kostenintensive Ausrüstungen bei noch gesicherten Ablaufkennwerten (Lorch 1997). Kombiniert mit dem Vorteil der dezentralen Abwasserreinigung, also dem Verzicht auf lange und teure Abwasserkanäle, wird die ökonomische Seite als Vorzug dieses Verfahrens deutlich. Diese naturnahen Verfahren setzten sich nicht nur im Bereich der Klärung von kommunalen Abwässern durch sondern werden auch zunehmend in der Abwasserbehandlung von Altlastenstandorten und der Klärung von bestimmten Industrieabwässern eingesetzt (Höppner et al. 1997).

In Deutschland waren 1995 89 % der gesamten Bevölkerung an öffentliche Abwasserreinigungsanlagen angeschlossen. Weitere 3 % der Bevölkerung ließen das Abwasser in Kleinkläranlagen reinigen (UBA 1998). Der noch nicht an die öffentliche Abwasserreinigung angeschlossene Teil der Bevölkerung befindet sich zu einem überwiegenden Teil im ländlichen Raum. Für die Abwasserreinigung in diesen Gebieten gelten andere Herausforderungen als für die Reinigung in Ballungsgebieten. So könnte dort eine dezentrale Variante der Abwasserbehandlung mit naturnahen Verfahren eine Rolle spielen. Vorteile dieser naturnahen Verfahren sind der geringe Wartungsaufwand und die ökologische Eingliederung der Abwasserreinigungsanlage in die Flächennutzung des ländlichen Raumes (Gellert et al. 1990).

Zu den naturnahen Verfahren zählen u. a. Abwasserteiche und Pflanzenkläranlagen. Diese PKA gewinnen zunehmend Bedeutung in der Abwasserreinigung. Dies kann durch den Trend bestätigt werden, daß immer größere Anlagen für den kommunalen Sektor und auch für industrielle Fälle und Altlasten installiert werden.

Unter PKA versteht man allgemein Verfahren, bei denen der Wasserstrom horizontal oder vertikal durch eine poröse Schüttung – Bodenkörper – geführt wird. Dieser Bodenkörper stellt

den Lebensraum für eine sehr komplexe Biozönose dar, denn zum einen wachsen in diesem die Pflanzen und zum anderen befinden sich in der Schüttung die vielfältigsten Mikroorganismen, die die hauptsächlichen Träger des Reinigungspotentials sind. Daraus folgend kann postuliert werden, daß die in diesem System stattfindenden Abbau- und Umsetzungsprozesse in einem sehr komplexen Netzwerk ablaufen.

Unter einem komplexen System soll ein System verstanden werden, in dem Interaktionen von verschiedenen einzelnen Elementen des Systems bzw. Teilprozessen nichtlinear miteinander verknüpft sind oder aber die einzelnen Teilprozesse schon nichtlineares Verhalten zeigen. Im Fall der PKA läßt sich das komplexe System durch die Interaktion von Wurzel, Mikroorganismen und Wasserinhaltsstoffen auf dem Niveau der Stoffflüsse beschreiben. Der Einfluß der Wurzel geht auf das Einbringen von Stoffen wie z. B. organische Moleküle und Sauerstoff - der Exsudation - zurück, weiterhin dient die Wurzel als Immobilisationsträger. Als wichtige Parameter des Wassers für die Nährstoffelimination zählen C/N-Verhältnis, Kohlenstofffrachten, Gelöstsauerstoffkonzentration, Redox- und pH-Wert.

In dieser Arbeit soll der Gesamtprozeß der Stickstoffumsetzung in PKA untersucht werden. Die praktischen Arbeiten sollen an einen bewachsenen Bodenfilter angelehnt werden, der für die Sanierung des stark ammonium- und huminstoffhaltigen Wassers eines Kohlepyrolyserestsees benutzt wurde. In der vorliegenden Arbeit wird diese Anlage also nur für die Anpassung der Rahmenbedingungen der Laborversuche benutzt und ist somit nicht unmittelbarer Gegenstand der Untersuchungen.

Die Formulierung der konkreten Ziel- und Aufgabenstellung erfolgt im Kapitel 3 nach den theoretischen Darstellungen des bisherigen Wissensstandes.

2 Literaturübersicht

2.1 Bewachsene Bodenfilter – Pflanzenkläranlagen

In diesem Abschnitt wird der Schwerpunkt auf die Bedeutung der Wechselwirkungen zwischen der Pflanze und den Mikroorganismen bei N–Umsetzungsreaktionen in PKA gelegt. Auf die weitere Ausführung von technischen Aspekten wird bewußt verzichtet. Diese sind ausführlich in der Arbeit von Platzer (1998) dargestellt.

Die ATV definierte bewachsene Bodenfilter als technische Systeme bei denen "... Abwasser einem mit Sumpfpflanzen (Helophyten) bewachsenen Bodenkörper zugeführt" wird, "dieser soll zum Zweck der Behandlung des Abwassers vertikal oder horizontal durch- oder überströmt werden" (ATV 1989).

Der Einfluß der Pflanzen auf die Umsetzungsprozesse in bewachsenen Bodenfiltersystemen wird in der Literatur recht unterschiedlich dargestellt. So beschrieben Breen et al. (1995), daß die Bewurzelung und das Systemalter zu den wichtigsten Einflußfaktoren zählen, die die Unterschiede in den Kohlenstoff-, Phosphor- und Stickstoffprofilen der untersuchten Systeme ausmachen. Weiterhin zeigten sich Unterschiede in den Stickstofffrachten der Winter- und der Sommermonate. Sikora et al. (1995) untersuchten horizontal durchströmte Modellsysteme mit einer Fläche von ca. 55 m². Dabei stellten sie dar, daß im Sommer die bepflanzten Systeme eine höhere Umsetzungsrate für DOC aus häuslichem Abwasser (0,6 g/(m² d) ... 1,1 g/(m² d)) als das unbepflanzte System (0,5 g/(m² d)) aufwiesen. In der Winterzeit egalisierten sich diese Unterschiede und es wurde von beiden Systemen eine Umsetzungsrate von ca. 0,35 g/(m² d) erreicht.

Phipps et al. (1994) zeigten in einer Feldstudie, daß Belastungen aus der landwirtschaftlichen Bewirtschaftung gut mittels bewachsener Bodenfilter entfernt werden können. In dieser Studie wurden Umsetzungsraten von 78...95 % für Nitrat und 54...75 % für die gesamte Stickstofffracht beobachtet. Da im Einlaufstrom die Nitratkonzentration um 3 mg/L und die Ammoniumkonzentrationen unter 0,05 mg/L lagen, kann davon ausgegangen werden, daß die oben dargestellten Umsetzungsleistungen hauptsächlich auf die Denitrifikation zurückgeführt werden können. Weiterhin wurde deutlich gezeigt, daß durch Steigerung der hydraulischen Belastung auch der Austrag von organischen Stickstoffkomponenten zunahm.

Daum et al. (1996) berichteten über die N₂O- und N₂-Freisetzung aus Hydrokulturen von *Cucumis sativus*. Dort wurde festgestellt, daß ein geringeres Pflanzenwachstum, die damit

verbundene geringere Wurzelatmung und Exsudation von organischen Komponenten, welche als C-Quelle für die Mikroorganismen dienen, mit einer Verminderung der N₂- und N₂O-Emissionsraten einhergehen. Dies kann als Indiz für die Kopplung der Exsudation von organischen Verbindungen der Pflanzen mit den Stickstoffumsetzungen speziell mit der Denitrifikation gesehen werden. Diese These bestätigten Daum et al. (1996a) durch den Nachweis der Koppelung der N-Emission aus Hydroponikkulturen mit dem Vorhandensein von leicht verstoffwechselbaren C-Quellen für die Denitrifikation.

Modelluntersuchungen zur Umsetzung von Industrieabwässern führten Zachritz et al. (1996) durch. Sie beschrieben die 99 %ige Reinigung eines mit 40 mg/L Benzoat belasteten Wassers in Pflanzenkläranlagen, die mit *Scirpus validus*, bepflanzt waren. Benzoat wurde als Modellsubstanz für die Testung der Abbauleistung von halogenierten und nichthalogenierten Ringsystemen gewählt, da hier Benzoat als Intermediat auftritt.

Untersuchungen von Williams et al. (1994), die an einem 140 m² mit *Phragmites australis* bepflanzten Kiesbettsystem durchgeführt wurden, zeigten einen Unterschied zwischen den Biofilmen, die auf Rhizomen bzw. Kies aufwuchsen. Sie stellten fest, daß der rhizomale Biofilm eine höhere Bakteriendichte aufwies. Diese höhere Dichte wird auf die Exsudation von löslichen organischen Substanzen durch die Pflanzenwurzel und der Zersetzung der abgestorbenen Wurzelteile, damit auf die Freisetzung von organischen Materialien zurückgeführt. Nach Knowles (1982) wirkte sich dies ebenfalls auf das Potential und die Dichte der denitrifizierenden Bakterien in diesem System aus. In der Arbeit von Williams et al. (1994) wurde weiterhin eindeutig gezeigt, daß in den ersten Metern einer horizontal durchströmten PKA die Bedingungen für die Nitrifikation nicht günstig sind, denn dort ist durch den aeroben Abbau der organischen Substanz bedingt nur wenig Gelöstsauerstoff vorhanden. Diese Tatsache stellt die Nitrifikation als Konkurrenzreaktion um den Sauerstoff mit den aeroben C-Substratumsetzungen dar. Diese Hypothese konnte durch die untersuchten Stickstoffumsetzungspotentiale bestätigt werden. Weiterhin wurde deutlich, daß der auf Wurzeloberflächen wachsende Biofilm eine höhere Nitrifikationsrate aufweist als der im selben System auf Kiesoberflächen aufwachsende Biofilm (Williams et al. 1994).

Die Rolle der Pflanzen im Reinigungsprozeß wurde unterschiedlich diskutiert und reicht von Auflockerung des Kiesbettes (Sandford et al. 1995, Gish et al. 1983) über Abgabe von Sauerstoff (Brix 1994) und organischer Materie zur Begünstigung der umsetzenden Biozönose (Groffman et al. 1996, Myrold et al. 1981) bis zum günstigen Aufwuchsträger für Mikroorganismen.

Den Versuch, die Beeinflussung der Baktriozönose direkt mit dem Wachstum von *Typha* in Verbindung zu setzen, machten Crumpton et al. (1993). Dabei stellten sie allerdings nur eine bis zu 10 %ige Abhängigkeit der Nitratumsetzung vom Wachstum der Makrophyten fest und postulierten als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Denitrifikation nicht die Umsetzung sondern den Transport des Nitrats zu den anaeroben Zonen.

Als Rhizosphäre wird der Bereich des Bodens bezeichnet, der von den Wurzeln und deren Exsudation beeinflusst wird. Dieser Boden beinhaltet nach Angle et al. (1996) 5 bis 20 mal mehr Bakterien als der von Pflanzen unbeeinflusste Boden, welche zudem größer als vergleichbare Arten im unbeeinflussten Boden sind.

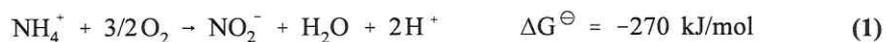
Nijburg et al. (1997) stellten in Experimenten mit im Sediment wachsenden *Glyceria maxima* heraus, daß die Pflanze im Fall einer kleinen Nitratkonzentration einen entscheidenden Einfluß auf die sich etablierende denitrifizierende Biozönose hatte. Bei Nitratkonzentrationen über 530 $\mu\text{g NO}_3^-/\text{g TS}$ hatte die Pflanze nur noch eine sehr geringe Bedeutung für die Zusammensetzung der Biozönose und deren Metabolismus. War jedoch Ammonium vorhanden, gewann die Pflanze wieder an Bedeutung für die Koppelung von Nitrifikation und Denitrifikation.

Der geringe Sauerstoffgehalt hat nicht nur Einfluß auf die Baktriozönose, sondern auch auf die im System wachsenden Pflanzen. Aus diesen Gründen sind nur bestimmte Pflanzen - Helophyten - für das Wachstum auf dauerhydromorphen meist anaeroben Böden geeignet. Weiterhin müssen die Pflanzen in PKA auch mit hohen Konzentrationen an organischen Verbindungen sowie hohen Salz- und Nährstofffrachten und den damit hervorgerufenen Milieubedingungen in Bezug auf pH-Wert, Gelöstsauerstoff, Redoxpotential etc. zurechtkommen.

Brix et al. (1996) beschrieben für *Phalaris arundinacea* und *Glyceria maxima*, daß ein sauerstoffgesättigtes wie auch anoxisches Medium keine signifikanten Auswirkungen auf die Pflanzen hat, bezogen auf das Wachstum. Brändle et al. (1996) stellten die Toleranz einiger Helophyten gegenüber Eutrophierung und der Verbreitung in bestimmten Habitaten zusammen. Dabei zeigte sich, daß sich *Phalaris arundinacea*, *Glyceria maxima*, *Typha latifolia* durch deren Toleranz gegenüber Eutrophierung besonders für die Bepflanzung von PKA eignen. In der Regel sollte beim Bau einer PKA diese mit einer Vielzahl unterschiedlicher Arten bepflanzt werden, so daß sich durch Adaptations- und Ausleseprozesse die geeignetsten Arten durchsetzen und sich so die für die Milieubedingungen günstigste Zönose ausbildet.

2.2 Einflußfaktoren auf die Nitrifikation und Modellansätze zur Beschreibung der Umsatzgeschwindigkeit bei der Nitrifikation

Unter der Nitrifikation wird die biologische Oxidation von Ammonium zum Nitrat über Nitrit verstanden. Diese Umsetzung wird von zwei phylogenetisch¹ nicht näher verwandten Bakteriengruppen durchgeführt, die über den freien Metabolit Nitrit verbunden sind. Für den ersten Schritt – die Nitritifikation – gilt folgende Reaktionsgleichung (Gl. 1):



Diese Umsetzung wird von den sogenannten Ammoniumoxidierern durchgeführt. Diese Gruppe besteht hauptsächlich aus β -Proteobakterien (Kowalchuk et al. 1999, Kowalchuk et al. 1997). Zu den Hauptvertretern zählen die Gattungen *Nitrosomonas*, *Nitrosobacter*, *Nitrosolobus* (siehe Tab. 2.1).

Der zweite Teilprozeß – die Nitratifikation – ist die Umsetzung des entstandenen Nitrits zum Nitrat (siehe Gl. 2).



Die für diese Umsetzung verantwortlichen Bakterien werden als Nitritoxidierer bezeichnet. Eine Zusammenstellung der dazugehörigen Gattungen ist Tab. 2.1 zu entnehmen.

Die Gleichungen zum Chemismus (Gl. 1 und Gl. 2) der Nitrifikation sind hier vereinfacht dargestellt, so geht z.B. die Bildung von gasförmigen Stickoxiden nicht mit ein (Stüven et al. 1992).

¹ Eine Einführung in die Theorie der Phylogenie der Prokaryonten ist in Schlegel (1992) sowie Ludwig et al. (1998) dargestellt.

Tab. 2.1: Taxonomische Einordnung der Nitrifikanten nach der NCBI-Datenbank

Stoffwechselgruppe/ Metabolische Leistung	Gattung	phylogenetische Einordnung
Ammoniumoxidierer	<i>Nitrosomonas</i>	β -Subdivision der Proteobacteria
	<i>Nitrospira</i>	β -Subdivision der Proteobacteria
	<i>Nitrospina</i>	β -Subdivision der Proteobacteria
	<i>Nitrosococcus</i>	γ -Subdivision der Proteobacteria
Nitritoxidierer	<i>Nitrobacter</i>	α -Subdivision der Proteobacteria
	<i>Nitrospira</i>	Nitrosira Gruppe
	<i>Nitrospina</i>	δ -Subdivision der Proteobacteria
	<i>Nitrococcus</i>	γ -Subdivision der Proteobacteria

Die zu diesen beiden Gruppen gehörenden Mikroorganismen werden als chemolithoautotrophe Mikroorganismen bezeichnet, d.h. sie gewinnen ihre Energie aus der Umsetzung von anorganischer Materie, die sie ebenfalls als C-Quelle benutzen. Im Fall der Nitrifikation wird die Energie aus der Oxidation von Ammonium bzw. Nitrit (siehe Gl. 1 und Gl. 2) gewonnen. Als C-Quelle wird Kohlendioxid über den Calvinzyklus (Stryer 1991) in organische Biomasse umgebaut.

Stand des Lehrbuchwissens ist die Tatsache, daß die Gattungen *Nitrosomonas* und *Nitrobacter* die Hauptvertreter der Nitrifikanten darstellen. Diese Darstellung und damit auch die Modellorganismen für viele Untersuchungen müssen durch die Erkenntnisse aus den nicht-kultivierenden Methoden grundlegend geändert werden. In diesem Zusammenhang beschrieben Schramm et al. (1998), daß die Gattungen *Nitrospira* und *Nitrospina* die Hauptvertreter in Abwasserkläranlagen und sicher auch in allen eutrophen Gewässern sind.

Viele Parameter haben einen signifikanten Einfluß auf die Nitrifikation z.B. pH-Wert, Temperatur, Sauerstoffkonzentration sowie die Konzentration unterschiedlicher Hemmstoffe. Der pH-Wert beeinflusst die Umsetzung durch die Einflußnahme auf die Enzymaktivität und auf die Gleichgewichte des Karbonats, Nitrits und des Ammoniums. Die beiden letzterwähnten Verbindungen haben eine Hemmwirkung auf die Nitrifikation durch freies Ammoniak und salpetrige Säure.

Unvorteilhaft für die Optimierung der Nitrifizierung ist die Tatsache, daß sich Reinkulturen der Nitrifikanten nur sehr schwer isolieren, kultivieren und damit auch untersuchen lassen. Molekularbiologische Techniken (siehe Abschnitt 4.6.6) bieten zwar die Möglichkeit, die beteiligten Bakterien und Enzyme zu bestimmen aber für viele Untersuchungen (z.B. Bestimmung von kinetischen Koeffizienten) sind Reinkulturen unumgänglich.

Für einige Einflußfaktoren wurden mathematische Abhängigkeiten bestimmt, welche aus den dargestellten Gründen nur zu einem geringen Teil an Reinkulturen erarbeitet wurden. Für den überwiegenden Teil der publizierten Modelle wurden nicht näher definierte Mischkulturen (z.B. Klärschlamm) benutzt.

Aus der mathematischen Beschreibung des funktionellen Zusammenhanges von maximaler Wachstumsrate und pH-Wert sowie Temperatur wurde für die Nitrifikation ein pH-Optimum von 7,8 für den Temperaturbereich von 15–25 °C ermittelt (Antoniou et al. 1990). Weitere Untersuchungen an einer nitrifizierenden Mischpopulation zeigten ein Temperaturoptimum bei 25 °C (Balmelle et al. 1992). Hier wurde für den Temperaturbereich von 30 ... 35 °C eine deutliche Nitritanhäufung im Reaktor verzeichnet. Für den pH-Wert wurde ein Optimum bei 8 bestimmt. Diese Daten stimmen somit tendenziell mit denen von Antoniou et al. (1990) überein. Der Einfluß des pH-Wertes auf das Ammonium und Nitrit wird durch die Gleichungen (4) bzw. Gl. (8) beschrieben, wobei θ als Temperatur in [°C], c als Konzentration in [mg/L] einzusetzen sind.



$$c_{\text{NH}_3, \text{free}} = \frac{c_{\text{NH}_4^+}}{K_b/K_w + 10^{\text{pH}}} \quad (4)$$

$c_{\text{NH}_3, \text{free}}$

Ammoniakkonzentration in [mg N/L]

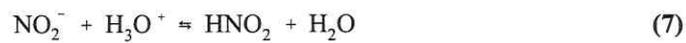
$c_{\text{NH}_4^+}$	Ammoniumkonzentration in [mg N/L]
K_b	Dissoziationskonstante für Ammoniak in [-]
K_w	Dissoziationskonstante für Wasser in [-]
pH	pH-Wert

$$\begin{aligned} K_w &= 0,69 \cdot 10^{-14} \text{ bei } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ K_b &= 1 \cdot 10^{-9,24} \text{ bei } 20 \text{ }^\circ\text{C} \end{aligned} \quad (5)$$

Aus K_b und K_w ergibt sich unter der Berücksichtigung der Temperaturabhängigkeit:

$$K_b/K_w = \exp \frac{-6334}{T} . \quad (6)$$

T Temperatur in [K]



$$c_{\text{NHO}_2} = \frac{c_{\text{NO}_2^-}}{K_a \cdot 10^{\text{pH}}} \quad (8)$$

c_{HNO_2}	Konzentration an undissoziierter salpetriger Säure in [mg N/L]
$c_{\text{NO}_2^-}$	Nitritkonzentration in [mg N/L]
K_a	Dissoziationskonstante für Salpetersäure in [-]

$$K_a = \exp \frac{-2300}{T} \quad (9)$$

Aus diesen Gleichungen wurde die Abbildung (1) unter Verwendung der bekannten Hemmkonzentrationen berechnet.

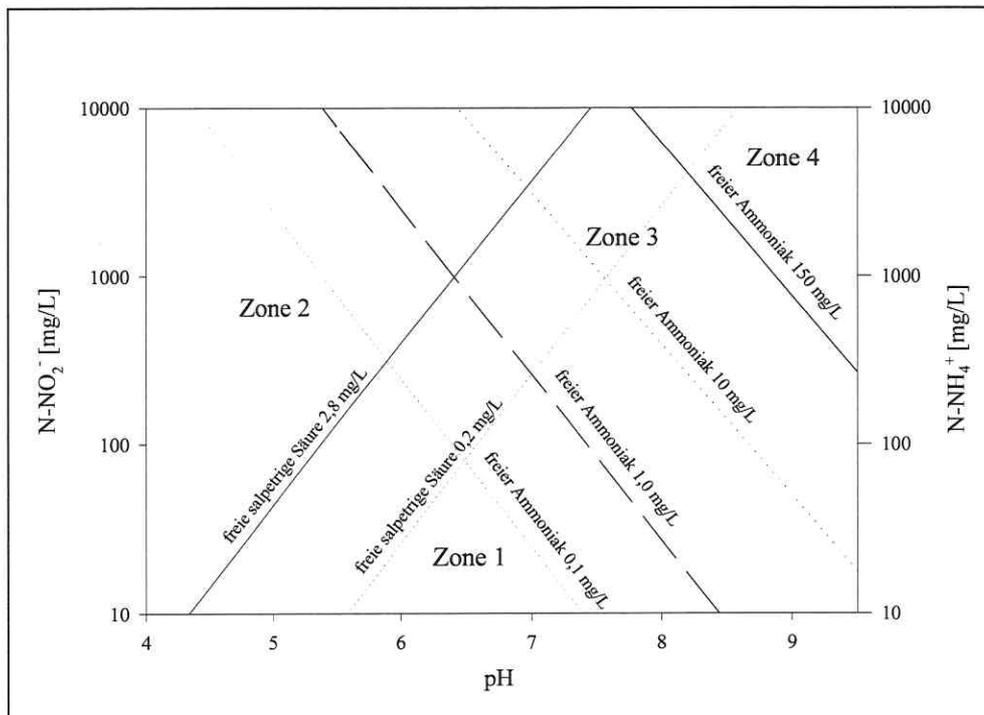


Abbildung 1 Darstellung der pH-Toleranz der Nitrifikation (berechnet nach Anthonisen et al. 1976)
 Zone 1: ungehinderte Nitrifikation – salpetrige Säure < 0,2 mg/L und freier Ammoniak < 1,0 mg/L
 Zone 2: inhibierte Nitrifikation durch salpetrige Säure > 2,8 mg/L
 Zone 3: inhibierte Nitrifikation durch freien Ammoniak > 10 mg/L
 Zone 4: Inhibierung beider Nitrifikationsschritte durch freien Ammoniak > 150 mg/L

Die Abbildung (1) stellt die Bereiche der Inhibierung der Nitrifikation durch bestimmte pH-Werte dar. Der Bereich 1 beschreibt das Gebiet der ungehinderten Nitrifikation. Im Bereich 2 beginnt die Inhibierung der Nitrifikanten durch freie HNO_2 , wobei der Bereich 3 den Beginn der Inhibierung der Nitrifikation durch freies Ammoniak darstellt. Der Bereich 4 ist der Initialbereich der Inhibierung der Nitrifikation durch freies NH_3 . Die Bereiche zwischen diesen klar abgegrenzten Bereichen werden durch vielfältige Bedingungen beeinflusst (Turk 1989). Den Mechanismus der Inhibierung durch undissoziierte Säuren (z.B. salpetrige Säure) beschrieben Boon et al. (1962) durch die nicht-kompetitiven Inhibierung, was von Andrews (1968) bestätigt wurde. Neufeld et al. (1980) stellten über einen einfachen Inhibierungsansatz dar, daß erst ab einer Konzentration von 10 mg NH_3/L mit einer maßgeblichen Inhibierung zu rechnen ist.

Als weiterer Parameter, der speziell für bewachsene Bodenfilter als limitierender Faktor für die

Nitrifikation auftreten kann, wird der Gelöstsauerstoffgehalt angesehen. Hierzu geben Wijffels et al. (1995) folgenden auf die Michaelis–Menten–Beziehung beruhenden Ansatz an:

$$r_{m, S}^{Ns} = r_{max}^{Ns} \frac{c_{O_2}}{c_{O_2} + K_s} \quad (10)$$

$$K_s^{Ns} = 1,46 \cdot 10^{16} \exp \frac{-100,1 \cdot 10^3}{R \cdot T}$$

$$r_{max}^{Ns} = 5,10 \cdot 10^{14} * \exp \frac{-86,4 \cdot 10^3}{R \cdot T} \quad (11)$$

$$r_{m, S}^{Nb} = r_{max}^{Nb} \frac{c_{O_2}}{c_{O_2} + K_s} \quad (12)$$

$$K_s^{Nb} = 2,15 \cdot 10^{12} \exp \frac{-78,1 \cdot 10^3}{R \cdot T}$$

$$r_{max}^{Nb} = 2,26 \cdot 10^6 * \exp \frac{-58,4 \cdot 10^3}{R \cdot T} \quad (13)$$

$r_{m, S}^i$	Reaktionsgeschwindigkeit des Stoffes S der Umsetzung i in [mol/(L h)]
r_{max}^i	Maximale Reaktionsgeschwindigkeit der Umsetzung i in [mol/(L h)]
R	Gaskonstante 8,31441 J/(mol K]
T	Temperatur in [K]

In diesen Gleichungen stehen die Indizes Ns für die Ammoniumoxidation und Nb für die Nitritoxidation. Bei der Modellbildung (Gl. (10) bis Gl. (13)) wurde davon ausgegangen, daß Ammonium bzw. Nitrit in nichtlimitierenden Konzentrationen vorliegen. Diese Abhängigkeiten lassen sich wie in Abbildung (2) dargestellt verdeutlichen.

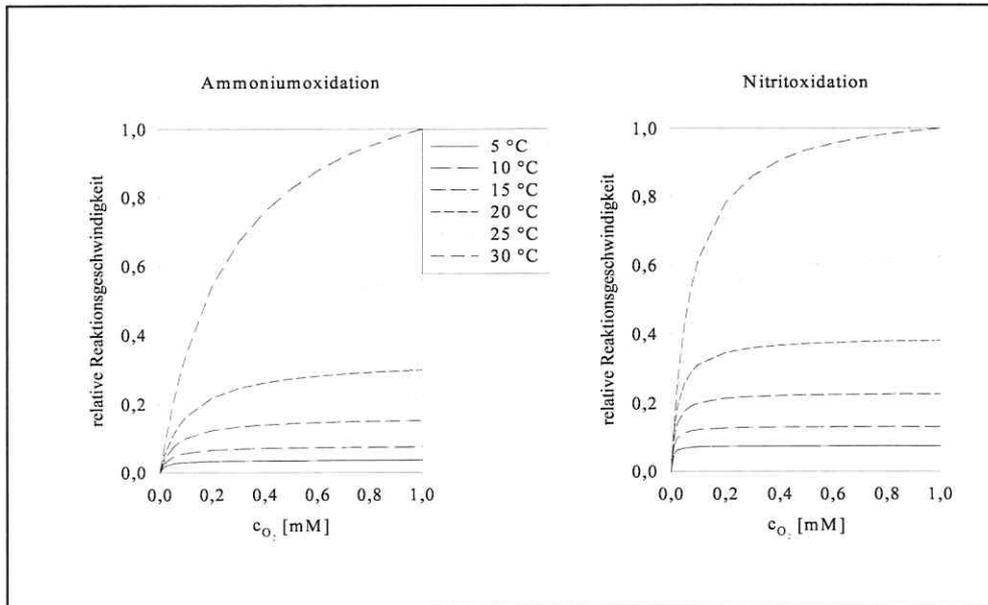


Abbildung 2 Darstellung der relativen Reaktionsgeschwindigkeit bezogen auf die maximale Reaktionsgeschwindigkeit bei 30°C und 1 mM Sauerstoff nach Wijffels et al. (1995)

In der Abbildung (2) wird die relative Nitrifikationsaktivität bei ausgewählten Sauerstoffgehalten und Temperaturen dargestellt. Die relative Aktivität ergibt sich aus der aktuellen Aktivität in Bezug auf die maximale Aktivität bei einer Temperatur von 30°C und einer Konzentration von 1 mM an Gelöstsauerstoff. In der Abbildung (2) ist bei Erhöhung der Temperatur eine deutliche Steigerung der Aktivität wie auch bei zunehmendem Sauerstoffgehalt zu sehen. Bei niedrigeren Temperaturen hingegen überwiegt der Temperatureinfluß, so daß auch ein höherer Sauerstoffgehalt keine wesentliche Steigerung der Aktivität hervorbringt. Aus dieser Darstellung kann die stärkere Abhängigkeit der Ammoniumoxidation gegenüber des Sauerstoffgehaltes entnommen werden.

Das im folgenden dargestellte Modell berücksichtigt die Biomassekonzentration und folgt der Veröffentlichung von Hunik et al. (1994). Die dort enthaltenen Modelle für die Biomassebildung und Reaktionsgeschwindigkeit entsprechen den gängigen kinetischen Beschreibungen der Biotechnologie. Die Koeffizienten der Gleichungen (Gl. (14) bis Gl. (17)) wurden für die Organismen *Nitrosomonas europaea* und *Nitrobacter agilis* ermittelt.

$$\frac{dS^i}{dt} = r_S^{i,m} = \frac{\mu^m X^m}{Y^m} + m_s^m * X^m * \left[\frac{S^i}{(K_S^{i,m} + S^i) * K_I} \right] \quad (14)$$

$r_S^{i,m}$	Reaktionsgeschwindigkeit des Substrates S mit dem limitierenden Substrat I des Organismus m in [mol/(L h)]
μ^m	Wachstumsrate des Organismus m in [s ⁻¹]
X^m	Zellzahl des Organismus m in [kg Biomasse/L]
Y^m	Ertragskoeffizient des Organismus m in [kg Biomasse/mol N]
m_s^m	Maintenancekoeffizient [mol N/(kg Biomasse s)]
S^i	Konzentration des Stoffes i in [mol/L]
K_I	Inhibierungskonstante [-]
$K_S^{m,i}$	Sättigungskoeffizient in [mol/L]

Im Fall von *Nitrobacter agilis* also der Nitrifikation wird die Inhibierungskonstante (K_I) gleich 1 gesetzt. Für *Nitrosomonas europea* gilt:

$$K_I = \left[1 + \frac{S^{NO_2^-}}{I_{NO_2^-}} \right] \left[1 + \frac{S^{NO_3^-}}{I_{NO_3^-}} \right]. \quad (15)$$

I_I Inhibierungskonzentration des Stoffes I [mol/L]

Die modellhafte Beschreibung der Änderung der Biomassekonzentration erfolgt nach Gl. (16).

$$\frac{dX^m}{dt} = \mu^m X^m - m_s^m Y^m X^m \left\langle 1 - \left[\frac{S^i}{(K_S^{i,m} + S^i) K_I} \right] \right\rangle \quad (16)$$

Die Abhängigkeiten der Wachstumsrate wird durch Gl. (17) beschrieben.

$$\mu^m = \mu_{\max}^m \left[\frac{S^i}{(K_S^{i,m} + S^i) K_I} \right] \quad (17)$$

Indizes in diesen Gl. i limitiertes Substrat
 m Mikroorganismus

Da sowohl Ammonium bzw. Nitrit als auch Sauerstoff in limitierenden Konzentrationen auftreten können, gelten die in Tab. 2.2 zusammengestellten Regeln.

Tab. 2.2: Kriterien für das limitierte Substrat der Nitrifikanten (Als limitiertes Substrat gilt das Substrat, dessen Term ein Minimum ergibt.)

Limitiertes Substrat	<i>Nitrosomonas europaea</i>	<i>Nitrobacter agilis</i>
Nitrit bzw. Ammonium	$\frac{S^{NH_4^+}}{K_S^{NH_4^+, Ns} + S^{NH_4^+}}$	$\frac{S^{NO_2^-}}{K_S^{NO_2^-, Nb} + S^{NO_2^-}}$
Sauerstoff	$\frac{S^{O_2}}{K_S^{O_2, Ns} + S^{O_2}}$	$\frac{S^{O_2}}{K_S^{O_2, Nb} + S^{O_2}}$

In Tabelle 2.3 sind die Koeffizienten für die Modellierung nach den letzterwähnten Ansätzen zusammengestellt.

Tab. 2.3: Konstanten der Gleichung (14) bis Gleichung (17) nach Hunik et al. (1994)

Parameter	<i>Nitrobacter agilis</i> m = Nb	<i>Nitrosomonas europaea</i> m = Ns
μ_{max} [s ⁻¹]	1,0 * 10 ⁻⁵	1,59 * 10 ⁻⁵
m_s [mol N kg ⁻¹ Biomasse s ⁻¹]	2,2 * 10 ⁻³	9,4 * 10 ⁻⁴
Y [kg Biomasse mol ⁻¹ N]	0,58 * 10 ⁻³	1,66 * 10 ⁻³
$K_s^{NH_4}$ [mol L ⁻¹]		1,25 * 10 ⁻³
$K_s^{NO_2}$ [mol L ⁻¹]	0,36 * 10 ⁻³	
$K_s^{O_2}$ [mol L ⁻¹]	17,0 * 10 ⁻⁶	5,05 * 10 ⁻⁶
$I_{NO_2^-}$ [mol L ⁻¹]	0,159	
$I_{NO_3^-}$ [mol L ⁻¹]	0,188	

Bedingt durch die geringe Wachstumsrate der Nitrifikanten kann das adhärenente Wachstum als

Strategie für eine höhere Persistenz im System angesehen werden. Dieser Strategie folgend wachsen die Nitrifikanten in der Regel in Biofilmen. Wagner et al. (1996), Pollard et al. (1996) und Furumai et al. (1994) beschrieben die Schichtung von heterotrophen und autotrophen Mikroorganismen. Dabei stellten sie heraus, daß sich an der obersten Schicht die am schnellsten wachsenden Mikroorganismen – im Regelfall heterotrophe Bakterien – befanden, die damit im Vorteil bei der Konkurrenz um Platz und Nährstoffe sind. Dieses Ergebnis konnte durch weitere Veröffentlichungen von Okabe et al. (1996) und Tjihuis et al. (1994) bestätigt werden.

Biofilme können als halb feste, poröse Materialien angesehen werden, die durch Mikroorganismen unter bestimmten Bedingungen gebildet werden. Sie bestehen aus Makromolekülen, die sich als Polymermatrix organisieren und den darin eingebetteten Mikroorganismen. Diese Umgebung hat einen Einfluß auf die Stofftransportphänomene, so steigt die Weglänge der Diffusion in diesen Matrices gegenüber der Weglänge in Lösungen. Aus dieser gesteigerten Weglänge folgt, daß die Diffusionsgeschwindigkeit gegenüber der Geschwindigkeit in Lösungen geringer wird.

Die Ausbildung von Biofilmen ist von mehreren Faktoren abhängig, so beschrieben van Benthum et al. (1997), daß die Strömungsbedingungen zu den Haupteinflußfaktoren zählen. Sie stellten fest, daß eine Biofilmbildung nur beobachtet wird, wenn die hydraulische Verweilzeit im untersuchten System (Airliftreaktor) kleiner ist als der reziproke Wert der spezifischen Wachstumsrate.

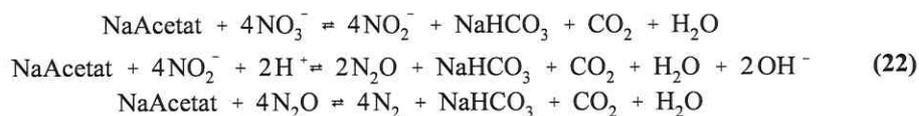
Die Profile von Sauerstoff, pH-Wert und Redoxpotential in Biofilmen gestatten Aussagen über deren Aktivität, welche noch durch die Strukturaussagen mit In-Situ Nachweismethoden für bestimmte Bakterien erweitert werden können (Schramm et al. 1996) und (Amann et al. 1998). Sie beschrieben die Profile von Sauerstoff und Nitrit/Nitrat mit Mikroelektroden kombiniert mit Aussagen über die Position der Nitrifikanten bestimmt mit Gensonden – FISH. Diese Untersuchung bestätigte die Existenz von *Nitrosomonas*-Cluster (MacDonald 1986). Um diese Cluster waren *Nitrobacter* angeordnet, was durch die damit verbundenen extrem kurzen Diffusionswege für das Nitrit begründet werden kann.

Für die Etablierung von Nitrifikanten in anaeroben Systemen wie z. B. in überstauten Böden ist der durch die Pflanzen eingetragene Sauerstoff von entscheidender Bedeutung. Bodelier et al. (1996) beschrieben für mit *Glyceria maxima* bepflanzte Sedimente 50 bis 75 mal mehr Nitrifikanten im Wurzelraum als im wurzelfernen Sediment. Das Wurzelzonen-Sediment-Verhältnis für ammoniumoxidierende Bakterien ist ca. 9. Hansen et al. (1981) fanden für *Phragmites*

australis eine Erhöhung der Nitrifikantenzahl um drei.

2.3 Einflußfaktoren auf die Denitrifikation und Modell zur Beschreibung der Denitrifikationsgeschwindigkeit

Die Denitrifikation wird als anaerobe mikrobielle Reduktion von Nitrat bzw. Nitrit zum molekularen Stickstoff definiert. Hierbei können als Intermediate Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid auftreten. Unter Einbeziehung von Acetat als Elektronendonator können folgende Reaktionsgleichungen (Gl. 22) nach Cervantes et al. (1998) aufgestellt werden:



Die oxidierten Stickstoffverbindungen werden als Elektronenakzeptoren benutzt.

Die heterotrophen, denitrifizierenden Bakterien folgen einem chemoorganotrophen Stoffwechsel. Unter einem chemoorganotrophen Stoffwechsel wird nach Schlegel (1992) der Energiegewinn aus Redoxreaktionen an organischen Verbindungen und die Benutzung von organischen Verbindungen als Wasserstoffdonatoren verstanden.

Aus ökologischer Sicht betrachtet, ist diese Stoffwechselleistung essentiell für Reinigungsprozesse, denn sie stellt den einzigen Weg dar, die N-Eutrophierung von Gewässern durch Reduktion bis zum molekularen Stickstoff zu verhindern. Diese Form des anaeroben Stoffwechsels ist nicht nur bei einer engen Gruppe von Mikroorganismen anzutreffen, sondern ist sehr heterogen über viele verschiedene Bakteriengattungen und -arten (Zumft 1992) und einige Hefen (Toritsuka et al. 1997) verteilt. Auf Grund dieser Diversität beruhen viele Methoden zur Bestimmung der Aktivität und Anzahl auf der Messung von Stoffwechselprodukten der Denitrifikanten (Alef 1991). Weiterhin könnten molekularbiologische Methoden, die Teile von Sequenzen der am Denitrifikationsprozeß beteiligten Enzyme nachweisen, Erfolg versprechen. Bei diesen Enzymen konzentriert man sich hauptsächlich auf die Nitritreduktase (Braker et al. 1998). Dieses Enzym kann für die Denitrifikation als Schlüsselenzym bezeichnet werden, denn es trennt die echten Denitrifikanten von den Nitratreduzieren (Ward et al. 1993 und Ward 1995). Die Nitratreduzierer können nur Nitrat zum Nitrit reduzieren.

Die an der Denitrifikation beteiligten Enzyme besitzen unterschiedliche

Inhibierungskoeffizienten gegenüber Sauerstoff, wobei sich beim Vergleich der Literatur kein klares Bild über die Hemmkonzentrationen ergibt. So wird die Nitratreduktase von *Azospirillum brasilense* ab einem Sauerstoffgehalt von 0,35 % reprimiert, bei *Pseudomonas denitrificans* tritt diese Repression ab einem Sauerstoffgehalt von 5 % ein (Knwoles 1982). Diese Repressionen scheinen ein Grund für das Auftreten der Intermediate im Startzustand bzw. bei Transienten zu sein. Es gibt mehrere Quellen, die vom Auftreten von Intermediaten berichten (Xu et al. 1996, Martienssen et al. 1997,

Voyenas et al. 1997). Der häufige Nachweis der Nitritanhäufungen ist sicher durch deren einfache Detektion im Vergleich zum NO bzw. N₂O zu begründen. Für N₂O beschrieben Denmead et al. (1979) Emissionsraten für feuchte Gebiete von 302 g N/(ha d), für Roggenfelder von ca. 900 g N/(ha d) (Rolston et al. 1976) und für Präriegrasflächen beschrieben Conrad et al. (1980) Emissionen von 10 g N/(ha d). Als Gründe für das gehäufte Auftreten der Intermediate können der pH-Wert, die Sauerstoffkonzentration und das Stickstoff-Kohlenstoffverhältnis angegeben werden. Weiterhin sind die Konzentrationen an Spurenelementen wie z.B. Metalle, die für die Enzymbildung essentiell sind, von entscheidender Bedeutung (Cervantes et al. 1998). Als Hauptsteuerparameter für die Denitrifikation gilt das C/N-Verhältnis. Her et al. (1995) testeten einige C-Quellen in Bezug auf die maximale Denitrifikation. Dabei fanden sie, daß unter Verwendung von Benzoat mit einem C/N-Verhältnis von 3,0 ... 3,6 g C/g N-NO₃⁻ und unter Verwendung von Acetat mit ein Verhältnis von über 1,9 g C/g N-NO₃⁻ eine annähernd komplette Denitrifikation (> 97 %) realisiert werden konnte. Weiterhin wurde beschrieben, daß die beiden Substrate bei ungünstigem C:N-Verhältnis zu Nitritanhäufungen von 21 % für Acetat und 6 % für Benzoat führten.

Smith et al. (1979) fanden einen positiven Effekt von Wurzeln auf die Denitrifikation in Systemen mit hohen Nitratkonzentrationen. Sie führten das auf die Freisetzung von organischen Komponenten zurück. Gale et al. (1993) untersuchten natürliche und künstliche Bodenfilter-systeme und stellten eine Denitrifikationsrate von 0,06 bis 0,92 g N/(m³ d) fest. Untersuchungen an technischen Systemen zeigten Umsatzraten von 200 g N/(m³ d) für suspendierte Biomasse (Nyberg et al. 1996); 3000 ... 6000 g N/(m³ d) für Fließbettreaktoren (Coopen et al. 1980, Semon et al. 1996) und 1100 g N/(m³ d) für submerse Filtersysteme (Smith et al. 1972). Untersuchungen von van Oostrom et al. (1994) an einem mit *Glyceria maxima* bewachsenen Bodenfilter zeigten mittlere flächenbezogene Umsatzleistungen für Abwässer aus der Nahrungsmittelindustrie von 3,0 g N/(m² d) für den Sommerbetrieb und 0,6 g N/(m² d) für den Winterbetrieb. Weiterhin

berichteten Gale et al. (1993) über eine Umsetzungsleistung von 0,06 ... 0,92 g N/(m² d). Da wie oben beschrieben, die zur Denitrifikation befähigten Mikroorganismen sich in phylogenetisch sehr unterschiedlichen Gruppen befinden, sind nur wenige verallgemeinernde Literaturdaten über die Kinetik von Reinkulturen verfügbar. Auf der anderen Seite können die beteiligten Mikroorganismen nicht über gruppenspezifische rRNA-Sonden (z.B. mit einem Sondensatz gegen alle Denitrifikanten) direkt bestimmt werden. Aus diesem Grund ist auch eine Übertragung der an Reinkulturen gewonnenen Daten auf reale Systeme nur schwer praktikabel. Den Weg der organismenbasierten Modellierung gingen Mahne et al. (1995), indem sie den Ertragskoeffizienten und N₂O-Emissionsraten für 14 denitrifizierende Bakterienstämme bestimmten. Weitere Versuche dieser Art der modellmäßigen Beschreibung wurde von Xu et al. (1996) publiziert. Als Modellorganismus diente *Pseudomonas stutzeri*. Die benutzten Modelle gleichen denen der Nitrifikation (Kap. 2.2) also den klassischen Monod-Modellen, für die die Konstanten in Tab. 2.4 zusammengestellt sind.

Tab. 2.4: Konstanten (K_s – Sättigungskoeffizient, r_{\max} – maximale Reaktionsgeschwindigkeit) der Monod-Modelle für *Pseudomonas stutzeri*

	K_s [mM]	r_{\max} [mM g ⁻¹ h ⁻¹]
Nitrat	6,5	0,3
Nitrit	3	0,17

Einen weiteren Ansatz beschrieben Wang et al. (1995). Sie benutzten als Modellorganismus *Pseudomonas denitrificans* und erreichten in den Simulationsrechnungen sehr gute Übereinstimmungen mit den Experimenten.

2.4 Mechanismus und Einflußfaktoren der anoxischen Ammoniumoxidation

Broda (1977) beschrieb, daß sowohl aus thermodynamischer als auch aus evolutionärer Sicht eine Gruppe Mikroorganismen existieren müßte, die Ammonium zum Stickstoff unter Nutzung von Nitrit oder Nitrat oxidieren können (siehe Gleichung 23).



Das Nitrit hierfür kann sowohl aus der Nitrifikation als auch aus der Denitrifikation stammen. In der Veröffentlichung von van de Graaf et al. (1990) konnte die Bildung von N_2 gezeigt werden, dessen Entstehungsmechanismus der Gleichung (23) entspricht. Dieser Nachweis wurde mit Hilfe von ^{15}N angereichertem Ammonium durchgeführt. Durch die Zugabe von ^{15}N -angereichertem Ammonium wurde $^{29}N_2$ von entsprechender Häufigkeit nachgewiesen. Diese Stoffwechselleistung wurden an einem denitrifizierenden Bioreaktor nach einer Adaptationszeit von ca. 450 Tagen beobachtet (Mulder et al. 1995). Zur Aufklärung des Reaktionsmechanismus wurden weiterführende Untersuchungen durchgeführt. Daraus folgend schlugen van de Graaf et al. (1997) das in der Abb. (3) dargestellte Reaktionsschema vor.

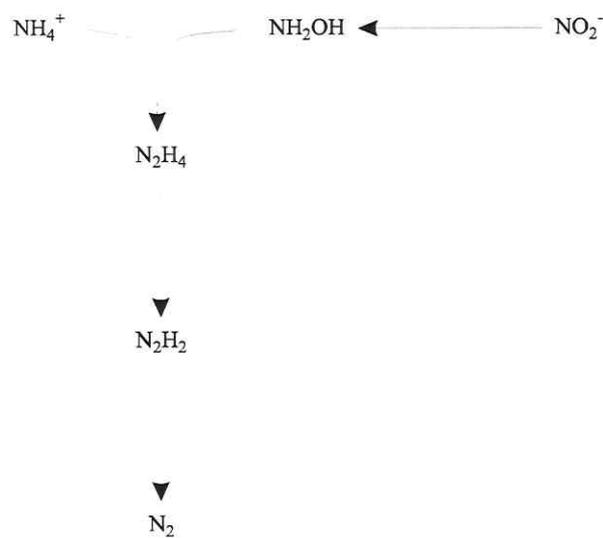


Abbildung 3 Chemismus der anoxischen Ammoniumoxidation (vorgeschlagen von van de Graaf et al. 1997)

Über die an dem Prozeß beteiligten Mikroorganismen konnten bisher keine genaueren Angaben gemacht werden. Auffällig war aber die permanent hohe Zellzahl von Nitrifizierern (10^3 – 10^4 Zellen/(mg TS)) in dem anaeroben System im Vergleich zur Gesamtzellzahl von $9 \cdot 10^9$ Zellen/(mg TS). Van de Graaf et al. (1996) zeigten, daß es in Submersreaktoren nur zur

N_2 -Bildung kommt, wenn die Verdünnungsrate unter $0,01\text{ h}^{-1}$ und Biomasse an der Reaktorwand immobilisiert ist. Dies deutet auf eine sehr kleine Wachstumsrate für Kulturen mit anoxischer Ammoniumoxidation hin.

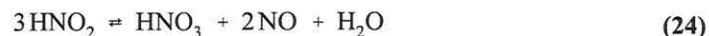
In dem von Mulder et al. (1995) beschriebenen Fließbettreaktor wurde eine Umsatzleistung von $0,4\text{ kg N}/(\text{m}^3\text{ d})$ erreicht. Durch eine gezielte Anreicherung im synthetischen Medium konnte die Umsatzrate auf $2,4\text{ kg NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^3\text{ d})$ gesteigert werden. Für die Anreicherung von anaeroben autotrophen ammoniumoxidierenden Mikroorganismen haben van de Graaf et al. (1996) ein synthetisches Medium vorgeschlagen. Sie untersuchten die dann gewonnenen Mikroorganismen und fanden eine anoxische Ammoniumoxidationsrate von $1,0\text{...}1,1\text{ }\mu\text{mol NH}_4^+ /(\text{h mg VS})$. Weiterhin wurde durch die Aufnahme von $^{14}\text{CO}_2$ in die Biomasse bewiesen, daß die angereicherten Bakterien autotroph sind. Dabei wurden pro mol NH_4^+ $0,041\text{ mol CO}_2$ umgesetzt.

2.5 Stickstoffumsetzung durch die Chemodenitrifikation

Clark (1962) bezeichnete den Prozeß des Zerfalls von Nitrit als Chemodenitrifikation. Unter der Chemodenitrifikation wird die nichtenzymatisch bedingte Nitritzerersetzung verstanden.

Dieser Prozeß wurde u.a. von Bremner (1968) und Nelson et al. (1970) untersucht. Die Chemodenitrifikation besitzt eine Relevanz für die Betrachtung von natürlichen als auch technischen Systemen, da hier z.B. nach Systemstörungen oder bei der Änderung von Zustandsgrößen eine Erhöhung der Nitritkonzentration auftreten kann (Martienssen et al. 1997, Voyenas et al. 1997).

Als Reaktionsgleichung wurde dort



angenommen. Untersuchungen von Nelson et al. (1970) zeigten, daß Nitrat hierbei nur in geschlossenen Systemen nachweisbar war. Aus dieser Tatsache läßt sich schlußfolgern, daß das Nitrat kein direktes Umsetzungsprodukt der Zersetzung war, sondern als Produkt der Reaktionsprodukte entstand. Aus diesem Grund wurde von Nelson et al. (1970) folgende Reaktionsgleichung vorgeschlagen:



Durch die Stabilität der Moleküle der salpetrigen Säure bedingt, sind nur die dissoziierten Moleküle an der Umsetzung beteiligt. Dadurch wird eine starke Abhängigkeit dieses Prozesses vom pH-Wert deutlich.

Als weiterer Einflußfaktor trat der organische Kohlenstoff auf. Die bisherigen Veröffentlichungen betrachteten die Chemodenitrifikation in landwirtschaftlichen Böden bzw. Modellsystemen mit organischen Kohlenstoffgehalten von ca. 0,1 ... 9,2 % (Nelson et al. 1970). In bewachsenen Bodenfiltern, die zur Reinigung von Abwässern benutzt werden, ist mit organischen Kohlenstoffgehalten zu rechnen, die dem unteren Bereich der untersuchten Böden entsprechen. Dies ergibt sich zum einen aus dem sich im System aufbauenden Biofilm – hierzu geben Christensen et al. (1989) eine Biomassedichte von 0,01–0,13 g TS/cm³ an – und zum anderen aus einer maximalen Beschickung von 6...8 g/(m² d) (Platzer 1998).

Die eingebrachten wie auch die im Bodenkörper vorhandenen organischen Verbindungen können einerseits zum Fixieren, d.h. Einbau des gebildeten Nitrits (Stevenson et al. 1970, Austin 1961) und andererseits als katalytisches Zentrum zur Freisetzung von Stickoxiden führen (Porter 1969, Nelson 1967, Austin 1961). Als weitere Einflußgröße führte Wullstein (1967) Metallionen an, die ebenfalls katalytisch wirken.

Bremner (1957) zeigte N₂- und N₂O-Emissionen beim Kontakt von Nitritlösungen mit Aminoverbindungen sowie mit Huminsäuren und Lignin im sauren Medium. Der hier zu Grunde liegende Mechanismus wird als van Slyke Reaktion bezeichnet (Beryer et al. 1991). Es wurde ebenfalls eine Fixierung vom Stickstoff an diese Komponenten aufgezeigt. Smith et al. (1960), Clark et al. (1960) und Smith et al. (1980) zeigten, daß eine hohe Korrelation zwischen dem Gehalt an Organika und der N-Fixierung bzw. den Verlusten erhalten wurde. Diese Korrelation stützte sich auf die Tatsache, daß eine Erhöhung des C-Gehaltes eine Erhöhung des gebundenen Stickstoffes und der Emissionen nach sich zog. In Böden mit einem pH-Wert zwischen 5 und 7 steigt die Menge des fixierten Stickstoffs und der N-Emissionen mit dem Gehalt an organischem Kohlenstoff bei konstantem pH-Wert. Aber in Böden mit einem pH-Wert unter 5 steigt einerseits die Menge des gebundenen Stickstoffs und vermindert sich auf der anderen Seite die Menge an N-Emissionen mit steigendem C-Gehalt (Nelson et al. 1969). Bremner (1968) konnte zeigen, daß phenolische OH-Gruppen maßgeblich an der N-Bindung und N-Emission beteiligt sind. Der Chemismus der hierbei unter Bodenbedingungen abläuft, ist auch heute noch ungeklärt.

3 Ziel der Arbeit und Aufgabenstellung

Die vorliegende Arbeit soll ausgehend vom Stand des Wissens Erkenntnisse über die in PKA ablaufenden N-Umsetzungen und N-Stoffflüsse liefern. Die Notwendigkeit für diese ins Innere der bewachsenen Bodenkörper blickenden Untersuchungen liegt in der Tatsache begründet, daß der Anteil der einzelnen stickstoffumsetzenden Prozesse (siehe Kapitel 2) am Gesamtprozeß der N-Umsetzung und die Interaktion der Einzelprozesse noch nicht verstanden werden. Aus diesem Grund erfolgte die Auslegung der bisher installierten Pflanzenkläranlagen unter der Verwendung von black box Modellen, die an Modellanlagen unter Bilanzierung der Ein- und Ausgangsströme und Frachten gewonnen wurden. Diesen Modellen liegt die nicht bewiesene Annahme zu Grunde, daß die Nitrifikation und die Denitrifikation die alleinigen N-Umsetzungen in PKA sind. Diese Annahme gilt es besonders unter dem Aspekt der N-Elimination in Problemabwässern wie z.B. Kohlepyrolyseabwässer zu hinterfragen. Informationen zur Klärung der Relevanz der einzelnen N-Umsetzungen sollen in der vorliegenden Arbeit erbracht werden. Bedingt durch die hohe Komplexität technischer PKA werden die Untersuchungen hierzu an abstrahierten Laborsystemen durchgeführt. Die Abstraktion ist notwendig, um die einzelnen Stickstoffumsetzungsprozesse erfassen zu können und ergibt sich im wesentlichen daraus, daß der Sauerstoff nur über die Pflanzen eingetragen wird und das Systemalter – in den Versuchen im Modellreaktor vergleichbar mit der Versuchsdauer – im Vergleich mit technischen PKA gering ist. Eine Folge dieser Laboruntersuchungen ist aber auch, daß die Ergebnisse nicht unmittelbar für die Dimensionierung von technischen PKA benutzt werden können, was aber auch nicht primäres Ziel dieser Promotion ist. Vielmehr soll die vorliegende Arbeit die N-Hauptumsetzungsprozesse in PKA identifizieren und so den folgenden Arbeiten Hinweise für die Versuchsgestaltung zur Gewinnung von Auslegungsdaten liefern.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit neben der Ergründung der Relevanz der einzelnen N-Umsetzungsprozesse ist die Ermittlung kinetischer Kenngrößen für die einzelnen N-umsetzenden Prozesse im Modellsystem für PKA. Die hierzu notwendigen Versuche werden an den Anwendungsfall der Ammoniumentfernung mittels einer Pflanzenkläranlage aus einem Kohlepyrolyseabwasserrestsee bei Trebnitz angelehnt (Wießner et al. 1999).

Im folgenden werden ausgehend vom Stand des Wissens über die einzelnen N-umsetzenden Prozesse die Darstellung der in dieser Dissertation zu bearbeitenden Teilgebiete erläutert.

Im letzten Kapitel wurden für mögliche N-Umsetzungen die Literatur analysiert, dabei zeigte

sich, daß der Chemismus der autotrophen Nitrifikation und der heterotrophen Denitrifikation klar beschreibbar ist. Weiterhin wurden kinetische Modellansätze für die isoliert ablaufenden Umsetzungen, sowohl in Reinkultur als auch in Mischpopulationen, dargestellt. Die ebenfalls beschriebene Diversität der beteiligten Bakterien macht eine verallgemeinerbare Darstellung der an Reinkulturen gewonnenen kinetischen Kenngrößen für die Bakteriozönose unmöglich, denn es ist davon auszugehen, daß die einzelnen Bakterienspezies einen unterschiedlichen Beitrag zur Gesamtumsetzung der Bakteriozönose liefern. Als weitere wesentliche Einflußgröße auf die N-Umsetzungen wurden der Sauerstoffgehalt, das Redoxpotential, der pH-Wert, die Temperatur, die Konzentration an Ammonium und Nitrit sowie die Konzentration an C-Quellen dargestellt. Unklar bleibt aber die Interaktion der Nitrifikation als aerobe Umsetzung und der Denitrifikation als anoxische Umsetzung in Systemen ohne räumliche Trennung. Im weiteren werden Untersuchungen zur Kinetik der Nitrifikation und Denitrifikation in einem Wurzelraumreaktor durchgeführt, dessen Sauerstoffversorgung allein durch die Helophyten geschieht. Aus diesen Untersuchungen können dann Aussagen zur Rolle der Pflanze bei der N-Umsetzung in PKA abgeleitet werden.

Aus der Literaturübersicht wird weiterhin deutlich, daß als weiterer relevanter Prozeß die Chemodenitrifikation angesehen werden kann. Als Chemodenitrifikation wird der Prozeß des spontanen Nitritzerfalls unter bestimmten Milieubedingen definiert. Nitrit tritt als Intermediat bei vielen N-Umsetzungen auf. Zu dem weiteren die Chemodenitrifikation begünstigenden Umstand zählt die Existenz von Organika im bewachsenen Bodenfilter und im Abwasser. Durch die Exsudation von organischen Säuren in den wurzelnahen Bereich kommt es zu einer pH-Verschiebung und damit kann bei der Existenz von Nitrit in diesem Bereich von einer Chemodenitrifikation ausgegangen werden. Die zum überwiegenden Teil aus der Bodenkunde stammende Literatur zeigt die Abhängigkeit der Chemodenitrifikation vom pH-Wert und von den Konzentrationen an Metallionen und Organika auf. In den zu diesem Komplex durchzuführenden Versuchen sollen Modelle zur Beschreibung der Kinetik und des Chemismus Chemodenitrifikation erarbeitet werden. Die Randbedingungen für diese Untersuchungen werden durch die Milieubedingungen der Kohlepyrolyseabwasserdeponie definiert. Aus den so erarbeiteten kinetischen Beschreibungen werden dann Aussagen zur Relevanz der Chemodenitrifikation in PKA abgeleitet.

Ein weiterer in der Literatur beschriebener Prozeß ist die anoxische Ammoniumoxidation. Diese N-Umsetzung stellt einen Prozeß von großem technischen Interesse dar, denn diese Umsetzung

benötigt keine C-Reduktionsäquivalente und setzt äquimolare Mengen an Ammonium und Nitrit um. Der entscheidende Nachteil ist die beschriebene sehr lange Adaptationszeit bis zur Ausprägung dieser Umsetzung. Die Pflanzenkläranlagen könnten durch deren Immobilisationsfläche und die vielfältigen Milieubedingungen als ein „natürlicher“ Ort dieser Umsetzung angesehen werden. In dieser Arbeit soll versucht werden, diese N-Umsetzung in verschiedenen Habitaten nachzuweisen. Diese Untersuchungen sollen zum einen eine Methode entwickeln, um die anoxische Ammoniumoxidation nachzuweisen und zum anderen um deren Relevanz in PKA zu bestimmen.

Ausgehend von diesen Literaturkenntnissen werden in dieser Arbeit die N-Stoffflüsse und N-Umsetzungen in Pflanzenkläranlagen untersucht. Zur Erfassung der einzelnen möglichen Reaktionen erfolgt die Zerlegung des Gesamtprozesses der Stickstoffumsetzung in Teilprozesse. Zu diesem Zweck soll ein Versuchsaufbau entwickelt und realisiert werden, der die Zerlegung der Gesamtstickstoffumsetzung in Teilprozesse experimentell ermöglicht. Die hieran gewonnenen Versuchsdaten werden interpretiert und aus deren modellmäßiger Beschreibung werden Erkenntnisse über die Interaktion der einzelnen Teilprozesse gewonnen. In diese Untersuchungen werden die Nitrifikation, die Denitrifikation, die Chemodenitrifikation und die anoxische Ammoniumoxidation einbezogen. Für die einzelnen als relevant eingeschätzten Stickstoffumsetzungen sollen durch Experimente begründete reaktionskinetische Modelle aufgestellt werden. Zur Lösung dieser Aufgabe werden Methoden und Modellansätze benutzt, die aus den Forschungsgebieten der Siedlungswasserwirtschaft, ökologischen Mikrobiologie und Theorie der komplexen Systeme stammen.

In folgender Aufzählung werden die einzelnen Untersuchungsphasen zusammenfassend dargestellt, wobei nochmals betont werden soll, daß die vorliegende Arbeit nicht der Erstellung von Auslegungsunterlagen für Pflanzenkläranlagen dient, sondern einen Einblick in die inneren N-Flüsse und N-Umsetzungen geben soll. Zu diesem Zweck wurden folgende Schwerpunkte gesetzt:

- ① Im ersten Schwerpunkt erfolgt die Konstruktion und Testung eines Wurzelraumreaktors mit der notwendigen Meßtechnik und Peripherie (Abs.4.2, Abs. 5.1.1). Dieser Wurzelraumreaktor stellt einen Teil eines bewachsenen Bodenkörpers dar und ist experimentell handhabbar. Diese Handhabbarkeit ergibt sich aus dem geringen Volumen und der Möglichkeit der on-line Messung von Komponenten in der Gas- und

Wasserphase.

- ② In einem Versuchskomplex zur Nitrifikation und Denitrifikation (siehe Abs. 5.1.2) unter und ohne Pflanzeneinfluß werden Umsetzungskinetiken aufgenommen. Diese Versuche werden in dem Wurzelraumreaktor (Punkt 1) durchgeführt. Die Versuche sind so gestaltet, daß als Einflußfaktoren die mikrobielle Biozönose, Pflanzen und die Wasserinhaltsstoffe auftreten.
- ③ In diesem Teilgebiet wird die Relevanz der Chemodenitrifikation (siehe Abs. 5.4) in bewachsenen Bodenfiltern untersucht. Dazu werden Versuche unter Einbeziehung von verschiedenen Huminstoffkonzentrationen, pH-Werten und Nitritkonzentrationen durchgeführt und ausgewertet.
- ④ In unterschiedlichen Habitaten und den daraus gewonnen Anreicherungskulturen soll versucht werden, die technologisch interessante Stoffwechsellistung der anoxischen Ammoniumoxidation (siehe Abs. 5.3) nachzuweisen.
- ⑤ In einem weiteren Abschnitt erfolgt die Überprüfung des ermittelten Systemverhaltens mit publizierten Modellen zur Beschreibung der Konzentrations-Zeitverläufe (siehe Abs. 5.5). Diese Modelle wurden unter Verwendung der in den unterschiedlichen Versuchen benutzten Ausgangskonzentrationen und Anlagenparametern (wie pH-Werte, Redoxbedingungen und Biomassen) zur Überprüfung herangezogen. Die hierzu benutzten Modelle und Kenngrößen sollen der Literatur entnommen werden. Die so berechneten Verläufe werden mit den experimentell bestimmten Verläufen verglichen. Auf diese Weise soll versucht werden, Kriterien für die Unterscheidung und Beeinflussung der experimentell nicht trennbaren Prozesse zu finden.

Aus diesem Kapitel kann die Arbeitsthese für die vorliegende Arbeit abgeleitet werden, die beinhaltet, daß die Nitrifikation und die Denitrifikation die Hauptumsatzreaktionen für anorganische N-Komponenten in Pflanzenkläranlagen sind. Sollte sich diese These in dieser Arbeit nicht bestätigen, so sind die realen Hauptprozesse zu identifizieren. Weiterhin soll eine Abschätzung der NO_x -Emissionen vorgenommen werden.

4 Material und Methoden

4.1 Verwendete Chemikalien und benutztes Pflanzenmaterial

Die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien stammten, wenn nicht anders beschrieben, von der Firma Merck KGaA und wurden mit dem Reinheitsgrad zur Analyse bezogen. Es wurden Gase der Firma Linde eingesetzt.

Das in dieser Arbeit benutzte Pflanzenmaterial wurde von einer Wasserpflanzengärtnerei bezogen und nach dem Erhalt vereinzelt. Die weitere Anzucht geschah in Hydroponikkultur unter Gewächshausbedingungen. Die für die Versuche benutzten Pflanzen *Schoenoplectus lacustris* hatten ein durchschnittliches Lebendgewicht von 25 g und eine durchschnittliche Höhe des oberirdischen Teils von 50 cm.

4.2 Aufbau eines Wurzelraumreaktors

Für die Untersuchungen des abstrahierten Gesamtsystems eines bewachsenen Bodenfilters wurde ein Wurzelraumreaktorsystem errichtet, das aus zwei baugleichen mit Kies gefüllten Reaktoren bestand. Einer dieser Reaktoren wurde mit Helophyten bepflanzt, der andere diente als Vergleichsreaktor und blieb unbepflanzt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Meßstrategie entwickelt und die daraus folgende Meßtechnik um die Reaktoren installiert. Diese Meßtechnik erlaubte die Beprobung des Reaktors auf drei Ebenen, wobei kontinuierlich der Gelöstsauerstoff, der pH-Wert und das Redoxpotential in der Flüssigphase bestimmt wurden. Diese Werte wurden rechentechnisch gespeichert und visualisiert. Das Prinzipschema der Versuchsanlage ist in Abb. (4) dargestellt. Die Reaktoren besaß eine Oberfläche von 0,053 m² und beinhaltete ein Flüssigvolumen von ca. 20 L.

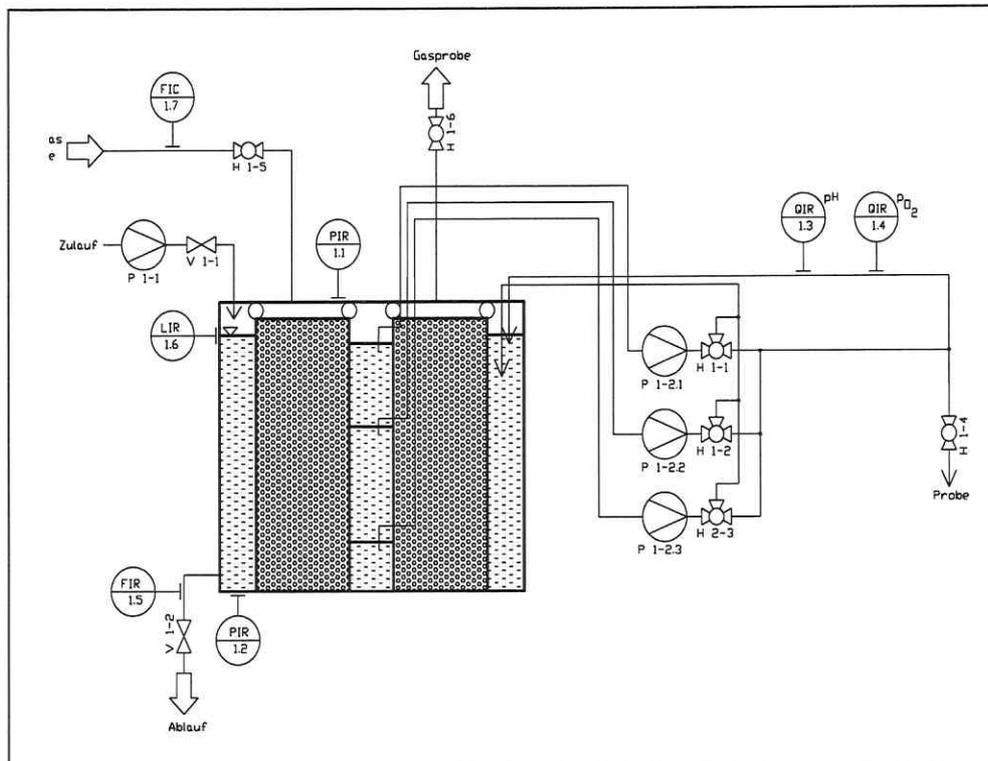


Abbildung 4 Schema der Versuchsanlage mit Angabe der Meßstellen

Die in diesem Schema benutzten Symbole der Meßtechnik bedeuten: PIR – Drucksensor, FIC – Flußregler, P – Pumpe, H – Absperrhahn, QIR–pH – pH Sensor, QIR–Rh – Redoxsensor, QIR–pO₂ – Gelöstsauerstoffsensor

Die beiden Reaktoren wurden jeweils mit 9,2 L Quarzkies ($d_p = 6 \dots 8$ mm) befüllt. Dieser Kies hat eine Masse von 13,15 kg und eine experimentell bestimmte Porosität von 0,24.

$$\varepsilon = \frac{V_{\text{Poren}}}{V_{\text{gesamt}}} \quad (26)$$

ε	Porosität
V_{Poren}	Porenvolumen in [L]
V_{gesamt}	Gesamtvolumen in [L]

Für den Quarzkies wurden folgende charakteristische Parameter bestimmt:

Porosität (ε) = 0,2378	Korngrößen (d_p) = 6 ... 8 mm
Dichte (ρ) = 1,4298 kg/L	Volumenbezogene Oberfläche (V_{AO}) = 599,48 m ² /kg.

Die Eignung des benutzten Quarzkieses als Füllmaterial wurde in Vorversuchen getestet. Bei den Adsorptionsuntersuchungen wurde keine Adsorption für Nitrit und Nitrat festgestellt. Für Ammonium hingegen wurde eine Adsorption ermittelt (siehe Abb. 5, Gl. 27).

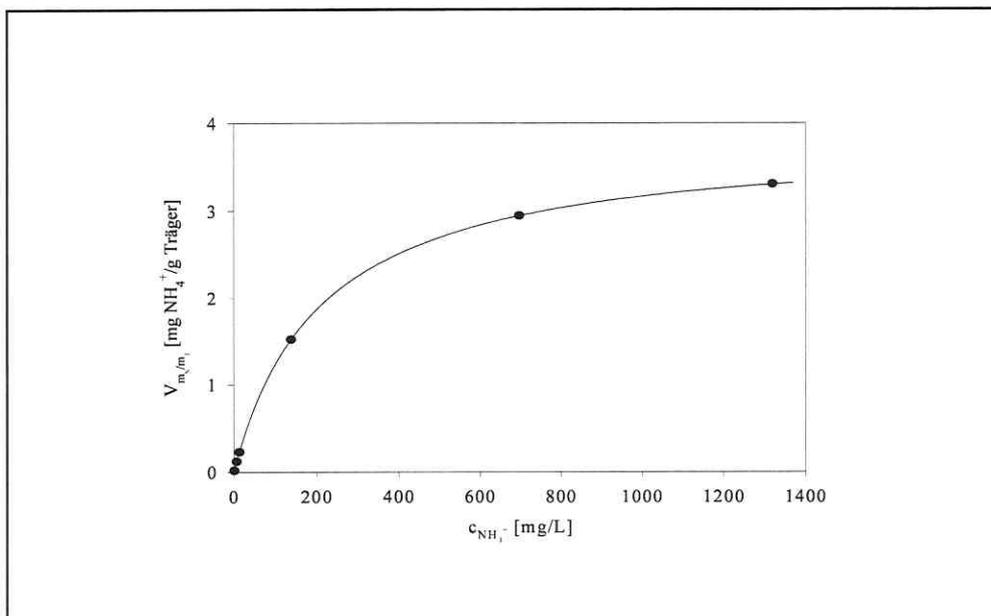


Abbildung 5 Adsorption des Ammoniums an Kies und Anpassung der Langmuir–Isothermen an die bestimmten Belegungen.

Diese hier dargestellte Adsorptionskinetik läßt sich mit der Langmuir–Adsorptionsisothermen Gl. (27) beschreiben.

$$x = x_{\max} \frac{c_{\text{NH}_4^+}}{c_{\text{NH}_4^+} + K} \quad (27)$$

Maximale Beladung des Trägers $x_{\max} = 3,832 \text{ mg NH}_4^+ / \text{g Träger}$

Gleichgewichtskonstante $K = 209,8 \text{ mg/L}$

$\theta = 20 \text{ }^\circ\text{C}$

$r^2 = 0,9216$

Die Adsorption des Ammoniums konnte durch die geringen Effekte und unter den gegebenen Versuchsbedingungen vernachlässigt werden.

Bedingt durch die passive Experimentmethodik wurde besonderes Augenmerk auf ein on-line

gekoppeltes Meßsystem gelegt. Hierfür wurde zum einen im Flüssigkeitskreislaufstrom das Redoxpotential, der pH-Wert und der Gelöstsauerstoff erfaßt. Weiterhin erfolgte eine on-line Be-
probung der Flüssigphase und die gaschromatographische Analyse (siehe Abs. 4.5.1) der Gas-
zusammensetzung im Kopfraum des Reaktor. Hierzu wurde der Kopfraum kontinuierlich mit 5
mL/min Helium durchströmt und der Gasstrom im Stundentakt analysiert. Im selben Zeittakt
erfolgte die Analyse des Flüssigkeitskreislaufs auf Ammonium-, Nitrit- und Nitratgehalte. Diese
Analysen erfolgten mit drei kommerziellen FIA-Systemen (Ammonium STAMOLYS
7720-Amo, Nitrit STAMOLYS 7745-Niti, Nitrat STAMOLYS 7740-Nit der Firma Dr. Staiger
Mohilo).

Die Daten der Sensoren, wie auch alle anderen Meßgeräte wurden mittels einer
AD-Wandlerkarte bzw. über RS 232-Schnittstellen erfaßt und in einem Rechner gespeichert
bzw. verarbeitet. Die Erfassung der Daten und die Steuerung von Ereignissen erfolgte mit einem
speziell im Rahmen dieser Arbeit unter Windows NT 4.0 in der Programmiersprache C
(LabWindows CVI) geschriebenen Programms.

4.3 Medium für die Versuche im Wurzelraumreaktor

Für die Versuche im Wurzelraumreaktor wurde ein Modellabwasser benutzt, dessen Zusammen-
setzung im folgenden aufgeführt ist:

KHCO_3	500 mg/L
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	20 mg/L
KH_2PO_4	30 mg/L
MgSO_4	200 mg/L
Fe-EDTA	1 mL/L (siehe Abs. 4.6.1)
Spurensalzlösung	1 mL/L (siehe Abs. 4.6.1)

Je nach einzustellendem C-Gehalt wurde Natriumbenzoat und Natriumacetat im gleichen
molaren Verhältnis zugegeben. Die N-Gehalte wurden durch Zugabe von definierten Mengen
an Ammoniumsulfat und Natriumnitrat eingestellt.

4.4 Beschreibung des Inoculum für den Wurzelraumreaktor

Für die Versuche, die in den unter Punkt 4.2 beschriebenen Reaktoren durchgeführt wurden, wurde zur Verkürzung der lag-Phase und Erzielung vergleichbarer Anfangsbedingungen eine künstliche Mischpopulation verwendet. Diese Starterkultur stammt aus einem 2 L Fermenter, in dem Versuche zur Nitrifikation und Denitrifikation von Industrieabwässern durchgeführt wurden. Dieser Reaktor wurde mit Tiefenwässern aus der Braunkohle-Schwelwasserdeponie in Trebnitz Sachsen-Anhalt befüllt (Martius et al. 1996).

Von Sich (1997) wurde die Fähigkeit der Mischkultur zur Nitrifikation und Denitrifikation näher charakterisiert. Die Mischkultur war in der Lage sowohl Ammonium zu nitrifizieren als auch das gebildete Nitrit bzw. Nitrat unter Sauerstofflimitation zu denitrifizieren. Zur Analyse dieser Biozönose wurde eine Probe des Reaktorinhaltes entnommen, auf R2A-Agar ausplattiert und bis zur Reinkultur gezogen. Die so gewonnenen Reinkulturen wurden mittels des Nachweises ausgewählter Stoffwechselfähigkeiten beschrieben.

Mit folgenden Fertigtests der Firma Merck erfolgte eine Grobcharakterisierung der auf R2A Agar angezogenen Kulturen:

- Aminopeptidase
- Oxidase
- Katalase

Zur Testung der Fähigkeit der Reinkulturen auf Ausbildung von Ureaseaktivität wurde jede Kultur auf harnstoffhaltigem Medium (nach Christensen 1946) bei 20 °C angezogen.

Der Harnstoffagar nach Christensen (1946) hatte folgende Zusammensetzung:

Pepton	1 g
Glukose	1 g
NaCl	5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
Phenolrot	12 mg
Agar	12 g

Diese Ingredienzien werden in 900 mL dest. Wasser aufgelöst und 15 Minuten bei 121 °C

autoklaviert. Nach dem Abkühlen auf 55 °C werden diesem Medium 100 mL einer sterilfiltrierten 200g/L Harnstofflösung zugegeben. Bakterien mit Urease-Aktivität hydrolysieren Harnstoff zu Ammoniak und Kohlendioxid. Das Medium wird durch das Ammoniak basisch und der Nachweis erfolgt mittels pH-Indikator.

Der Nachweis der Denitrifikation erfolgte in der gleichen Weise wie die MPN-Tests für Denitrifikanten (siehe Abs. 4.6.2).

Die Testung der Fähigkeit der Reinkulturen zur N-Fixierung erfolgte über einen Wachstumstest auf Festmedium nach zweimaligem Übertragen der Kulturen auf neues GNF-Medium. Der Test wurde als positiv gewertet, wenn nach der letzten Übertragung die Kultur noch auf dem GNF-Medium wuchs.

Das GNF-Medium für N-Fixierer setzte sich folgendermaßen zusammen (Atlas 1993):

CaCO ₃	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ * 7 H ₂ O	0,2 g
NaCl	0,2 g
FeSO ₄ * 7 H ₂ O	0,1 g
Na ₂ MoO ₄ * 2 H ₂ O	5 mg
Agar	15 g

Die Komponenten werden in 900 mL dest. Wasser aufgelöst und 15 Minuten bei 121 °C autoklaviert. Nach dem Erkalten auf 45–50 °C erfolgt die Zugabe einer zuvor sterilfiltrierten Glukose-Fruktose-Lösung mit folgender Zusammensetzung:

Glukose	5 g
Fruktose	5 g
auf 100 mL dest. Wasser	

Die Fettsäureanalytik erfolgte nach der Standardmethode nach Findlay et al. (1993), dazu wurden die Reinkultur auf TSBA (tryptisches Sojamedium) angezogen und die Zellwandbestandteile extrahiert. Die Identifikation der Fettsäuren erfolgte nach Derivatisierung und gaschromatographischer Trennung anhand der Massenspektren. Im Anschluß der Analyse erfolgte die Zuordnung der Daten zu Bibliothekspektren (TSBA Rev. 3.90).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 4.1 zusammengestellt.

Tab. 4.1: Zusammenstellung der taxonomischen und einiger physiologischer Daten der künstlichen Mischpopulation als Inokulum für die Versuche im Wurzelraumreaktor

Stamm- nummer	Aminopeptidase	Oxidase	Katalase	Urease	N-Fixierung	Denitrifikation	Gattung/Art
KL2#1					n. d.	-	<i>Candida curvata</i>
KL2#2					n. d.	-	<i>Trichospora cutaneum</i>
KL2#3	-	+	+	-	+	+	
KL2#4	-	+	-	+	+	- ²	
KL2#5	-	+	+	-	+	+	
KL2#6	-	+	+	-	-	+	
KL2#7	+	+	+	+	+	+	<i>Agrobacterium</i>
KL2#8	-	+	+	-	+	+	
KL2#9	+	+	+	-	-	+	<i>Comamonas testosteroni</i>
KL2#10	+	+	+	-	-	+	<i>Comamonas acidovorans</i>
KL2#11	-	+	+	+	+	-	
KL2#12	-	+	-	-	+	-	<i>Paenibacillus</i>
KL2#13	+	-	+	+	-	-	<i>Hydrogenophaga pseudoflava</i>
KL2#14	-	+	+	+	+	+	
KL2#15	+	+	-	-	+	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
KL2#16	-	+	+	-	-	+	<i>Agrobacterium ?</i>
KL2#17	+	+	-	-	+	-	<i>Paenibacillus</i>
KL2#18	+	-	+	-	+	+	<i>Agrobacterium</i>
KL2#19	+	+	+	+	n.d.	-	

Die Daten der Fettsäureanalytik, die auch maßgeblich für die Bestimmung der Taxonomie der Kulturen in Tab. 4.1 herangezogen wurden, sind in einem Dendrogramm (siehe Abb. 6) zusammengestellt.

² Nitratreduzierer mit Endprodukt Nitrit.

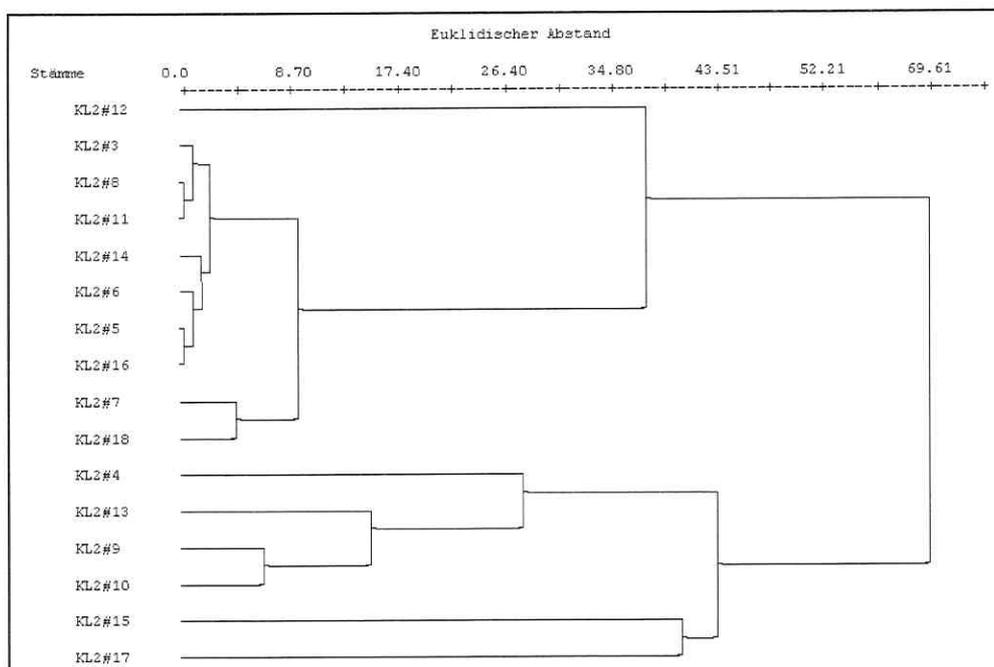


Abbildung 6 Dendrogramm der Fettsäureanalysedaten der isolierten Reinkulturen aus dem Inokulum für die Versuche im Wurzelraumreaktor

Der Abbildung 6 ist u.a. zu entnehmen, daß die Stämme KL2#3, KL2#8 und KL2#11 laut den Randbedingungen der Fettsäureanalytik als Isolate mit euklidischem Abstand unter 2,5 der gleichen Art angehören. In Tab. 4.1 zeigt der Stamm KL2#11 hingegen ein von den Stämmen KL2#3 und KL2#8 abweichendes Denitrifikationsverhalten. Ein ähnliches Verhalten zeigen auch die Stämme KL2#5 und KL2#6. Diese Stämme könnte man unter Verwendung der Daten der Fettsäureanalytik zu einem Stamm zusammenfassen, was aber bei der Betrachtung der weiteren Merkmale wie N-Fixierung nicht sinnvoll erscheint.

4.5 Methoden zur Untersuchung der Umsetzungen in Pflanzenkläranlagen

4.5.1 GC-System

Die Analyse des Gasmisches im Kopfraum der Reaktoren wurde mit einem on-line gekoppelten GC (Firma Varian 3600CX) durchgeführt. Die Trennung des N_2O erfolgte in einer gepackten 2 m Porapak Q Säule (ID 2 mm) und die Detektion mit einem ECD bei folgenden

Bedingungen:

Trägergas:	Argon/Methan 90:10
Säulenfluß:	25 mL/min
Makeupgas:	Helium mit 15 mL/min
Detektortemperatur:	380 °C isotherm

Die Trennung der Luftbestandteile erfolgte im selben GC auf einer separaten Säulenschaltung. Die Gase wurden zuerst auf einer gepackten Hayesep D Säule (ID 2 mm; Länge 4 m) getrennt. Da auf dieser Säule keine Trennung von N₂ und O₂ möglich war, erfolgte diese Trennung auf einer 2 m Molsiebsäule (ID 2 mm; 80/100 Å). Zur Detektion dieser Gase wurde ein unter folgenden Bedingungen betriebener WLD benutzt:

Trägergas:	Helium
Vergleichsgas:	Helium
Säulenfluß:	12 mL/min
Detektortemperatur:	100 °C

Die Säulenschaltung mit der Anbindung der Wurzelraumreaktoren ist in Abbildung (7) dargestellt. Mit dem Stromselektorventil erfolgte die Anbindung der Wurzelraumreaktoren an den GC. Der Probegasstrom wurde über ein 10 port–Multipositionsventil auf die Probeschleifen verteilt. Der Schleifeninhalt (2 mL für die N₂O–Bestimmung und 1 mL für die Luftanalytik) wurde nach einer entsprechenden Spülzeit auf die Säulen geleitet. Das 6 port–Multipositionsventil schaltete den Gasstrom für die Säulenschaltung. Der gesamte Gasstrom ging nach dem Start der Analyse bis zu einer Analysezeit von 4,2 Minuten über beide Säulen, dann wurde die Molsiebsäule zur Ausblendung des Kohlendioxids aus dem Gasstrom geschaltet und nach 10 Minuten wieder eingeschaltet.

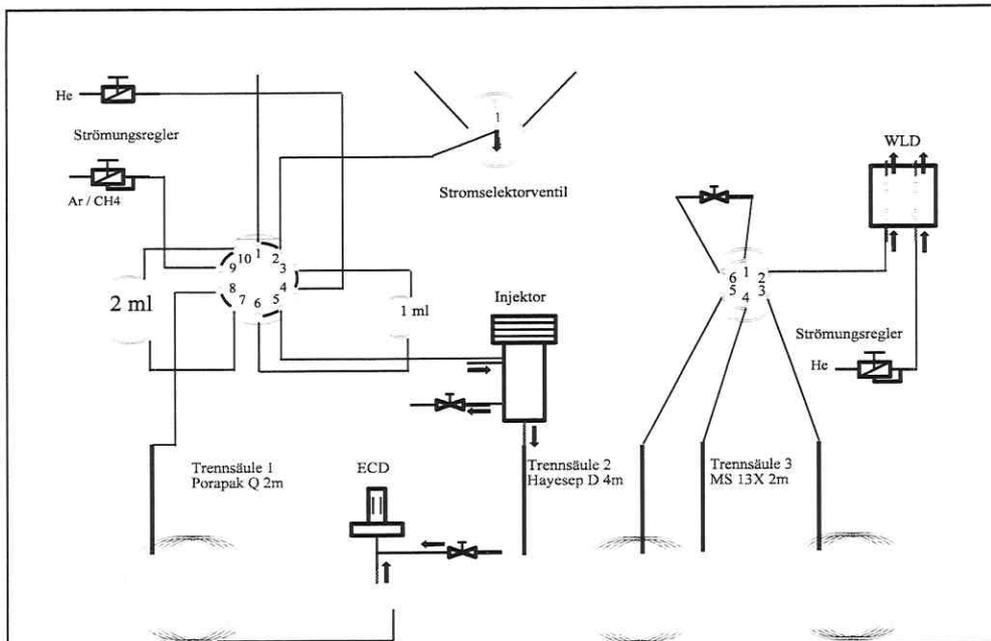


Abbildung 7 Gasflußplan des on-line gekoppelten GC mit Stromselektorventil zur Ankopplung der Reaktoren

Der GC wurde mit einem Temperaturprogramm betrieben, wobei in der Startphase eine Temperatur von 50 °C 8 min gehalten und dann mit 10 K/min auf 120 °C aufgeheizt wurde. Diese Temperatur wurde 48 min gehalten, um im Stundentakt eine neue Analyse zu beginnen. In der Tabelle 4.2 sind die chromatographischen Parameter zusammengestellt.

Tab. 4.2: Zusammenstellung der Nachweisgrenzen und Retentionszeiten für die routinemäßig im GC analysierten Gaskomponenten

	Nachweisgrenze c_{Analyt}	Retentionszeit t_{R} [min]
O ₂	0,0047 Vol. %	3,45
CO ₂	0,0035 Vol. %	6,23
N ₂	0,0039 Vol. %	10,54
CH ₄	0,0041 Vol. %	12,60
N ₂ O	0,000227 ppm	3,04

Die Berechnungen erfolgten direkt aus der Kalibriergeraden unter der Annahme, daß keine weiteren Trenn- und Anreicherungs-schritte vor dem chromatographischen System stattfanden. Als kleinste Fläche wurden 100 Einheiten angenommen, was einem Peak von mehr als dem dreifachen Signal/Rauschverhältnis entsprach.

Die Bestimmung der ¹⁵N-Häufigkeit und der Konzentrationen der N-Gase erfolgte mit einem GC mit gleicher Säulenschaltung wie oben beschrieben und einem Quadrupolmassenspektrometer QP 2000 (Fa. Shimadzu) mit vorgeschalteter Kryofokussierung (Sich 1997). Zur Probesammlung und deren Transport wurden Gasprobenahmebeutel benutzt. Die Bestimmung der Konzentration an NO in diesen Versuchen erfolgte unter Verwendung eines Chemolumineszenzdetektors (Fa. ECO Physics).

Die Berechnung der ¹⁵N-Häufigkeit erfolgte nach folgenden Gleichungen:

$$a_{\text{NO}} = \frac{A_{31}}{1 + A_{31}} * 100\% \quad (28)$$

$$a_{\text{N}_2\text{O}} = \frac{A_{45} + 2 * A_{46}}{2 * (A_{44} + A_{45} + A_{46})} * 100\% \quad (29)$$

$$a_{\text{N}_2} = \frac{A_{29} + 2 * A_{30}}{2 * (A_{29} + A_{30} + A_{31})} * 100\% \quad (30)$$

R_x Fläche des Peaks i der Massespur x

a_i ¹⁵N-Häufigkeit des Stoffes i

Diese Berechnungen beruhen auf der Gleichverteilung der Isotope.

4.5.2 Acetylenreduktionsmethode zum Nachweis der Stickstoffixierung

Der Nachweis und die Bilanzierung der Stickstoffixierung können auf der einen Seite mittels der

^{15}N -Tracertechnik und auf der anderen Seite über die Acetylenreduktionsmethode durchgeführt werden. Bei der ^{15}N -Tracertechnik weist man die Stickstofffixierung durch die Verdünnung des ^{15}N -Gehaltes des zugesetzten, an ^{15}N angereicherten Ammoniums mit nichtangereichertem Ammonium nach. Dieses nichtangereicherte Ammonium besitzt den ^{15}N -Gehalt des Luftstickstoffs, aus dem es gebildet wurde.

Die Methode der Acetylenreduktion beruht auf der Substratspezifität der an der Fixierung beteiligten Reduktase. Diese Reduktase setzt neben dem molekularen Stickstoff auch Acetylen zu Ethen um. Dem Untersuchungssystem wird also Acetylen zugesetzt und nach einer bestimmten Zeit das gebildete Ethen als Maß für die Stickstofffixierung nachgewiesen und quantifiziert. Die in dieser Arbeit benutzte Methode beruht auf der Theorie und den Arbeitshinweisen nach (Cooper et al. 1989).

Die gaschromatographische Analyse erfolgte mittels GC unter Verwendung einer gepackten 2 m Porapak N Säule (ID 1/8"). Bei der benutzten isothermen Arbeitsweise bei 60 °C lag die Retentionszeit für Ethylen bei 1,97 Minuten und die für Acetylen bei 2,79 Minuten. Als Trägergas wurde Helium mit einer Strömung von 30 mL/min verwendet. Die Gase wurden mit einem FID detektiert.

4.5.3 Chemische Analytik der flüssigen Phase

4.5.3.1 Bestimmung der Konzentration und der ^{15}N -Häufigkeit des Ammoniums und Nitrats

Zur Bestimmung der ^{15}N -Häufigkeit und Konzentration wurde eine Probe der Flüssigkeit durch Wasserdampfdestillation nach Bremner et al. (1982) und Faust et al. (1981) mit anschließender Häufigkeitsbestimmung durch das Emissionsspektrometer NOI-6 (Fischer Analysen Instrumente GmbH; Fischer et al. 1992) analysiert.

Im Fall von nichtangereicherten Verbindungen erfolgte die Bestimmung mittels Ionenchromatographie (Dionex 100 – Fa. Dionex). Für die Trennung der Anionen wurde die Säule AS4A-SC mit Karbonatpuffer (1,8 mM Na_2CO_3 und 1,7 mM NaHCO_3) als mobile Phase und für die Kationen eine CG 12 Säule mit der mobilen Phase 1M Methansulfonsäure benutzt. Die Detektion der getrennten Ionen erfolgte mittels einer Leitfähigkeitszelle und für Nitrat und Nitrit zusätzlich mit einem UV/VIS Detektor bei 215 nm.

4.5.3.2 Photometrische Bestimmung des Nitrits

Die Bestimmung von Spuren an Nitrit erfolgte photometrisch nach folgendem Chemismus. Sulfanilamid wird in sauren Lösungen durch salpetrige Säure diazotiert. Das gebildete farblose Diazosalz reagiert durch Kopplung mit N-(1-Naphtyl)-ethylendiamindihydrochlorid zu einem roten Azofarbstoff. Dessen Bestimmung erfolgte spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 543 nm in einem Konzentrationsbereich von 0,005 bis 0,5 mg/L für Nitrit. Das Verfahren basiert auf der DIN 38405 D10.

4.5.3.3 Photometrische Bestimmung des Hydrazins

Der quantitative Nachweis von Hydrazin in wässrigen Lösungen wurde nach Watt et al. (1952) durchgeführt. Die durchgeführte lineare Kalibrierung überstrich den Konzentrationsbereich von 0,06 bis 0,47 mg/L.

4.6 Mikrobiologische Untersuchungen

4.6.1 Bestimmung der Anzahl an Nitrifikanten

Für die Identifikation von Isolaten, hinsichtlich ihrer Zugehörigkeit zu bestimmten Nitrifikantengruppen existieren mehrere Methoden. So kann z.B. die Amplifikation von bestimmten charakteristischen Abschnitten der DNA mittels PCR und nachfolgender Analyse via Elektrophorese Auskünfte über die Zugehörigkeit geben (Stephen et al. 1996). Weiterhin können Aussagen mittels der In-Situ-rRNA-Hybridisierung gewonnen werden (siehe Abs. 4.6.6).

In der Regel wurden in dieser Arbeit MPN-Tests zur zahlenmäßigen Bestimmung der Nitrifikanten genutzt. Hierzu wurden je Verdünnungsstufe drei parallele Röhrchen angesetzt.

Die Nährlösung für die Ammoniumoxidierer enthielt folgende Komponenten nach Alef (1991):

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500 mg
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	40 mg

MgSO ₄ * 7 H ₂ O	40 mg
KH ₂ PO ₄	200 mg.

Diese Salze wurden in 900 mL dest. Wasser gelöst, 1 mL Eisen-EDTA Lösung (siehe unten) zugesetzt und dann bei 121 °C 15 Minuten autoklaviert. Nach dem Abkühlen erfolgte die Zugabe von 1 mL einer 5 %igen Na₂CO₃-Lösung. Der Test für die einzelnen Verdünnungen kann als positiv gewertet werden, wenn Nitrit im Tüpfeltest (Methode siehe Abs. 4.5.3.2) nachgewiesen werden konnte. Die Auswertung erfolgte durch Bestimmung der positiven Röhren und Vergleich mit einer Statistiktabelle (Alef 1991).

Die Nährlösung für die Nitritoxidierer enthielt folgende Komponenten nach Atlas (1993):

NaNO ₂	1 g
KH ₂ PO ₄	500 mg
CaCO ₃	500 mg
MgSO ₄ * 7 H ₂ O	500 mg
MnSO ₄	2 mg
Fe-EDTA	5 mL.

Diese Salze wurden in 900 mL dest. Wasser gelöst und anschließend bei 121 °C 15 min autoklaviert. Nach dem Abkühlen wurde 1 mL der Spurensalzlösung mit folgender Zusammensetzung zugesetzt:

ZnSO ₄ * 7 H ₂ O	20 mg/L
CuSO ₄ * 5 H ₂ O	20 mg/L
Na ₂ MoO ₄ * 2 H ₂ O	20 mg/L
MgSO ₄ * 7 H ₂ O	0,2 mg/L

Die benutzte Fe-EDTA Lösung setzte sich folgendermaßen zusammen:

FeSO ₄ 7 H ₂ O	2,78 g/L
Titriplex	5 g/L

4.6.2 Bestimmung der Anzahl an Denitrifikanten – MPN

Auch die Anzahl der Denitrifikanten wurde wie die routinemäßige Bestimmung der Nitrifikanten mit der MPN-Methode bestimmt. Die Methode der MPN und deren Auswertung beruht auf Alexander (1982). Für die Bestimmung der Denitrifikanten wurden je Verdünnungsstufe drei parallele Ansätze durchgeführt, wobei folgende Nährlösung verwendet wurde:

Fleischextrakt	1 g/L
Pepton	5 g/L
Hefeextrakt	2 g/L
NaNO ₃	1,5 g/L
NaCl	2 g/L

Der pH-Wert betrug 7,0.

Diese Lösung wurde bei 121 °C 15 Minuten autoklaviert. In jedes mit Schraubkappe zu verschließende Reagenzglas wurde ein Durham-Röhrchen eingeführt. In diesem konnte die Gasbildung festgestellt werden, geschah dieses, so war das Röhrchen als positiv anzusehen. Die Auswertung erfolgte durch Bestimmung der positive Röhren und Vergleich mit einer Statistik-tabelle (Alef 1991).

4.6.3 Spatelplattenverfahren zur Ermittlung der Gesamtkeimzahl

Von der zu untersuchenden Probe wurde eine Kochsche-Verdünnungsreihe hergestellt und 100 µL einer bestimmten Verdünnungsstufe auf Nähragarplatten (R2A Medium – Difco) ausgebracht. Die ausgebrachte Verdünnung wurde mittels Drigalski-Spatel gleichmäßig bis zur Oberflächen trocken ausgespatelt. Die Platten wurden dann zwei Tage bei 20 °C im Dunkeln inkubiert und anschließend ausgezählt. Die Verdünnungen sollen so gewählt werden, daß auf einer Platte zwischen 30 und 300 Einzelkolonien wachsen. Das Nährmedium wurde nach Herstellerangaben angesetzt und autoklaviert.

4.6.4 Medium zur Untersuchung der anoxischen Ammoniumoxidation

Zur Anreicherung von Bakterien, die zur autotrophen anoxischen Ammoniumoxidation befähigt sind, wurde folgendes Medium benutzt (van de Graaf et al. 1996):

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	330 mg/L (5 mM)
NaNO_2	345 mg/L (5 mM)
KHCO_3	500 mg/L
KH_2PO_4	27,2 mg/L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	300 mg/L
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	180 mg/L
Spurensalzlösung	1 mL/L

Die Spurensalzlösung hatte folgende Zusammensetzung:

EDTA	15,0 g/L
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,43 g/L
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,24 g/L
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,99 g/L
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,25 g/L
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,22 g/L
$\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,19 g/L
$\text{NaSeO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$	0,21 g/L
H_3BO_3	0,014 g/L

Das Medium wird bei 121 °C autoklaviert, wobei die Autoklavierung von CaCl_2 und MgSO_4 separat erfolgte. Nach dem Erkalten der Lösungen werden diese vereinigt und 30 min mit Helium gespült, um den Sauerstoff aus der Lösung zu entfernen.

4.6.5 Stammhaltung der Mischpopulation für die Versuche im Wurzelraumreaktor

Die Anzucht und Haltung der Startkulturen für die Versuche im Wurzelraumreaktor erfolgte in einem 2 L Fermenter (BIOSTAT®MD – Firma Braun). Der Fermenter wurde im batch Verfahren anhand der Konzentrationen an Nitrat und Ammonium betrieben, wobei beim Fehlen beider Ionen eine Nachdosierung von Ammoniumsulfat und Natriumnitrat bis zu einer Konzentration von 20 mg N/L erfolgte. Weiterhin wurde der Reaktor einer Wechselbegasung unterworfen, wobei 8 Stunden mit Stickstoff und 16 Stunden mit Luft begast wurden. Monatlich erfolgte auch der Austausch von 75 % des Reaktorinhaltes mit neuem sterilen Medium (siehe Abs. 4.3).

4.6.6 rRNA-gerichtete fluoreszenzmarkierte Sonden

In dieser Arbeit wurden folgende gegen rRNA-gerichtete Gensonden (Amann et al. 1992) für die Bestimmung der Art- bzw. Gruppenzugehörigkeit und deren Anzahl benutzt.

Tab. 4.3: Sondensequenzen, Formamid- und NaCl-Konzentrationen der benutzten in situ rRNA-Hybridisierungs sonden nach Ref. 1 – Amann et al. (1990); 2 – Juretschko et al. (1998); 3 – Rath (1996)

Name	Sequenz	Stringenz [% Formamid]	NaCl im Waschpuffer [mM]	Ref.
EUB338	5'-GCT GCC TCC CGT AGG AGT-3'	0	900	1
NIT 3	5'-CCT GCT CTC CAT GCT CCG-3'	40	56	2
Nsv 443	5'-CCT TGA CCG TTT CGT TCC G-3'	30	56	2
NEU	5'-CCC CTC TGC TGC ACT CTA-3'	40	56	3

Die Ausführung der Hybridisierung richtete sich weitestgehend nach Manz et al. (1992). Zur Vorbereitung der Hybridisierung wurde die Probe mindestens 1,5 h in 3%iger Formamidlösung bei 4 °C fixiert. Nach dreimaligem Waschen der abzentrifugierten Zellen mit PBS, wurde die Biomasse zur Langzeitlagerung bei -25 °C in 50 %igem Ethanol/PBS resuspendiert. Hierbei sollte eine Biomassekonzentration von 10⁸ ... 10⁹ Zellen/mL eingestellt werden.

Zur Hybridisierung wurden die vorbereiteten Proben auf einem mit PTFE beschichteten Diagnostikobjektträger aufgebracht und getrocknet. Danach erfolgte eine Entwässerung der

Proben in einer Ethanolreihe (je drei Minuten in 50 Vol.%, 80 Vol.%, 96 Vol.%). Nach der Trocknung wurden dann 10 µL Hybridisierungspuffer mit auf die Sonden abgestimmter Stringenz aufgebracht, in den man dann 1 µL der 30 ng/µL Arbeitslösung der fluoreszenzmarkierten rRNA-gerichteten Sonde (mit einer Arbeitskonzentration von 30 ng/µL) gab. Der Objektträger wurde nun in eine feuchte Kammer überführt und bei der entsprechenden Hybridisierungstemperatur (46 °C) 1,5 Stunden inkubiert. Zur Gegenfärbung der gesamten Zellen wurde nach dieser Zeit 1 µL DAPI-Lösung in den Puffer gegeben und dieser dann eine Minute im Dunkeln inkubiert. Danach erfolgte ein kurzes Abspülen des Objektträgers mit dem Waschpuffer und ein 20 minütiger Waschschrift bei 48 °C. Der Objektträger wurde dann mit dest. Wasser zur Entfernung der Salzreste gespült und luftgetrocknet. Dann deckte man den Objektträger mit Vectashield™ (Fa. Vector Laboratories Inc.) und einem Deckglas ab. Die Proben wurden dann unter einem Mikroskop (Axioskop® Fa. Zeiss) betrachtet und ausgewertet. Zur Betrachtung der Fluoreszenz wurden die Filtersätze FT395/LP420, FT510/LP520, FT580/LP590 der Firma Zeiss benutzt.

Im folgenden sind die Zusammensetzungen der im Text benutzten Lösungen dargestellt.

PBS – Phosphatpuffer:

NaCl	0,8 g/L
KCl	0,02 g/L
Na ₂ HPO ₄	0,115 g/L
KH ₂ PO ₄	0,02 g/L

Dieser Puffer wurde in dest. Wasser gelöst, sterilfiltriert und kann dann bei 4 °C aufbewahrt werden.

Hybridisierungspuffer:

Formamid	je nach Stringenz
5M NaCl	180 µL
1M Tris/HCl	20 µL
1% SDS	10 µL
bidest. H ₂ O	auf 1 mL

Waschpuffer:

5M NaCl	je nach Gehalt
Tris/HCl	1 mL
1% SDS	500 µL
bidest. H ₂ O	auf 50 mL

DAPI-Lösung:

DAPI	5µg/mL in bidest. H ₂ O
------	------------------------------------

Die DAPI-Lösung wurde zur Vermeidung von Leuchtkraftverlusten im Dunkeln bei -24 °C aufbewahrt. Die Herstellung von frischem Wasch- und Hybridisierungspuffer erfolgte vor jeder Hybridisierung aus sterilen Stammlösungen.

Die in Abbildung (8) dargestellten Stoffe treten – wie im Literaturteil gezeigt wurde – als freie Metabolite der Stickstoffumsetzungen auf. Aus dieser Graphik wird weiterhin deutlich, daß die einzelnen Metabolite wie z.B. Nitrat Endprodukt und Ausgangsstoff von mehreren Umsetzungen sind. Diese Tatsache verdeutlicht, daß die Arbeit mit ^{15}N angereicherten Tracern eine Möglichkeit ist, über die Verfolgung der Isotopenspur in den einzelnen Stickstoffpools die unterschiedlichen Umsetzungen voneinander zu trennen. Diese Methode wurde in dieser Arbeit in ausgewählten Versuchen zur Aufklärung der Einzelprozesse eingesetzt.

Durch den Einsatz von stickstofffreien organischen Verbindungen spielten in dieser Arbeit die Ammonifikationsprozesse keine Rolle. Obwohl in den Versuchen mit Pflanzen die Ammonifikation von wurzelbürtigen stickstoffhaltigen Exsudaten denkbar wäre.

Die im Absatz 5.1.2 dargestellten Versuche haben das Ziel, die klassischen mikrobiellen Prozesse in bewachsenen Bodenfiltern zu bilanzieren, um den Einfluß der einzelnen Umsetzungen am Gesamtprozeß einzuschätzen und so auf den 2. Punkt der Zielstellung einzugehen. Die Versuche hierzu wurden unter Verwendung des unter Abs. 4.2 beschriebenen Versuchsreaktors und einer extern angezogenen Mischpopulation (Abs. 4.4) durchgeführt.

Als praktischer Hintergrund und Versuchsrahmen wurde die Möglichkeit der Reinigung des Kohlepyrolyseabwassers aus der Deponie „Schwelvollert“ bei Trebnitz (Sachsen–Anhalt) durch Pflanzenkläranlagen benutzt. An diesem Deponiesee wurden Pflanzenkläranlagen zur versuchsweisen Reinigung des stark ammonium- und organikahaltigen Wassers installiert und über einen Zeitraum von ca. 5 Jahren betrieben und von Diplomanden (Zehnsdorf 1995 und Struckmann 1996) in Kampagnen untersucht. Das Tagebaurestloch „Schwelvollert“ wurde von 1950–1968 als Deponie für die Kohlepyrolyseabwässer der Schwelerei Deuben (Sachsen–Anhalt) benutzt. Der See hat eine Fläche von ca. 9 ha und beinhaltet ca. $2 \cdot 10^6 \text{ m}^3$ Wasser. Dieses Gewässer war zum Untersuchungszeitpunkt tiefbraun gefärbt und hatte eine Sichttiefe von etwa 3 cm (Kusch et al. 1992, Wießner et al. 1993a).

Um die Wasserzusammensetzung zu verdeutlichen, sind in Tabelle 5.1 einige Untersuchungsergebnisse dargestellt.

Tab. 5.1.: Ausgewählte Analysedaten der Schwelwasserdeponie „Schwelvollert“ (Seemitte, 02. Juni 1992) nach Kuschik et al. (1992)

Tiefe [m]	wasser- dampfflüchtige Phenole [mg/L]	NH ₄ ⁺ -N [mg/L]	CSB [mg/L]	DOC [mg/L]
0	7	79	964	263
5	23	85	980	274
10	86	134	350	405
20	228	239	2290	689

Weitere Analysen zeigen, daß sich die organische Belastung hauptsächlich auf Phenole (z.B. Phenol und 4-Methylphenol), n-Alkane und höhermolekulare Verbindungen zurückführen läßt (Wießner et al. 1993).

Bedingt durch den hohen Gehalt an aromatischen Verbindungen und n-Alkanen wurden als C-Quellen für die im folgenden dargestellten Versuche in den Wurzelraumreaktoren Benzoat und Acetat ausgewählt, denn diese Stoffe sind zentrale Metabolite bei den biotischen Umsetzungen der erwähnten seebürtigen Verbindungen.

Als entscheidende Variable für diesen Versuchskomplex wird das C:N-Verhältnis angesehen und in den folgenden Versuchen variiert. Die weitere Erfassung relevanter Parameter (pH-Wert, Redoxpotential, Sauerstoffgehalt und Ammonium-, Nitrit-, Nitratkonzentrationen sowie einiger Gaskomponenten) im Sinn eines passiven Experimentes erfolgte nach einem Zeitregime automatisch. Bevor genauer auf die einzelnen Teilversuche zu diesem Komplex (Abs. 5.1.2) eingegangen wird, erfolgt nun die Darstellung der Parameter für die folgenden Teilversuche in Tab. 5.2.

Tab. 5.2: Kenndaten der Versuche im bepflanzten Reaktor zur Bestimmung der Kinetik und des Chemismus der biologischen N-Umsetzungen

Teilversuch	Start C:N-Verhältnis	NH ₄ ⁺ -N Konzentration	Ziel des Versuches
Versuch 1 Teil 1	0,55	11	Nitrifikation ohne zugesetzte organische C-Quelle
Versuch 1 Teil 2	1,6	69	
Versuch 2	2	17	Nitrifikation und Denitrifikation mit zugesetzten organischen C-Quellen
Versuch 3	3	50	
Versuch 4	3,6	12	Chemismus und Kinetik der Nitrifikation
Versuch 5	0,2...3	42	Denitrifikation mit zugesetzten C-Quellen
Versuch 6	1,2	24	Chemismus und Kinetik der Denitrifikation

Vor den eigentlichen reaktionskinetischen Untersuchungen wurde der unbepflanzte Reaktor – also das Kiesbett und die Peripherie – strömungstechnisch charakterisiert. Diese strömungstechnische Charakterisierung spielt eine Rolle für die Einschätzung der Eignung des Wurzelraumreaktors als Modellsystem für einen bewachsenen Bodenfilter. Weiterhin sind die gewonnenen Daten für die spätere verfahrenstechnische Modellierung essentiell. In Tab. 5.3 sind die hydraulischen Kenngrößen für die Versuchsanlage zur Bestimmung der Parameter bei der biologischen Umsetzung von Stickstoffverbindungen in bewachsenen Bodenfiltern zusammengestellt. Diese Daten zeigen, daß die horizontale Strömungsgeschwindigkeit der Versuchsanlage der realer Anlagen entspricht (Wießner et al. 1999).

Tab. 5.3: Hydraulische Kenngrößen der Versuchsanlage zur Bestimmung der kinetischen Parameter bei der N-Umsetzung in bewachsenen Bodenfiltern

Fläche des Kiesbettes der Versuchsanlage	0,07 m ²
Volumenstrom	18 L/h
Horizontale Strömungsgeschwindigkeit	10 cm/h

5.1.1 Strömungstechnische Beschreibung der Versuchsanlage

Vor dem ersten Versuch zur Umsetzungskinetik wurde der Reaktor hinsichtlich der Strömungseigenschaften charakterisiert. Hierzu erfolgte eine kontinuierliche Tracergabe und die zeitliche Bestimmung der Tracerkonzentrationen an festen örtlichen Punkten (siehe Abbildung 10 und Anhang A). Als Strömungstracer wurde die biologisch persistente und analytisch leicht detektierbare Naphthyl-1-sulfonsäure benutzt, deren Konzentrationen man mittels UV Spektroskopie bei den Wellenlängen von 224 nm und 276 nm bestimmte. Im Konzentrationsbereich von 0,1...10 mg/L wurde die Wellenlänge von 224 nm und im Konzentrationsbereich von 10...170 mg/L die Wellenlänge von 276 nm benutzt.

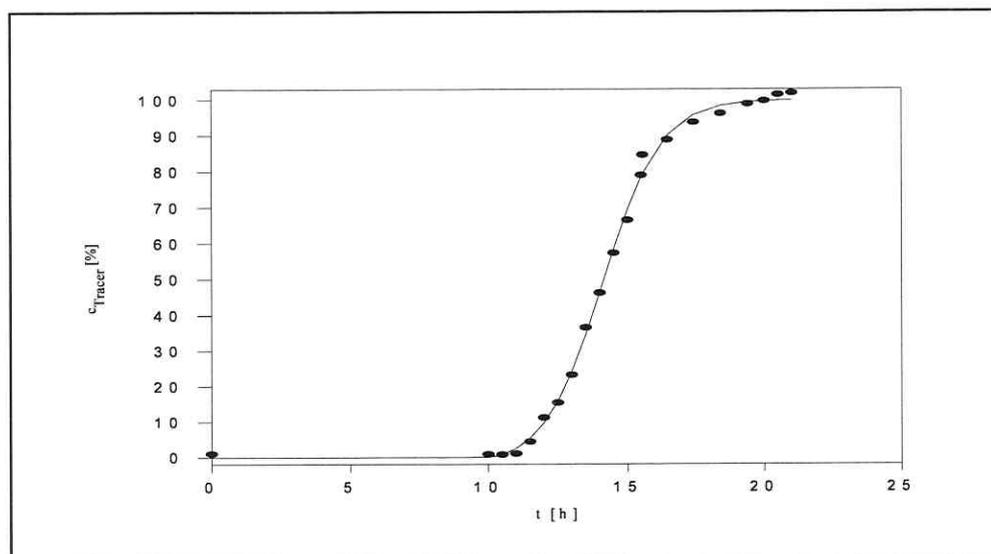


Abbildung 9 Tracerkonzentrations-Zeitverlauf am Meßpunkt Nr. 1 (siehe Abb. 10). Die Anpassung der Werte erfolgte an eine Sigmoidfunktion.

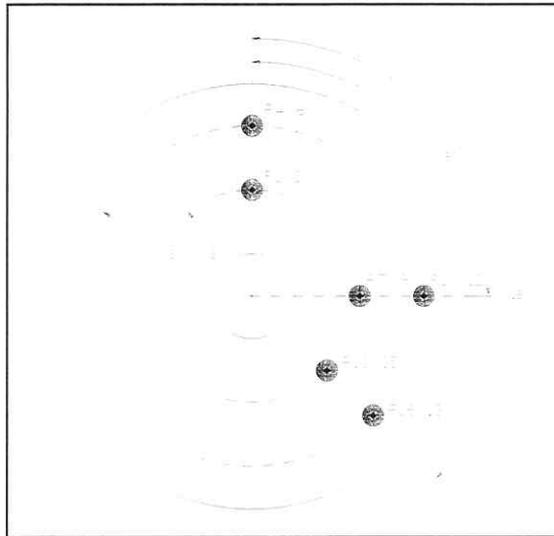


Abbildung 10 Probenahmepunkte (Erläuterungen zur Bezeichnung siehe Anhang A) im Deckel des Reaktors für die Strömungscharakterisierung.

In Abbildung (9) ist ein charakteristisches Konzentrationsprofil am Punkt 1 ($\alpha = 0^\circ$; $r = 60$ mm; Höhe 18,1 cm) dargestellt. Die aufgenommenen Konzentrations–Zeitverläufe wurden für jeden Meßpunkt an die Sigmoidfunktion Gl. (31) angepaßt und ergaben für alle Meßpunkte eine gute Korrelationen ($r^2 \geq 0,99$).

$$c_{\text{Tracer}} = a + \frac{b}{1 + \exp \frac{-(t - c)}{d}} \quad (31)$$

In der Gleichung (31) bedeuten:

- t Zeitspanne von Beginn der Tracergabe
- $c_{\text{Tracer}, i}$ Tracerkonzentration an der Stelle i
- a, b, c, d Konstanten der Funktion

Die Konstanten der Sigmoidfunktion sind im Anhang A zusammengestellt. Die so bestimmten Funktionen wurden benutzt, um Angaben über die Strömung in der Schüttung zu gewinnen.

Diesem Vorhaben liegt die Strömungsgleichung nach Gl. (32) zugrunde. Diese Gleichung beschreibt den Transport in Schüttungen ohne Adsorption und chemische, biologische und andere Reaktionen.

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \text{div} [(D + D_m) \text{grad } c] \text{div} (\vec{v}_a c) \quad (32)$$

In dieser Gleichung bedeuten:

- D Dispersionstensor
- v_a Abstandsgeschwindigkeit
- c Konzentration
- t Zeit

Aus einer Lösung dieser allgemeinen Dispersionsgleichung (Rinnert, B. 1983) folgt die Bestimmung der Dispersionskoeffizienten nach Gleichung (33) – bezogen auf Abb. (9) :

$$D_L = \frac{1}{8} \left(\frac{z - w_a t_1}{\sqrt{t_1}} - \frac{z - w_a t_2}{\sqrt{t_2}} \right) \quad (33)$$

- w_a Abstandsgeschwindigkeit in z-Richtung
- z Ortskoordinate

In dieser Gleichung bedeutet:

$$w_a = \frac{z}{t_0} \quad (34)$$

und t_1 und t_2 sind die Zeiten, in denen die Lösung der Gleichung (35) die Werte 0,1586 und 0,8414 annimmt.

$$\frac{c(z,t)}{c_0} = \frac{1}{2} \text{erfc} \left(\frac{z - w_a t}{2\sqrt{D_L t}} \right) + \frac{1}{2} \exp \left(\frac{w_a z}{D_L} \right) \text{erfc} \left(\frac{z + w_a t}{s \sqrt{D_L}} \right) \quad (35)$$

In Tabelle 5.4 werden die Ergebnisse der Dispersionskoeffizienten dargestellt, deren näherungs-

weise Berechnung erfolgte nach Gl. (33).

Tab. 5.4: Zusammenstellung der Dispersionskoeffizienten

Messpunkt	t_1	t_2	z	D_L [cm/h ^{1/2}]
1	15,8894	12,5	60	0,0432
2	14,3295	14,0538	60	0,035
3	15,0755	12,1255	60	0,0387
4	16,5218	13,2668	85	0,0304
5	16,114	13,5391	85	0,0241
6	15,3962	11,8831	85	0,0351
7	15,5148	12,2495	60	0,0422
8	15,5939	12,6613	60	0,0375
9	15,2814	12,3969	60	0,0374
10	15,2814	12,3969	85	0,0285
11	15,967	13,433	85	0,0239
12	15,3407	12,0441	85	0,0328
13	15,313	11,6708	60	0,0481
14	15,4102	12,2961	60	0,0403
15	14,7542	11,7396	60	0,0403
16	15,3434	11,1744	85	0,0426
17	15,8039	12,3916	85	0,0332
18	16,1767	13,1146	85	0,029

Eine Analyse der berechneten Dispersionskoeffizienten ($\bar{D}_L = 0,0357 \pm 0,0067$) zeigt, daß die Schüttung homogen durchströmt wurde. Es existieren also keine Kurzschlußströmungen oder ähnlich ungünstige Strömungsverhältnisse.

Bei dem Betrachten des Prinzipschemas der Reaktorschaltung (siehe Abb. 11) könnte von einem im Kreislauf betriebenen Rohrreaktor ausgegangen werden. Jedoch wird dieser Reaktor prinzipiell stationär betrieben, was nicht für die Betriebsweise des Wurzelraumreaktors zutrifft. Das Reaktorsystem repräsentiert einen differentiellen Kreislaufreaktor. Dieses Reaktorsystem besteht aus einem kleinen Integralreaktor mit im Kreislauf geführtem Produkt. Für dieses System kann angenommen werden, daß bei einem hohen Kreislaufverhältnis (RV) das System wie ein Rührkessel betrachtet werden kann.

$$RV = \frac{\dot{V}_k}{\dot{V}_{zu}}$$

RV	Rücklaufverhältnis
\dot{V}_{zu}	Volumenstrom im Zulauf in [L/h]
\dot{V}_k	Kreislaufvolumenstrom in [L/h]

Diese Bedingung liegt im folgenden Fall vor: $\dot{V}_{zu} = 0$, $\dot{V}_k > 0$, $RV = \infty$. Zur idealen Durchmischung kommt es streng genommen nur in diesem Fall. Hieraus folgt, daß konstante Konzentrationsverläufe nur bei unendlichem Rücklaufverhältnis erreicht werden. Die sich ergebende Strömungsart und das Strömungsprofil spielen für die Beschreibung dann eine Rolle, wenn die mittlere Verweilzeit sehr viel größer als die Reaktionszeit ist.

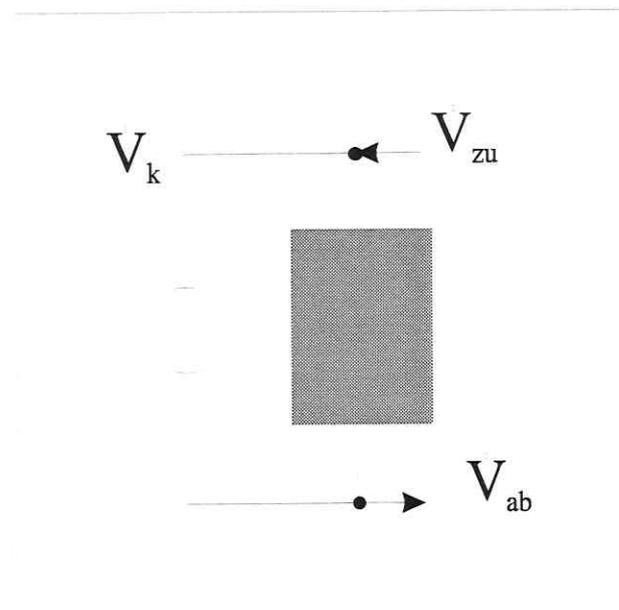


Abbildung 11 Prinzipschema der Reaktorschaltung

Die Annahmen zum differentiellen Kreislaufreaktor stellen weiterhin die Randbedingungen für die Umsatzberechnungen und Simulation dar, auf die im Auswertungsteil näher eingegangen

wird.

In diesem Absatz konnte durch Messungen von Strömungsprofilen an unterschiedlichen Orten gezeigt werden, daß sich der Reaktor hinsichtlich der Strömung ideal verhält. In den Versuchen zur N-Umsetzung kann also davon ausgegangen werden, daß die gemessenen Veränderungen sich auf Umsetzungsprozesse und nicht auf ein anormales strömungsbedingtes Verhalten oder auf Adsorptionen zurückführen lassen. Die Eignung des Füllmaterials hinsichtlich der Adsorption von Ammonium, Nitrit und Nitrat wurde im Methodenteil (siehe Seite 28) nachgewiesen. Bedingt durch die Eignung dieses Reaktorsystems werden im folgenden Abschnitt Versuche in diesem System zur Aufklärung der N-Umsetzungsprozesse und zur Bestimmung der Kinetik dieser Umsetzungen dargestellt und diskutiert.

5.1.2 Ergebnisse zur Bestimmung der kinetischen Parameter der N-Umsetzungen im Wurzelraumreaktor

In diesem Abschnitt erfolgt die Untersuchung der N-Umsetzungsprozesse in einem System, welches als Modell eines bewachsenen Bodenfilters angesehen werden kann. Die Darstellung der strömungstechnischen Eigenschaften dieses Reaktors erfolgte im letzten Abschnitt und die Beschreibung des Reaktoraufbaus im Material- und Methodenteil (siehe Abs. 4.2), so daß hier allein auf die Bilanzierung der Umsetzungen und deren Kinetik eingegangen wird. Dieser Absatz geht auf den Punkt 2 der Zielstellung (siehe Seite 21) ein. Die Experimente wurden unter Variation des C:N-Verhältnisses als Haupteinflußgröße durchgeführt und folgen einem passiven Versuchsregime. Unter diesem passiven Versuchsregime soll die Beobachtung von maßgeblichen Größen nach Einstellung der Startbedingungen verstanden werden. Zu diesem Zweck wurde die Versuchsanlage mit umfangreichen on-line Meßsystemen ausgestattet, die im Kapitel 4.2 bis 4.5.1 näher beschrieben wurden.

Der Wurzelraumreaktor (siehe Abs. 4.2) wurde mit acht Helophyten, deren Kultivierung zuvor unter Gewächshausbedingungen erfolgte, bepflanzt. Die Pflanzöffnungen mit den durchwachsenen Helophyten wurden anschließend zur Schaffung eines gasdichten Raumes über dem Kiesbett – im folgenden Kopfraum genannt – mit Silikonkautschuk (NG 3170 Fa. Thauer & Co.) ausgegossen. Nach jedem Bepflanzen des Reaktors und Abdichten mit Silikonkautschuk erfolgte eine Druckprobe auf Dichtheit des Reaktors. Zuvor wurde der Reaktor mit dem Modellabwasser

(siehe Abs. 4.3) und der künstlichen Mischpopulation (Abschnitt 4.4) zur Einstellung vergleichbarer Ausgangsbedingungen befüllt. Der Wurzelraumreaktor wurde unter einem 18 zu 6 Stunden hell/dunkel Regime betrieben, wobei die Beleuchtung mit einer Quecksilberdampf Lampe (RADIUM – HRL 400 W) erfolgte.

Im folgenden sind die Versuche dargestellt, die in diesem Reaktor durchgeführt wurden.

Versuch 1

Im ersten Teil dieses Versuchs enthielt das Modellabwasser keine zusätzlichen C-Quellen. Dieser Teil diente der Einschätzung der Nitrifikations- bzw. der Denitrifikationsleistung beruhend auf der C-Lieferung der pflanzlichen Exsudate.

In Abbildung (12) sind die Konzentrationsverläufe an Ammonium, Nitrit und Nitrat im Wurzelraumreaktor in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Durch organische Verbindungen (Rhizodepositionsprodukte), die sich nach ca. einem Monat Testphase in der Reaktorlösung befanden, wurde ein C:N-Verhältnis von 0,55 berechnet. Nach 36 Tagen erfolgte eine Charakterisierung der Mikrobiozöten der Reaktoren. Dazu wurde der Reaktor geöffnet und Proben von der Wurzeloberfläche, Rhizosphäre und vom wurzelfernen Bereich entnommen. Danach wurde der Reaktor erneut mit *Schoenoplectus lacustris* bepflanzt und mit der künstlichen Mischkultur beimpft. In dem dann neu zugegebenen Modellabwasser wurde ein C:N-Verhältnis von 1,6 eingestellt.

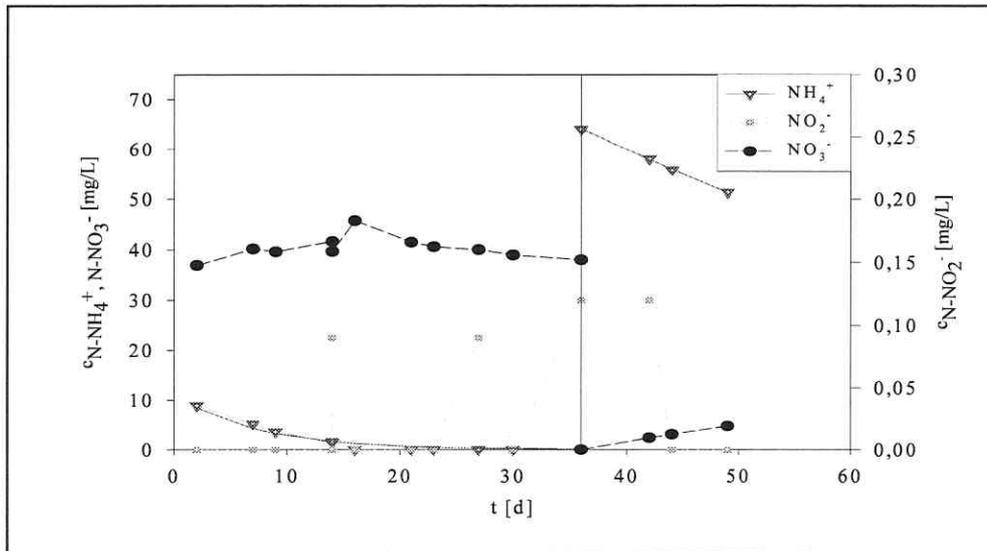


Abbildung 12 N-Konzentrationen im Wurzelraumreaktorsystem mit *Schoenoplectus lacustris* in Abhängigkeit von der Zeit (ohne Zugabe von C-Quellen; nach 36 Tagen erfolgte die Zugabe von Ammonium und C-Quellen)

In beiden Teilversuchen nahm die Ammoniumkonzentration ab. Im weiteren erfolgte die Anpassung einer Formalkinetik erster Ordnung (Gl. 37) an die gemessenen Ammoniumkonzentrationen mit folgenden Kenngrößen:

$$c_{\text{NH}_4^+} = c_{\text{NH}_4^+}(t=0) \exp^{-k t[\text{h}]} \quad (37)$$

$$t \in [0; 36] \quad c_{\text{NH}_4^+}(t=0) = 11,064 \text{ mg/L} \quad k = 0,1363 \text{ d}^{-1} \quad r^2 = 0,9714 \quad (38)$$

$$t \in [36; 49] \quad c_{\text{NH}_4^+} = 69,025 \text{ mg/L} \quad k = 0,0172 \text{ d}^{-1} \quad r^2 = 0,9989 \quad (39)$$

Weiterhin wird deutlich, daß nach der Zugabe von C-Quellen die Nitratkonzentration sofort abnahm, was auf die einsetzende, verstärkte Denitrifikation zurückzuführen war.

Die Konzentrationsverläufe (Abb. 13) des nichtbepflanzten Reaktors legen die Vermutung nahe,

daß in diesem Reaktor keine Nitrifikation stattfand. Es wurde hingegen eine Erhöhung der Ammoniumkonzentration bestimmt. Durch das Ausbleiben der Nitrifikation wurde auch kein Nitrat und nur Spuren von Nitrit nachgewiesen, so daß auch die Denitrifikation in diesem Reaktor nicht einsetzen konnte.

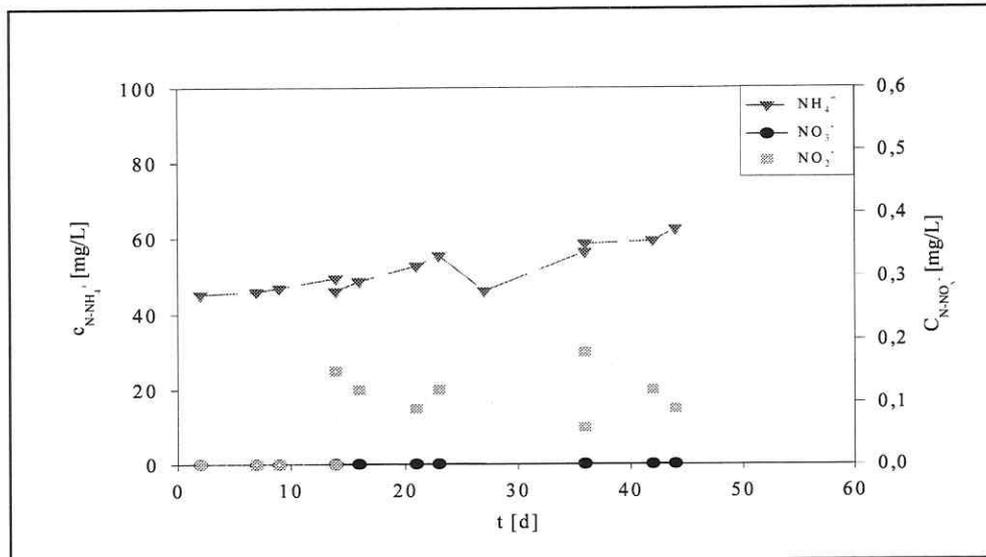


Abbildung 13 Ammonium-, Nitrit- und Nitratkonzentration für den unbepflanzten Reaktor ohne Zugabe von C-Quellen

Die Biozönose wurde mittels MPN Tests (3 Parallele) hinsichtlich der Stoffwechselgruppen Nitrifikanten, Denitrifikanten und Stickstofffixierer quantifiziert. Weiterhin wurde mittels Spatelplattenverfahren die Gesamtzellzahl bestimmt. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen sind in Tabelle 5.5 zusammengestellt.

Tab. 5.5: Gruppenspezifische Zellzahlen im bepflanzten und unbepflanzten Reaktor (ohne Zugaben von zusätzlichen C-Quellen; bestimmt mittels MPN und FISH)

Stoffwechselgruppe	Zellzahl im be- pflanzten Reaktor [Zellen/g]	Zellzahl im unbe- pflanzten Reaktor [Zellen/g]
Ammoniumoxidierer über MPN	0,53	0,35
Ammoniumoxidierer über FISH	0,21	0,11
Nitritoxidierer über MPN und FISH	n.d.	n.d.
Denitrifikanten	$46,5 \cdot 10^3$	$51,2 \cdot 10^3$
N-Fixierer	$25,6 \cdot 10^3$	$23,6 \cdot 10^3$
Gesamtzellzahl	$123 \cdot 10^3$	$156 \cdot 10^3$

Die zahlenmäßige Bestimmung der Organismengruppen erfolgte nach einem Monat, wobei in den ersten Wochen der Reaktor im batch-Regime betrieben wurde. Bei diesem Betrieb wurde der Reaktor je Woche einmal beprobt und ggf. Ammonium bis zu einer Endkonzentration von 20 mg N/L zugesetzt. Die Werte dieser Beprobungen sind hier nicht dargestellt, da die großen zeitlichen Abstände keine kinetischen Aussagen erlauben.

In dieser Tabelle wird deutlich, daß die Denitrifikanten und N-Fixierer in den gleichen Größenordnungen vorkommen. Dieses Ergebnis wurde auch für die Gesamtzellzahlen der beiden Reaktoren ermittelt. Weiterhin zeigt sich, daß die Ammoniumoxidierer in beiden Reaktoren in der gleichen Größenordnung vorhanden waren.

Versuch 2

In einem weiteren Versuch wurde dem Modellabwasser als C-Quelle Natriumacetat und Natriumbenzoat im gleichen C-Verhältnis zugesetzt. Das sich ergebene C:N-Verhältnis betrug ca. 2.

Die Diagramme in den Abb. 14 und Abb. 16 zeigen die Konzentrations-Zeit-Verläufe von Ammonium, Nitrit und Nitrat in den beiden Reaktoren. In Abb. (14) erfolgte eine Anpassung der Kinetik 1. Ordnung an die Ammoniumkonzentration im bepflanzten Reaktor nach folgender Gleichung

$$c(t) = 17 \text{ mg/L} \exp^{-0,017 t[\text{h}]} \quad (40)$$

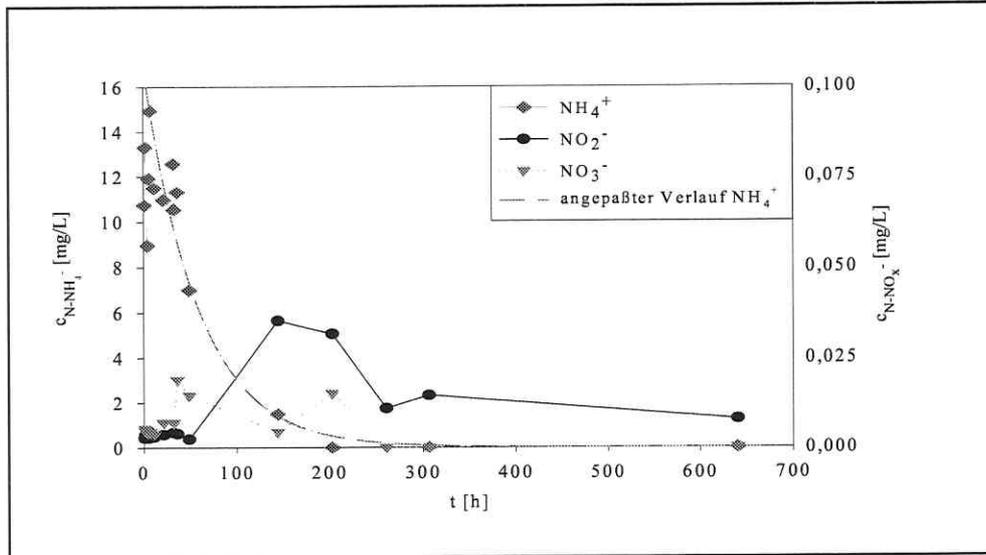


Abbildung 14 Konzentrationen an Ammonium, Nitrat und Nitrit im Versuch im bepflanzten Reaktor mit einem C:N-Startverhältnis von 2

In Abb. (14) ist zu sehen, daß die Ammoniumkonzentration über die Zeit stetig abnahm. Es ist weiterhin das Auftreten von Nitrat und Nitrit über die Zeit in diesem Versuch dargestellt. Der Konzentrationsverlauf des Nitrits stieg bis ca. 150 Stunden an und nahm dann wieder leicht ab. Nitrat war zu Beginn des Versuches bis ca 250 Stunden im Reaktor nachweisbar. Ab 250 Stunden war nur noch eine C-Konzentration von ca. 7 mg/L nachweisbar.

In Abb. (15) ist zu erkennen, daß nach ca. 180 Stunden die Sauerstoffkonzentration anstieg. Dieser Anstieg begann zu einem Zeitpunkt als die Ammoniumkonzentration sich auf einem konstant niedrigen Level von annähernd Null einstellte. Weiterhin ist zu sehen, daß die N_2 - und N_2O -Konzentrationen am Anfang des Versuches höher waren und sich nach 70 Stunden auf einem beinahe konstanten Niveau einstellten. Diese Abnahme in den Konzentrationen des Stickstoffs und des N_2O stimmt im Trend mit der Abnahme der Ammoniumkonzentration (siehe Abb. 14) in diesem Versuch überein.

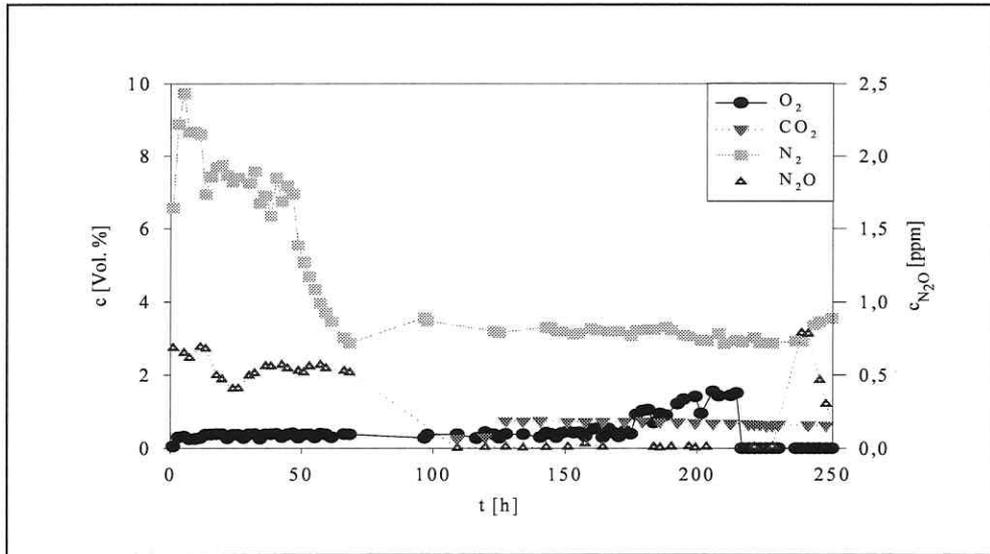


Abbildung 15 Gasanalysen des bepflanzteten Reaktors im Versuch zur Bestimmung der N-Umsetzung mit einem C:N-Startverhältnis von 2

In Tabelle 5.6 sind die zu dieser Abbildung gehörenden DOC-Werte und die sich daraus ergebenden C:N-Verhältnisse dargestellt.

Tab. 5.6: DOC und C:N-Verhältnisse für den bepflanzteten Reaktor im Versuch mit einem C:N-Startverhältnis von 2

Zeit [h]	DOC [mg/L]	C:N
1,25	31	1,8
7,53	13	1,05
203,1	7,2	14,4

Der Tabelle 5.6 ist zu entnehmen, daß es im bepflanzteten Reaktor zu einer Abnahme der organischen Verbindungen kam. In Abb. (16) sind die N-Konzentrationen von Ammonium, Nitrit und Nitrat des unbepflanzteten Reaktors dargestellt. Hier ist zu sehen, daß die Ammoniumkonzentration annähernd konstant blieb und Nitrit nicht nachgewiesen werden konnte. Weiterhin wurde das Auftreten von Nitrat in kleinen Konzentrationen in der Zeit bis 300 Stunden gezeigt.

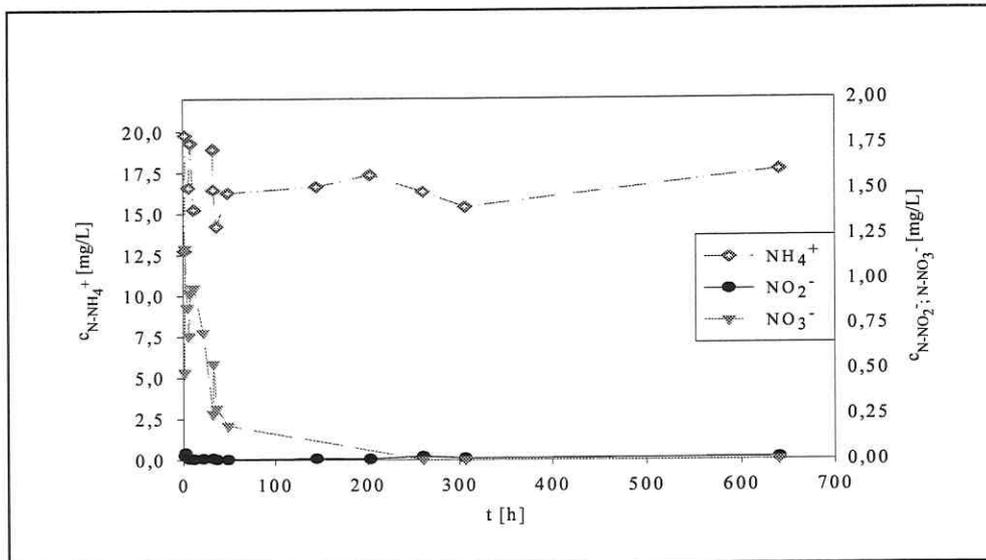


Abbildung 16 N-Konzentrationen von NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- im Versuch im unbepflanzten Reaktor mit einem C:N-Startverhältnis von 0,804.

In dem unbepflanzten Reaktor fand ebenfalls eine Umsetzung der zugesetzten C-Quellen statt. In diesem Reaktor ergab sich aus der Zumischung der C-Quellen und des Ammoniums ein C:N-Verhältnis von 0,72.

Im bepflanzten Reaktor lag die Redoxspannung um -500 mV und der pH-Wert stieg von 6,75 auf 7,2 im Verlauf des Versuches kontinuierlich an. Im unbepflanzten Reaktor wurde ein gleichbleibender pH-Wert 7,2 und eine Redoxspannung um -510 mV registriert.

Zum Ende dieses Versuches erfolgte die Analyse der Biozönose mittels stoffwechselspezifischer MPN-Tests, deren Ergebnisse in Tab. 5.7 zusammengefaßt sind. Hierzu wurde eine Pflanze samt umgebendem Kiesmaterial aus dem Reaktor entnommen. Aus dem Kiesmaterial und von der Wurzeloberfläche wurde eine Mischprobe entnommen und hinsichtlich der Mikrobiözönosezusammensetzung analysiert.

Tab. 5.7: MPN-Ergebnisse der Biozönanalyse (bestimmt mittels MPN und FISH) im bepflanzteten Reaktor für den Versuch mit einem C:N-Startverhältnis von 2

	Zellzahl [Zellen/g Träger]
Ammoniumoxidierer über MPN	0,037
Ammoniumoxidierer über FISH	0,02
Nitritoxidierer über MPN	n.d.
Nitritoxidierer über FISH	0,01
Denitrifikanten	32,9 10 ³
Gesamtzellzahlen	40,2 10 ³

Diese Tabelle zeigt, daß 82 % der in der Biozönose enthaltenen Bakterien zur Denitrifikation befähigt waren.

Versuch 3

In diesem Versuch wurde in zwei Teilabschnitten wiederum Acetat und Benzoat dem mit *Schoenoplectus lacustris* bepflanzteten Reaktor zugegeben und so eine Start-C-Konzentration von 136,75 mg/L realisiert. Damit ergab sich ein C:N-Startverhältnis von ca. 3. Die bestimmten DOC-Werte sind in Tab. 5.8 mit den sich daraus ergebenden C:N-Werten zusammengestellt.

Tab. 5.8: Zusammenstellung der DOC- und C:N-Werte für diesen Versuch

Zeit [h]	DOC [mg/L]	aktuelles C:N-Verhältnis
- ∞ {vor Versuchsbeginn}	6,85	0,42
0	135,51	2,89
20,5	13,29	13,21
22	3,83	0,24
29	2,23	0,13
32	4,36	0,33
35	4,36	0,36

In Abb. (17) sind die Ammonium-, Nitrit- und Nitratwerte aufgetragen. Dieser Versuch bestand aus zwei Teilversuchen, zu Beginn des ersten Teils wurde ein C:N-Verhältnis von ca. 3 eingestellt. Hier zeigte sich, daß Nitrit nicht nachgewiesen werden konnte und die Nitratkonzentration um 0,5 mg N/L lag. In diesem Versuchsabschnitt war zu sehen, daß die Ammoniumkonzentration innerhalb von 10 Tagen um ca. 46 mg abnahm.

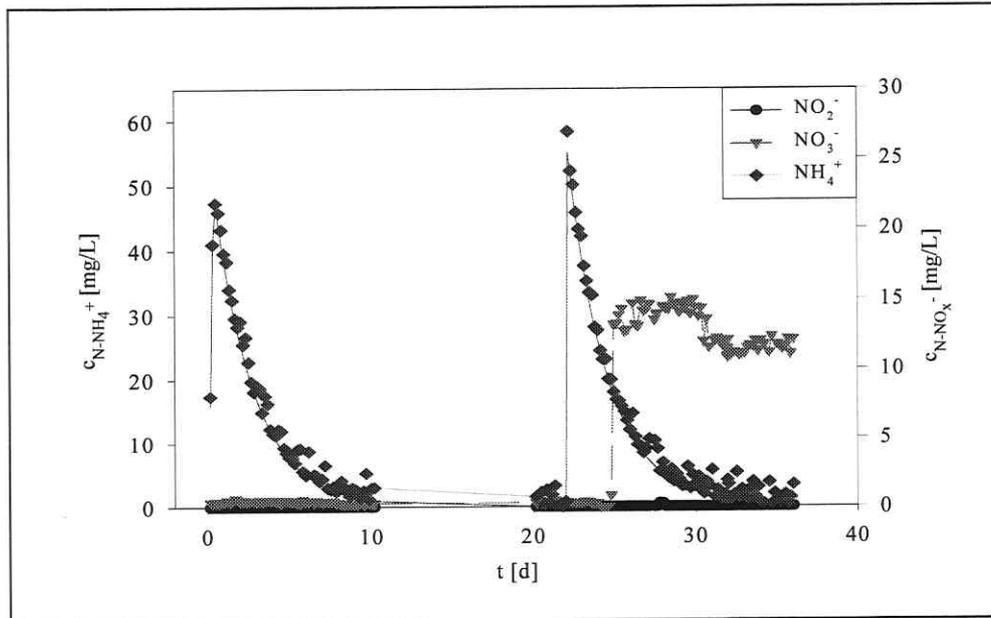


Abbildung 17 Konzentrationsverläufe von NH_4^+ , NO_2^- und NO_3^- im Wurzelraumreaktor mit *Schoenoplectus lacustris*

Für den ersten Versuchsabschnitt konnte eine Formalkinetik 1. Ordnung mit einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0,8356$ an die bestimmten Ammoniumkonzentrationen angepaßt werden:

$$c_{\text{N-NH}_4^+} = 49,72 \exp^{-0,119 t[\text{d}]} \quad (41)$$

Am Beginn des zweiten Abschnittes – am 22. Tag – wurden Ammonium und C-Quellen zugesetzt, so daß sich ein C:N-Startverhältnis von 0,24 einstellte. Auch in diesem Teilversuch nahm die Ammoniumkonzentration kontinuierlich ab. Nach ca. 22 Tagen kam es zu einer Anreicherung von Nitrat. Die Nitritkonzentrationen lagen auch hier unterhalb der Nachweisgrenze. Aus den Ergebnissen dieses Versuches wurde ebenfalls die Kinetik an die Ammoniumwerte angepaßt und es ergab sich ein Korrelationskoeffizient von 0,958.

$$c_{\text{N-NH}_4^+} = 55,012 \exp^{-0,114 t[\text{d}]} \quad (42)$$

Zur Schaffung von günstigen Bedingungen für die Pflanzen wurde die Anlage mit einer Metall-
dampflampe (RADIUM – HRL 400 W) beleuchtet. Der Beleuchtungsrhythmus beinhaltete eine
Hellphase von 18 Stunden gefolgt von einer Dunkelphase von 6 Stunden. Die Gasanalyse (siehe
Abb. 18), die diesen Versuch kontinuierlich begleitete, zeigte keine Abhängigkeit der emittierten
Gasmenge von diesem Beleuchtungsrhythmus.

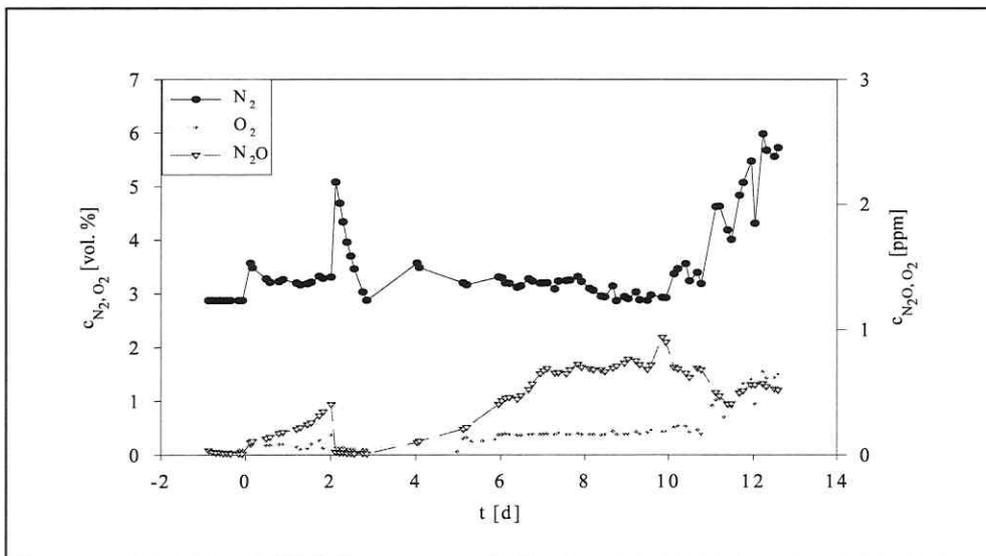


Abbildung 18 Kontinuierliche Gasanalyse zum Versuch im bepflanzteten Reaktor (zum Zeitpunkt $t = 0$ h wurden die N- und C-Quellen zugegeben)

Nach Zugabe der C-Quellen und NH_4^+ zu Beginn des Versuchsabschnittes war zu sehen, daß die N_2 -Emissionen anstiegen, was auf die Denitrifikation bedingt durch das in der Nitrifikation gebildete Nitrat/Nitrit und die Präsenz der C-Quellen zurückzuführen war. Weiterhin wurde ein leichter Anstieg der N_2O -Emission festgestellt. Auf die Darstellung von Versuchswerten des unbepflanzten Reaktors soll hier verzichtet werden, denn durch die Sauerstofflimitation der Nitrifikation wurde keine Änderung in der Ammoniumkonzentration und damit keine Nitrifikation verzeichnet. Dies bedingt ein Fehlen von Nitrit/Nitrat in der Lösung, so daß auch keine Denitrifikation stattfand. Allerdings nahm auch hier die Konzentration der C-Quelle ab,

was von alternativen Elektronenakzeptoren wie Sulfat abhängig war.

Die Daten der kontinuierlichen Registrierung der Redoxspannungen sind in Abbildung (19) und der pH-Wert in Tabelle 5.9 zusammengestellt.

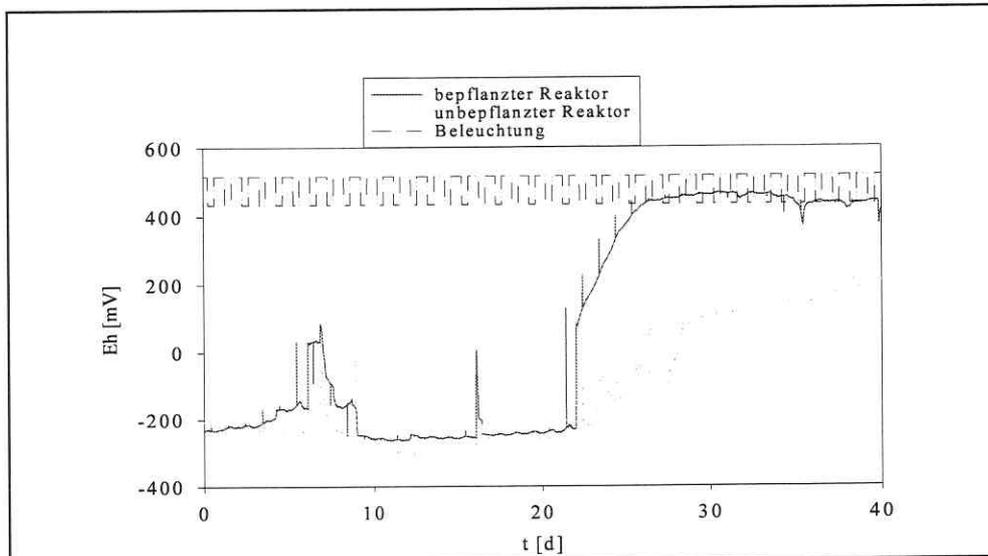


Abbildung 19 Darstellung der Redoxwerte für den bepflanztten und den unbepflanztten Reaktor

In dieser Abbildung (Abb. 19) und der Abb. (17) ist zu sehen, daß die Redoxwerte mit dem Auftreten von Nitrit bzw. Nitrat in der Lösung ansteigen. Weiterhin kann dieser Darstellung entnommen werden, daß auch die Redoxwerte wie auch die pH-Werte (nicht graphisch dargestellt, siehe Tab. 5.9) nicht vom Beleuchtungsgang abhängen.

Tab. 5.9: Zusammenstellung der pH-Werte für den bepflanztten und unbepflanztten Reaktor

	pH
bepflanztter Reaktor	$7,07 \pm 0,10$
unbepflanztter Reaktor	$7,48 \pm 0,02$

Die erfaßten pH-Werte der Modellabwässer der beiden Reaktoren zeigten eine relative Konstanz.

Versuch 4

Zum Nachweis der N-Stoffwechselwege wurde im folgenden Versuch dem Modellabwasser ^{15}N -Ammonium mit einer Anfangshäufigkeit von 36 At. % zugesetzt. Zu Beginn dieses Versuches wurde ein C:N-Verhältnis von 3,6 eingestellt. Der Verlauf der Ammoniumkonzentration und Häufigkeit sind in Abbildung (20) zu sehen.

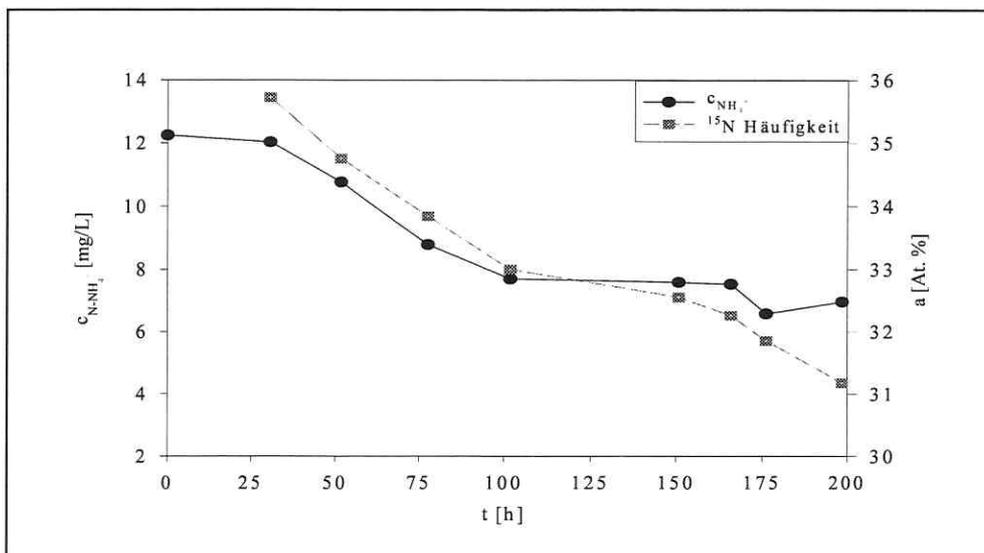


Abbildung 20 Ammoniumkonzentration und Häufigkeit im Markierungsexperiment mit ^{15}N -Ammonium im bepflanzten Reaktor

Sowohl die Ammoniumkonzentration als auch die Häufigkeit nahm im Verlauf des Versuches ab.

Der Verlauf der Ammoniumkonzentration läßt sich über folgende Gleichung beschreiben, die schon in den vorherigen Versuchen benutzt wurde:

$$c_{\text{N-NH}_4^+} = 12,405 \exp^{-0,0034 t[\text{h}]} . \quad (43)$$

In der Abb. (21) sind hierzu die Gasanalysen graphisch dargestellt. Die hier dargestellten Daten wurden nicht wie vorher on-line gewonnen, sondern in Gasbags gesammelt. Diese Proben wurden dann an einem externen GC-MS mit Kryofokussierung analysiert.

Bedingt durch die geringe Konzentration an NO konnte dessen ^{15}N -Häufigkeit nicht ermittelt

werden. Die Bestimmung der Konzentration erfolgte mit einem Chemolumineszenzdetektor.

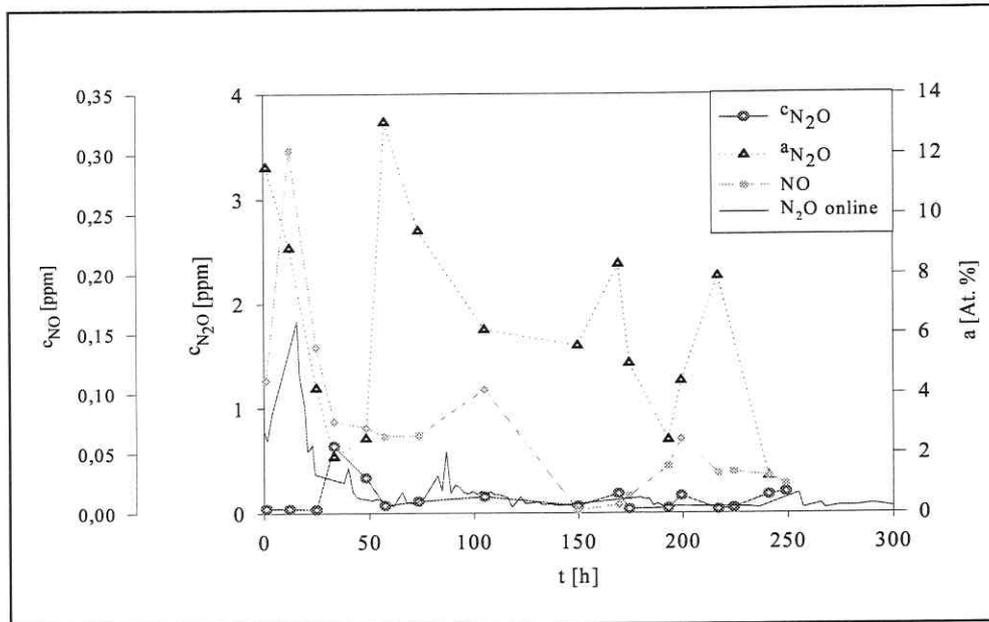


Abbildung 21 Darstellung der Stickoxidemissionen im $^{15}\text{NH}_4^+$ -Markierungsversuch (Die Bezeichnung N_2O on-line steht hier für die mittels on-line GC erfaßte N_2O -Konzentration.)

Zu Beginn dieses Versuches wurde eine Zunahme der NO-Konzentration festgestellt, die dann nach ca. 24 Stunden wieder abnahm und zwischen 0,1 und 0,25 ppm lag. Die N_2O -Konzentration lag im gesamten Versuch in einem Konzentrationsbereich um 0,1 ppm. Für diese Verbindung konnte keine direkte Zeitabhängigkeit bestimmt werden. Zu Beginn des Versuches gab es eine Diskrepanz zwischen den on-line ermittelten N_2O -Werten und denen, die mittels GC-MS mit Probetransport im Gasbag bestimmt wurden. Diese Diskrepanz könnte auf die Lagerung und den Transport von N_2O zurückgeführt werden. Sie egalisierten sich im weiteren Versuch im Bereich kleinerer Konzentrationen. Weiterhin wird deutlich, daß der Markierungsgrad der N_2 -Emissionen sowie der Stickoxide (Abb.21) nicht dem des Ammoniums entspricht.

In Abbildung (22) ist zu sehen, daß die Emissionen nicht vom Beleuchtungsgang abhängig sind. Dies wurde weiterhin mit den on-line gewonnenen Daten zum N_2^- , O_2^- , CO_2^- -Gehalt im Kopfraum des Reaktors bestätigt.

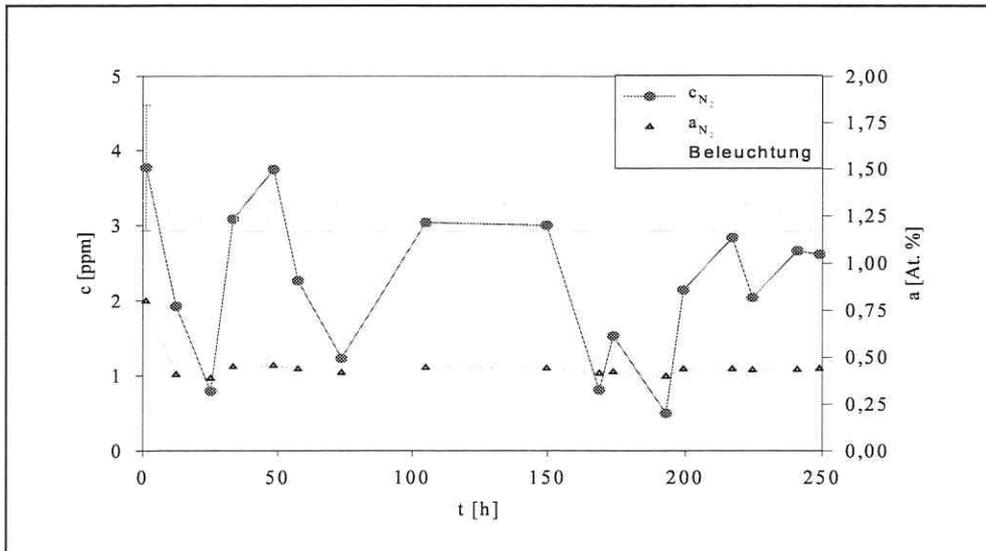


Abbildung 22 Darstellung der N_2 -Konzentration und Häufigkeit sowie des Beleuchtungsrhythmus im Versuch im bepflanzen Reaktor

Die Daten der ^{15}N -Analytik der pflanzlichen Biomasse (Tab. 5.10) kombiniert mit den Daten der Gas- und Flüssiganalytik ergeben eine Wiederfindung von ca. 96 %.

In Tab. 5.10 ist weiterhin zu sehen, daß der ^{15}N -Gehalt in den Wurzeln wesentlich höher ist als in der oberirdischen Biomasse. Dieser höhere Gehalt kann auf den eventuell an den Wurzeln angehefteten Biofilm zurückgeführt werden.

Tab. 5.10: ^{15}N -Gehalte in der pflanzlichen Biomasse

	N-Gehalt [%]	^{15}N [At. %]
Wurzel	1,45	6,21
Blatt	1,644	0,61

Die Ergebnisse der Zellzahlbestimmung in verschiedenen Kompartimenten des Reaktors nach diesem Versuch sind in der Tabelle 5.11 zusammengestellt.

Tab. 5.11: Ergebnisse der Bakteriozönosecharakterisierung im bepflanzen Reaktor mittels MPN und FISH nach dem ¹⁵N–Ammoniumtracerversuch

	Ammonium-oxidierer über MPN [Zellen/g]	Ammonium-oxidierer über FISH [Zellen/g]	Denitrifikanten [Zellen/g]	Gesamtzellzahl [Zellen/g]
Wurzeloberfläche	41	15	0,67 * 10 ⁶	1,4 * 10 ⁶
Wurzelraum	4,45	1,2	0,44 * 10 ⁶	0,92 * 10 ⁶
wurzelferner Bereich	1,8	0,2	0,50 * 10 ⁶	0,85 * 10 ⁶

Diese Tabelle zeigt eine Zellzahlzunahme der Ammoniumoxidierer in Richtung der Wurzel. Die Zellzahlen der Denitrifikanten liegen in allen Bereichen in der gleichen Größenordnung. Nitritoxidierer konnten in diesem Versuch weder mittels MNP noch mittels FISH nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der kontinuierlichen Registrierung der Redoxspannung und des pH–Werts in diesem Versuch sind in Tabelle 5.12 zusammengestellt und zeigen nur geringe Änderungen während des Versuchsverlaufes.

Tab. 5.12: Zusammenstellung der pH–Werte und der Redoxspannungen für den bepflanzen und unbepflanzen Reaktor

	Redoxspannung [mV]	pH
bepflanzter Reaktor	-312,7 ± 7,98	7,98 ± 0,39
unbepflanzter Reaktor	-322,8 ± 10,29	7,64 ± 010

Versuch 5

In den folgenden Versuchen wurden Experimente zur Bestimmung der Kinetik der Denitrifikation durchgeführt. Hierzu wurden in das Modellabwasser unterschiedliche Konzentrationen an Natriumnitrat und C–Quellen (Natriumacetat und Natriumbenzoat) gegeben.

Die graphische Darstellung (Abb. 23) zeigt die Ergebnisse dieses Versuches.

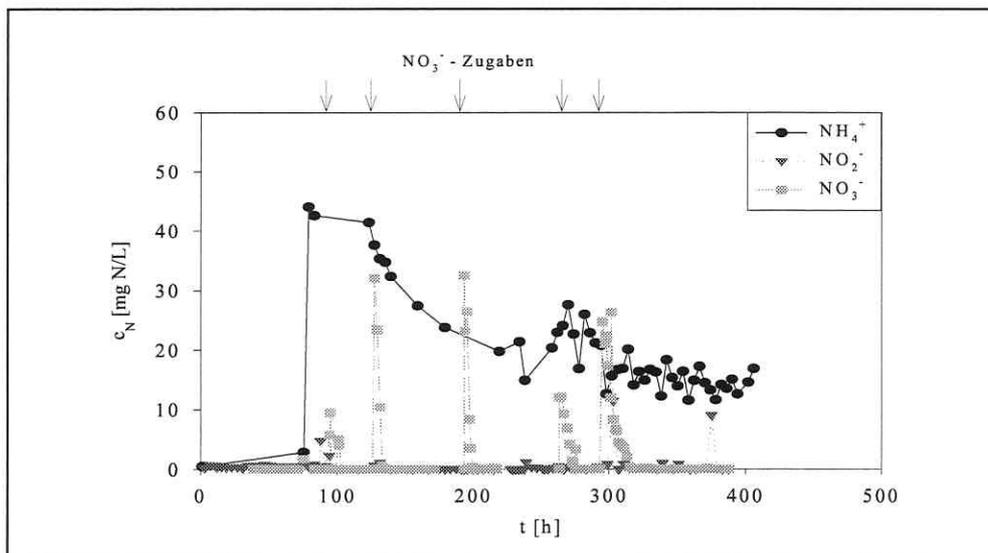


Abbildung 23 N-Konzentrationen im bepflanzten Reaktor in Abhängigkeit von der Zeit

Der Darstellung der N-Gehalte ist zu entnehmen, daß nach erfolgter Nitratzugabe durch die einsetzenden Umsetzungen diese mit der Zeit wieder abnehmen. Nitrit konnte in diesen Versuchen nur vereinzelt in Spuren nachgewiesen werden. Die Kinetik erster Ordnung wurde wiederum an die Ammoniumabnahme angepaßt und ergab mit einer Güte von $r^2 = 0,7930$ folgende Beschreibung des Prozesses:

$$c_{\text{N-NH}_4^+} = 42,1 \exp^{-0,00504 t[\text{h}]} . \quad (44)$$

Die Abbildung (24) stellt die Daten der Gasanalysen aus dem Kopfraum des mit *Schoenoplectus lacustris* bepflanzten Reaktors zusammen.

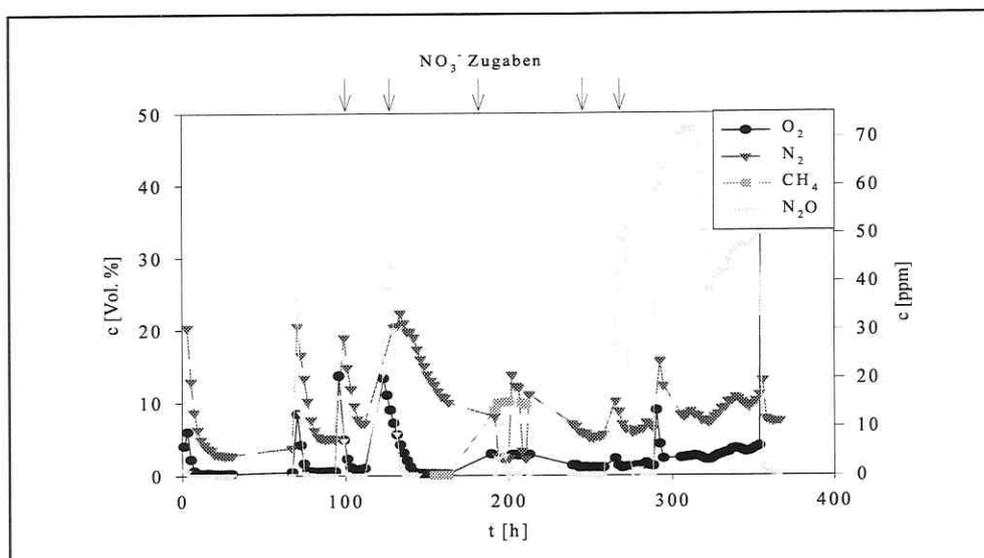


Abbildung 24 Darstellung der kontinuierlichen on-line Gasanalysen aus dem Kopfraum des be-pflanzten Reaktors im Versuch zur Bestimmung der Denitrifikationskinetik bei mehrfacher Nitratzugabe

In beiden Abbildungen (Abb. 23 und Abb. 24) ist zu sehen, daß die Stickoxid- und N_2 -Emission mit den Zugaben des Nitrats in die Lösung zusammenhängen. Der Sauerstoffpeak im Kopfraum des Reaktors ist durch die externe Zumischung der N-Quellen am Versuchsanfang in die Lösung zu erklären.

In den Abbildungen (25) und (26) sind die Ionen- und Gaskonzentrationen für den unbepflanzten Reaktor dargestellt. Auch hier wird ein Zusammenhang zwischen Nitratgabe und N-Gasemissionen sichtbar. In der Darstellung der Ionen sind eindeutig die Nitratpeaks zu sehen. Weiterhin wurde aus beiden Versuchen zu diesem Komplex sichtbar, daß die Nitrifikation – sichtbar als Ammoniumabnahme – weiterhin ablief. Aus diesem Grund erfolgte hier auch eine Anpassung der Kinetik an die Ammoniumkonzentrationen des unbepflanzten Reaktors ($r^2 = 0,4269$):

$$c_{N-NH_4^+} = 12,01 \exp^{-0,0037 t[h]} . \quad (45)$$

Im unbepflanzten Reaktor (Abb. 25) wurde ein vergleichbares Umsetzungsverhalten für das zugesetzte Nitrat wie im be-pflanzten Reaktor bestimmt. Die Abnahme der Ammoniumkonzentration im Versuchszeitraum ist ebenfalls dargestellt. Nach 250 Stunden erfolgte die

Zugabe von Ammonium in den unbepflanzten Reaktor (siehe Abb. 25). Die Ammoniumabnahme in diesem Versuch war auf den Sauerstoffeintrag beim externen Zumischen der Salze zurückzuführen, wobei die Schwankungen der Ammoniumkonzentration noch nicht erklärt werden können.

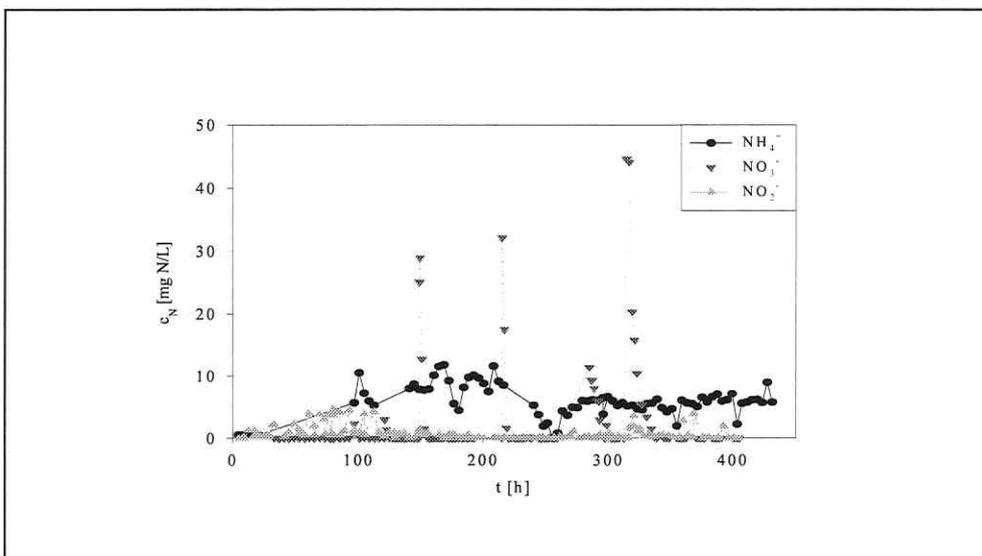


Abbildung 25 Darstellung der Ionenkonzentrationen für den unbepflanzten Reaktor.

Wie der Darstellung (Abb. 26) zu entnehmen ist, zeigen die Gasanalyseergebnisse des Kopfraumes des unbepflanzten Reaktors ein dem bepflanzten Reaktor entsprechendes Verhalten, also eine umsetzungsbedingte Zu- bzw. Abnahme der Konzentrationen.

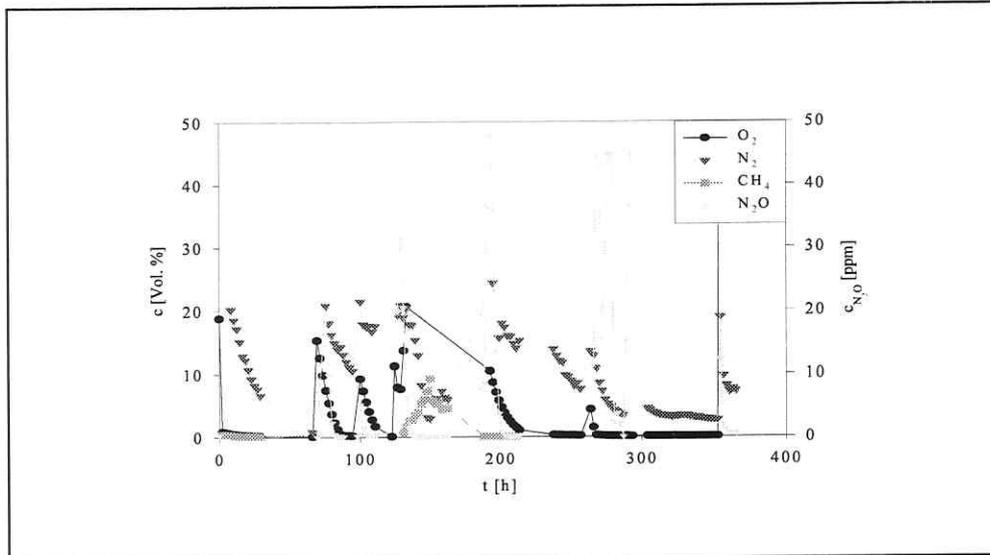


Abbildung 26 Gaskonzentration im Kopfraum des unbepflanzten Reaktors im Versuch mit Nitratzugaben

Die Denitrifikationskinetiken des Nitrates wurden ebenfalls mit der Formalkinetik 1. Ordnung ausgewertet. Die Daten der Anpassung dieser Kinetik sind in Tabelle 5.13 zusammengestellt. Peak 1 bezeichnet die Nitratzugabe bei 148 Stunden, Peak 2 die Nitratzugabe bei 214 Stunden, Peak 3 die Nitratzugabe bei 289 Stunden und Peak 4 die Nitratzugabe bei 316 Stunden. Die Nitratzugaben wurden zur selben Zeit in beiden Reaktoren durchgeführt.

Tab. 5.13: Kinetische Daten der Denitrifikationsversuche

Peak Nr.	bepflanzter Reaktor				unbepflanzter Reaktor			
	C:N-Verhältnis	$c_{\text{NO}_3^-}(t=0)$ [mg N/L]	k [h^{-1}]	r^2	C:N-Verhältnis	$c_{\text{NO}_3^-}(t=0)$ [mg N/L]	k [h^{-1}]	r^2
1	1,4	32,44	0,335	0,9213	1,04	39,89	0,622	0,9949
2	0,21	30,79	0,116	0,8232	2,01	32,08	1,12	0,9988
3	0,61	34,31	0,338	0,9569	0,68	13,98	0,154	0,9142
4	2,99	31,33	0,447	0,9902	0,43	27,93	0,122	0,9086

Nach dem Versuch wurde die Biozönose im Reaktor an drei Orten (Rhizoplane, wurzelnaher – und wurzelferner Bereich) untersucht. Dazu wurden in den Proben die Anzahl an Bakterien

bestimmter Stoffwechselgruppen mittels MPN–Ansätzen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.14 zusammengestellt.

Tab. 5.14: Zellzahlen des bepflanzten und des unbepflanzten Reaktors bestimmt über MPN und FISH bei der Versuchsreihe zur Bestimmung der Denitrifikationskinetik

	Ammoniumoxidierer über MPN [Zellen/g]	Ammoniumoxidierer über FISH [Zellen/g]	Nitritoxidierer über MPN [Zellen/g]	Nitritoxidierer über FISH [Zellen/g]	Denitrifikanten [Zellen/g]	Gesamtzellzahl [Zellen/g]
Wurzeloberfläche	50	32	7,5	0,8	$12 \cdot 10^6$	$18 \cdot 10^6$
wurzelnaher Bereich	0,8	0,2	0,9	n.d.	$12 \cdot 10^6$	$18 \cdot 10^6$
wurzelferner Bereich	n.d.	n.d.	0,05	n.d.	$13 \cdot 10^6$	$22 \cdot 10^6$

In Tabelle 5.14 ist zu sehen, daß die Zellzahl der Nitrifikanten in Richtung Wurzel zunimmt. Die Zellzahlen der Denitrifikanten liegen für alle untersuchten Bereiche in der gleichen Größenordnung und machen ca. 65 % der Bakteriozönose aus.

Versuch 6

In diesem Versuch erfolgte eine Zugabe von ^{15}N –angereichertem Nitrat in die Lösung des mit *Schoenoplectus lacustris* bepflanzten Reaktors mit dem Ziel der Aufklärung der Umsetzungen unter Beteiligung des Nitratpools. Die Daten der Analyse der Ammonium– und Nitrit– bzw. Nitratkonzentrationen sind in Abbildung (27) dargestellt. Dieser Versuch wurde mit einem C:N–Verhältnis von 1,2 begonnen und nach 20 Stunden erfolgte durch Zugabe von gleichen molaren Teilen an Natriumacetat und Natriumbenzotat die Erhöhung des C:N–Verhältnisses auf 2,6.

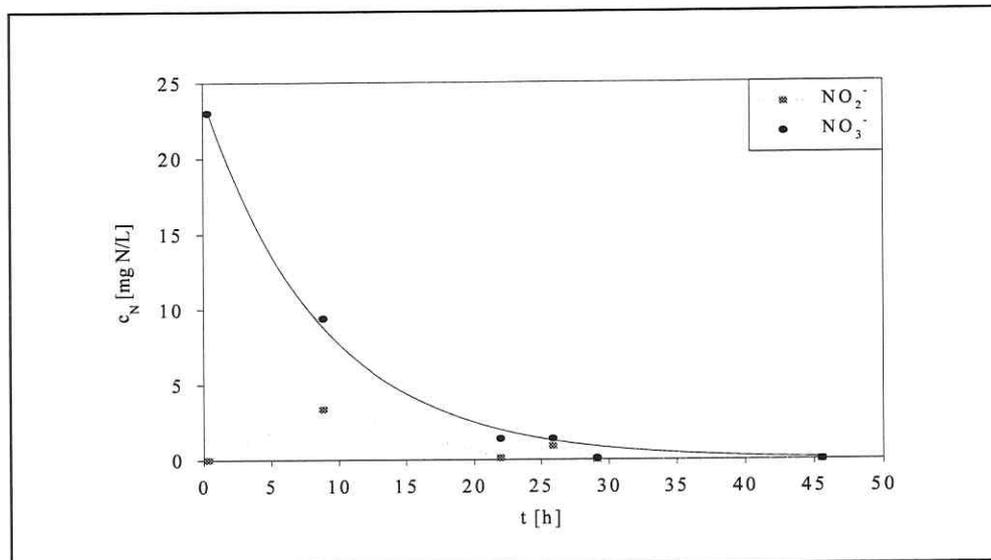


Abbildung 27 Konzentrationen für Nitrit und Nitrat im Versuch mit ¹⁵N–angereichertem Nitrat

Die Abbildung (27) zeigt, daß das zugesetzte Nitrat umgesetzt wurde. Weiterhin wird deutlich, daß am Anfang dieses Versuches eine signifikante Anreicherung von Nitrit stattfand. An den Häufigkeiten der Ionen war zu sehen, daß Nitrat leicht verdünnt wurde und Ammonium im Versuchszeitraum eine leichte Erhöhung des ¹⁵N–Gehaltes erfuhr. Das in diesem Versuch benutzte Nitrat hatte eine ¹⁵N–Häufigkeit von ca. 41 At. %.

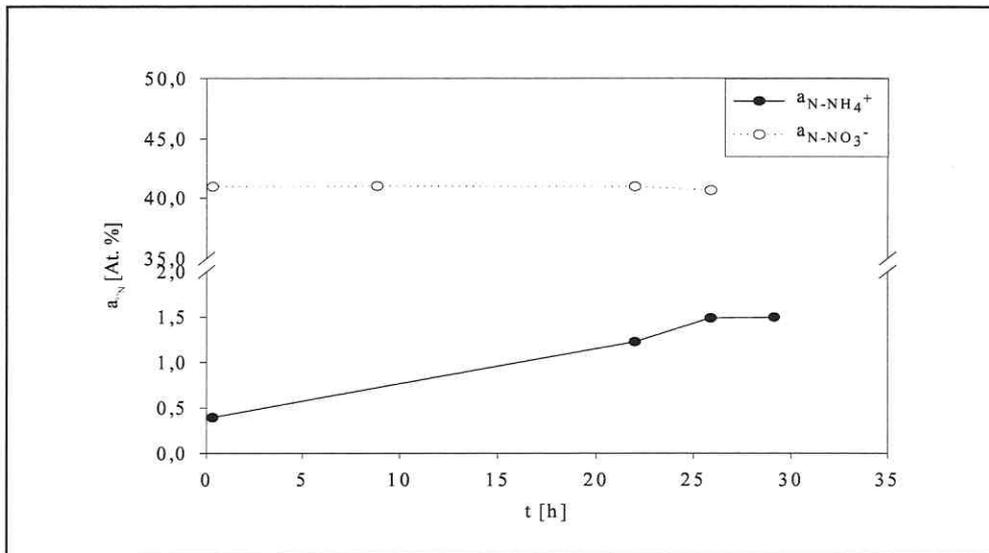


Abbildung 28 ^{15}N -Häufigkeit des Ammoniums und Nitrats im Versuch mit angereichertem Nitrat

Eine Anpassung der Kinetik (Gl. 46) an die bestimmten Nitratdaten wurde mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,9938 durchgeführt.

$$c_{\text{N-NO}_3^-} = 24 \exp^{0,11 t[\text{h}]} \quad (46)$$

Die in Abb. (29) dargestellten Konzentrationen wurden über ca. 4 Stunden in einem Gasbag gesammelt und dann mittels GC-MS analysiert. Zur Erreichung der erforderlichen Konzentrationen erfolge eine Konzentrierung der Gase mittels Kryofokussierung. Die Ergebnisse dieser Analyse zeigen eine annähernd konstante Konzentration an N_2 im Gasraum. Das Stickoxid NO stieg mit zunehmender Versuchszeit an und hatte bei ca. 22 Stunden eine sprunghafte Erhöhung, die auf die Zugabe von C-Quellen in die Lösung zurückzuführen war. Auch N_2O wurde als Folge dieser Zugabe stärker emittiert und lag ansonsten mit einer konstanten Konzentration im Gasraum vor.

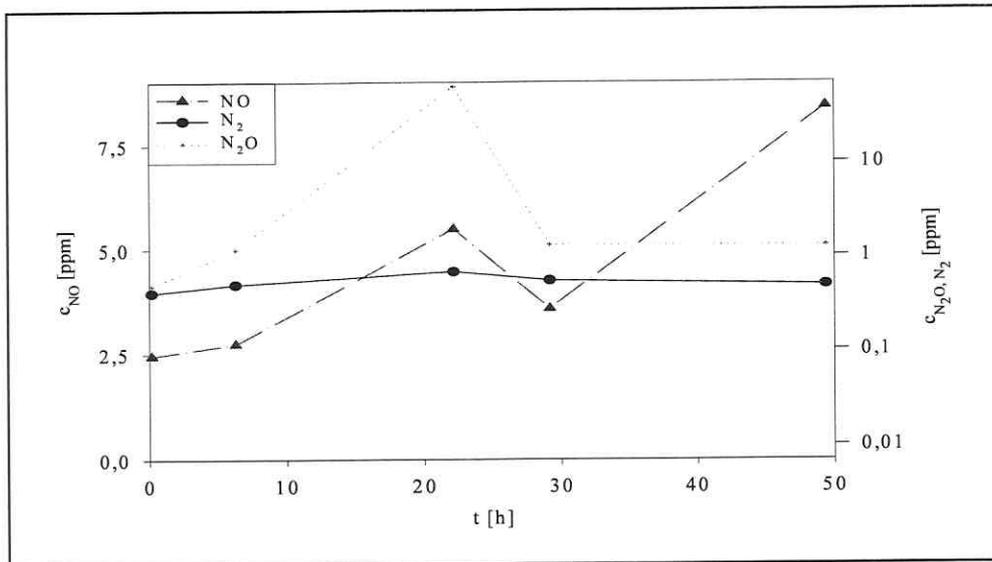


Abbildung 29 Konzentrationen der mittels GC-MS bestimmten Gase im bepflanzten Reaktor

In Abb. (30) sind die ^{15}N -Häufigkeiten der bestimmten N-Gase dargestellt und es kann erkannt werden, daß eine eindeutige Zuordnung des N_2O zum Nitrat als Ausgangspool möglich ist. Das gebildete NO erscheint mit einer niedrigeren ^{15}N -Häufigkeit, folgt aber dem Zeitgang des N_2O . N_2 lag im Bereich der natürlichen ^{15}N -Häufigkeit.

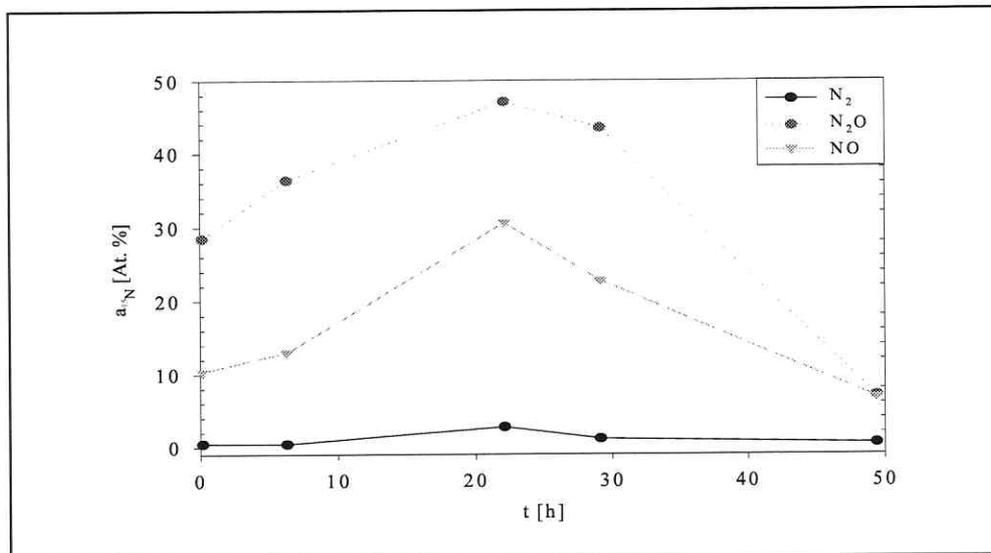


Abbildung 30 ^{15}N -Häufigkeiten von N_2 und der Stickoxide im Versuch mit ^{15}N -angereichertem Nitrat

Die Daten der ^{15}N -Analytik der pflanzlichen Biomasse (Tab. 5.15) kombiniert mit den Daten der Gas- und Flüssiganalytik ergeben eine Wiederfindung von ca. 92%.

Tab. 5.15: ^{15}N -Gehalte in der pflanzlichen Biomasse im bepflanzteten Reaktor im Versuch mit ^{15}N -angereichertem Nitrat

	N-Gehalt [%]	^{15}N [At. %]
Wurzel	1,733	0,89
Blatt	1,704	0,67

Zum Ende dieses Versuches wurde eine Analyse der Biozönosezusammensetzung im bepflanzteten Reaktor vorgenommen. Die Ergebnisse der MPN-Tests für stoffwechselspezifische Gruppen und die Gesamtzellzahlen sind in Tab. 5.16 zusammengestellt.

Tab. 5.16: Zellzahlen für den bepflanzteten Reaktor nach dem Versuch mit Nitratmarkierung (bestimmt in drei Parallelansätzen mittels MPN)

	Ammoniumoxidierer über MPN [Zellen/g]	Ammoniumoxidierer über FISH [Zellen/g]	Nitritoxidierer über MPN [Zellen/g]	Nitritoxidierer über FISH [Zellen/g]	Denitrifikanten [Zellen/g]	Gesamtzellzahl [Zellen/g]
Wurzeloberfläche	46	32	5,7	1,2	$0,54 * 10^6$	$15 * 10^6$
wurzelnaher Bereich	0,41	0,12	1,25	n.d.	$24 * 10^3$	$10 * 10^6$
wurzelferner Bereich	n.d.	n.d.	0,05	n.d.	$93 * 10^3$	$6 * 10^5$

Die Zellzahlen zeigen, daß die Anzahl an Nitrifikanten in Richtung Wurzel zunahm. Weiterhin ist zu sehen, daß der Anteil der Denitrifikanten an der Gesamtbiozönose zwischen 0,2 und 16 % lag. Ein direkter Richtungsvektor für die Denitrifikanten konnte nicht bestimmt werden. Weiterhin war zusehen, daß die Gesamtzellzahl in Richtung Wurzel leicht anstieg.

5.1.3 Diskussion der Ergebnisse der Versuche zur Bestimmung der N-Umsetzungen im Wurzelraumreaktor

Die maximalen Umsatzraten der im ersten Teil durchgeführten Versuche mit dem Schwerpunkt der Ermittlung von Koeffizienten für die modellhafte Beschreibung der Nitrifikation sind in Tabelle 5.17 zusammengestellt.

Tab. 5.17: Max. Umsatzraten für die Nitrifikation bezogen auf eine Kinetik 1. Ordnung bestimmt in den Versuchen im bepflanzteten Reaktor

	r_{\max} [mg N/(L d)]	q_{\max} [g N/(m ² d)]
Versuch 1 Teil 1	1,508	0,69
Versuch 1 Teil 2	1,167	0,54
Versuch 2	0,289	0,13
Versuch 3 Teil 1	5,917	2,74
Versuch 3 Teil 2	6,271	2,9
Versuch 4	0,045	0,02

In dieser Zusammenstellung ist zu sehen, daß sich die maximale Reaktionsgeschwindigkeit der Nitrifikation für mit *Schoenoplectus lacustris* beplante Systeme um 6 mg/(L d) bzw. 2,8 g/(d m²) einstellte. Diese ermittelten Umsatzraten liegen im Bereich der in der Literatur publizierten. So berichteten Tanaka et al. (1982) von Umsatzraten für die Nitrifikation um 456 mg/(m² d) ermittelt im Sandfilter, Sikora et al. (1995) von Umsatzraten für die Nitrifikation von 0,5...1,1 g/(m² d) in bewachsenen Bodenfiltern und van Oostrom (1995) von Gesamtstickstoffumsatzraten von 5,2...5,5 g N/(m² d), die ebenfalls im bewachsenen Bodenfiltersystem ermittelt wurden.

Der für die Nitrifikation benötigte Sauerstoff wurde in den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen durch die Pflanzen in den Wurzelraum transportiert. Dieser Versuchsansatz stellte den schlechtesten Fall für die Nitrifikation dar, denn in allen technischen Systemen ist mit einem zusätzlichen Sauerstoffeintrag z.B. durch die Oberflächendiffusion zu rechnen. In diesen Fällen kann dann für die Nitrifikation eine höhere Umsatzgeschwindigkeit angenommen werden.

Wießner et al. (1999) bestimmten Sauerstoffeintragsraten für *Schoenoplectus lacustris* in geschlossenen Systemen nach Gl. (47):

$$\text{ORD} = 0,0799 + 0,6463 \exp \frac{-2^{0,5} | \text{Eh} + 220,993 |}{53,0873} \quad (47)$$

ORD Sauerstoffabgaberate in [mg O₂/ h]
 Eh Redoxspannung in [mV]

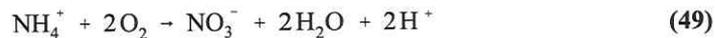
Diese Gleichung beschreibt die Sauerstoffabgaberate als Peak mit einem Maximum bei einem Redoxwert von –220 mV. Weiterhin wurde eine Abhängigkeit der Sauerstoffeintragsraten vom Entwicklungsstadium der Pflanze beschrieben, die bei den in dieser Arbeit benutzten Pflanzen (Höhe ca. 450 mm) um 2,5 mg/(h Pflanze) betrug (Wießner 1999a).

Zur Bestimmung des Sauerstoffeintrages durch die Pflanzen wurden die Halbstundenwerte der Redoxmessungen und die Gleichung (47) benutzt. Eine Darstellung des Modells erfolgt in Box(1).

Eingetragener Sauerstoff durch *Schoenoplectus lacustris*:

$$m_{O_2} = n_{\text{Pflanzen}} \int_{t=\text{Start}}^{\text{Ende}} \text{ORD}(\bar{Eh}) dt \quad (48)$$

m_{O_2}	eingetragene Sauerstoffmenge in [mg]
\bar{Eh}	Halbstundenmittel der Redoxwerte in [mV]
ORD	Sauerstoffeintragsgeschwindigkeit in [mg/h]
n_{Pflanzen}	Anzahl der Pflanzen im Reaktor
t	Versuchslaufzeit in [h]



- stöchiometrischer Sauerstoffverbrauch für Nitrifikation nach Gl. (49): 4,57 g O₂/g N
- empirischer Wert des Sauerstoffverbrauchs (EPA 1975): 4,33 g O₂/g N {in den Berechnungen benutzter Wert}

Box 1 Modelldarstellung zur Berechnung des Sauerstoffeintrages und des Sauerstoffverbrauches für die Nitrifikation

Unter Verwendung der Daten aus dem Versuch mit ¹⁵N–angereichertem Ammonium (Versuch 3) und Box (1) wurden im Versuchszeitraum (200 Stunden) von den 8 Pflanzen 2,016 g O₂ eingetragen. Für die sich im Versuch 4 im Pflanzenreaktor befindliche Menge Ammonium von 935 mg N–NH₄⁺ würden 4,05 g Sauerstoff benötigt. Hierbei ist zu sehen, daß die nach Gl. (47) eingetragene Menge Sauerstoff nicht ausreichte, um den Bedarf bei der Nitrifikation zu decken. Benutzt man die Abschätzung von 2,5 mg/(h Pflanze), so würden 7,2 g Sauerstoff im Versuchszeitraum eingetragen werden, was für die Nitrifikation reichen würde. Daraus ergibt sich eine Differenz von 3,15 g Sauerstoff, die im Reaktorvolumen gelöst sein müßte. Die niedrigen gemessenen Werte des Gelöstsauerstoffes (Temporalwert 0,1...0,6 mg/L) weisen auf den Verbrauch des Sauerstoffes für die Oxidation der organischen Komponenten hin. Daraus kann abgeleitet werden, daß in diesem System eine Konkurrenz der Nitrifikanten mit den heterotrophen Mikroorganismen um den Sauerstoff herrscht. Betrachtungen zur Konkurrenz gehen mit den Beobachtungen (siehe u.a. Tab. 5.11) über die steigende Nitrifikantenanzahl in

Richtung Wurzeloberfläche konform, denn die Wurzeloberfläche stellt unter den gegebenen Versuchsbedingungen den Ort der höchsten Sauerstoffkonzentration dar.

In Tab. 5.18 sind der postulierte Sauerstoffeintrag und theoretische Verbrauch für alle Versuche zusammengestellt. Hierin ist zu sehen, daß die Sauerstoffeinträge in allen Einzelversuchen ausreichen, um den Sauerstoffbedarf bei der Nitrifikation zu decken. Kompliziert wird diese Abschätzung im Umfeld höherer verstoffwechselbarer C-Konzentrationen, bei deren Umsatz ebenfalls Sauerstoff verbraucht wird. Eine Möglichkeit für diese Abschätzung bestände in der theoretischen Berechnung der Sauerstoffverbräuche. Die für komplexe Systeme notwendige strukturierte Modellierungen dieser Gesamtumsetzung gestalten sich aber gegenwärtig bedingt durch die nur sehr spärlichen Daten als unmöglich (Wiesmann 1986). Unter strukturierter Modellierung sollen hier Modelle verstanden werden, die auf der Organismenebene angesiedelt sind. Dieser Modellierung geht die These voraus, daß beim Bekanntsein der Zönosezusammensetzung und der Stoffwechselleistungen der einzelnen Mitglieder bzw. Gruppen eine inkrementelle Zusammensetzung der Abbauleistungen bzw. des Verhaltens der Gesamtzönose denkbar ist.

Tab. 5.18: Zusammenstellung des theoretischen Sauerstoffverbrauches und des postulierten Sauerstoffeintrages über die Pflanzen

	O ₂ -Verbrauch für Nitrifikation [g]	O ₂ -Eintrag durch Pflanzen nach Gl. (47) [g]	O ₂ -Eintrag durch Pflanzen bei 2,5 mg/h [g]
Versuch 1 Teil 1	0,773	2,15	7,68
Versuch 1 Teil 2	0,932	1,75	6,24
Versuch 2	1,251	1,68	6
Versuch 3 Teil 1	3,66	1,34	4,8
Versuch 3 Teil 2	4,048	2,02	7,2
Versuch 4	0,324	1,12	4
Versuch 5	2,061	0,73	2,6

Als tendenzielle Aussage der Versuche und Berechnungen kann geschlußfolgert werden, daß der durch die Pflanzen unter den Versuchsbedingungen eingetragene Sauerstoff (nach Gl. 47) bis zu einem C:N-Verhältnis von ca. 2 und 20 mg N-NH₄⁺/L zur Deckung des Sauerstoffverbrauchs

für die Nitrifikation bei einer mittleren Verweilzeit von 10 Tagen ausreicht. In den Versuchen zeigte sich weiterhin, daß das Systemalter einen entscheidenden Einfluß auf die zu erreichende Nitrifikationsrate hat, so stieg die Nitrifikationsrate in 6 Wochen von 0,134 g N/(m² d) auf 2,90 g N/(m² d) an. Dies kann weiterhin durch die steigende Zellzahl für Nitrifikanten bestätigt werden. Die Zellzahlbestimmung für Nitrifikanten ist jedoch problematisch, denn diese Organismen lassen sich nur schwer kultivieren. Die ebenfalls benutzten rRNA-Sonden bestimmten nur 20–50 % der mit MPN ermittelten Zellzahlen an Nitrifikanten. Dies ist ebenfalls auf die ungenügende Kultivierbarkeit der Nitrifikanten zurückzuführen, wodurch sich auch die schlechte Verfügbarkeit von Nitrifikanten-DNA begründet. Diese DNA stellt jedoch den Ausgangspunkt für die Konstruktion von rRNA-Sonden dar. Umgangen werden kann diese schlechte Verfügbarkeit bzw. Nichtkultivierbarkeit bestimmter Bakterien durch die Herstellung von Klonbanken. Dadurch ergibt sich aber das Problem der Validierung der Sonden, für die man Reinkulturen benötigt. Diese schlechte Verfügbarkeit bedingt wiederum das nur lückenhafte Wissen über die Zusammensetzung von Nitrifikantenpopulationen in natürlichen und technischen Habitaten.

In der neueren Literatur (Wagner et al. 1998, Schramm et al. 1998, Juretschko et al. 1998) wurden Sonden publiziert, die mit Hilfe von Klonierungstechniken entwickelt wurden und somit die realen Verhältnisse bzw. Spezies hinsichtlich der Nitrifikanten widerspiegeln. Zu diesen dominanten Spezies zählen nach Schramm et al. (1998) *Nitrosolobus* und *Nitrococcus*.

Die mit den in dieser Arbeit benutzten Sonden (siehe Tab. 4.3) erfaßbaren Spezies sind in den Dendrogrammen Abb. (31) und Abb. (32) zusammengestellt. Diese Sonden wurden auf der Basis des bisherigen Lehrbuchwissens über die Hauptvertreter der Nitrifikanten entwickelt. Wie oben aber schon dargestellt, spielen diese Spezies – *Nitrosomonas* und *Nitrobacter* – nur eine untergeordnete Rolle in realen Ökosystemen. Um aber eine konsistente Arbeit vorzulegen, wurde auf die Anwendung der zum Ende dieser Arbeit publizierten Sonden bewußt verzichtet.

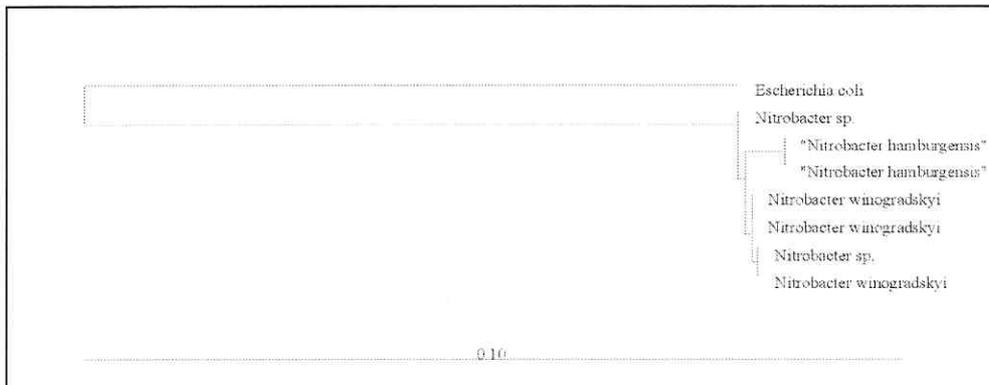


Abbildung 31 Phylogenetischer Baum der Spezies, die mit der Sonde NIT 3 (siehe Tab. 4.3) erfaßt werden. Dieser Baum wurde mit dem Programm ARB unter Verwendung der Datenbank vom 11.02.1999 erstellt.

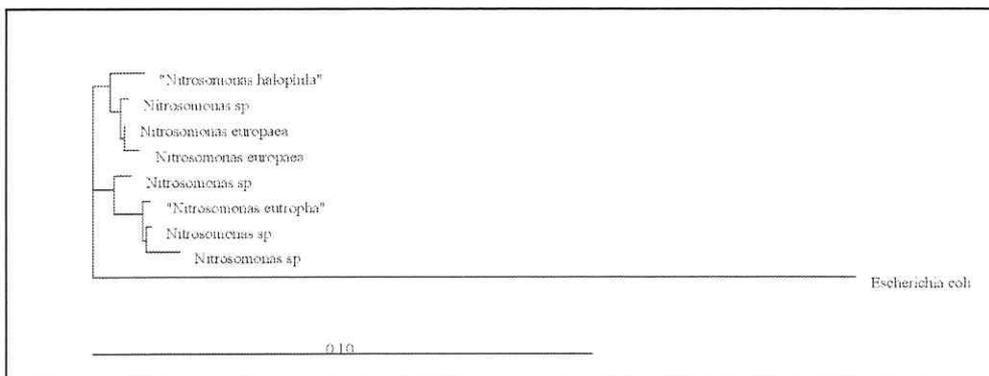


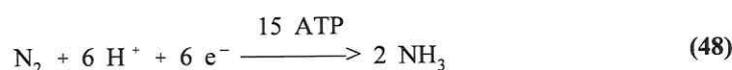
Abbildung 32 Phylogenetischer Baum der Spezies, die mit der Sonde NEU (siehe Tab: 4.3) erfaßt werden. Dieser Baum wurde mit dem Programm ARB unter Verwendung der Datenbank vom 11.02.1999 erstellt.

Ein weiterer Grund für die Diskrepanz zwischen den MNP- und FISH-Zellzahlen liegt in den u.a von Wagner et al. (1995) beschriebenen Nitrifikantenclustern, diese Cluster ließen sich nicht homogenisieren und damit auch nicht auszählen. Dieses Problem kann durch Verwendung der konfokalen Laserscanningmikroskopie gelöst werden, denn hier wird durch die optische Trennung der Schichten ohne Homogenisierung gearbeitet.

Der Unterschied in der niederen maximalen Reaktionsgeschwindigkeit des ersten Versuches zu den folgenden ist auf die Reinigung und Neubepflanzung des Reaktors sowie der Zuführung neuer Biomasse zurückzuführen. Der erste Versuch wurde am Ende einer längeren Einfahr- und

Testphase von ca. 3,5 Monaten durchgeführt. In dieser Zeit entwickelte sich eine nitrifizierende Biozönose. Diese These kann weiterhin durch die Steigerung der Nitrifikationsraten in den dann folgenden Versuchen und dem Vergleich der Zellzahlbestimmungen (Tab. 5.7 und Tab. 5.11) gefestigt werden. Die Zellzahlbestimmungen kombiniert mit den Erkenntnissen aus den kinetischen Betrachtungen zeigen eine Wachstums- bzw. Biomasseabhängigkeit der Umsetzung. Dies entspricht dem Typ I der Wachstumssysteme nach Gaden (1959). Diese Klassifizierung hat Einfluß auf die Modellbildung, wie noch zu sehen sein wird.

Im unbepflanzten Reaktor (Abb. 13) zeigte sich, daß die Ammoniumkonzentration über den Versuchszeitraum zunahm. Der Prozeß der Mineralisation, also der Umsetzung von organischen Stickstoffkomponenten wie Aminosäuren, war bedingt durch den Einsatz eines an organischem Stickstoff freien Modellabwassers nicht möglich. Die hierfür notwendigen Stoffe müßten also aus der abgestorbenen Biomasse stammen. Eine weitere alternative Erklärung liegt in der nicht symbiotischen Stickstofffixierung. Bei diesem Prozeß wird Luftstickstoff von Bakterien zu Ammonium reduziert (siehe Gl. 48).



Unklar hierbei ist das Regulierungssystem, denn es kommt üblicherweise nur zu einer N-Fixierung, wenn keine andere N-Quelle verfügbar ist. Im Fall von Ammonium liegt die Grenzkonzentration bei 1,4 mg N/L (Riesenberg et al. 1988).

Die zahlenmäßig starke Präsenz an Bakterien, die zur N-Fixierung befähigt sind, ist in Tabelle 5.5 dargestellt. In Bezug auf die N-Fixierung bei der Anwesenheit von Ammonium bzw. Nitrat existieren nach jetzigem Kenntnisstand nur Arbeiten über die landwirtschaftlich bedeutende symbiotische N-Fixierung (Goi et al. 1993). In der Literatur existieren ferner einige Hinweise auf die N-Fixierung in natürlichen Feuchtgebieten. So beschreibt Biesboer (1984) mit der Acetylenreduktionsmethode die N-Fixierung mit *Typha latifolia* als Hauptpopulation. In den untersuchten Proben wurde mit 0,04 % ein Gesamtstickstoffgehalt bestimmt, der wesentlich unter dem dieser Arbeit liegt.

Der Tabelle 5.5 ist weiterhin für den bepflanzten Reaktor ein ähnliches Potential zur Stickstofffixierung zu entnehmen. Dieses getrennt bestimmte Potential zur N-Fixierung ist aber noch nicht als Beweis für die real ablaufende N-Fixierung zu sehen. Zur Klärung einer eventuell

ablaufenden N-Fixierung in den Reaktoren wurde die Acetylenreduktionsmethode (Abs. 4.5.2) benutzt. Ein positives Ergebnis dieser Methode kann zusammen mit der ^{15}N -Tracerverdünnung im Versuch 4 als eindeutiges Indiz einer real ablaufenden N-Fixierung dienen. Der zuvor durchgeführte Test auf endogene Ethylenproduktion war für beide Reaktoren negativ (< 10 ppm). Die Messungen der Ethylenkonzentration nach 12 Stunden nach der Zugabe von Acetylen in die Reaktoren zeigte eine Ethylenkonzentration von 97 ppm für den bepflanzteten und 115 ppm für den unbepflanzten Reaktor an. Somit existiert ein weiteres Indiz für die Stickstofffixierung in beiden Reaktoren.

Weiterhin deuten die Informationen aus dem Versuch mit ^{15}N -angereichertem Ammonium auf eine N-Fixierung bzw. auf die Ammonifikation hin. In diesem Versuch wurde eine Isotopenverdünnung des Ammoniums festgestellt (siehe Abb. 20). Der ^{15}N -Ammoniumversuch (Versuch 4) zeigte, daß dieses Phänomen auch im bepflanzteten Reaktor stattfand, was ohne ^{15}N -Methoden nicht festgestellt werden konnte. Im Versuchszeitraum von ca. 200 Stunden wurden das Ammonium mit 5,2 mg/L nicht angereichertem Stickstoff verdünnt. Diese Menge entsprach etwa 50 % des eingesetzten Ammoniums. Eine eindeutige Differenzierung zwischen den Prozessen der Ammonifikation und N-Fixierung wäre durch Ausschluß vom Luftstickstoff oder Zugabe von ^{15}N angereichertem Luftstickstoff in den Gasraum möglich.

Die in dem Pflanzenreaktor durchgeführten Versuche zeigten weiterhin, daß das bei der Nitrifikation gebildete bzw. das zugesetzte Nitrat bei hinreichender Konzentration an verstoffwechselbaren C-Quellen durch die Denitrifikanten über Stickoxide bis zum N_2 reduziert wurde. Ein Teil der Stickoxide wurden durch die Denitrifikanten nicht unmittelbar bis zum N_2 reduziert, sondern trat als freie Metabolite im Kopfraum auf. Das Auftreten dieser Metabolite ist eine Frage der Bildungs- und Umsetzungsgeschwindigkeit. Die on-line-Messungen im Kopfraum des Pflanzenreaktors ergaben eine zeitliche Abfolge der Stickoxide wie in Abb. 33 dargestellt.

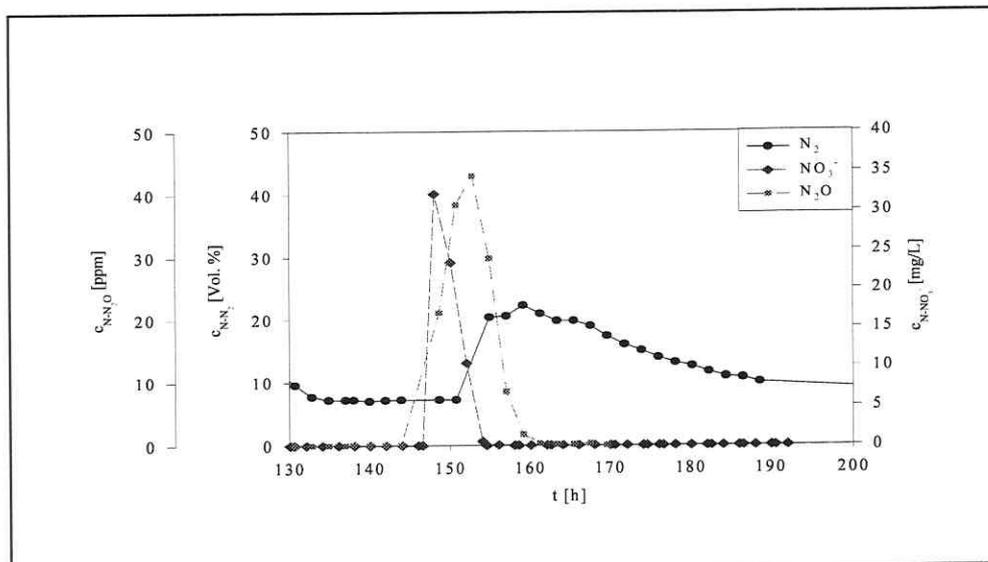


Abbildung 33 Zeitlicher Ausschnitt aus den NO_3^- , N_2O - und N_2 -Konzentrationen eines Versuchs (Versuch 5 Peak 3) zur Denitrifikationskinetik im bepflanzteten Reaktor

Aus Abb. (33) ist eindeutig die zeitliche Abfolge der unterschiedlichen Reduktionsstufen zu entnehmen. Der Unterschied zwischen dem Nitratpeakmaxima und dem von N_2O betrug 4,8 Stunden und der zwischen dem N_2O - und N_2 -Peak betrug 6,3 Stunden. Diese Unterschiede lassen sich auf die stufenweise Reduktion der Stickoxide (siehe Gl. 22) zurückführen. Die Analyse aller Peaks ist in Tab. 5.19 zusammengestellt und zeigt, daß es eine Variation in den Abständen für das Auftreten der Metabolite in der Gasphase gibt. Aus dieser Tatsache läßt sich ableiten, daß die Dynamik dieser Prozesse nicht nur von der max. Reaktionsgeschwindigkeit und Sättigungs- sowie Inhibierungskonstante der einzelnen Schritte, sondern auch von weiteren Steuergrößen beeinflusst wird. Einige dieser Faktoren wurden bei der Bestimmung der Bildungs- und Verbrauchsgeschwindigkeiten von Wicht (1995) untersucht. Die Analyse der Schwankungen im Auftreten der einzelnen Peaks deutet aber auf weitere Einflußgrößen neben CSB, pH-Wert und Sauerstoffkonzentration hin. Weitere Einblicke in dieses komplexe dynamische System wären unter Verwendung von ^{15}N -Tracertechniken und enzymatischer oder molekularbiologischer Methoden möglich.

Tab. 5.19: Zeitabstände für die Intermediatpeaks im Denitrifikationsversuch

	mittlere Peakabstände in h
Nitratreduktion	9,39 ± 4,48
Nitritreduktion	24,56 ± 11,7
N ₂ O-Reduktion	11,32 ± 10,26

Die vorkommenden gasförmigen Metabolite Lachgas und NO treten als Problemstoffe („Ozonkiller“) in der Atmosphärenchemie auf. So beschrieb Fabian (1992), daß der atmosphärische NO_x-Zyklus für den Abbau von ca. 25 % des Ozons verantwortlich ist. In diesem Zusammenhang wurden die Emissionsraten während der Versuche abgeschätzt. Dazu wurde das in Box (2) dargestellte Modell benutzt:

$$\bar{t} = \frac{V_{\text{Kopfraum}}}{\dot{V}}$$

$$m_i = c_i V_{\text{Kopfraum}}$$

$$r_{E, i} = \frac{m_i}{t}$$

\bar{t}	Verweilzeit in [h ⁻¹]
V_{Kopfraum}	Gasvolumen im Reaktor in [L]
\dot{V}	Trägergasvolumenstrom in [L/h]
c_i	Konzentration des Analyten i in [ppm]
m_i	Masse des Analyten i im Kopfraum [mg]
$r_{E, i}$	Emissionsrate des Analyten i in [mg/h]

Box 2 Berechnungsansatz für die Emissionsraten im Wurzelraumreaktor

Aus der Bilanzierung des Kopfraumes (siehe Box 2) lassen sich für den bepflanzten Reaktor die in Tab. 5.20 zusammengestellten Emissionsraten ableiten.

Tab. 5.20: Emissionsraten der Stickoxide im bewachsenen Wurzelraumreaktor (berechnet nach Modell in Box 2)

	N ₂ O	NO
mittlere Emissionsrate	5,28 µg/(m ² h)	12,33 µg/(m ² h)
max. Emissionsrate	36,17 µg/(m ² h)	182,01 µg/(m ² h)

Für den unbepflanzten Reaktor ergaben sich für die mittlere N₂O–Emissionsrate ein Wert 3,6 µg/(m² h) und ein Maximalwert von 87 µg/(m² h). NO–Emissionen wurden für diesen Reaktor nicht bestimmt, da in diesem keine Versuche mit angereicherten ¹⁵N–Verbindungen durchgeführt wurden und die NO–Analytik an die ¹⁵N–Versuche gekoppelt war.

In der Literatur existieren sehr unterschiedliche Angaben zu Emissionsraten von NO und NO₂ aus technischen und landwirtschaftlichen Systemen. Christensen et al. (1996) berichteten von maximalen Emissionsraten in landwirtschaftlichen Feldern von 162–202 µg N–N₂O/(m² h). Velthof et al. (1996) beschrieben für Grasflächen N₂O–Abgaberaten von 8,3 bis 47,9 µg N–N₂O/(m² h). Benckiser et al. (1996) beschrieben für kommunale Abwasserkläranlagen Emissionsraten von 0...204,3 mg N₂O/(m² h) für die Nitrifikationsstufe und 0...2,2 mg N₂O/(m² h) für die Denitrifikationsstufe. Die in dieser Arbeit ermittelten Werte zeigen somit eine tendenzielle Übereinstimmung mit den Literaturwerten von Velthof et al. (1996) und liegen unter den Werten von Benckiser et al. (1996) für kommunale Abwasseranlagen, welche als Belebungsanlage ausgeführt wurden. An diesem direkten Vergleich mit der kommunalen Anlage von Benckiser et al. (1996) wird deutlich, daß bei bewachsenen Bodenkörpern zum einen durch die geringere Turbulenz und dem damit verbundenen geringen Gasaustausch mit der Atmosphäre zum anderen durch die grundlegend andere Technologie wesentlich geringere Emissionsraten zu erwarten sind.

Die höheren N₂O–Emissionsraten aus dem bepflanzten Reaktor lassen sich über die Inhibierung der N₂O–Reduktase durch den über die Pflanzen eingetragenen Sauerstoff erklären, denn die an der Denitrifikation beteiligten Enzyme haben unterschiedliche Empfindlichkeiten gegenüber Sauerstoff (Knwoles 1982). In dem unbepflanzten Reaktor wird das gebildete N₂O durch die N₂O–Reduktase schneller weiter reduziert und kann so nur in geringeren Konzentrationen nachgewiesen werden.

Die denitrifizierenden Bakterien benötigen für die Durchführung der Denitrifikation Reduktions-

äquivalente (im allgemeinen organische C-Quellen). Aus diesem Grund ist das C:N-Verhältnis einschließlich des Oxidationsgrades der C-Verbindungen von entscheidender Bedeutung. Die Beobachtung, daß ein C:N-Verhältnis ab 2 zu einer kompletten Denitrifikation führte, stimmt mit der von Her et al. (1995) überein. Weiterhin war zu sehen, daß es bei niedrigeren Verhältnissen zur Anreicherung von Nitrit in der Lösung kam. Eine Analyse der linearen Abhängigkeit der Umsatzraten vom C:N-Verhältnis zeigte für den unbepflanzten Reaktor mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,979 eine eindeutige Abhängigkeit. Die gleiche Analyse ergibt für den bepflanzten Reaktor mit einem r^2 von 0,667 einen schlechten linearen Zusammenhang. Die in Tabelle 5.17 zusammengestellten Umsatzraten zeigen eindeutig, daß die Denitrifikation nicht der limitierende Prozeß bei der N-Umsetzung in bewachsenen Bodenfiltern bei hinreichendem Angebot an verstoffwechselbaren C-Quellen ist.

Im Versuch 6 wurde deutlich, daß die Hauptquelle der Stickoxide das Nitrat war, es aber auch eine sehr starke Verdünnung der aus der Denitrifikation stammenden Gase durch nichtangereicherte Verbindungen gab. Dieses Phänomen wurde ebenfalls bei der Nitrifikation festgestellt und ist durch die Verdünnung über den Gaseintrag der Pflanzen erklärbar. Weiterhin wurde in diesem Versuch unter Verwendung von ^{15}N -Nitrat für die Nitratammonifikation eine Umsatzrate von 0,57 mg N/(L d) bestimmt. Dieser Prozeß spielt durch seine geringe Umsatzrate in bewachsenen Bodenfiltern bezüglich deren Auslegung eine zu vernachlässigende Rolle.

Zur Überprüfung der Relevanz dieser unter Laborbedingungen bestimmten Daten wurden die Untersuchungen von Wießner et al. (1999) für eine 125 m² große horizontal durchströmte Anlage mit einer mittleren Umsetzungsrate für Ammonium von 0,63 g NH₄⁺-N/(m² d) für die Frühjahrs- und Sommerperiode herangezogen. Platzer (1998) publizierte ebenfalls eine Gesamtstickstoffumsatzrate für kommunale Systeme von 0,65 g/(m² d).

Die Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Experimente zur Nitrifikation sind in Tab. 5.17 zusammengestellt. Dort zeigt sich, daß diese mit der oben aufgeführten Literatur vergleichbar sind. Wie Tab. 5.21 zeigt, lag die Umsatzrate der Denitrifikation im bepflanzten Reaktor um ca. eine Zehnerpotenz über der Nitrifikationsleistung. Aus diesem Grund stellt die Nitrifikation den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar und wurde hier zum Vergleich mit den Veröffentlichungen von Wießner et al. (1999) und Platzer (1998) herangezogen.

Tab. 5.21: Zusammenstellung der maximalen Denitrifikationsraten in den Versuchen im be-
 pflanzten und unbepflanzten Wurzelraumreaktor (Peak Nummer bezieht sich auf Tab. 5.13 auf
 Seite 73)

Peak Nr.	bepflanzter Reaktor		unbepflanzter Reaktor	
	r_{\max} [mg/(L h)]	q_{\max} [g/(m ² h)]	r_{\max} [mg/(L h)]	q_{\max} [g/(m ² h)]
1	10,867	5,03	24,812	11,49
2	3,572	1,65	35,924	16,64
3	11,607	5,38	2,153	1,00
4	14,004	6,49	3,507	1,62

Die Veröffentlichung von Wießner et al. (1999) ist von besonderem Interesse, denn das dort beschriebene Untersuchungsobjekt stellte die Quelle der hier benutzten Mischpopulation dar. Weiterhin wurden die hier beschriebenen Versuche in Anlehnung an diesen publizierten Problemfall, der Reinigung von Kohlepyrolyseabwässern, durchgeführt.

Im folgenden wird gezeigt, daß die im Labor betriebenen Wurzelraumreaktoren und die von Wießner et al. (1999) beschriebenen Systeme ein tendenziell vergleichbares Verhalten hinsichtlich der Bruttoumsatzleistungen des Stickstoffverbindungen aufweisen. Zu klären bleibt bei diesem Vergleich noch die Rolle der Sauerstoffeintragspfade, denn der Sauerstoff wird in die Wurzelraumreaktoren nur über die Pflanzen transportiert und im realen technischen Vergleichssystem sind zudem noch Konvektions- und Diffusionspfade denkbar. Es war aber nicht Gegenstand dieser Dissertation, den Anteil dieser weiteren Sauerstoff eintragenden Prozesse in dem horizontal durchströmten technischen System zu klären. Aus diesem Grund werden sie zur Vereinfachung der Übertragung als vernachlässigbar klein angenommen. Wießner et al. (1999) beschrieben eine im Auslauf des Pflanzenbeetes analysierte mittlere Nitratkonzentration zwischen 2,5 und 4 mg NO₃⁻-N/L. Diese deutet auf eine Unterversorgung an umsetzbaren C-Quellen hin. Ein entsprechendes Verhalten wurde hier experimentell im Versuch 3 Teil 2 beschrieben und konnte auch in den Modellrechnungen (siehe Abs. 5.5) gezeigt werden. Aus diesen Betrachtungen folgt die Eignung der Modellversuche zur Aufklärung der inneren N-Stoffflüsse und der daran beteiligten Prozesse. Die Beteiligung der unterschiedlichen Hauptprozesse am Gesamtprozeß der N-Umsetzung ist in Abbildung (34) stark vereinfacht dargestellt.

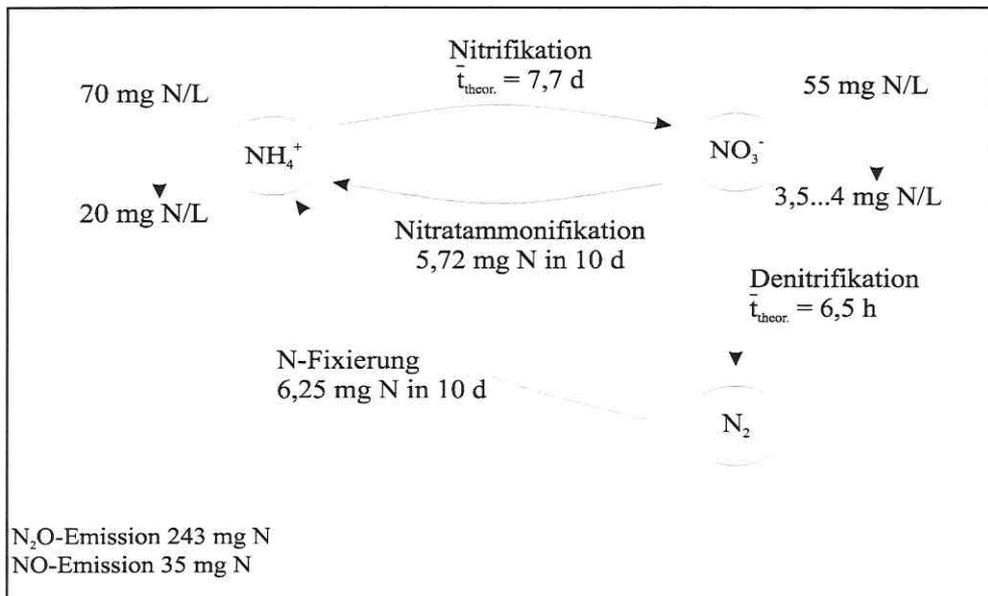


Abbildung 34 Beteiligung der einzelnen Prozesse am Gesamtprozeß der N-Umsetzung unter Verwendung der hier experimentell ermittelten Kinetiken und einem theoretischen bepflanzten Bodenkörper von 125 m² und einem Einlaufvolumenstrom von 117 L/h (Einlaufkonzentrationen: NH₄⁺ = 70 mg N/L, NO₃⁻ = 5 mg N/L)

In Abb. (34) ist zu erkennen, daß die Umsetzung von 55 mg Ammoniumstickstoff eine Verweilzeit von 7,7 Tagen und die Reduktion des entstandenen Nitrats 6,5 Stunden theoretische Verweilzeit bedingen. Die in den Berechnungen für Abb. (34) angesetzten Ausgangs- und Zielgrößen wurden der Veröffentlichung von Wießner et al. (1999) entnommen. In dieser Veröffentlichung wurde eine mittlere Verweilzeit von 10 Tagen angegeben, so daß die berechnete Mindestverweilzeit von ca. 8 Tagen dieser tendenziell unter der Prämisse der oben dargestellten Sauerstoffeintragungsproblematik entspricht. Aus diesen Betrachtungen kann geschlußfolgert werden, daß die Nitrifikation und die Denitrifikation die Hauptumsetzungsmechanismen in Pflanzenkläranlagen sind. Die Nitrifikation stellt den kinetisch langsamsten Schritt und damit den geschwindigkeitsbestimmenden Teilprozeß dar. Weiterhin kann aus dem Vergleich der hier abgeschätzten N-Fixierung von 0,62 mg/d und den in der Literatur (Biesboer 1984) beschriebenen Wert von 1,4 g/d geschlußfolgert werden, daß dieser Prozeß eine untergeordnete Rolle spielt.

Im Ergebnisteil und der Diskussion dieses Kapitels wurde der Punkt 1 des Abs. 3 bearbeitet. Die wesentlichen Ergebnisse dieses Kapitels sind im folgenden zusammengestellt:

- In diesem Abschnitt wurden in einem Modellsystem reaktionskinetische Modelle für die Nitrifikation und Denitrifikation (durch direkte Zugabe von Nitrat unabhängig von der Nitrifikation) unter Berücksichtigung des C:N-Verhältnisses aufgestellt. Dabei wurde eine maximale Umsatzleistung von ca. 0,12 g N/(m² h) für den Teilprozeß der Nitrifikation und 6,4 g N/(m² h) für die Denitrifikation ermittelt. Die kinetischen Ansätze unter Verwendung einer Formalkinetik 1. Ordnung beschreiben die untersuchten Prozesse hinreichend genau.
- Der Prozeß der Nitrifikation ist unter den gewählten Versuchsbedingungen im bewachsenen Bodenfilter der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, denn wie die mittlere Nitrifikationsrate von 48 mg N/(m² h) zeigte, liegt sie unter der mittleren Denitrifikationsrate von 4,64 g N/(m² h). Diese geringere Umsatzgeschwindigkeit der Nitrifikation ist auf die ungenügende Sauerstoffversorgung in dem Untersuchungssystem zurückzuführen, denn es konnte unter den gegebenen Versuchsbedingungen nur über die Pflanzen Sauerstoff eingetragen werden.
- Für die Denitrifikation wurde festgestellt, daß ein C:N-Verhältnis von über 1,55 zu einer spontan einsetzenden Denitrifikation ohne Anreicherung von Stickoxiden und Nitrit führte. Somit ist die Denitrifikation in einem bewachsenen Bodenfilter bei ausreichender Versorgung mit C-Quellen nicht der limitierende Prozeß für den Gesamtprozeß der N-Elimination.
- Aus den Versuchen im bepflanzten Reaktor wurde eine mittlere Emissionsrate für N₂O von 5,28 µg N/(m² h) und für NO eine Emissionsrate von 12,33 µg N/(m² h) ermittelt. Diese liegen unter den Bereichen, die für Belebtschlammanlagen beschrieben wurden (Benckiser et al. 1996). Weiterhin zeigte sich, daß die NO- und N₂O-Emissionen wie auch die Gesamtumsatzreaktionen bei einer Bepflanzung mit *Schoenoplectus lacustris* unabhängig von dem Beleuchtungsrhythmus sind.
- Die Existenz der parallel ablaufenden nichtsybiotischen Stickstofffixierungs- und Nitratammonifikationsschritte konnte unter Verwendung von ¹⁵N-Techniken aufgezeigt werden. Das Abfließen der nichtsybiotischen Stickstofffixierung in diesem ammoniumhaltigen System konnte ebenfalls durch die Ethinreduktion bestätigt werden. Der Prozeß

der nichtsybiotischen N-Fixierung war in einem ammoniumhaltigen Wasser unerwartet, da er nach klassischem Wissen von Ammonium inhibiert wird und unter den untersuchten Bedingungen bisher noch nicht beschrieben wurde.

Nachdem in diesem Abschnitt die kinetischen und metabolischen Zusammenhänge der Nitrifikation und Denitrifikation beschrieben wurden, sollen im nächsten Abschnitt die räumliche Verteilung der Denitrifikanten im bewachsenen Bodenfilter untersucht und diskutiert werden. Diese Darstellung hat Auswirkungen für die Konstruktion von Pflanzenkläranlagen, denn um den Vorfluter nicht mit Nitratfrachten zu belasten, ist eine Entfernung des Nitrats bzw. Nitrits aus dem Wasser notwendig. Dieser Abschnitt soll Anhaltspunkte für die Interaktion der an den N-Umsetzungen beteiligten Mikroorganismen geben. Die bevorzugten Aufenthaltsorte der Nitrifikanten sind einfacher herleitbar und auch durch Messungen belegbar, denn diese Organismengruppe benötigt Sauerstoff für ihren Metabolismus. Daher ist mit einer Zunahme der Nitrifikantenanzahl in Richtung Wurzeloberfläche und zur Grenzfläche Flüssigkeit-Atmosphäre zu rechnen.

5.2 Bestimmung der Verteilung von Denitrifikanten im Wurzelraum

Dieser Abschnitt soll die Aufenthaltsorte der Denitrifikanten im Wurzelbereich darstellen. Da die Mitglieder dieser Organismengruppe sowohl über einen anaeroben als auch aeroben Stoffwechsel verfügen, ist nicht mit einem eindeutigen Gradienten wie bei den Nitrifikanten zu rechnen. Energetisch gesehen ist der aerobe Stoffwechsel ertragsreicher, bedingt aber aerobe Zonen wie z.B. Wurzeloberfläche und Wasser-Atmosphären-Grenzfläche. Hier ist mit einer höheren Besiedelung und damit mit einem stärkeren Verbrauch an C-Quellen und Sauerstoff zu rechnen, was zu lokalen Limitationen führt. Ziel dieses Abschnittes ist die Beurteilung der Rolle des Gehaltes an C-Quellen für den Aufenthaltsort um damit Rückschlüsse für die Gestaltung von anaeroben denitrifizierenden Zonen ziehen zu können.

5.2.1 Ergebnisse zur Verteilung der Denitrifikanten im Wurzelraum

In fünf mit sterilem Quarzsand befüllten Hydroponikgefäßen wurde *Schoenoplectus lacustris* eingepflanzt. Die benutzten Pflanzen waren im gleichen Entwicklungsstadium und hatten ein

Frischgewicht von je $26,26 \pm 1,96$ g. Der Nährlösung (siehe Abs. 4.3) wurden unterschiedliche Konzentrationen an Benzoat und Acetat (Tab. 5.22) in gleichen molaren Anteilen zugesetzt. Der Quarzsand wurde zu Versuchsbeginn mit der Nährlösung gesättigt. Der Flüssigkeitsspiegel wurde täglich mit dest. Wasser auf konstantem Höhenniveau (5 mm über der Sandoberfläche) gehalten.

Tab. 5.22: Zusammenstellung der Anfangskohlenstoffkonzentration und der Anzahl an Denitrifikanten am Beginn und Ende des Versuches nach 12 Tagen

Versuchsreihe	zugegebener organischer Kohlenstoff [mg/L]	als Inokulum zugegebene Zellkonzentration [Zellen/g Sand]	Wurzeloberfläche [Zellen/g Sand]	Wurzelraum [Zellen/g Sand]	unbeeinflusster Raum [Zellen/g Sand]
Den. 1	0	558,8	$15,0 \cdot 10^3$	$19,4 \cdot 10^3$	0
Den. 2	10,36	565,6	$11,1 \cdot 10^3$	$15,0 \cdot 10^3$	
Den. 3	24,15	591,9	$20,3 \cdot 10^3$	$13,8 \cdot 10^3$	315,2
Den. 4	50,86	575,9	$25,3 \cdot 10^3$	$10,4 \cdot 10^3$	
Den. 5	463,2	561,3	$20,9 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^3$	889,4

Die Zellzahl im Wurzelraum (siehe Tab. 5.22) zeigte einen direkten Zusammenhang mit dem C-Gehalt in der Lösung. So nimmt die Denitrifikantenanzahl mit zunehmendem C-Gehalt im Wurzelraum ab. Im unbeeinflussten Bereich hingegen wird mit zunehmendem C-Gehalt auch eine Zunahme der Denitrifikantenanzahl beobachtet. Die Zellzahlen von der Wurzeloberfläche geben kein klares Bild, denn hier gibt es erheblich methodische Schwierigkeiten mit der Bezugsgröße.

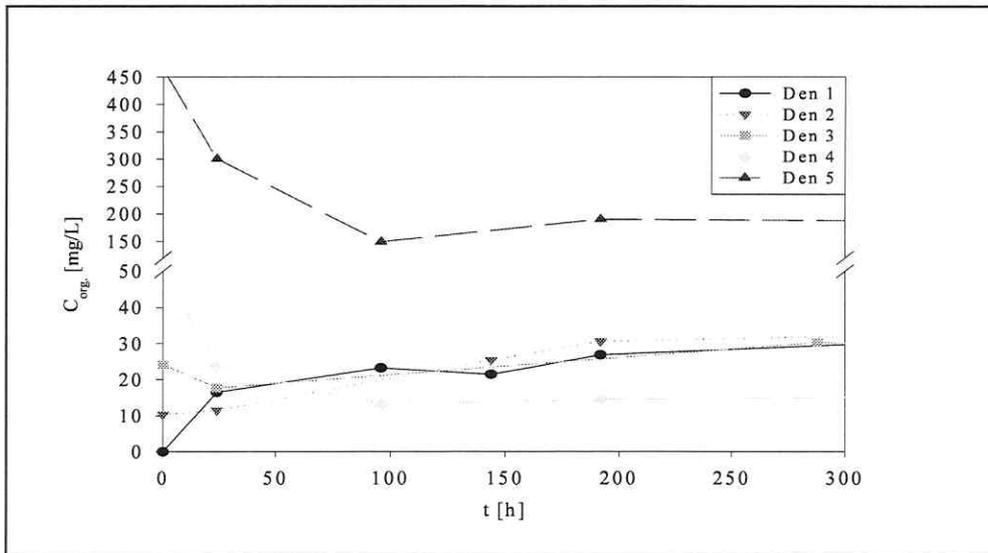


Abbildung 35 TOC-Konzentrationsverläufe der einzelnen Versuchsreihen zur Aufklärung der radialen Verteilung von Denitrifikanten im Wurzelraum

In Abbildung (35) sind die TOC-Werte für die einzelnen Versuche dargestellt. Es ist zu sehen, daß in den Gefäßen mit hohem Gehalt an organischem Kohlenstoff (Den. 4 und Den. 5) dieser über die Zeit abnahm und in den Gefäßen mit niedrigeren Konzentrationen an Kohlenstoff diese leicht anstieg.

Die Nitratkonzentrationen (Abb. 36) und die TOC-Konzentration (Abb. 35) in diesen Versuchsansätzen nahmen mit der Zeit ab.

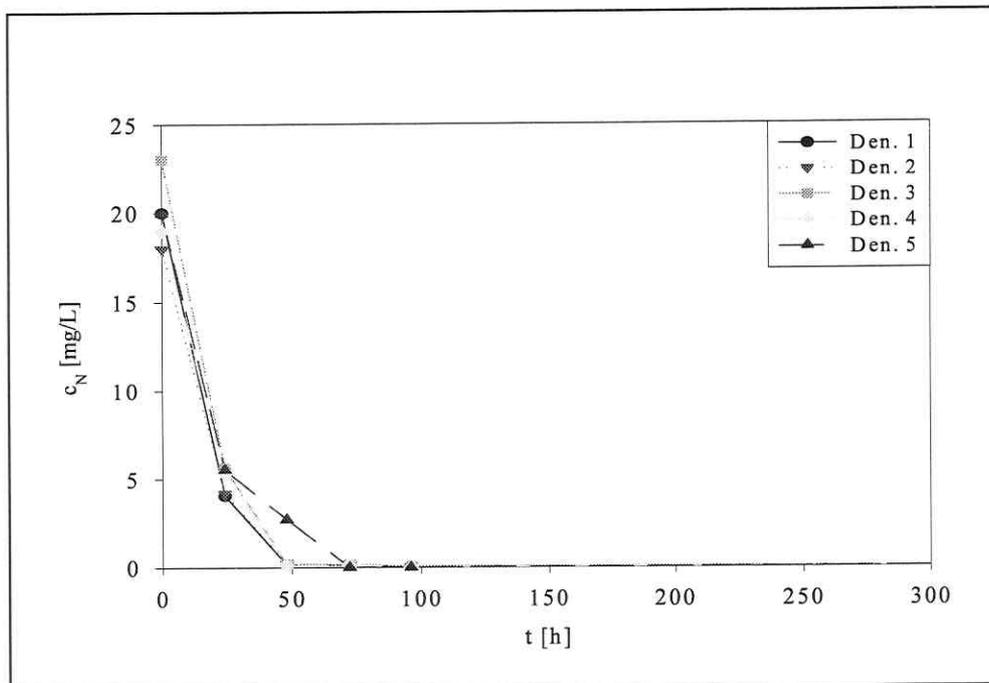


Abbildung 36 Nitrat-Konzentrationsverläufe der einzelnen Versuchsreihen zur Aufklärung der radialen Verteilung der Denitrifikanten im Wurzelraum in Abhängigkeit von Gehalt an C-Quellen

Die Abnahme der Nitratkonzentrationen läßt sich auf die Denitrifikationsaktivität in den Versuchsansätzen zurückführen, denn experimentell konnte die Nitratammonifikation nicht nachgewiesen werden. Nitrit wurde als Peak in den ersten 50 Stunden bis zu einem Gehalt von 40 % der anfänglich zugesetzten Menge an Nitrat nachweisbar. Das Entstehen und die Abnahme des Nitritgehaltes zu Beginn des Versuches kann ebenfalls als Indiz für die Denitrifikation gewertet werden.

5.2.2 Diskussion der Ergebnisse zur Verteilung der Denitrifikanten im Wurzelbereich in Abhängigkeit der C-Quellen

Die Zunahme der C-Konzentration in den Versuchen (siehe Abb. 35) kann nicht durch eine Konzentrierung durch Verdunstung des Wassers erklärt werden, denn über den Versuchszeitraum wurde der Flüssigkeitsfüllstand mit dest. Wasser konstant gehalten, so daß diese Konzentrierung auf Rhizodepositionsprodukte zurückgeführt wird. Die Denitrifikation kann

durch die beobachtete Abnahme des zugesetzten Nitrats bei gleichzeitiger Abnahme der C-Quellen und initialer Bildung freien Nitrits nachgewiesen werden. Aus den Abbildungen (35) und Abb. (36) wird weiterhin deutlich, daß die Denitrifikation organische Reduktionsäquivalente nutzte, denn nach der vollständigen Umsetzung des Nitrats (zwischen 50 und 100 Stunden) nahm auch die Konzentration der C-Quellen nicht mehr ab.

In diesem Versuchskomplex konnte gezeigt werden, daß die Anzahl an Denitrifikanten mit abnehmender Konzentration an C-Quellen in der Lösung in Richtung Wurzel zunimmt. Weiterhin wurde deutlich, daß unabhängig von dem Angebot an C-Quellen in der Lösung wesentlich mehr Denitrifikanten im Wurzelraum sind als in dem von Wurzeln unbeeinflussten Bereich. Die Zellzahlen auf bzw. in Wurzeln geben kein klares Bild, eine Erklärung dafür liegt in der problematisch faßbaren Bezugsgröße. Als ideale Größe wird allgemein die Wurzeloberfläche angenommen, die aber noch nicht ohne erheblichen Aufwand und Fehler bestimmt werden kann (Gilbert et al. 1995).

Aus den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen wird geschlußfolgert, daß der Nitrat- bzw. Nitritgehalt und das Angebot an organischem Kohlenstoff einen entscheidenden Einfluß auf die Verteilung der Denitrifikanten im Wurzelraum haben. Williams et al. (1994) zeigten durch statistische Analysen, daß das Redoxpotential, die Nitrit- bzw. Nitratgehalte, die Temperatur und der Gehalt an Biomasse als Haupteinflußgrößen der Denitrifikantenverteilung in Wurzelraumanlagen und deren Umsetzungspotentiale auftreten. Eine Einflußgröße, die die Gradienten in der Rhizosphäre erklären könnten, wurde von Nijburg et al. (1997) untersucht. Hier wurde festgestellt, daß die Gesamtzellzahl im Rhizosphärenbereich mit zunehmendem Nitratgehalt in der Lösung anstieg. Dieses Verhalten wurde weiterhin auch für die nitratreduzierenden Stämme in diesen Versuchen bestimmt. Der Grund hierfür ist sicher darin zu suchen, daß keine zusätzliche C-Quelle den Versuchsansätzen zugeführt wurde und daher die C-Quellen allein auf die Rhizodepositionsprodukte zurückgeführt werden können. In diesen Versuchen zeigte sich weiterhin, daß in den Versuchsansätzen mit einem geringen Nitratgehalt eine hohe Ammoniumproduktion stattfand.

In den nächsten Abschnitten erfolgt die Darstellung der Untersuchungen zum Einfluß „nicht-klassischer“ Stickstoffumsetzungen. Diese Untersuchungen haben eine allgemeine Bedeutung und insbesondere auch für den gewählten Problemfall der Reinigung des Kohlepyrolyseabwassers mittels Pflanzenkläranlagen. Hierfür ist zum einen die im Abschnitt 5.4 dargestellte Chemodenitrifikation bedingt durch die hohen Huminstoffgehalte in den zu

reinigenden Wässern des Problemfalls und die anoxische Ammoniumoxidation bedingt durch das technische Interesse der Umsetzung von Ammonium und Nitrat/Nitrit in einer „Reaktion“ interessant. Im folgenden Abschnitt wird zunächst auf die anoxische Ammoniumoxidation eingegangen.

5.3 Untersuchung der anoxischen Ammoniumoxidation an unterschiedlichen Habitaten

In diesem Abschnitt wird versucht, die Existenz der Stoffwechselleistung der anoxischen Ammoniumoxidation zu bestätigen. Die Motivation zu diesen Untersuchungen stammt aus der Tatsache, daß diese Umsetzung von hohem technischen Interesse ist, denn diese Umsetzung entfernt gleichzeitig Ammonium und Nitrat über Nitrit aus dem Wasser ohne Zugabe von organischen Reduktionsäquivalenten. Diese Tatsache bedeutet weiterhin, daß sich der Sauerstoffbedarf des Systems zur Stickstoffentfernung verringert. Zu diesem ökonomischen Vorteil kommt noch die große Umsatzleistung für Ammonium und Nitrit der anoxischen Ammoniumoxidation, was das Verfahren zunehmend interessant macht.

Sedimente unterschiedlicher Habitats werden dahingehend untersucht, ob sie zu dieser Umsetzung befähigt sind. Ist das der Fall, sollte mit den in diesem Zusammenhang entwickelten Nachweismethoden die Existenz der anoxischen Ammoniumoxidation in bewachsenen Bodenfiltern überprüft werden. In diesen Anlagen könnte sich die anoxische Ammoniumreaktion etablieren. Die Gründe für diese Vermutung liegen in dem Charakter der Pflanzenkläranlagen als Festbettssysteme und der daraus folgenden hohen Verweilzeit der sessilen Mikroorganismen im Bodenkörper begründet. Weiterhin kann durch den Charakter der bewachsenen Bodenfilter als offenes System verbunden mit der Persistenz der sessilen Mikroorganismen von einer hohen biologischen Diversität ausgegangen werden, was eine Vielzahl unterschiedlicher Umsetzungsprozesse hervorruft.

5.3.1 Versuchsergebnisse zur Bestimmung der anoxischen Ammoniumoxidation in Proben unterschiedlicher Habitats

Für die Untersuchungen zur anoxischen Ammoniumoxidation wurden vier Langzeitkulturen, beimpft mit Proben aus unterschiedlichen Habitats, in 2 L Serumflaschen bei 30 °C inkubiert

und in bestimmten Zeitabständen beprobt.

Aus den Abbildungen (Abb. 37 und Abb. 38) wird deutlich, daß sowohl die Ammonium- als auch die Nitratkonzentration abnahm. Die Abnahme ist besonders bei den Proben Teich und See in den Zeiten von 0...200 Tagen und 900...1100 Tagen sichtbar. Je nach Analyseergebnis wurde den Proben Nitrat bzw. Ammonium zugegeben. Weiterhin erfolgte bei der Probenahme auch eine Einstellung des pH-Wertes auf ca. 7,2 mit verdünnter Phosphorsäure.

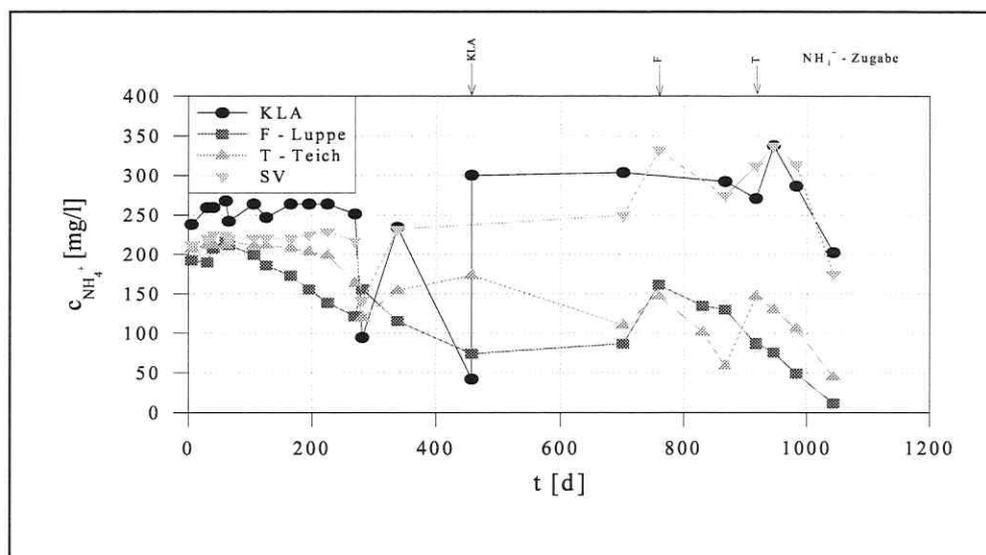


Abbildung 37 Verläufe des Ammoniumstickstoffs der Langzeitkulturen der anoxischen Ammoniumoxidation folgender Herkunftsorte:

- SV – Braunkohle-Schwelwasserdeponie bei Trebnitz (Sachsen-Anhalt)
- F – Flußsediment (Luppe bei Wallendorf Sachsen-Anhalt)
- T – Teichsediment bei Wallendorf
- KLA – Kläranlage Rosental in Leipzig (Sachsen).

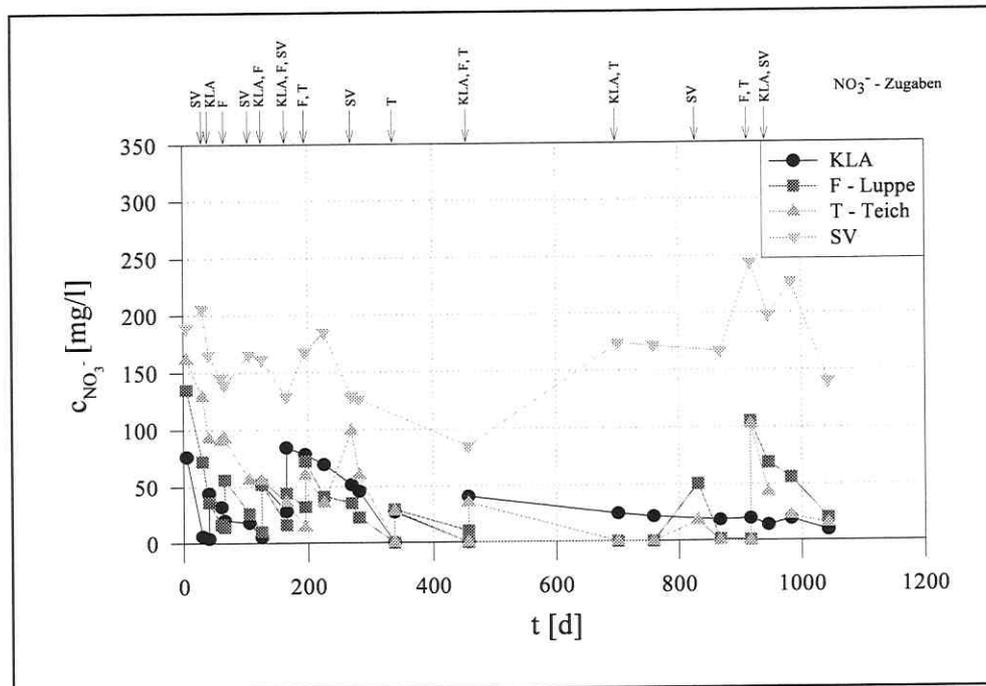


Abbildung 38 Verläufe der Nitratkonzentration für die Anreicherungskulturen folgender Standorte:

- SV – Braunkohle-Schmelwasserdeponie bei Trebnitz (Sachsen-Anhalt)
- F – Flußsediment (Luppe bei Wallendorf Sachsen-Anhalt)
- T – Teichsediment bei Wallendorf
- KLA – Kläranlage Rosental in Leipzig (Sachsen).

Aus diesen Langzeitkulturen wurden nach 800 Tagen je drei Proben in synthetisches Nährmedium überführt. Die Zusammensetzung dieser synthetischen Nährmedien ist Abs. 4.6.4 zu entnehmen. Auch diese Proben wurden bei 30 °C längere Zeit inkubiert und monatlich hinsichtlich des Gehaltes an Ammonium, Nitrit und Nitrat untersucht. Die Analysedaten dieser Versuche sind im Anhang B zusammengestellt. Exemplarisch für die Proben ist in Abbildung (39) der Verlauf für die Probe des Standortes Braunkohle-Schmelwasserdeponie bei Trebnitz (Sachsen-Anhalt) [Probe SV Nr. 1 im Anhang B] dargestellt.

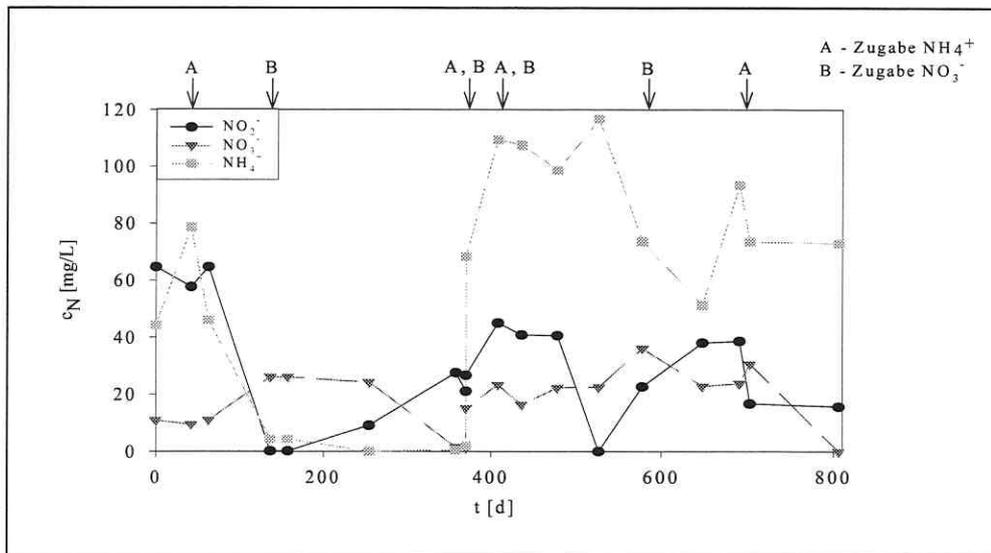


Abbildung 39 Konzentrations-Zeit-Verläufe des Nitrats für die Anreicherungsprobe des Standortes Braunkohle-Schwelwasserdeponie bei Trebnitz (Sachsen-Anhalt) Probe Nr. 1

In Abbildung (39) wird deutlich, daß nach der Zugabe von Nitrat zu Beginn des Versuches sowohl die Nitratkonzentration als auch die Ammoniumkonzentration abnehmen, was als Indiz für die anoxische Ammoniumoxidation angesehen werden kann.

Zur gleichen Zeit wie diese Anreicherungskulturen wurden Teile der Langzeitkulturen unter Zuhilfenahme der ^{15}N -Tracertechnik hinsichtlich der anoxischen Ammoniumoxidation untersucht. Dazu wurde ein Aliquot der Langzeitkulturen der Proben Fluß und Teich anaerob in ein Probegefäß überführt und mit Helium begast. Nach dieser Begasung erfolgte die Zugabe von ^{15}N -angereichertem Ammoniumsulfat. Das Ammonium wurde als ^{15}N -angereicherte Verbindung gewählt, da aus Nitrat bzw. Nitrit unter anaeroben Bedingungen direkt ^{15}N -angereicherte Gase (N_2) bei der Denitrifikation entstehen würden. Das Prinzip dieses Tests bestand im Nachweis von $^{29}\text{N}_2$. Die Abbildungen (B-1) und (B-2) im Anhang B zeigen, daß der Nachweis einer signifikanten Menge an $^{29}\text{N}_2$ nicht gelang. Bei diesen Versuchen wurde nur N_2 mit natürlicher Häufigkeit nachgewiesen.

Die Abbildungen (B-1) und (B-2) im Anhang B zeigen für die gasförmigen Stickoxide eine ^{15}N -Häufigkeit zwischen 10 At. % – was auf Ammonium als Ausgangsstoff hinweist – und der Häufigkeit die der natürlichen Häufigkeit vom Nitrat bzw. Nitrit entspricht. Die Kombination dieser zwei Pools führt zu der gemessenen Mischhäufigkeit.

Zu einem späteren Zeitpunkt (nach 806 Tagen) wurde in den Anreicherungskulturen versucht, den Nachweis eines Intermediaten aus dem Stoffwechsel der anoxischen Ammoniumoxidation zu führen. Als Intermediat hierfür wurde Hydrazin gewählt. Die Analysedaten dieses Tests sind in Tabelle 5.23 zusammengestellt. Die photometrische Methode des Hydrazins ist in Abs. 4.5.3.3 beschrieben. Eine Isotopenverteilungsanalyse hierzu liegt jedoch noch nicht vor.

Tab. 5.23: Zusammenstellung der nach einer Versuchszeit von 806 Tagen bestimmten Hydrazin-, Ammonium- und Nitritgehalte in folgenden Anreicherungskulturen:

SV – Braunkohle-Schwelwasserdeponie bei Trebnitz (Sachsen-Anhalt)

F – Flußsediment (Luppe bei Wallendorf, Sachsen-Anhalt)

T – Teichsediment bei Wallendorf

KLA – Kläranlage Rosental in Leipzig (Sachsen)

Probe	Ammoniumkonzentration [mg N/L]	Nitritkonzentration [mg N/L]	Hydrazin [mg N/L]
T1	70,46	53	n.d.
T2	67,36	15,75	0,862
T3	46,3	0,9	3,125
F1	65,61	n.d.	1,962
F2	79,2	n.d.	0,838
F3	42,18	n.d.	n.d.
SV1	72,92	51,62	n.d.
SV2	51,7	45,25	2,588
SV3	40,52	1,58	0,2
KLA1	60,59	n.d.	1,338
KLA2	7,72	0,12	1,888
KLA3	74,45	n.d.	3,2

5.3.2 Diskussion der Ergebnisse zur Bestimmung der Fähigkeit unterschiedlicher Habitate zur anoxischen Ammoniumoxidation

Zum Versuch des Nachweises der anoxischen Ammoniumoxidation (Mulder et al. 1995) wurden Sedimentproben von mehreren Habitaten untersucht. Bedingt durch die in der Literatur beschriebene sehr langen lag-Phase von ca. 350 Tagen wurden Proben unterschiedlicher Habitate – Flußsediment der Luppe bei Walldorf (Sachsen-Anhalt), Teichsediment bei Walldorf, Kläranlage Rosental in Leipzig (Sachsen) und Braunkohle-Schwelwasserdeponie in Trebnitz (Sachsen-Anhalt) – in sterilen Serumflaschen inkubiert und monatlich hinsichtlich der Konzentration an Nitrat und Ammonium untersucht. In diesen Anreicherungskulturen zeigten sich nach 200...300 Tagen ähnliche Effekte wie in der Originalliteratur, hier betrug die lag-Phase ca. 350 Tage (Mulder et al. 1995). In beiden Experimenten wurde eine gleichzeitige Abnahme von Ammonium und Nitrat im anaeroben Milieu speziell für die Proben des Flußsedimentes nach ca. 80 Tagen und für die weiteren Habitate nach ca. 300 Tagen verzeichnet. Da dies noch kein Nachweis der anoxischen Ammoniumoxidation ist, wurde ein Aliquot der Langzeitkulturen Fluß und Teich nach der Zugabe von ^{15}N angereichertem Ammonium auf die Bildung von $^{29}\text{N}_2$ untersucht. In den getracerten Proben wurden keine der Tracergabe und dem Chemismus entsprechende Bildung von $^{29}\text{N}_2$ festgestellt. Die bestimmten Gase dieser Proben deuten aber auf Nitrifikationsprozesse hin, was auf Spuren von Sauerstoff zurückzuführen sein muß. Dieser könnte z.B. durch den Stopfen diffundiert sein. Als Quelle der Stickoxide konnte Ammonium durch die erhöhte Häufigkeit im NO und N_2O bestimmt werden. In der Probe vom Fluß deutete die erniedrigte Häufigkeit in den bestimmten Stickoxiden auf zwei Pools hin. Die Denitrifikation in den Proben war sicher durch das Fehlen von verstoffwechselbaren Kohlenstoffquellen limitiert. Hinweise dafür lieferten die unveränderten Nitratkonzentrationen.

Die Unmöglichkeit des Nachweises von $^{29}\text{N}_2$ kann – wie beschrieben – auf die Spuren an Sauerstoff in der Probenatmosphäre zurückgeführt werden, welcher wie Strous et al. (1997) beschrieben, den Prozeß der anoxischen Ammoniumoxidation hemmt oder auf das Fehlen von Organismen, die zur anoxischen Ammoniumoxidation befähigt waren.

In der Veröffentlichung von van de Graaf et al. (1996) wurde auf die Existenz vielfältiger Inhibitoren für die anoxische Ammoniumoxidation hingewiesen und gleichzeitig auch ein Medium für Anreicherungskulturen aufgezeigt. Auf der Grundlage dieser Vorgaben wurde von

jeder Langzeitkultur ein Aliquot in dieses neue Medium überführt. Die Ergebnisse der Beprobung dieser Anreicherungen zeigten für die Proben (siehe Anhang B) aus der Kläranlage, Fluß 1, Teich 3 und Braunkohle-Schwelwasserdeponie 1 ein der anoxischen Ammoniumoxidation entsprechendes Verhalten. Der Versuch des Nachweises von Hydrazin ist in Tabelle 5.23 dargestellt und zeigt für mehrere Proben dessen Existenz. Das Auftreten dieses Intermediaten kann als starkes Indiz für die anoxische Ammoniumoxidation angesehen werden und wurde von Schoonen et al. (1997) für batch-Kulturen unter sich ändernden Kulturbedingungen beschrieben. Weiterhin ist davon auszugehen, daß enzymgebundenes Hydrazin bei der Stickstofffixierung als die einzig beschriebene Quelle für das Auftreten von Hydrazin in mikrobiellen Umsetzungen gilt (Dilworth et al. 1991). ¹⁵N-Tracerversuche zur Bestätigung dieser anoxischen Ammoniumoxidation in diesen Anreicherungskulturen stehen jedoch noch aus.

Die Abschätzung der Relevanz dieser Umsetzung in bewachsenen Bodenfiltern gestaltet sich auf Grund des komplizierten Nachweises dieser Stoffwechselleistung bisher als unmöglich. Der unmittelbare Nachweis wäre nur über ¹⁵N-Ammoniumtracergaben möglich, wobei sich in natürlichen Systemen die Mikrozonierung (hinsichtlich Sauerstoff) und damit die mögliche Nitrifikation als weiteres Nachweishindernis zum in situ-Monitoring dieser Stoffwechselleistung darstellt. Neben der Kompliziertheit des Nachweises ist die ökologische Nische und die Konkurrenz der anoxischen Ammoniumoxidation zu anderen Umsetzungsreaktionen gegenwärtig absolut unklar.

In den letzten Abschnitten wurden die Nitrifikation und die Denitrifikation als Hauptstickstoffumsetzungen betrachtet. Weiterhin wurde in diesem Abschnitt versucht, die anoxische Ammoniumoxidation als weitere Stoffwechselleistung in ausgewählten Habitaten nachzuweisen. Im folgenden Abschnitt soll nun auf die Chemodenitrifikation als abiotische Nitritersetzung eingegangen werden. Bei diesen Betrachtungen liegt der Schwerpunkt in der Findung von Haupteinflußgrößen und der Gewinnung kinetischer Kenndaten, wobei der experimentelle Rahmen wieder von den Bedingungen des Kohlepyrolyseabwassersees vorgegeben wird.

5.4 Chemodenitrifikation

Die Einbindung der Chemodenitrifikation in diese Untersuchungen zur Gesamtstickstoffumsetzung ergibt sich aus der Konsequenz der Existenz von Nitrit als freier Metabolit in vielen

biotischen N-Umsetzungen und aus der Existenz von organischer huminstoffartiger Matrix im Abwasser und der Biofilmbildung in bewachsenen Bodenfiltern. Bestärkt wird dieses Interesse noch durch die Exsudation der Pflanzen von organischen Säuren und möglichen Humifizierungsreaktionen im Bodenkörper. In diesem Untersuchungskomplex sollen Kenngrößen für die Abschätzung der Relevanz der Chemodenitrifikation gewonnen werden. Dazu werden in Modellsystemen unter Variation möglicher Einflußgrößen kinetische Parameter für diesen Prozeß aufgenommen. Da die Endprodukte dieser Reaktion Stickoxide sind, die in die Treibhausgasproblematik eingeordnet werden können, werden weiterhin auch die Gasemissionen bei diesem Prozeß untersucht.

5.4.1 Ergebnisse zur Chemodenitrifikation

Auf der Grundlage der Einbindung in Modelluntersuchungen zur Behandlung von Kohlepyrolyseabwässern sowie der ubiquitären Präsenz der Huminstoffe in natürlichen Systemen wurde der Einfluß von Huminstoffen auf den Nitritzerfall untersucht. Da davon ausgegangen werden kann, daß zu den Huminstoffen eine große Zahl unterschiedlicher Verbindungen sowohl natürlichen als auch anthropogenen Ursprungs gehören, wurden für diese Untersuchungen als Modellsubstanz autoxydiertes Hydrochinon gewählt. Für die Autoxydation wurde Hydrochinon in Wasser gelöst und unter Rühren bei normaler Atmosphäre im basischen pH-Bereich autoxydiert. Für eine Abschätzung der Einflußgrößen der Chemodenitrifikation wurde ein Versuchsplan aufgestellt, der einen pH-Wertebereich zwischen 4 ... 7, eine Zeitspanne der Autoxydation von 2, 7 und 14 Tagen, sowie ein Konzentrationsbereich von 2 bis 345 mg Hydrochinon/L überstreicht. Die Durchführung der Versuche erfolgte in 250 mL Flaschen unter ständigem Rühren (150 min^{-1}) und unter Einleitung von Druckluft (3 L/h). Die vorbereitete Huminstofflösung wurde unter Einstellung einer bestimmten Konzentration dem Phosphatpuffer nach Sørensen zugesetzt. Nach anschließender Zugabe der Nitritlösung wurde in bestimmten Zeitabständen (30...45 min) Probe den Flaschen entnommen und photometrisch hinsichtlich der Nitritkonzentration analysiert. In Abb. (40) ist eine exemplarische Darstellung dieser Versuche des Nitritkonzentrations-Zeit-Verlaufes abgebildet.

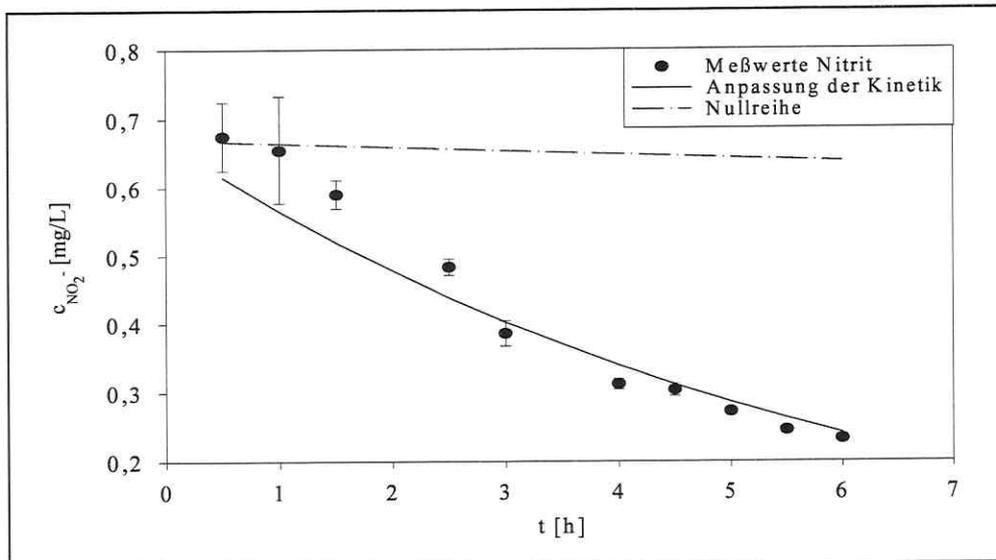


Abbildung 40 Chemodenitrifikation bei einem Puffer pH-Wert von 4 mit 100 mg/L Hydrochinon nach 2 Wochen Oxidation bei pH 11 (Nullreihe bedeutet ohne Huminstoffzusatz)

Die Anpassung der Kinetik in Abb. (40) an eine Formalkinetik erster Ordnung ergab für $k = 0,1689 \pm 0,0124 \text{ mg/L}$ und für $c_A(t=0) = 0,65 \text{ mg/L}$. Wie die Auswertung der 30 zu diesem Komplex durchgeführten Einzelversuche zeigt, können auch deren Nitritabnahmeverläufe sehr gut mit Gleichung (49) beschrieben werden. Diese Gleichung wird in der Literatur auch als Formalkinetik 1. Ordnung benannt.

$$c_A = c_A(t=0) * \exp^{-k*t} \quad (49)$$

c_A Konzentration des Stoffes A in [mg/L]
 t Zeit in [h] oder [d]

Die Geschwindigkeitskonstanten und die Versuchsbedingungen für die Einzelversuche sind in Tabelle 5.24 zusammengestellt.

Tab. 5.24: Geschwindigkeitskoeffizienten (siehe Gl. 31) der Chemodenitrifikation in Abhängigkeit von der Autoxidationszeit, dem pH-Wert und der Konzentration an eingewogenem Hydrochinon ($c_{\text{Huminstoff}}$)

$c_{\text{Huminstoff}}$ [mg/L]	Autoxidationszeit [d]	pH	$c_A(t=0)$ [mg/L]	k [t^{-1}]
2	42	6,11	0,995	0,0008
2	42	7,01	0,996	0,0001
10	2	5,52	0,508	0,0045
34,58	2	4	0,542	0,5424
34,58	2	5	0,628	0,0622
34,58	2	7	0,675	0,0007
345,8	2	4	0,86	0,8145
345,8	2	5	0,593	0,0307
345,8	2	7	0,772	0,0088
100	14	4	0,764	0,1741
100	7	4	0,782	0,2114
100	2	4	0,78	0,2358
100	14	6	0,775	0,0029
100	7	6	0,749	0,0022
100	2	6	0,865	0,0276

Im folgenden wurde versucht, mit ^{15}N -angereichertem Nitrit nähere Aussagen über das Entstehen von Stickoxiden und die Einbindung von Stickstoff in die Huminstoffmatrix zu erhalten. Dazu wurde einem Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 6) autoxidiertes Hydrochinon und ^{15}N -angereichertes Nitrit zugesetzt. Der erste Versuch zu diesem Komplex wurde in einem mit Helium/Sauerstoff (80:20 Vol % mit 3 L/h) begasten Gefäß durchgeführt. In bestimmten Abständen wurden dem Reaktionsgemisch Proben entnommen. Die Flüssigphase wurde auf den Gehalt an Nitrit und Nitrat und die Gasphase auf den Gehalt an Distickstoffmonoxid, Stickstoffmonoxid, Stickstoff sowie Sauerstoff untersucht.

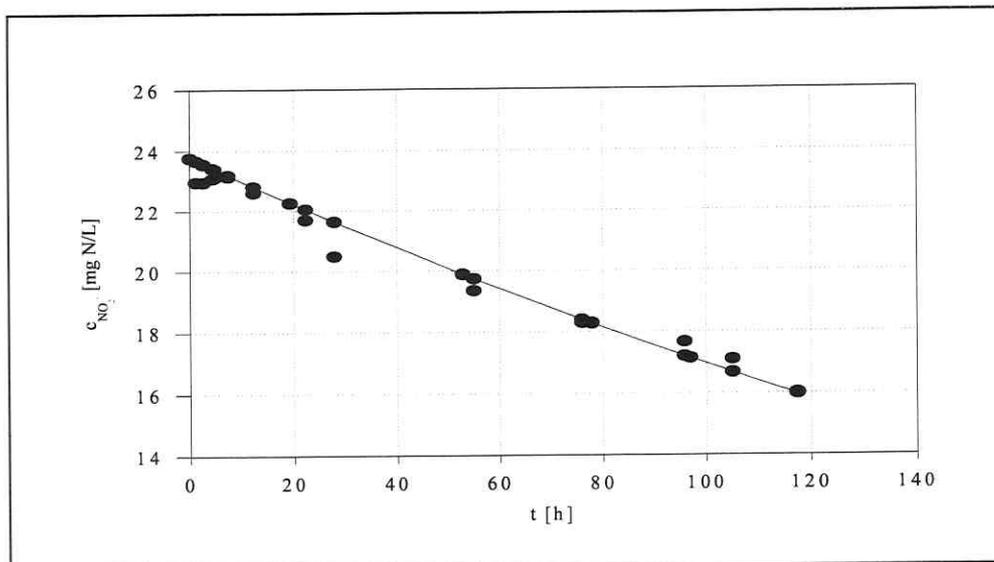


Abbildung 41 Chemodenitrifikation von NO_2^- in 250 mg/L autoxidiertem Hydrochinon bei einem Puffer pH von 5 und in einer Helium-/Sauerstoffatmosphäre. Das Hydrochinon wurde 2 Tage bei einem pH von 11 autoxidiert.

Die Beschreibung des Verlaufs der Nitritkonzentration (Abb. 50) erfolgte auch hier nach der Formalkinetik 1. Ordnung. Dabei wurde ein Korrelationskoeffizient von $r^2 = 0,985$ erreicht.

$$c_{\text{NO}_2^-} [\text{mg/L}] = 23,7 * \exp^{-3,38e^{-3} * t[\text{h}]} \quad (50)$$

$c_{\text{NO}_2^-}$ Nitritkonzentration in [mg N/L]

t Zeit in [h]

In den Abb.(42) und (43) sind die Emissionen an gasförmigen Komponenten für diesen Versuch dargestellt.

Mit Hilfe der Daten bei 24 Stunden wurde eine Wiederfindung berechnet. Dabei wurden in der Flüssigphase 43,71 mg N- NO_2^- und in der Gasphase 0,21 mg N-NO gefunden. Dieses entspricht einer Wiederfindung von 91,5 %. Als Gasphase wurde für diese Berechnung das gesamte mit dem Gasstrom ausgespülte Volumen angenommen.

In Abbildung (42) wird deutlich, daß über den Versuchszeitraum signifikante Mengen an NO emittiert wurden. Die anderen gemessenen Gase stellten, wie ebenfalls aus dieser Abbildung zu sehen ist, keine Hauptkomponenten der Nitritzerersetzung dar.

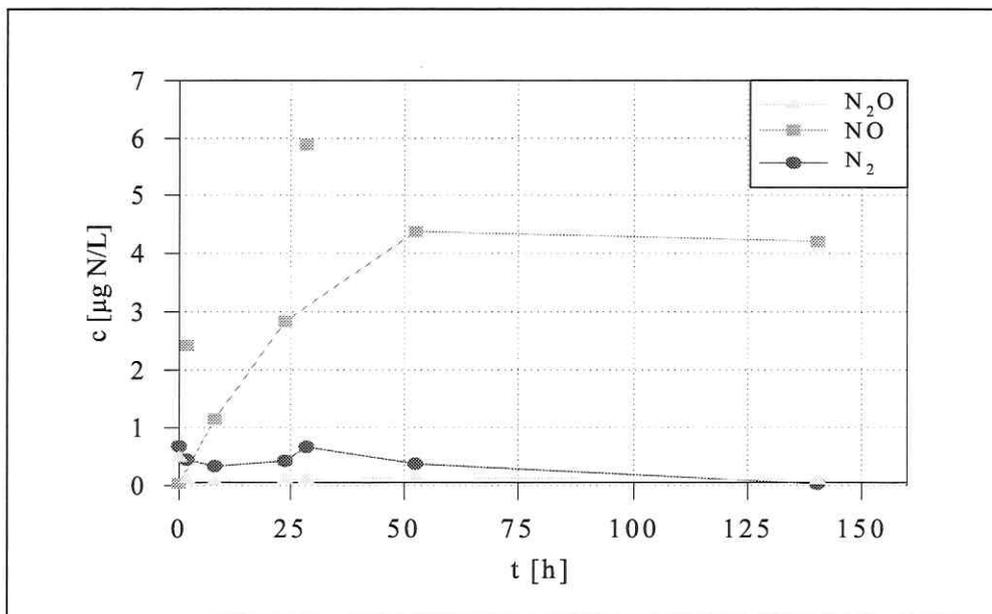


Abbildung 42 Konzentrationen der gasförmigen Stickstoffkomponenten NO, N₂, N₂O aus dem Versuch mit ¹⁵N–angereichertem Nitrit in einem Puffer (pH 5) unter Zusatz von 250 mg/L 2 Tage autoxydiertem Hydrochinon bei Helium-/Sauerstoffbegasung

Durch die in Abb. (43) dargestellte Häufigkeit von ca. 10 At. % wird Nitrit (benutzte Häufigkeit 10 At. %) als Quelle der NO–Emission nachgewiesen, denn die Häufigkeit des NO entspricht der des zugesetzten Nitrits. Die erhöhten Werte der NO–Konzentration bei 2 und 26 Stunden in Abbildung (42) wurden nach dem statistischen Ausreißertest als Extremwerte betrachtet und nicht in die Auswertung mit einbezogen.

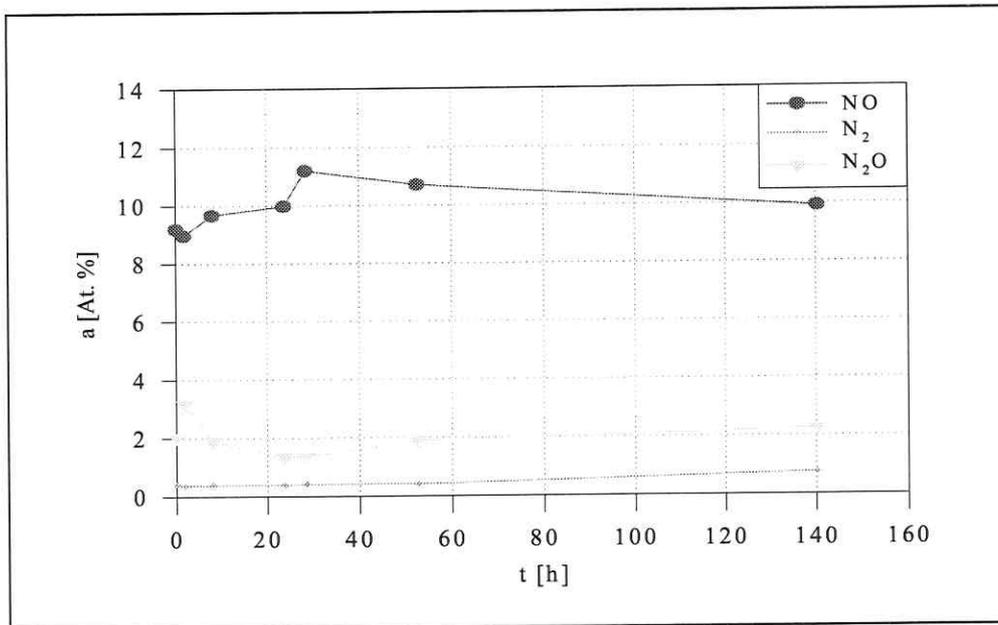


Abbildung 43 Darstellung der ¹⁵N-Häufigkeit (a [%]) für den selben Versuch wie Abb. (42)

Aus dem Vergleich der photometrischen Messungen des Nitrits mit den Daten der HPIC wurde deutlich, daß bei der photometrischen Messung höhere Werte bestimmt wurden. Allen et al. (1973) beschrieben in diesem Zusammenhang, daß die photometrische Messung auch gelöstes NO₂ mit erfaßt. Die Diskrepanz zwischen den beiden Messungen läßt sich durch den Vergleich von drei Versuchsreihen auf ca. 8 % festlegen.

In einem weiteren Versuch wurde die Lösung mit 9 L/min Helium begast. Bei diesem Versuch wurden in Gasmessungen eine Stickstoff- und Sauerstoffkonzentration von 8 bzw. 2,3 Vol.% festgestellt. Diese Stoffe gelangten über Schlauchverbindungen in das System, denn durch die Arbeit mit 10 At.% ¹⁵N angereichertem Nitrit und das Fehlen dieser Anreicherung im molekularen Stickstoff kann man eine Beteiligung dieser Gase am Reaktionsgeschehen ausschließen.

Folgende Abbildung verdeutlicht die Nitritkonzentration in diesem Versuch. Diese Werte wurden mit HPIC bestimmt und stellen somit die reale Nitritkonzentration dar.

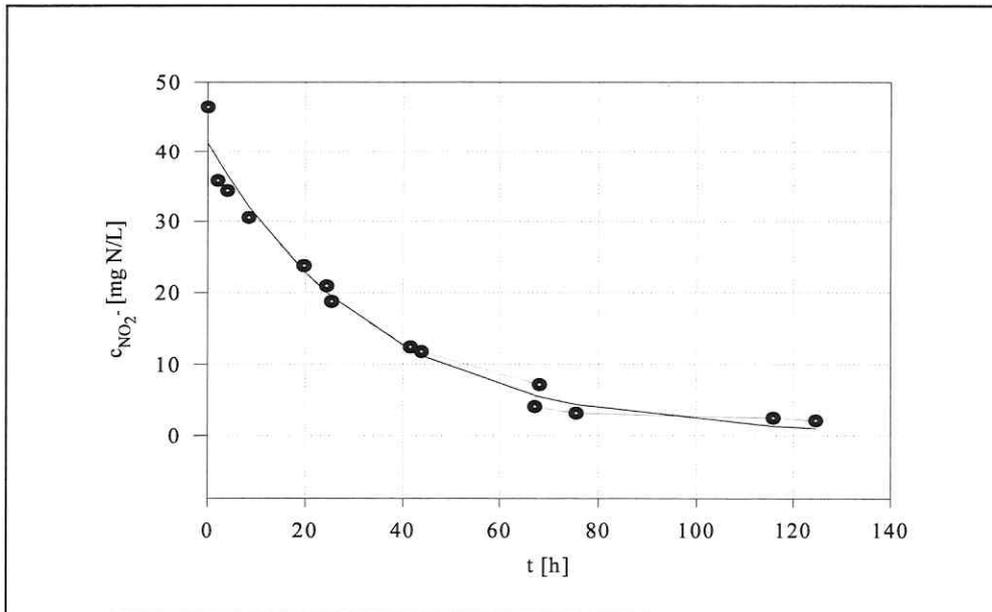


Abbildung 44 Konzentrationsverlauf des Nitrits im Versuch zur Chemodenitrifikation mit Heliumbegasung

Der Verlauf der Nitritkonzentration lässt sich wie in allen anderen Versuchen zur Chemodenitrifikation mit der Formalkinetik erster Ordnung beschreiben. Bei dieser Anpassung wurde ein Korrelationskoeffizient von $r^2 = 0,9797$ erreicht.

$$c_{\text{NO}_2^-} [\text{mg/L}] = 41,28 * \exp^{-0,0297 * t[\text{h}]} \quad (51)$$

$c_{\text{NO}_2^-}$ Nitritkonzentration in [mg N/L]

t Zeit in [h]

Bei der oben erwähnten Gasanalyse wurden NO-Emissionen festgestellt, die durch die Traceranreicherung dem Nitrit als Ausgangspool zugeordnet werden können. Diese Konzentration und Häufigkeit sind in Abbildungen (Abb. 45 und Abb. 46) dargestellt.

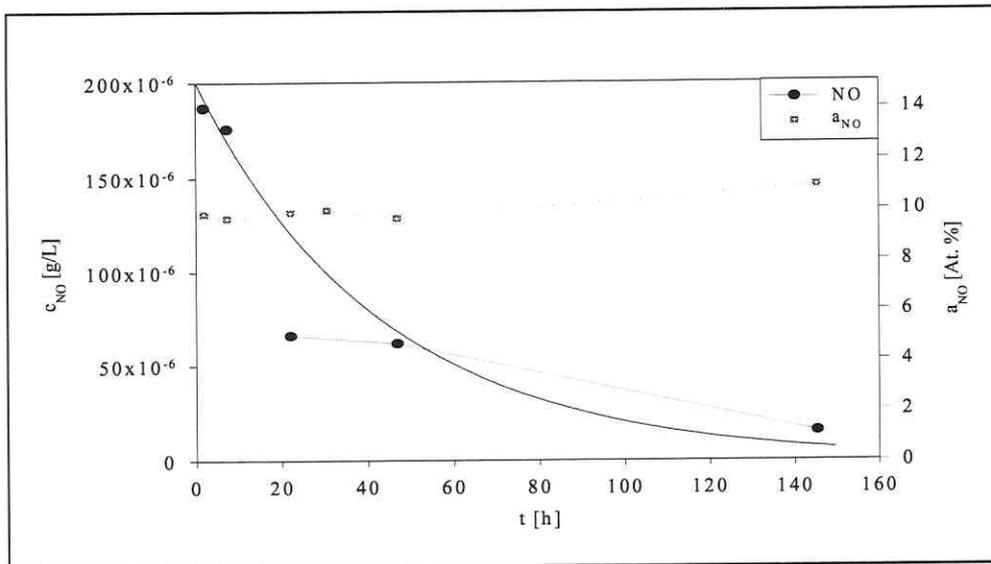


Abbildung 45 Konzentrationen an Stickoxid im Abluftstrom des Reaktors unter ausschließlicher Heliumbegasung

Abbildung (45) zeigt die Konzentrationen an emittiertem NO und dessen Häufigkeit im Versuch mit ausschließlicher Heliumbegasung. Dieser Konzentrationsverlauf läßt sich ebenfalls mit einer Kinetik 1. Ordnung beschreiben und mit einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0,9921$ abbilden.

$$c_{NO}[\mu\text{g N/L}] = 0,2037e^{-3} \exp^{0,0343 t[\text{h}]} \quad (52)$$

c_{NO} NO-Konzentration in [$\mu\text{g/L}$]
 t Zeit in [h]

Weiterhin lag die Häufigkeit des NO, wie Abb. (46) zeigt, im Bereich der Häufigkeit des ^{15}N -Nitrits mit 10 At. %.

Auch in diesem Versuch wurde eine Bilanzierung nach 24 Stunden durchgeführt und zeigte eine Wiederfindung des ^{15}N Stickstoffs von 97 %.

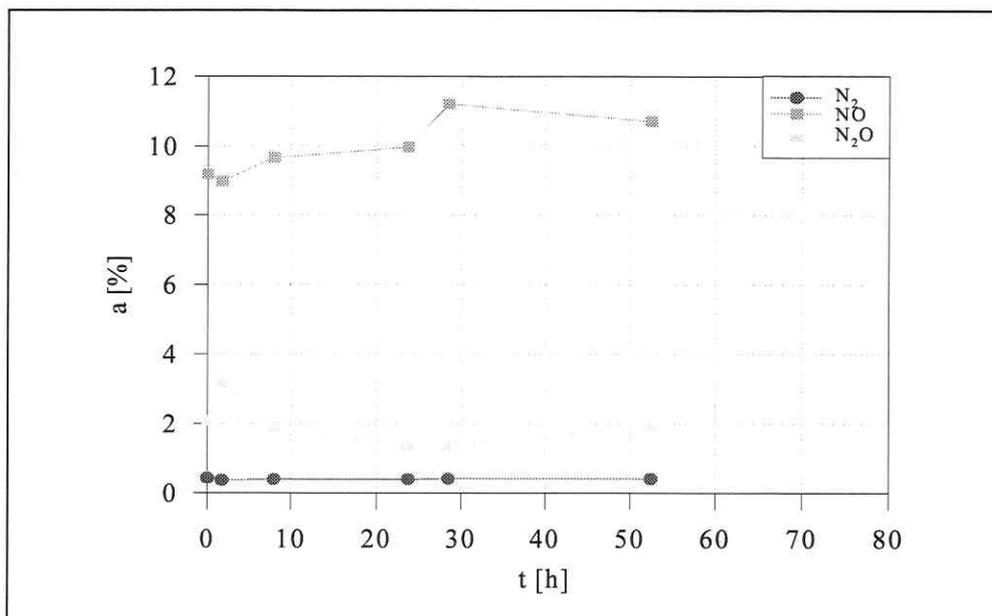


Abbildung 46 Darstellung der Häufigkeit der N-Gase im Versuch zur Chemodenitrifikation mit ausschließlicher Heliumbegasung.

Die ¹⁵N-Häufigkeit des Luftstickstoffs lag mit ca. 0,4 At. % im Bereich der natürlichen Häufigkeit von 0,36 At. %.

5.4.2 Diskussion der Ergebnisse zur Chemodenitrifikation

Der Rahmen für die Versuche zur Chemodenitrifikation, also der abiotischen Nitritersetzung, ergab sich aus der Anbindung dieser Arbeit an die Untersuchungen zur Stickstoffelimination aus einer Braunkohle-Schwelwasserdeponie bei Trebnitz (Sachsen-Anhalt). Dieser See wurde in der Vergangenheit lange Zeit als Abwasserdeponie für eine Kohleveredelungsanlage benutzt und enthielt somit erhebliche Mengen phenolischer Verbindungen (siehe Tab. 5.25) und Ammonium (Wießner et al. 1993).

Tab. 5.25: Gehalte an phenolischen Verbindungen im Wasser der Schwelwasserdeponie Trebnitz (Wießner et al. 1993)

	Konzentration [mg/L]
Phenol	135
C ₂ -Phenole	53
C ₃ -Phenole	20
C ₄ -Phenole	7

Die in Modellansätzen durchgeführten Versuche ergaben als wesentliche Einflußgrößen für die Chemodenitrifikation den pH-Wert, die Konzentrationen an Nitrit und Hydrochinon. Der pH Wert beeinflußt direkt die Dissoziation und damit die Bildung des reaktiven Ions. Eine kinetische Beschreibung dieses Prozesses erfolgt nach folgendem Ansatz:

$$\ln r_{\max} = 14,11 + 0,02 c_{\text{Huminstoff}}^{0.5} * \ln c_{\text{Huminstoff}} + \frac{5,93 \text{ pH}}{\ln \text{pH}} \quad (53)$$

r_{\max} volumenbezogene maximale Reaktionsgeschwindigkeit in [mg/(L h)]

c_{Humin} Huminstoffkonzentration in der Lösung in [mg/L]

Die Anpassung dieser Gleichung an die Meßwerte erfolgte mit einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0,9798$. In Gleichung (53) ist die Huminstoffkonzentration als mg/L einzusetzen und die Geschwindigkeit ergibt sich in mg/h. In Abbildung (47) ist dieser funktionelle Zusammenhang graphisch dargestellt.

Die ermittelten Beziehungen und Abhängigkeiten stimmen mit den Darstellungen der Literatur überein (Bremner 1968, Chalk et al. 1983), wobei die Veröffentlichungen nur einen qualitativen Zusammenhang beschreiben, der keine Ableitungen zur Kinetik und damit Beurteilung der Relevanz im Gesamtprozeß erlaubt. Tendenziell kann aus der Beschreibung abgeleitet werden, daß die Chemodenitrifikation mit abnehmendem pH-Wert und zunehmender Konzentration an Huminstoffen mit einer höheren Reaktionsgeschwindigkeit abläuft.

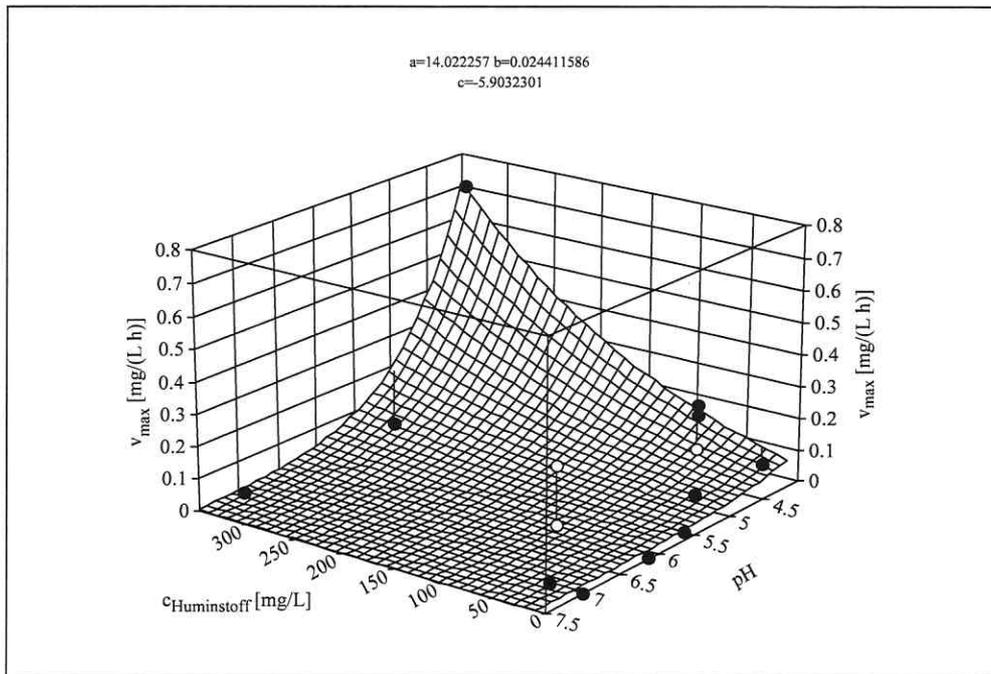


Abbildung 47 Darstellung des funktionalen Zusammenhanges der untersuchten Einflußgrößen der Chemodenitrifikation.

In den Versuchen mit ^{15}N -angereichertem Nitrit wurden NO durch die dem Nitrit entsprechende Häufigkeit als Hauptumsetzungsprodukt dieser Reaktion bestimmt.

In diesem Tracerexperiment wurde auch eine Elementaranalyse des über Dialyse mit einem Trennschnitt bei $M_r \approx 1 \text{ kM}$ abgetrennten und gefriergetrockneten Huminstoffs vorgenommen. Dabei stellte sich heraus, daß im Versuchsverlauf 0,4 % Stickstoff in die Huminstoffmatrix aufgenommen wurden.

In folgender Abbildung (Abb. 48) sind die NO - und die Nitritkonzentrationen im Verlauf des Versuches mit einer Sauerstoff-/Heliumbegasung dargestellt.

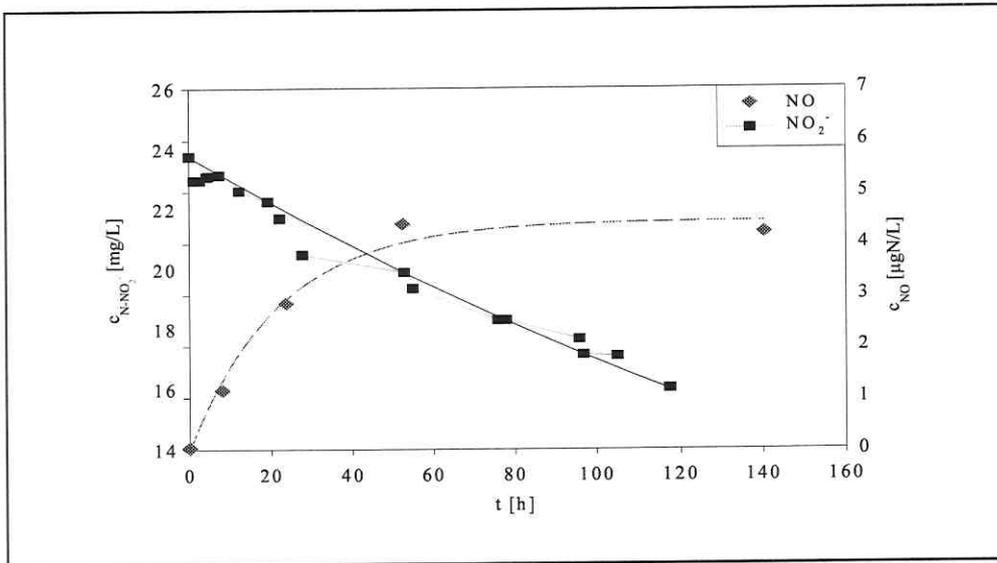


Abbildung 48 Darstellung des Einflusses der Nitrit- und NO-Konzentration auf die Chemo-denitrifikation unter Sauerstoff-/Heliumatmosphäre

Aus der Nitritkinetik (Gl. 50) kann nach Gl. (54) die Halbwertszeit mit 23,34 Stunden berechnet werden.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_1} \quad (54)$$

$t_{1/2}$ Halbwertszeit in [h]
 k_1 kinetische Konstante nach Formalkinetik 1. Ordnung in [h^{-1}]

Die Abbildung zeigt die klassischen Konzentrationsverläufe des Reaktionsproduktes und des Ausgangsstoffes. Diese lassen sich gut mit einer Kinetik erster Ordnung beschreiben.

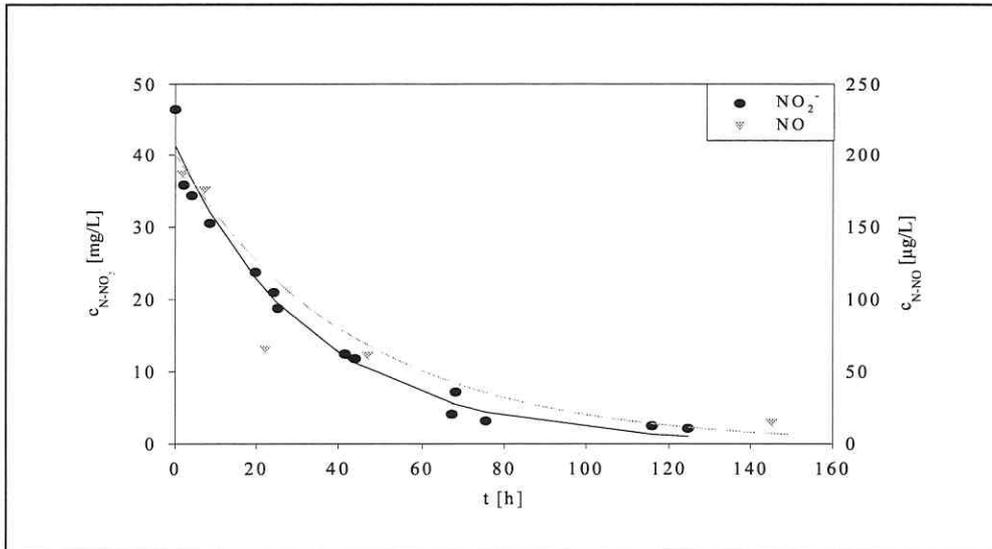


Abbildung 49 Darstellung der Nitrit- und NO-Konzentration im Versuch zur Chemodenitrifikation unter Heliumatmosphäre.

In der Abbildung (49) sind die Konzentrationsverläufe des Nitrits und des NO im Versuch mit Heliumbegasung dargestellt. Diese Abbildung zeigt, daß sowohl das Nitrit als auch das NO mit der Zeit abnehmen. In diesem Versuch wurde konstruktionsbedingt mit der dreifachen Begasungsmenge wie bei der Sauerstoff-/Heliumbegasung gearbeitet, wodurch die Gase für die GC-MS Analytik eine längere Zeit gesammelt werden mußten. Die Analyse erfolgte dann nach einer Kryofokussierung zur Konzentrierung der N_2O - und NO-Gehalte. Bedingt durch die Sammlung des Gases sind die ermittelten Konzentrationen nur zeitliche Mittelwerte. Durch diese Prämisse und die angenommene wesentlich schnellere Reaktionsgeschwindigkeit kann der in Abb. (50) dargestellte Anfangsverlauf postuliert werden.

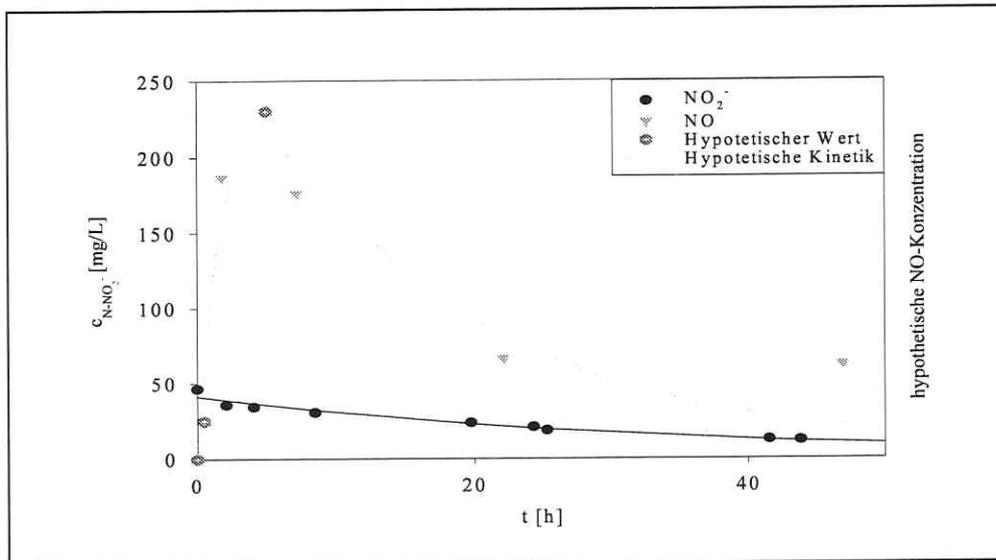


Abbildung 50 Darstellung der hypothetischen Startkonzentrationen für die Chemodenitrifikation unter Heliumbegasung.

An die hypothetischen Daten wurde folgender kinetischer Ansatz (Gl. 55) mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,9075 angepaßt.

$$c_{\text{NO}} = 6,9116 + 146,969 \frac{\exp^{-0,5378 t} - \exp^{-0,0642 t}}{0,0642 - 0,53785} \quad (55)$$

c_{NO} NO-Konzentration in mg N/L
 t Zeit in h

Durch diese analytischen Randbedingungen konnten nur Mittelwerte über die Zeit bestimmt werden, so daß mit dieser Methode der hypothetische Verlauf in Abb. (50) nicht bestätigt werden konnte.

Aus den kinetischen Ansätzen der Versuche in Helium- und Helium-/Sauerstoffatmosphäre wird deutlich, daß der Sauerstoffgehalt in der Lösung einen Einfluß auf den Umsetzungsmechanismus haben muß, denn die Emissionsraten und die Zersetzungskinetik unterscheiden sich wesentlich voneinander. Die kinetische Konstante im Fall der Heliumbegasung (siehe Gl. 51) ist mit $k = 0,0297 \text{ h}^{-1}$ ca. eine Zehnerpotenz größer als die bei sauerstoffhaltiger Begasung (siehe Gl. 50) mit

0,0034 h⁻¹. Daraus folgt, daß die Chemodenitrifikation in Heliumatmosphäre schneller abläuft als in sauerstoffhaltiger Atmosphäre.

Weiterhin zeigte sich, daß der geringere Teil (ca. 4 %) des als Nitrit vorliegenden Stickstoffs in die Huminstoffmatrix inkorporiert wurde, der überwiegende Teil verläßt unter den gewählten Versuchsbedingungen das System als gasförmiges Stickoxid.

In diesem Versuchskomplex wurden kinetische Kenngrößen und Emissionswerte für die Chemodenitrifikation – den abiotischen Prozeß des spontanen Nitritzerfalls – aufgenommen. Als zu verändernde Variablen wurden der pH-Wert, die Konzentration an organischer Materie – speziell Huminstoffe – und die Autoxidationszeit des Modellhuminstoffs angesehen und aus den sich ergebenden Versuchsdaten eine mathematische Beschreibung der Chemodenitrifikation unter den Bedingungen der bewachsenen Bodenfilter aufgestellt. Mit dieser mathematischen Beschreibung sind erstmals Abschätzungen zum Einfluß dieses Teilprozesses in Abwasserreinigungsanlagen möglich. Weiterhin konnten mittels ¹⁵N-Tracer NO, N₂O und indirekt NO₂ als Hauptumsetzungsprodukte bestimmt werden. In diesen Tracerversuchen zeigte sich weiterhin, daß die Chemodenitrifikation in einer Heliumatmosphäre schneller abläuft als in einer sauerstoffhaltigen Atmosphäre. Die Relevanz dieses Prozesses kann durch die Existenz des Nitrits als Zwischenprodukt vieler biologischer N-Umsetzungen bewiesen werden, stellt aber durch dessen geringe Konzentration trotz der hier ermittelten maximalen Reaktionsgeschwindigkeit von 4,38 mg N/(m² d) einen eher untergeordneten Prozeß dar. Dieser könnte im Fall großer Nitritlasten im System aber an Relevanz durch die Verhinderung der Inhibierung der biologischen Systeme durch das Nitrit gewinnen.

Im nächsten Abschnitt wird auf die mathematische Beschreibung des Gesamtprozesses mit Hilfe von publizierten Modellen und Kenngrößen eingegangen. Das Anliegen dieses Abschnittes liegt nicht in der Aufstellung eines Modells, das die vorangegangenen Versuche beschreibt, sondern in der Testung publizierter Modelle hinsichtlich der Beschreibung eines hier ermittelten Verhaltens des Systems. Aus dieser Beschreibung kann bei Übereinstimmung des Systemverhaltens im Rückschluß gefolgert werden, ob alle relevanten Prozesse im Modell berücksichtigt wurden.

5.5 Modellrechnungen zur Beschreibung der N-Umsetzungen in einem Wurzelraumreaktor

Unter Verwendung veröffentlichter Modelle und Parameter soll im folgenden versucht werden, das gemessene Verhalten des untersuchten Modellsystems zu beschreiben. Zu diesem Zweck werden die relativen Konzentrationen (Gl. 56) der gemessenen N-Ionen über die Zeit mit den aus den Geschwindigkeitsansätzen bestimmten Verläufen in Abb. (51) aufgetragen.

$$x_i(t) = \frac{c_i(t)}{\sum_{N_{\text{Salze}}} c_i(t=0)} \quad (56)$$

Die in Abbildung (51) dargestellten Hüllfunktionen für die Meßwerte stellen die Konzentrationsverläufe nach den in den Versuchen ermittelten minimalen und maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten dar, wobei zur Darstellung ebenfalls die relative Form (siehe Gl. 56) benutzt wurde.

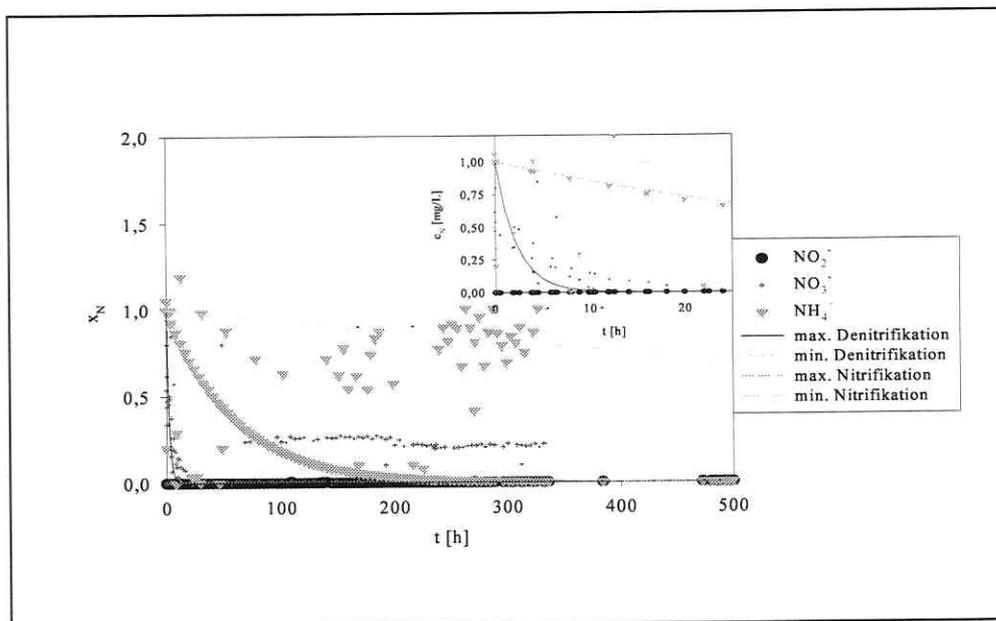


Abbildung 51 Zusammenstellung der N-Ionendaten aller Versuche und der minimalen und maximalen ermittelten Umsetzungsgeschwindigkeiten für den bepflanzteten Reaktor

In Abb. (51) ist zu erkennen, daß ein überwiegender Teil der Meßwerte innerhalb der von den Kinetiken eingegrenzten Bereiche liegt. Die über dem Bereich der Nitrifikation liegenden Ammoniumwerte können über den selben Mechanismus erklärt werden wie die Verdünnung des Ammoniumtracers in Versuch 4. Die Nitratwerte, die über dem Denitrifikationsbereich liegen, sind auf ein zu geringes Angebot an C-Quellen in der Lösung und damit auf eine nur limitiert ablaufende Denitrifikation zurückzuführen (siehe Versuch 3 Teil 2). Der Mittelwert der relativen Nitritkonzentration lag in allen Versuchen bei 0,16 % mit einem Maximalwert bei 0,8 %.

Nachfolgend soll eine deterministisch deskriptive Modellierung benutzt werden, mit der versucht werden soll, das hier gemessene Verhalten zu simulieren. Die im folgenden beschriebenen Modelle folgen der Arbeit von Bergeron (1978).

In Tab. 5.26 sind die Koeffizienten für eine einfache modellhafte Beschreibung dargestellt. Diese Koeffizienten und notwendige Kenngrößen der durchgeführten Versuche (Tab. 5.29) wurden bei der numerischen Lösung des Differentialgleichungssystems Gl. (57) benutzt. Dieses DGL-System beschreibt die wachstumsgekoppelte Umsetzung des Ammoniums bzw. Nitrits unter Berücksichtigung des Substratangebotes.

$$\begin{aligned} \frac{dc_{\text{NH}_4^+}}{dt} &= \frac{\mu_{\text{max, Ns}}}{Y_{x/s, \text{Ns}}} \frac{c_{\text{NH}_4^+}}{K_{\text{M, NH}_4^+} + c_{\text{NH}_4^+}} X_{\text{Ns}} \\ \frac{dc_{\text{NO}_2^-}}{dt} &= \frac{\mu_{\text{max, Nb}}}{Y_{x/s, \text{Nb}}} \frac{c_{\text{NO}_2^-}}{K_{\text{M, NO}_2^-} + c_{\text{NO}_2^-}} X_{\text{Nb}} \end{aligned} \quad (57)$$

Im folgenden wird das Modell 2 dargestellt, es wurde der Arbeit von Pirsing (1996) entnommen und beinhaltet über Inhibierungsterme den Einfluß des pH-Wertes und die Limitierung des Sauerstoffangebotes.

$$\begin{aligned}
\frac{dc_{\text{NH}_4^+}}{dt} &= \frac{\mu_{\text{max}, \text{Ns}}}{Y_{\text{x/s}, \text{Ns}}} \frac{c_{\text{NH}_3}}{K_{\text{s}, \text{Ns}} \left(1 + \frac{c_{\text{HNO}_2}}{K_{\text{I}, \text{Ns}}} \right) + c_{\text{NH}_3} + \frac{c_{\text{NH}_3}^2}{K_{\text{I}, \text{Ns}}}} \frac{c_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2, \text{Ns}} + c_{\text{O}_2}} \\
\frac{dc_{\text{NO}_2^-}}{dt} &= \frac{\mu_{\text{max}, \text{Nb}}}{Y_{\text{x/s}, \text{Nb}}} \frac{c_{\text{HNO}_2}}{K_{\text{s}, \text{Nb}} \left(1 + \frac{c_{\text{NH}_3}}{K_{\text{I}, \text{Nb}}} \right) + c_{\text{HNO}_2} + \frac{c_{\text{HNO}_2}^2}{K_{\text{I}, \text{Nb}}}} \frac{c_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2, \text{Nb}} + c_{\text{O}_2}}
\end{aligned} \tag{58}$$

Die für die numerische Lösung dieses DGL-Systems notwendigen Koeffizienten sind in Tab. 5.26 zusammengestellt.

Tab. 5.26: Koeffizienten für Modell 2 (Gl. 58) zur Beschreibung der Nitrifikation unter Berücksichtigung des Einflusses des pH-Wertes und der Sauerstoffkonzentration (Pirsing 1996)

	Ammonium-oxidation	Nitrit-oxidation
μ_{max} [h ⁻¹]	0,038	0,041
K_{s} [mg N/L]	0,53	2,45
K_{is} [mg N/L]	3520	4450
K_{i} [mg N/L]	134	1,76
K_{O_2} [mg O ₂ /L]	0,3	1,3
k_{d} [h ⁻¹]	0,004	0,004
$Y_{\text{Ns/NH}_3}$ [g o TS/g N-NH ₃]	0,14	
$Y_{\text{Nb/HNO}_2}$ [g o TS/HNO ₂]	0,02	

Für Modell 1 (Gl. 57) und Modell 2 (Gl. 58) gelten für die Lösung des DGL-Systems die Randbedingungen nach Gl. (59).

$$\begin{aligned}
c_{\text{NH}_4^+}(t=0) &= 20 \text{ mgN/L} \\
c_{\text{NO}_2^-}(t=0) &= 0 \text{ mgN/L} \\
c_{\text{NO}_3^-}(t=0) &= 0 \text{ mgN/L} \\
c_{\text{NO}_2^-}(t_{n+1}) &= c_{\text{NO}_2^-}(t_n) + c_{\text{NH}_4^+}(t_n) - c_{\text{NH}_4^+}(t_{n+1}) \\
c_{\text{NO}_3^-}(t_{n+1}) &= c_{\text{NO}_3^-}(t_n) + c_{\text{NO}_2^-}(t_n) - c_{\text{NO}_2^-}(t_{n+1})
\end{aligned} \tag{59}$$

In Abb. (52) ist das Ergebnis einer Modellrechnung dargestellt, wobei sich die Modelle 1 und 2 auf Gl. (57) bzw. Gl. (58) beziehen. Für Modell 2 wurde ein nichtlimitierter Zustand bezogen auf

die Sauerstoffkonzentration und für das Modell 3 (Gl. 58) ein limitierter Zustand ($c_{O_2} = 0,6$ mg/L) angenommen.

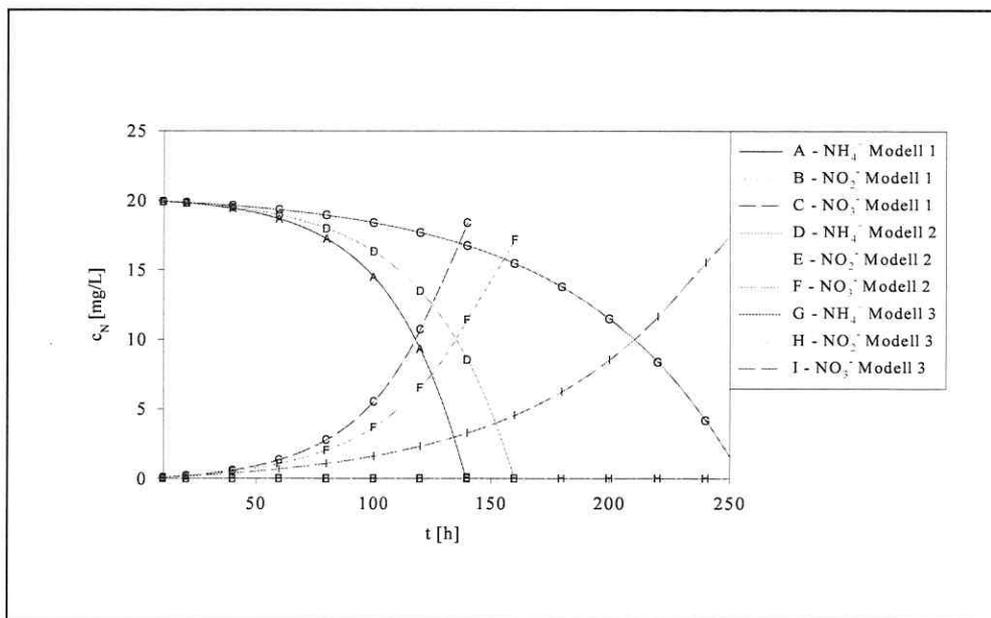


Abbildung 52 Modellrechnung zur Nitrifikation unter Verwendung der DGL-Systeme: Modell 1 – Gl. (57), Modell 2 – Gl. (58) für nichtlimitiertes Sauerstoffangebot und Modell 3 – Gl. (59) mit $0,4 \text{ mg O}_2/\text{L}$ und den Randbedingungen Gl. (59)

In dieser Abbildung ist zu sehen, daß es zu keiner Nitritanhäufung im Verlauf der Simulation kam. Weiterhin ist zu sehen, daß bei einem geringeren Angebot an Sauerstoff in der Lösung die Nitrifikation langsamer als im Sättigungsfall abläuft. In den folgenden Simulationen wird der umfassende Ansatz nach Gl. (58) benutzt, was dem Modell 3 bzw. 2 entspricht.

Im nächsten Simulationsschritt soll die Denitrifikation betrachtet werden. Hierzu wurden der Arbeit von Wicht (1995) und Schulthess (1994) folgende in Tabelle 5.27 zusammengestellten Konstanten für das Modell Gl. (60) entnommen:

$$\begin{aligned}
\frac{dc_{\text{NO}_3^-}}{dt} &= r_{\text{max, NO}_3^-} \frac{c_{\text{NO}_3^-}}{K_{\text{M, NO}_3^-} + c_{\text{NO}_3^-}} x_d \\
\frac{dc_{\text{NO}_2^-}}{dt} &= r_{\text{max, NO}_2^-} \frac{c_{\text{NO}_2^-}}{K_{\text{M, NO}_2^-} + c_{\text{NO}_2^-}} x_d \\
\frac{dc_{\text{N}_2\text{O}}}{dt} &= r_{\text{max, N}_2\text{O}} \frac{c_{\text{N}_2\text{O}}}{K_{\text{M, N}_2\text{O}} + c_{\text{N}_2\text{O}}} \frac{K_{\text{I, NO}_2^-}}{K_{\text{I, NO}_2^-} + c_{\text{NO}_2^-}} x_b
\end{aligned} \tag{60}$$

Tab. 5.27: Koeffizienten für die modellhafte Beschreibung der Denitrifikation unter Berücksichtigung der C-Quelle (Wicht 1995)

	v_{max} [g N/(g CSB d)]	K_{M} [mg/L]	$K_{\text{I, NO}_2^-}$ [mg/L]
NO ₃ ⁻ Reduktion	0,31	1,12	0,00
NO ₂ ⁻ Reduktion	0,26	0,23	0,00
N ₂ O Reduktion	1,25	0,04	18,27

Wicht (1995) publizierte ein Modell Gl. (61), mit dessen Hilfe die Einbeziehung des Nitritinflusses möglich ist. Die hierzu notwendigen Koeffizienten sind in Tab. 5.28 zusammengestellt.

$$\begin{aligned}
\frac{dc_{\text{NO}_3^-}}{dt} &= r_{\text{max, NO}_3^-} \frac{c_{\text{NO}_3^-}}{K_{\text{M, NO}_3^-} + c_{\text{NO}_3^-}} x_d \\
\frac{dc_{\text{NO}_2^-}}{dt} &= r_{\text{max, NO}_2^-} \frac{c_{\text{NO}_2^-}}{K_{\text{M, NO}_2^-} + c_{\text{NO}_2^-}} x_d \\
\frac{dc_{\text{N}_2\text{O}}}{dt} &= r_{\text{max, N}_2\text{O}} \frac{c_{\text{N}_2\text{O}}}{K_{\text{M, N}_2\text{O}} + c_{\text{N}_2\text{O}}} \frac{K_{\text{I, NO}_2^-}}{K_{\text{I, NO}_2^-} + c_{\text{NO}_2^-}} x_b
\end{aligned} \tag{61}$$

Tab. 5.28: Koeffizienten zur Modellierung der Denitrifikation unter Berücksichtigung der Nitritkonzentration (Wicht 1995)

	v_{max} [g N/(g CSB d)]	K_{M} [mg/L]	$K_{\text{I, NO}_2^-}$ [mg/L]
NO ₃ ⁻ Reduktion	0,7535	0,103	3,47
NO ₂ ⁻ Reduktion	0,7425	0,1065	1,97
N ₂ O Reduktion	0,7395	0,0885	1,76

In Abb. (53) ist die graphische Darstellung der numerischen Lösung der Gleichung (60) mit den Randbedingungen nach Gl. (62) abgebildet.

$$\begin{aligned}
 c_{\text{NO}_3^-}(t=0) &= 20 \text{ mgN/L} \\
 c_{\text{NO}_2^-}(t=0) &= 0 \text{ mgN/L} \\
 c_{\text{N}_2\text{O}}(t=0) &= 0 \text{ mgN/L} \\
 c_{\text{NO}_2^-}(t_{n+1}) &= c_{\text{NO}_2^-}(t_n) + c_{\text{NO}_3^-}(t_n) - c_{\text{NO}_3^-}(t_{n+1}) \\
 c_{\text{N}_2\text{O}}(t_{n+1}) &= c_{\text{N}_2\text{O}}(t_n) + c_{\text{NO}_2^-}(t_n) - c_{\text{NO}_2^-}(t_{n+1})
 \end{aligned} \tag{62}$$

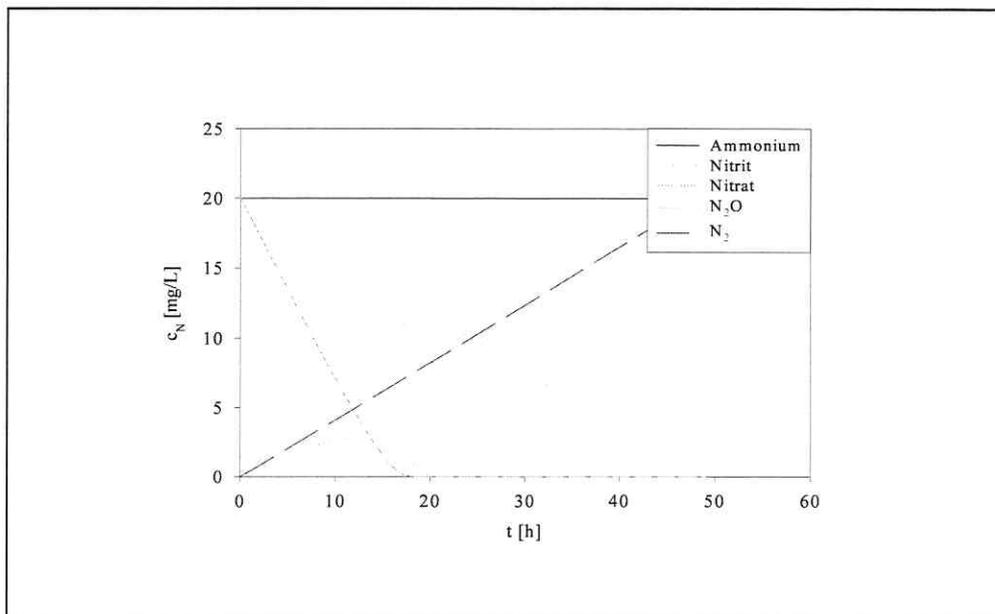


Abbildung 53 Ergebnisse der Simulation zur Denitrifikation nach Gl. (60) unter der Berücksichtigung des Nitriteinflusses mit den Randbedingungen nach Gl. (62) und Tab. 5.28

In Abbildung (53) ist ein dem realen zeitlichen Verhalten entsprechendes Modell (siehe Abb. 33) für das Auftreten von Metaboliten der Denitrifikation illustriert. Aus dieser Übereinstimmung können als Ursache die kinetischen Koeffizienten (maximale Reaktionsgeschwindigkeit und Sättigungskonstante siehe Tab. 5.28) abgeleitet werden. Wobei beim Vergleich der Graphiken (Abb. 33 und Abb. 53) noch zu berücksichtigen ist, daß die Simulation im Gegensatz zum realen Versuch ohne Gasaustausch berechnet wurde, was Einfluß auf die Peakform hat.

Die in den Versuchen bestimmten Umsatzraten für die Nitrifikation waren wesentlich kleiner als die der Denitrifikation. Aus diesem Grund ist anzunehmen, daß die Nitrifikation der geschwindigkeitslimitierte Schritt unter den gegebenen Bedingungen war. Dies hat zur Folge, daß nach einer Startphase die Denitrifikation als verbrauchende Reaktion alle auftretenden Metaboliten der Nitrifikation schneller reduziert als diese gebildet werden können. Zur Überprüfung dieser These wurden die Modelle zur Beschreibung der Nitrifikation und Denitrifikation gemeinsam gelöst. Das Ergebnis dieser Simulation ist in Abb. (54) dargestellt. Als Startwerte wurden 20 mg/L Nitrat und Ammonium sowie die Randbedingungen der vorangegangenen Simulationen vorgegeben.

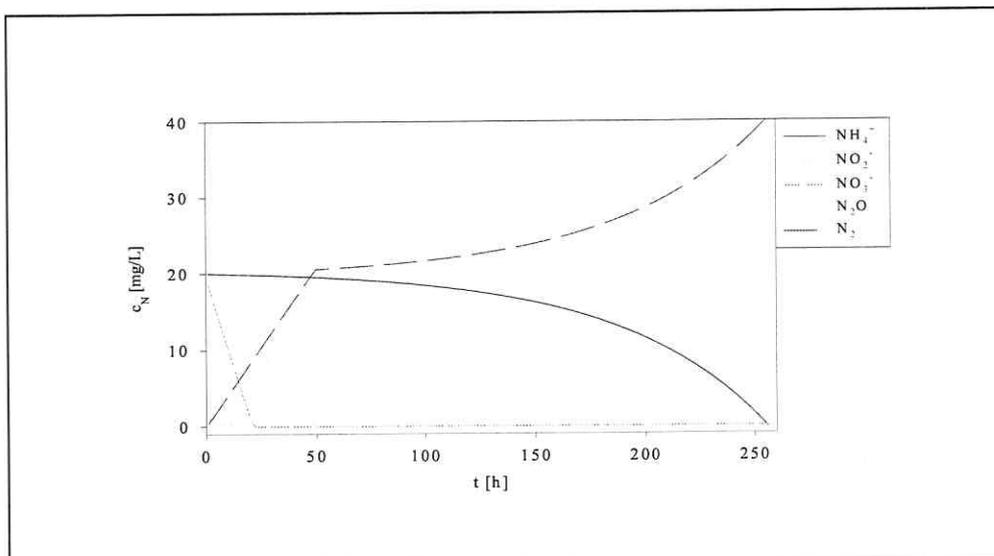


Abbildung 54 Simulation der N-Umsetzungsprozesse durch Kopplung der DGL-Systeme zur Nitrifikation und Denitrifikation (Ausgangskonzentrationen: 20 mg N-NH₄⁺/L und 20 mg N-NO₂⁻/L)

In dieser Modellrechnung ist zu sehen, daß das Nitrat sehr schnell abnimmt und die Nitrifikation der limitierende Faktor der Umsetzung ist. Daraus folgt, daß nach ca. 50 Stunden in dieser Berechnung keine Metabolite mehr auftreten.

Die zur Berechnung dieser Darstellung benutzten Bedingungen entsprechen bis auf die Biomassekonzentrationen denen der durchgeführten Versuche und sind in Tab. 5.29 zusammengefaßt.

Tab. 5.29: Kenngrößen für die Berechnungen der Simulation ohne Berücksichtigung der zur Lösung des DGL-Systems notwendigen Randbedingungen

	Minimalwert	Maximalwert
pH-Wert	6,8	8,2
C-Quelle [mg CSB/L]	53,4	320,4
x_{Ns} [mg o TS/L]	$2 * 10^{-9}$	$267 * 10^{-9}$
x_{Nb} [mg o TS/L]	$270 * 10^{-12}$	$40 * 10^{-9}$
x_d [mg o TS/L]	$175 * 10^{-3}$	3,6

Die Simulationen unter Verwendung der Biomassekonzentrationen aus Tab. 5.29 entsprachen nicht dem gemessenen Verhalten. Die Ursachen hierfür liegen sicher in den experimentell bestimmten Biomassewerten. Die Bestimmung der Biomasse erfolgte mittels MPN Methoden und die Umrechnung der ermittelten Zellzahlen aus einer Anpassung von Zellzahlen und Trockenmassen/Glührückständen eines Vorversuches. Für diese Umrechnung (Gl. 63) wurde eine lineare Abhängigkeit der Biomassen von den mikroskopisch bestimmten Zellzahlen benutzt.

$$c_{\text{Biomasse}} = c_{\text{Zellzahl}} * 6,796 * 10^8 \frac{\text{mg o TS/L}}{\text{Zellen/L}} \quad (63)$$

c_{Biomasse} Biomassekonzentration [mg o TS/L]

c_{Zellzahl} Zellzahlkonzentration [Zellen/L]

Wie im Abs. 5.1.3 beschrieben, gestaltete sich die Zellzahlbestimmung durch die Clusterbildung der Nitrifikanten sowie der Biofilmbildung als schwierig und fehlerbehaftet. Aus diesem Grund wurde eine Faktorensuche unter Verwendung von Versuchsdaten zur Anpassung des Verhaltens der Simulation durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Suche sind in Tab. 5.30 dargestellt.

Tab. 5.30: Abschätzungen der für die Simulationen benutzten Konzentrationen der Biomasse

	Biomasse
x_{Ns} [mg o TS/L]	0,001
x_{Nb} [mg o TS/L]	0,01
x_d [mg o TS/L]	1

Die Simulation beschreibt das im Wurzelraumreaktor gemessene Zeitverhalten vom Ammonium,

Nitrit und Nitrat der Versuche. Es zeigte sich aber, daß die Variation der in Tab. 5.30 zusammengestellten Daten das permanente Auftreten von NO bzw. N₂O über die Zeit nicht beschreiben kann. Daraus folgt, daß es weitere Einflußgrößen des Umsetzungsprozesses geben muß, die für das Entstehen dieser Metabolite verantwortlich sind. Als entscheidende Einflußgröße für die N-Umsetzungen kann der Sauerstoffgehalt angesehen werden.

Aus diesen Berechnungen kann geschlußfolgert werden, daß eine Mikrokompartimentierung vorliegen muß, denn unter Verwendung der bestimmten Biomassekonzentrationen konnte keine dem Realverhalten entsprechende Simulation durchgeführt werden. Aus diesem Grund kann davon ausgegangen werden, daß in bestimmten Zonen eine wesentlich höhere Biomasse vorliegen muß oder die bestimmten Koeffizienten nicht den vorliegenden Kulturen entsprechen. Einer Lösung dieser Fragestellung wäre mittels Mikroelektroden und Gensonden beizukommen. Mit Hilfe dieser Daten könnte weiterhin ein Modell aufgestellt werden, daß den bewachsenen Bodenkörper in Zonen unterschiedlicher Biomassekonzentration und Milieubedingungen beschreibt.

Im folgenden Abschnitt werden die gewonnenen Informationen und Erkenntnisse zusammengefaßt und weiterhin folgen dann Ausblicke auf weiterführende Arbeiten.

6 Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlußfolgerungen

Naturnahe einfachtechnologische Sanierungsverfahren unter Einbeziehung von Pflanzen haben bei gegebenen Randbedingungen (Fläche, Verweilzeiten, etc.) praktische Relevanz und können Vorteile im Vergleich zu konventionellen Verfahren bzw. technisierten Pflanzenklärsystemen haben. Ein Forschungsschwerpunkt der Arbeitsgruppe Phytoremediation am UFZ ist daher die Untersuchung von verschiedenen Wechselwirkungsprozessen im komplexen Reaktionsraum Rhizosphäre. Diese Forschungsarbeiten haben Grundlagencharakter und die Ergebnisse werden in technischen Anlagen konzeptionell berücksichtigt bzw. überprüft.

In diesem Sinn entstand diese Promotion in Anlehnung an ein Modellvorhaben zur Sanierung von deponierten Kohlepyrolyseabwässern, in dessen Umfeld ein horizontal durchströmter bepflanzter Bodenfilter errichtet wurde.

Das Ziel dieser naturwissenschaftlich orientierten Promotion ist das Aufzeigen der Relevanz und der möglichen Interaktionen der unterschiedlichen Stickstoffumsetzungswege in der Rhizosphäre wie Nitrifikation, Denitrifikation, Chemodenitrifikation und anoxische Ammoniumoxidation in bepflanzten Laborreaktoren.

Die gewonnenen Kinetiken und Bilanzen sind bedingt durch den oben beschriebenen Ansatz nicht auf Reinigungsanlagen zur Behandlung von kommunalen Abwässern übertragbar und die Daten können somit generell nicht für die Dimensionierung von Abwasserreinigungsanlagen benutzt werden. Das war auch nicht Ziel dieser Promotion. Die Versuche sind so angelegt, daß Einblicke in die Umsetzungen von anorganischen Stickstoffverbindungen in komplexen biologischen Systemen gewonnen werden können.

Die weitergehende Abwasserreinigung sollte zur Verminderung von Nährstoffeinträgen in die Umwelt für alle Anschlußgrößen zunehmend an Bedeutung gewinnen. Diese Forderung hat eine besondere Brisanz bei der Reinigung von Altlasten, denn hier ist oft von einer multiplen Gefährdung für die Umwelt auszugehen.

Die Auslegung von bewachsenen Bodenfiltern wird in der Regel unter Verwendung von black box Modellen durchgeführt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit dienen der Erlangung eines tieferen Prozeßverständnisses über die Stickstoffumsetzungen in bewachsenen Bodenfiltern.

Zur Bewältigung dieser Zielstellung ist der Gesamtprozeß der Stickstoffumsetzungen in experimentell beherrschbare Teilprozesse unterteilt und in einem Wurzelraumreaktor untersucht

worden. Bei den Untersuchungen zu diesen Teilprozessen wurden sowohl kinetische Beschreibungen als auch Informationen zum Chemismus der Umsetzungen wie Emissionsdaten erarbeitet. Diese Untersuchungen wurden von umfangreichen chemisch-analytischen und mikrobiologischen wie auch molekularbiologischen Methoden begleitet. Bei den chemisch-analytischen wie auch bei allen anderen prozeßtechnischen Daten wurden on-line Erfassungsmethoden entwickelt bzw. eingesetzt.

Im experimentellen Teil dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß für das vorliegende Modellsystem die Nitrifikation und die Denitrifikation die Hauptumsatzreaktionen darstellten. In den Untersuchungen zur Beurteilung der Nitrifikation wurde die Kinetik mit einer Gleichung erster Ordnung beschrieben und es konnte unter den gewählten Versuchsbedingungen eine mittlere Umsatzleistung von $1,2 \text{ g N}/(\text{m}^2 \text{ d})$ ermittelt werden.

Weiterhin konnte, unabhängig vom Teilprozeß der Nitrifikation durch Zugabe von Nitrat, für die Denitrifikation mit $4,64 \text{ g N}/(\text{m}^2 \text{ h})$ eine wesentlich größere Umsatzleistung bestimmt werden. Bei diesen Versuchen stellte sich ab einem C:N-Verhältnis von ca. 1,6 eine spontan ablaufende Denitrifikation ohne Anreicherung von Metaboliten ein. Für diese biotischen Umsetzungen wurden in dieser Arbeit Emissionswerte für N_2O und NO bestimmt, die unter denen der Belebtschlammanlagen liegen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden erstmals Hinweise für das System der bewachsenen Bodenfilter und N-haltiger Wässer das Phänomen der N-Fixierung gefunden.

Der weiterhin untersuchte Teilprozeß der Chemodenitrifikation ist unter dem derzeitigen Kenntnisstand für die Auslegung der bewachsenen Bodenfilter nicht relevant. Es konnte aber gezeigt werden, daß die Chemodenitrifikation bei bestimmten Milieubedingungen als Konkurrenzreaktion für die Nitrifikation bzw. für die Denitrifikation auftreten kann und die NO_x -Emissionen entscheidend beeinflusst.

Im Versuchskomplex zur anoxischen Ammoniumoxidation konnten erst nach einer längeren Zeit (150 Tage) und nach Veränderung der Milieubedingungen Indizien für diese Stoffwechselleistung nachgewiesen werden. Der Punkt der langen Verweilzeiten der Biomasse ist in bewachsenen Bodenfiltern durch deren Festbettcharakter gegeben. Aus diesem Grund sollte in weiterführenden Arbeiten an älteren Anlagen die Relevanz der anoxischen Ammoniumoxidation überprüft werden, denn hier könnte diese Stoffwechselleistung durch die Anreicherungsprozesse der Biomasse eventuell eine signifikante Bedeutung haben. Der Prozeß

der anoxischen Ammoniumoxidation konnte unter den Bedingungen, wie der Wurzelraumreaktor betrieben wurde, nicht festgestellt werden. Ein wesentlicher Grund hierfür ist in dem geringen Systemalter dieses Wurzelraumreaktors zu suchen, denn es ist mit sehr langen Anreicherungszeiten bis zur Ausbildung dieser Reaktion zu rechnen.

Schlußfolgernd kann gesagt werden, daß sich der entwickelte Pflanzenreaktor für die Untersuchung der Reinigung von Abwässern und die Bestimmung von beeinflussenden Parametern bei der Abwasserreinigung (insbesondere von Problemabwässern) mit bewachsenen Bodenfiltern eignet. Für den untersuchten Problemfall der Reinigung eines Kohlepyrolyseabwassers in bewachsenen Bodenfiltern können als Hauptstickstoffumsetzungen die Nitrifikation und die Denitrifikation angesehen werden, für die in dieser Arbeit auch die kinetischen Kenngrößen bestimmt wurden.

Für die weiteren Arbeiten auf diesem Gebiet sollte in noch stärkerem Maß die Verbindung der meßbaren Umsetzungen mit den mikrobiologischen Aktivitätsparametern auch im Mikromaßstab hergestellt werden.

Weiterhin zeigten die Untersuchungen die Rolle der Pflanze als „Aufwuchskörper“. Dieser „Aufwuchskörper“ ist maßgeblich für die Ausbildung von Gradienten um die Wurzeln durch die Exsudation und damit für die Heterogenität verantwortlich.

Der Forschungsbedarf im Zusammenhang mit dieser Arbeit besteht vorrangig in der weiteren Klärung des Zusammenspiels der einzelnen Teilschritte und Mikroorganismen bei der Umsetzung von Stoffen.

Offene Fragen aus der vorliegenden Arbeit siedeln sich wesentlich im Bereich der Grundlagen zu den N-Umsetzungen an. Dazu zählen die Frage nach der Konkurrenz der einzelnen Umsetzungen um die Metaboliten wie Nitrit und N_2O und die Regel- und Reaktionsmechanismen einer Biozönose auf sich ändernde Bedingungen. Hierzu sollten weiter vertiefende Untersuchungen durchgeführt werden, um so eine Datenbasis für eine Modellierung des Prozesses zu schaffen.

Diese Methoden der mathematischen Beschreibung der N-Umsetzungsprozesse eignen sich nach einer entsprechenden Modellverfeinerung hervorragend, um Informationen zum Systemverhalten zu erlangen und zu überprüfen, ob alle relevanten Umsetzungen in die experimentellen Untersuchungen einbezogen wurden. Weiterhin können mit der finiten Volumenmethode die Umsetzungen in Modellsystemen wie dem hier benutzten Pflanzenreaktor auf reale Anlagen besser übertragen werden als das mit den Flächenlasten möglich ist. Hierfür sind aber weitere Daten zu den N-Umsetzungen, Biozönesedynamik und Daten zur Mikrokompartimentierung notwendig.

Weiterhin sollte die Dynamik – also das Zeitverhalten – der Umsetzungen in dem System untersucht werden, denn damit wären Aussagen über Reaktionen auf Systemstörungen möglich. Diese Untersuchungen könnten sowohl im experimentellen Regime als auch mit Hilfe des mathematischen Modells vorgenommen werden.

Allgemein könnte das System der modellhaften Wurzelraumanlagen – wie in dieser Arbeit benutzt – zur Experimentierbasis für das Verständnis komplexer Systeme werden, denn es wird begonnen, die Einzelreaktionen und deren Zusammenspiel zu verstehen.

Zur Klärung der offenen Fragen sind weiterführende Experimente mit Mikroelektroden zur pH-Bestimmung im Wurzelbereich und die Lokalisation der Nitrifikanten und des freien Nitrits notwendig.

Quellenverzeichnis

- Alef, K. (1991) Bestimmung der wahrscheinlichen Zahl denitrifizierender Bakterien. In: Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie, eds. Alef, K. ecomed; Landsberg/Lech
- Alexander, M. (1982) Most probable number method for microbial populations. In: Methods of Soil Analysis Part 2, Eds. Page, A.L.; Miller, R.H. Keeney, D.R., pp. 815-820
- Allen, J.D. (1973) A review of methods of analysis for oxides of nitrogen. Journal of the Institute of Fuel, Vol. 3, pp. 123–133
- Amann, R. I.; Krumholz, L.; Stahl, D. A. (1990) Fluorescent-Oligonucleotide Probing of Whole Cells for Determinative, Phylogenetic, and Environmental Studies in Microbiology. Journal of Bacteriology, Vol. 172, Iss. 2, pp. 762-770
- Amann, R.; Kühn, M. (1998) In situ methods for assessment of microorganisms and their activities. Current Opinion in Microbiology, Vol. 1, pp. 352–358
- Amann, R.; Zarda, B.; Stahl, D.A.; Schleifer, K.-H. (1992) Fluorescent–oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. Journal Bacteriol., Vol. 172, pp. 762–770
- Andrews, J.F. (1968) A mathematical model for the co-substrates. Biotechnology and Bioengineering, Vol. 10, pp. 707–723
- Angle, J.S.; Gagliardi, J.V.; McIntosh, M.S.; Levi, M.A. (1996) Enumeration and expression of bacterial counts in the rhizosphere. In: Soil Biochemistry, Eds. Stotzky, G.; Bollay, J.-M. Vol. 9, pp. 233–250
- Antoniou, P.; Hamilton, J.; Koopman, B.; Jain, R.; Holloway, B.; Lyberatos, G.; Svoronos, S.A.(1990) Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. Water Research, Vol. 24, Iss. 1, pp. 97-101
- Atlas, R.M.; Parks, L.C. (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press
- ATV (1989) Hinweisblatt 262
- Austin, A.T. (1961) Nitrosation in organic chemistry.

Science in Progress, XLIX, pp. 619-640

- Balmelle, Nguyen, K.M.; Capdeville, B.; Cornie, J.C.; Deguin, A.. (1992) Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification.
Water Technology, Vol. 26, (5-6), pp. 1017-1025
- Benckiser, G.; Eilts, R.; Linn, A.; Lorch, H.-J.; Suemer, E.; Weiske, A. (1996) N₂O emission from cropping systems and from aerated, nitrifying and denitrifying tanks of a municipal waste water treatment plant.
Biology and Fertility of Soils, Vol. 23, Iss 3, pp. 257-265
- Bergeron, P. (1978) Untersuchungen zur Kinetik der Nitrifikation.
Karlsruher Berichte zur Ingenieurbiologie, Heft 12
- Beyer, H.; Walter, W. (1991) Lehrbuch der organischen Chemie.
S. Hirzel Verlag Stuttgart
- Biesboer, D.D. (1984) Nitrogen fixation associated with natural and cultivated stands of *Typha Latifolia* L. (Typhaceae).
Amer.J. Bot., Vol. 71, Iss. 4, pp. 505-511
- Bodelier, P.L.E.; Libochant, J.A.; Blom, C.W.P.M.; Laanbroeck, H.J. (1996) Dynamics of nitrification and denitrification in root-oxygenated sediments and adaptation of ammonia-oxidizing bacteria to low-oxygen or anoxic habitats.
Applied and Environmental Microbiology, Vol. 62, Iss. 11, pp. 4100-4107
- Boon, B.; Laudelot, H. (1962) Kinetics of nitrite oxidation by *Nitrobacter winogradskyi*.
Biochem. Jour., Vol. 85, pp. 440
- Braker, G.; Fesefeldt, A.; Witzel, K-P (1998) Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detection denitrifying bacteria in environmental samples.
Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64, No. 10, pp. 3769-3775
- Brändle, R.; Pokorny, J.; Kvet, J.; Cizkova, H (1996). Wetland plants as a subject of interdisciplinary research.
Folia Geobotanica & Phytotaxonomica 31, (1), pp. 1-6
- Breen, P.F.; Chick, A.J. (1995) Rootzone dynamics in constructed wetlands receiving wastewater: A comparison of vertical and horizontal flow systems.

- Water Sci. Tech., 32 (3), pp. 281–290
- Bremner, J.M. (1968) The nitrogenous constituents of soil organic matter and their role in soil fertility.
In: Organic Matter and Soil Fertility. pp. 143-185
- Bremner, J.M.; Mulvaney, C.S. (1982) Nitrogen–Total.
In: Methods in soil analysis, part 2, Agronomy No. 9, American Society of Agronomy, Madision.
- Bremner, J.M. (1957) Studies on soil humic acid: II. Observation on the estimation on free amino groups. Reaction of humic acid and lignin preparations with nitrous acid.
The Journal of Agricultural Science, Vol. 48, pp. 352-360
- Brix, H (1994) Function of macrophytes in constructed wetlands.
Water Science and Technology, Vol. 29, Iss. 4, pp. 71-78
- Brix, H.; Sorrell, B.K. (1996) Oxygen stress in wetland plants: Comparison of de-oxygenated and reducing root environments.
Functional Ecology, 10(4), 521–526
- Broda, E. (1977) Two kinds of lithotrophs missing in nature.
Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie, Vol. 17, No. 6, pp. 491–493
- Cervantes, F.; Oscar, M.; Gomez, J. (1998) Accumulation of intermediates in a denitrifying process at different copper and high nitrate concentrations.
Biotechnology Letters, Vol. 20, No. 10, pp. 959–961
- Chalk, P.M.; Smith, C.J. (1983) Chemodenitrification.
Developments in Plant and Soil Sciences (Gaseous Loss Nitrogen Plant-Soil Syst.), Vol. 9, pp. 65-89
- Christensen, B.; Characklis, W. (1989) Physical and chemical properties of biofilms.
In: Biofilms. John Wiley & Sons. New York
- Christensen, S; Ambus, P; Arah, JRM; Clayton, H; Galle, B; Griffith, DWT; Hargreaves, KJ; Klemedtsson, L; Lind (1996) Nitrous oxide emission from an agricultural field: Comparison between measurements by flux chamber and micrometeorological techniques.
Atmospheric Environment, Vol. 30, Iss. 24, pp. 4183-4190
- Christensen, W.B. (1946) In : DIFCO Manual 10th Edition 1994

- Clark, F.E. (1962) Loss of nitrogen accompanying nitrification.
Trans. Int. Soc. Soil Sci. Comm. IV and V, pp. 173–179
- Clark, F.E.; Beard, W.E. (1960) Influence of organic matter on volatile loss of nitrogen from soils.
Trans. 7th Int. Congr. Soil Sci., Vol. 2, pp. 501–508
- Conrad, R.; Seller, W. (1980) Field measurement of the loss of fertilizer nitrogen into the atmosphere as nitrous oxide.
Atmos. Environ., Vol. 14, pp. 555–558
- Coopen, P.F.; Wheeldon, D.H.V. (1980) Fluidized and expanded bed reactor for wastewater treatment.
Water Pollut. Contr., Vol. 70, No. 2, pp. 286–306
- Cooper, J.E.; Fiedler, H.J. (1989) Stickstoffbindung durch freilebende Mikroorganismen.
In: Methoden der Bodenbiologie, Herausgeber Dunger, W.; Fiedler, H.J., Jena
- Crumpton, W.G.; Isenhardt, T.M.; Fisher, S.W. (1993) Fate of non-point source nitrate loads in freshwater wetland: Results from experimental wetland mesocosms.
In: Constructed Wetlands for Water Quality Improvement, Eds. Moshiri, G.A.; Chapter 29
- Daum, D.; Schenk, M.K. (1996) Influence of nitrogen concentration and form in the nutrient solution on N₂O and N₂ emissions from a soilless culture system.
Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, Bd. 159, Heft 6, pp. 557–563.
- Daum, D.; Schenk, M.K. (1996a) Gaseous nitrogen losses from a soilless culture system in the greenhouse.
Plant and Soil, Vol. 183, Iss. 1, pp. 69–78
- Denmead, O.T.; Freney, J.R.; Simpson, J.R. (1979) Nitrous oxide emission during denitrification in a flooded field.
Soil Science Society of America Journal, Vol. 43, pp. 716–718
- Dilworth, M.J.; Eady, R.R. (1991) Hydrazine is a product of dinitrogen reduction by the vanadium–nitrogenase from *Azotobacter chroococcum*.
The Biochemical Journal; Vol. 277, pp. 465–468
- Fabian, P. (1992) Atmosphaere und Umwelt : chemische Prozesse, menschliche Eingriffe ; Ozon-Schicht, Luftverschmutzung, Smog, saurer Regen.

Berlin, Heidelberg; Springer Verlag

- Faust, H.; Bornhak, H.; Hirschberg, K.; Jung, K.; Junghans, P.; Krumbiegel, P. (1981) ^{15}N -Anwendung in der Biochemie, Landwirtschaft und Medizin.
Schriftenreihe Anwendung von Isotopen in Wissenschaft und Technik. Isocomerz Nr. 5
- Findlay, R.H.; Dobbs, F.C. (1993) Quantitative description of microbial communities using lipid analysis.
In: Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Chapter 32, Eds.: Kamp, P.F.; Sherr, B.F.; Sherr, E.B.; Cole, J.J.
- Fischer, H.; Meier, G. (1992) ^{15}N -Isotopenmessung mit dem Emissionsspektrometer NOI-6PC.
Isotopenpraxis Environ. Health Stud., Vol. 28, pp 96-100
- Furumai, H.; Rittmann, B.E. (1994) Evaluation of multiple-species biofilm and floc processes using a simplified aggregate model.
Water Science and Technology, Vol. 29, Iss. 10-11, pp. 439-446
- Gaden, E.L. (1959) Fermentation Process Kinetics.
Journal Biochem. Microbiol. Technol. Eng., Vol. 4, pp. 413-429
- Gale, P.M.; Dévai, I.; Reddy, K.R.; Graetz, D.A. (1993) Denitrification potential of soils from constructed and natural wetlands.
Ecological Engineering, Vol. 2, pp. 119-130
- Gellert, G.; Kleyn, K.; Lenz, A. (1990) „Planted soil filter“ for wastewater treatment: The complex system „planted soil filter“, its components and their development.
In: Cooper, P.F.; Findlater, B.C. (Eds.)
- Gilbert, B.; Frenzel, P. (1995) Methanotrophic bacteria in the rhizosphere of rice microcosms and their effect on porewater methane concentration and methane emission.
Biology and Fertility of Soils, Vol. 20, No. 2, pp. 93-100.
- Gish, T.J.; Jury, W.A. (1983) Effect of plant roots and root channels on solute transport.
American Society of Agricultural Engineers, pp. 440-444
- Goi, S.R.; Sprent, J.I.; James, E.K.; Jacob-Neto, J. (1993) Influence of nitrogen form and concentration on the nitrogen fixation of *Acacia auriculiformis*.
Symbiosis, Vol. 14, No. 1-3, pp. 115-122.
- Groffman, P.M.; Eagan, P.; Sullivan, W.M.; Lemunyon, J.L. (1996) Grass species and soil type

- effects on microbial biomass and activity.
 Plant and Soil, Vol. 183, pp. 61–67
- Hansen, J.L.; Ostergaard Andresen, F. (1981) Effects of *Phragmites australis* roots and rhizomes on redox potentials, nitrification and bacterial number in the sediment.
 In: 9th Nordic symposium on sediment.; Broberg, A.; Tiren, T. (Eds.), pp. 78-88
- Her, J.J.; Huang, J.S. (1995) Influences of carbon surface and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough.
 Bioresource Technology, Vol. 54, Iss. 1, pp. 45-51
- Höppner, H.; Günther, T.; Fritsche, W. (1997) Biologische Prinzipien der Eliminierung von organischen Umweltchemikalien in Pflanzenkläranlagen.
 Wasser & Boden, Vol.49, Iss. 12, pp. 18–21
- Hunik, J.H.; Bos, C.G.; van de Hoogan, M.P.; de Gooijer, C.D.; Tramper, J. (1994) Co-immobilized *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter agilis* Cells: Validation of a dynamic model for simultaneous substrate conversion and growth in k-carrageenan gel beads.
 Biotechnology and Bioengineering, Vol. 43, pp. 1153-1163
- Juretschko, S.; Timmermann, G.; Schmid, M.; Schleifer, K-H; Pommerening-Röser, A. Koops, H-P; Wagner, M. (1998) Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and Nitrosospira-Like bacterium as dominant populations.
 Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64, Iss. 8, pp. 3042-3051
- Knowles, R. (1982) Denitrification
 Microbial Rev., 46 (1), 43–73
- Kowalchuk, G. A.; Stephen, J., R.; de Boer, W.; Prosser, J. I. (1997) Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the β subdivision of the class proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of {PCR}-amplified 16S ribosomal {DNA} fragments.
 Applied and Environmental Microbiology, Vol. 63, Iss. 4, pp. 1489-1497
- Kowalchuk, G.A.; Naoumenko, Z.S.; Derikx, P.J.L.; Felske, A.; Stephen, J.R.; Arkhipchenko, I.A. (1999) Molecular Analysis of Ammonia-Oxidizing Bacteria of the beta Subdivision of the Class *Proteobacteria* in Compost and Composted Materials.

- Applied and Environmental Microbiology, Vol. 65, Iss. 2, pp. 396-403
- Kuschik, P.; Wießner, A. (1992) Untersuchungen zu Wasser- und Sedimentsanierung am Tagebaurestloch Volleret-Süd (Schwefvollert).
Zwischenbericht, UFZ Leipzig Halle.
- Lorch, H.-J. (1997) Bedeutung und Probleme der Abwasserbehandlung mit naturnahen Verfahren.
In: Umweltbiotechnologie. Eds. Ottow, C.G.; Bidlingmaier, W., Gustav Fischer Verlag Stuttgart
- MacDonald, R.M. (1986) Nitrification in soil an introductory history.
Prosser, J.L. (ED.). Special publications of the society for general microbiology. Vol. 20, pp. 1-16
- Mahne, I.; Tiedje, J.M. (1995) Criteria and methodology for identifying respiratory denitrifiers.
Applied and Environmental Microbiology, Vol. 61, Iss. 3, pp. 1110-1115
- Manz, W.; Amann, R.; Ludwig, W.; Wagner, M.; Schleifer, K-H (1992) Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for major subclasses of proteobacteria: Problems and solution.
Systematic and Applied Microbiology, Vol. 15, pp. 593-600
- Martienssen, M.; Schöps, R. (1997) Biological treatment of leachate from solid waste landfill sites – alterations in the bacterial community during the denitrification process.
Water Science and Technology, Vol. 31, No. 5, pp. 1164–1170
- Martius, G.G.S.; Stottmeister, U.; Jechorek, M.; Paca, J. (1996) Inhibition concentration of phenolic substances under different cultivation conditions. Part II: Impact of dissolved oxygen concentration and temperature on degradation kinetics.
Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, (1996) Vol. 24, No. 4, pp. 168-175.
- Mulder, A.; van de Graaf, A.A.; Robertson, L.A.; Kuenen, J.G. (1995) Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor.
FEMS Microbiology Ecology, No. 16, pp. 177–184
- Myrold, D.D.; Tiedje, J.M. (1981) Establishment of denitrification capacity in soil: effects of carbon, nitrate and moisture.
Soil Biol. Biochem., Vol. 17, pp. 819–822
- Nelson, D. W.; Bremner, J. M. (1969) Factors affecting chemical transformation of nitrite in soil.
Soil Biology and Biochemistry, Vol. 1, pp. 229-239

- Nelson, D.W. (1967) Chemical transformation of nitrite in soils.
Ph.D. Thesis, Iowa State University
- Nelson, D.W.; Bremner, J.M. (1970) Gaseous products of nitrite decomposition in soils.
Soil Biology and Biochemistry, Vol. 2, pp. 203–215
- Neufeld, R.D.; Hill, A.J.; Aderoya, D.O. (1980) Phenol and free ammonia inhibition to
Nitrosomonas activity.
Water Research, Vol. 14, pp. 1695–1703
- Nijburg, J.W.; Laanbroek, H.J. (1997) The influence of *Glyceria maxima* and nitrate input on the
composition and nitrate metabolism of the dissimilatory nitrate-reducing bacterial community.
FEMS Microbiology Ecology, Vol. 22, pp. 57–63
- Nyberg, U.; Andersson, B.; Aspegren, H. (1996) Long term experiences with external carbon
source for nitrogen removal.
Water Sci. Technology, Vol. 33, No. 12, pp. 109–116
- Okabe, S.; Hiratia, K.; Ozawa, Y.; Watanabe, Y. (1996) Spatial microbial distributions of
nitrifiers and heterotrophs in mixed-population biofilms.
Biotechnology and Bioengineering, Vol. 50, Iss. 1, pp. 24-35
- Phipps, R.G.; Crumpton, W.G. (1994) Factors affecting nitrogen loss in experimental wetlands
with different hydrologic loads.
Ecological Engineering, Vol. 3, pp. 399–408
- Pirsing, A. (1996) Reaktionstechnische Untersuchung und mathematische Modellierung der
Nitrifikation in hochbelasteten Abwaessern.
In: Verein Deutscher Ingenieure: Fortschritt-Berichte / 15 ; Nr. 156
- Platzer, C. (1998) Entwicklung eines Bemessungsansatzes zur Stickstoffelimination in Pflanzen-
kläranlagen.
Schriftenreihe des Fachgebietes Siedlungswasserwirtschaft der Technischen Universität
Berlin, Nr 6
- Pollard, P.C.; Flood, J.A.; Ashbold, N.J. (1996) The direct measurement of bacterial growth in
biofilms of emergent plants (*Schoenoplectus*) of an artificial wetland.
Water Science and Technology, Vol. 32, Iss. 8, pp. 251-256
- Porter, L.K. (1969) Gaseous products by anaerobic reaction of sodium nitrite with oxime

- compounds and oximes synthesized from organic matter.
Soil Sci. Soc. Am. Proc., Vol. 32, pp. 696-702
- Rath, G. (1996) Entwicklung eines Nachweissystems zur In-situ-Analyse nitrifizierender Bakterienpopulationen auf der Basis spezifischer 16SrRNA-Gensequenzen.
Hamburg, Univ., Diss., 1996
- Riesenberg, D. (1988) Die Regulation der Stickstoffassimilation.
In: Physiologie der Mikroorganismen. Eds. Hecker, M.; Babel, W.; Gustav Fischer Verlag, Jena
- Rinnert, B. (1983) Hydrodynamische Dispersion in porösen Medien: Einfluß von Dichteunterschieden auf die Vertikalvermischung in horizontaler Strömung.
Dissertation am Institut für Wasserbau der Universität Stuttgart
- Rolston, D.E.; Fried, M.; Goldhamer, D.A. (1976) Denitrification measured directly from nitrogen and nitrous oxide gas fluxes.
Soil Science Society of America Journal, Vol. 40, pp. 259-266
- Sandford, W.E.; Steenhuis, T.S.; Parlange, J.-Y.; Surface, J.M.; Peverly, J.H. (1995) Hydraulic conductivity of gravel and sand as substrates in rock-reed filters.
Ecological Engineering, Vol. 4, pp. 321-336
- Schlegel, H-G (1992) Allgemeine Mikrobiologie.
Georg Thieme Verlag
- Schoonen, K.; Bruyn, A. de; Strous, M.; Kuenen, J. G.; Jetten, M. (1997) Anaerobic oxidation of ammonium (ANAMOX).
Tagung in Ostende 1997, pp. 53-56
- Schramm, A.; de Beer, D.; Wagner, M.; Amann, R. (1998) Identification and activities In Situ of *Nitrospira* and *Nitrospira* spp. as dominant populations in a nitrifying fluidized bed reactor.
Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64, (9), pp. 3480-3485
- Schramm, A.; Larsen, L.H.; Revesbech, N.P.; Ramsing, N.B.; Amann, R.; Schleifer, K.-H. (1996) Structure and function of a nitrifying biofilm as determined by in situ hybridisation and the use of microelectrodes.
Applied and Environmental Microbiology, Vol. 62, No. 12, pp. 4641D464725

- Semon, J.; Sadick, T.; Palumbo, D.; Santoro, M.; Keenan, P. (1996) Biological Upflow Fluidized Bed denitrification reactor – demonstration project, Stamford
Water Science Technology, Vol. 36, No. 1, pp. 139–146
- Sich, I. ¹⁵N–Traceruntersuchungen zur Nitrifikation/Denitrifikation, insbesondere zur Bildung von Stickoxiden in Böden und wäßrigen Medien.
Promotion an der Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg, UFZ Berichte Nr. 17/1997
- Sikora, F.J.; Zhu, T.; Behrends, L.L.; Steinberg, S.L.; Coonrod, H.S. (1995) Ammonium removal in constructed wetlands with recirculating subsurface flow: Removal rates and mechanisms.
Water Science and Technology, Vol. 32, Iss. 3, pp. 193-202
- Smith, C J; Chalk, P M (1980) Fixation and loss of nitrogen during transformation of nitrite in soils.
Soil Science Society of America Journal, Vol. 44, Iss. 2, pp. 288-291
- Smith, D.H.; Clark, F.E. (1960) Volatile losses of nitrogen from acid or neutral soils or solutions containing nitrite and ammonium ions.
Soil Science, Vol. 90, pp. 86-90
- Smith, J.N.; Masse, A.N.; Teige, W.A.; Kamphake, L.J. (1972) Nitrogen removal from municipal wastewater by columnar denitrification.
Environmental Science and Technology, Vol. 6
- Smith, M.S.; Tiedje, J.M. (1979) The effect of roots on soil denitrification.
Soil Science Society of America Journal, Vol. 43, pp. 951-955
- Stephen, J.R.; McCaig, A.E.; Smith, Z.; Prosser, J.I.; Embley, T.M. (1996) Molecular diversity of soil and marine 16S rRNA gene sequences related to beta-subgroup ammonia-oxidizing bacteria.
Applied and Environmental Microbiology, Vol. 62, Iss. 11, pp. 4147-4154
- Stevenson, F.J.; Harrison, R.M.; Wetselaar, R.; Leeper, R.A. (1970) Nitrosation of soil organic matter. III. Nature of gases produced by reaction on nitrite with lignins, humic substances, and phenolic constituents under neutral and slight acidic conditions.
Soil Sci. Soc. Am. Proc., Vol. 34, pp. 430-435
- Strous, M.; Picavet, M.; van Gerven, E.; Kuenen, J. G.; Jetten, M. (1997) Anaerobic ammonium oxidation: towards successful application.

- Proceedings of Tagung in Ostende 1997, 49-52
- Stryer, L. (1991) Biochemie.
Spektrum Akad. Verlag; Heidelberg, Berlin, Oxford
- Stüven; R; Vollmer, M.; Bock, E. (1992) The impact of organic matter on nitric oxide formation by *Nitrosomonas europaea*.
Archives of Microbiology, Vol. 158, No. 5, pp. 439-443
- Tanaka, H.; Dunn, I.J.(1982) Kinetics of biofilm nitrification.
Biotechnology and Bioengineering, Vol. 24, pp. 669-689
- Tijhuis, L.; van Loosdrecht, M.C.M.; Heijnen, J.J. (1994) Formation and growth of heterotrophic aerobic biofilms on small suspended particels in airlift reactors.
Biotechnology and Bioengineering, Vol. 44, pp. 595-608
- Toritsuka, N.; Shoun, H.; Singh, U.P.; Park, S.Y.; Iizuka, T.; Shiro, Y. (1997) Functional and structural comparison of nitric oxide reductases from denitrifying fungi *Cylindrocarpum tonkinense* and *Fusarium oxysporum*.
Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology, Vol. 1338, Iss. 1, pp. 93-99
- Turk, O.; Mavinic, D.S. (1989) Stability of nitrite build-up in an activated sludge system.
J.W.P.C.F., Vol. 61, Iss. 8, pp. 1440-1448
- UBA (1998) <http://www.umweltbundesamt.de/udd/gew/gew5.htm>
- van Benthum, W.A.J.; van Loosdrecht, M.D.M.; Heijnen, J.J. (1997) Control of heterotrophic layer formation on nitrifying biofilms in a biofilm airlift suspension reactor.
Biotechnology and Bioengineering, Vol. 53, Iss. 4, pp. 397-405
- van de Graaf, A.; de Bruijn, P.; Robertson, L.A.; Jetten, M.S.M.; Kuenen, J.G. (1996) Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor.
Microbiology, Vol. 142, pp. 2187-2196
- van de Graaf, A.A.; de Bruijn, P.; Robertson, L.A.; Jetten, M.S.M.; Kuenen, G. (1997) Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of ¹⁵N studies in a fluidized bed reactor.
Microbiology, Vol. 143, pp. 2415-2451.
- van de Graaf, A.A.; Mulder, A.; Slijkhuys, H.; Robertson, L.A.; Kuenen, J.G. (1990) Anoxic

ammonium oxidation.

Proceedings 5th European Conference on Biotechnology in Copenhagen, July 8–13, 1990,
Vol. 1, pp. 388–391

- van Oostrom, A.J.; Russell, J.M. (1994) Denitrification in constructed wastewater wetland receiving high concentrations of nitrate.
Water Science and Technology, Vol. 29, Iss. 4, pp. 7-14
- Velthof, G.L.; Brader, A.B.; Oenema, O. (1996) Seasonal variations in nitrous oxide losses from managed grasslands in The Netherlands.
Plant and Soil, Vol. 181, Iss. 2, pp.263-274
- Von Schulthess, R.; Gujer, W. (1996) Release of nitrous oxide (N₂O) from denitrifying activated sludge: Verification and application of a mathematical model.
Water Research, Vol. 30, Iss. 3, pp. 521-530
- Voyenas, D.V.; Pavlou, S.; Lyberatos, G.(1997) Development of a dynamic model describing nitrification and nitritification in trickling filters.
Water Sciences and Technology, Vol. 31, No. 5, pp. 1135–1147
- Wagner, M.; Noguera, D.R.; Juretschko, S.; Rath, G.; Koops, H.-P.; Schleifer, K.-H. (1998) Combining fluorescent in situ hybridization (fish) with cultivation and mathematical modeling to study population structure and function of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge.
Water Science and Technology, Vol. 37, Iss. 4–5, pp. 441–449
- Wagner, M.; Rath, G.; Koops, H.-P.; Flood, J.; Amann, R. (1996) In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants.
Water Science and Technology, Vol. 32, Iss. 1-2, pp. 237-244
- Wagner, M; Rath, G; Amann, R; Koops, H-P; Schleifer, K-H (1995) In situ identification of ammonia-oxidizing bacteria
Systematic and Applied Microbiology, Vol. 18, Iss. 2, pp. 251-264
- Wang, JH.; Baltzis, BC.; Lewandowski, GA. (1995) Reduction of nitrate and nitrite in a cyclically operated continuous biological reactor.
Biotechnology and Bioengineering, Vol. 46, Iss. 2, pp. 159-171
- Ward, B.B. (1995) Functional and taxonomic probes for bacteria in the nitrogen cycle.
In: Molecular ecology of aquatic microbes. eds.: Joint, I., pp. 73-86

- Ward, B.B.; Cockcroft, A.R.; Kilpatrick, K.A. (1993) Antibody and DNA probes for detection of nitrite reductase in seawater.
Journal of General Microbiology, pp. 2285-2293
- Watt, G.W.; Chrip, J.D. (1952) A spectrophotometric method for the determination of hydrazine.
Analytical Chemistry, Vol. 24, Iss. 12, pp. 2006-2007
- Wicht, H. von (1995) N₂O-Emissionen durch den Betrieb biologischer Kläranlagen.
Dissertation am Fachbereich für Bauingenieur- und Vermessungswesen der Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig
- Wiesmann, U. (1986) Kinetik der aeroben Abwasserreinigung durch Abbau von organischen Verbindungen und durch Nitrifikanten.
Chem.-Ing.-Tech. Vol. 58, Iss. 6, pp 464-474
- Wießner, A. (1999a) mündliche Mitteilung.
- Wießner, A.; Kusch, P.; Stottmeister, U.; Struckmann, D.; Jank, M. (1999) Treating a lignite pyrolysis wastewater in a constructed subsurface flow wetland.
Water Research, Vol. 35, Iss. 5, pp. 1296-1302
- Wießner, A.; Kusch, P.; Weißbrodt, E.; Stottmeister, U.; Pörschmann, J.; Kopinke, F.-D. (1993a) Charakterisierung des Wassers und des Sediments einer Braunkohle-Schwelwasserdeponie.
Wasser Abwasser Praxis, Vol. 6, pp. 375-379
- Wießner, A.; Kusch, P.; Weißbrodt, E.; Stottmeister, U.; Pörschmann, J.; Kopinke, F.-D. (1993) Charakterisierung des Wassers und des Sedimentes einer Braunkohle-Schwelwasserdeponie.
Wasser Abwasserpraxis, Vol. 6,, pp. 375-379
- Wijffels, R.; De Gooijer, C.D.; Schepers, A.W.; Beuling, E.E.; Mallee, L.F.; Tramper, J. (1995) Dynamic modeling of immobilized *Nitrosomonas europaea*: Implementation of diffusion limitation over expanding microcolonies.
Enzyme and Microbial Technology, Vol. 17, Iss. 5, pp. 462-471
- Williams, J.B.; May, E.; Frod, M.G.; Butler, J.E. (1994) Nitrogen transformation in gravel bed hydroponic beds used as a tertiary treatment stage for sewage effluents.
Water Science and Technology, 29 (4), 29-36
- Wullstein, L.H. (1967) Soil nitrogen volatilization.

Agric. Sci. Rev. Coop. State Res. U.S. Dep. Agric., Vol. 5, pp. 8–12

Xu, B.; Enfors, S.-O. (1996) Modeling of nitrite accumulation by the denitrifying bacterium *Pseudomonas stutzeri*.

Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol. 82, Iss. 1, pp. 56-60

Zachritz, W.H.; Lundie, L.L.; Wang, H. (1996) Benzoic acid degradation by small, pilot scale artificial wetlands filter (AWF) systems.

Ecological Engineering, Vol. 7, pp. 105–116

Zumft, W.G. (1992) The denitrifying prokaryotes.

In: A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer, The Prokaryotes, 2nd edition, Springer-Verlag KG, Berlin

Anhang A Strömungsuntersuchungen im Wurzelraumreaktor

In der Tabelle 2.1 werden die Koordinaten für den getracerten Strömungstest sowohl in Kartesischen– als auch in Zylinderkoordinaten aufgelistet. Die Umrechnung der Koordinaten erfolgt nach Gl. (64):

$$\begin{pmatrix} x \\ y \\ z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} r * \cos \alpha \\ r * \sin \alpha \\ h \end{pmatrix} \quad (64)$$

Tabelle A.1: Auflistung der Koordinaten der Meßpunkte für den Strömungstest

Meßpunkt- nummer	Zylinderkoordinaten		kartesische Koordinaten		Höhe
	[°]	r [mm]	x [mm]	y [mm]	h [mm]
1	0	60	60	0	18,1
2	0	60	60	0	12,1
3	0	60	60	0	4,6
4	0	85	85	0	19,6
5	0	85	85	0	12,6
6	0	85	85	0	5,1
7	90	60	0	60	18,6
8	90	60	0	60	13,1
9	90	60	0	60	5,1
10	90	85	0	85	20,6
11	90	85	0	85	13,6
12	90	85	0	85	5,6
13	135	60	-42,426	42,426	19,1
14	135	60	-42,426	42,426	12,6
15	135	60	-42,426	42,426	5,6
16	135	85	-60,104	60,104	21,6
17	135	85	-60,104	60,14	13,6
18	135	85	-60,104	60,104	6,6

In folgender Tabelle A.2 sind die Konstanten und die Korrelationskoeffizienten für die Anpassung an die Sigmoidfunktion zusammengestellt, die eine gute Anpassung an die lokalen Durchgangskurven für die Strömungstests ergaben.

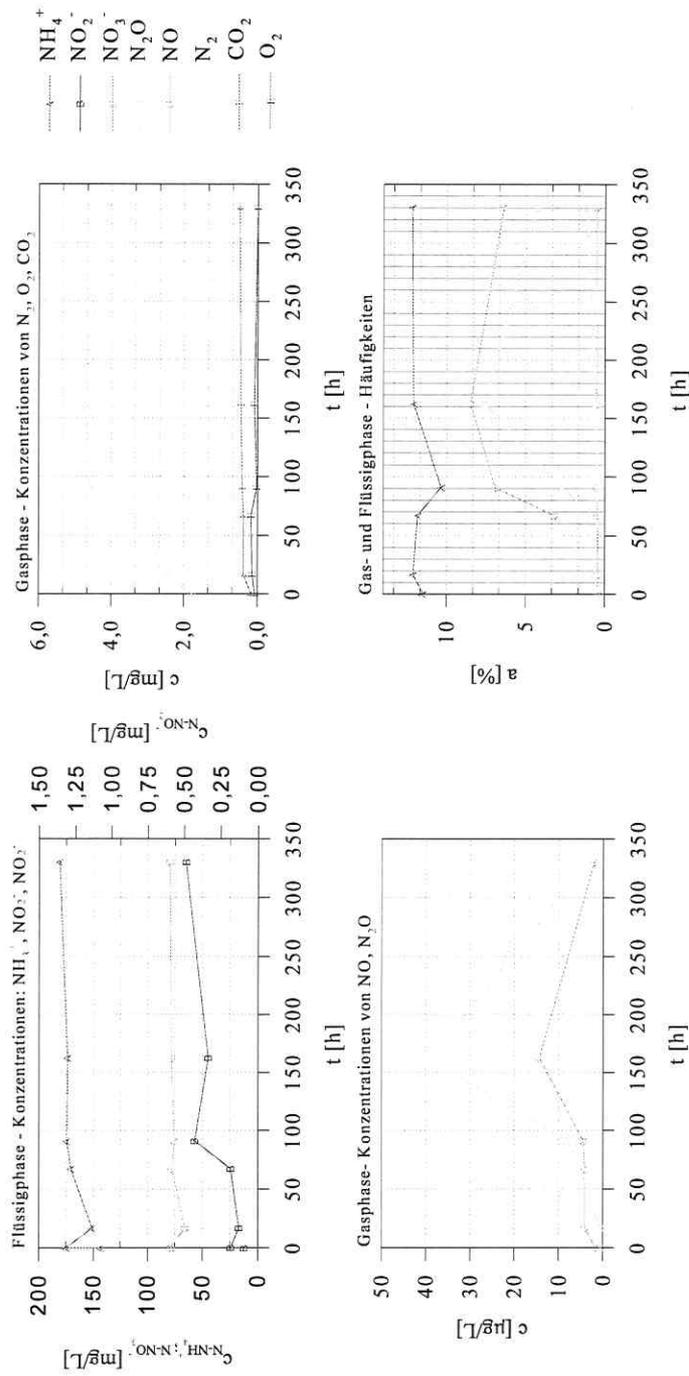
Tabelle A.2: Konstanten der Sigmoidfunktion

Meßpunkt	a	b	c	d	r ²
1	-1,2753	49,678	14,0974	1,0549	0,9978
2	-0,3455	49,0011	14,1934	0,8351	0,9984
3	1,1041	48,3085	13,702	0,8663	0,996
4	-0,7633	48,7625	14,8323	0,9963	0,9987
5	0,1319	48,1746	14,8345	0,7683	0,9982
6	1,8603	47,2909	13,7967	0,9857	0,9954
7	0,4476	49,6174	13,9153	0,9647	0,9967
8	-0,1939	50,1427	14,1149	0,8839	0,9971
9	0,1969	50,2895	13,2893	0,8591	0,9955
10	0,1969	50,2895	13,8519	0,8591	0,9955
11	1,0798	48,1435	14,7642	0,7324	0,9976
12	0,6736	49,8312	13,6974	0,949	0,9901
13	2,0269	49,5364	13,6614	1,019	0,9896
14	-0,1284	5,5962	13,8443	0,9367	0,9968
15	2,4777	47,3422	13,4273	0,8253	0,9897
16	3,5781	47,7352	13,6212	1,0885	0,9864
17	0,1151	50,8407	14,1064	1,0189	0,9902
18	-0,5293	48,9205	14,6296	0,9416	0,9983

Anhang B Anoxische Ammoniumoxidation

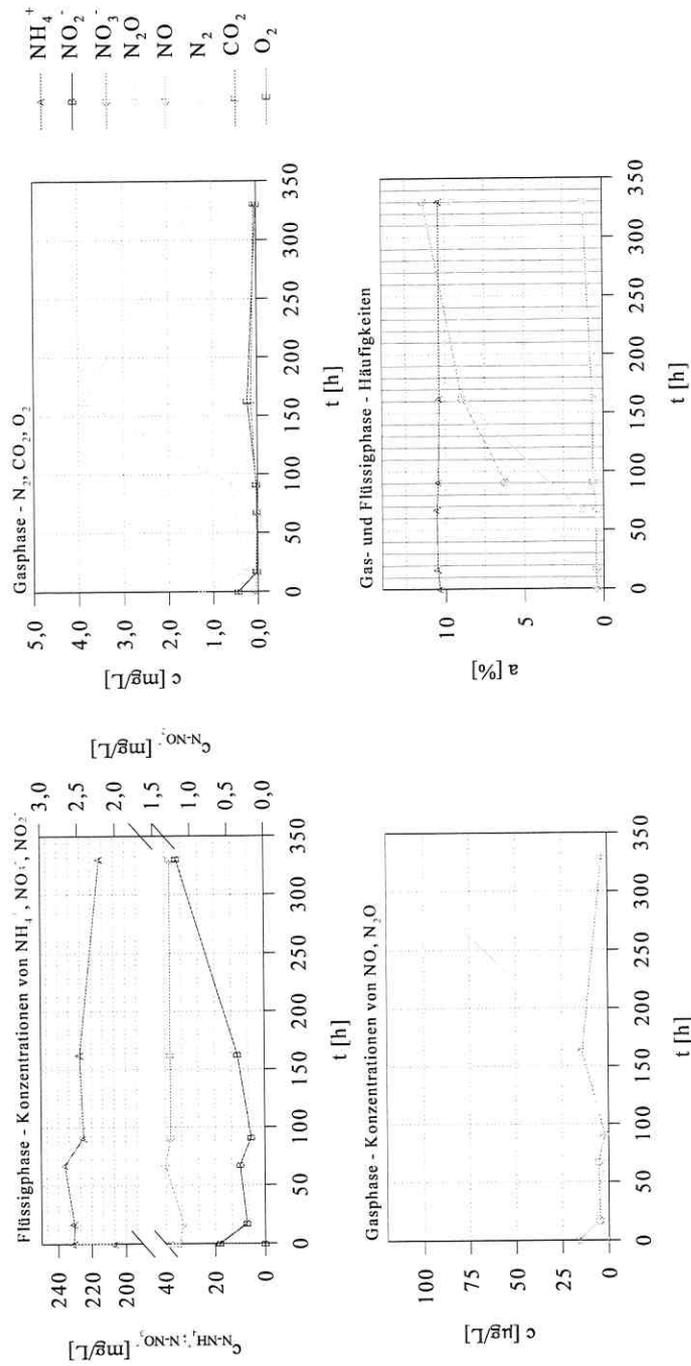
In diesem Anhang (Abb. B-1 und Abb. B-2) sind die Abbildungen für den ^{15}N -Ammonium-tracerversuch zusammengestellt. Für diesen Versuch wurden Aliquote der Langzeitkulturen in separate anaerobe Gefäße überführt und 10 At.% Ammonium hinzugegeben. Im Fall einer anoxischen Ammoniumoxidation würde die Massespur 29 eine stärkerer Intensität registrieren. Dies war nicht der Fall. Weiterhin ist in diesen Abbildungen zu sehen, daß eine Nitrifikation abläuft. Diese war durch den nur spurenhaf vorhandenen Sauerstoff limitiert. Von einer ebenfalls limitierten Denitrifikation kann weiterhin ausgegangen werden, denn die Nitratkonzentration war in beiden Versuchen annähernd konstant. Dies kann auf das Fehlen von verstoffwechselbaren Kohlenstoffquellen zurückgeführt werden.

Die Abbildungen B-3 bis B-6 zeigen die N-Salzkonzentrationen in den autotrophen Anreicherungskulturen. Einige der Proben (z.B. KLA 3) zeigen, daß Ammonium und Nitrit bzw. Nitrat gleichzeitig abnehmen. Dies deutet auf eine gleichzeitig ablaufende Nitrifikation und Denitrifikation in den Gefäßen hin. Bedingt durch die Heliumatmosphäre über der Nährlösung kann von einer stark limitierten Nitrifikation ausgegangen werden.



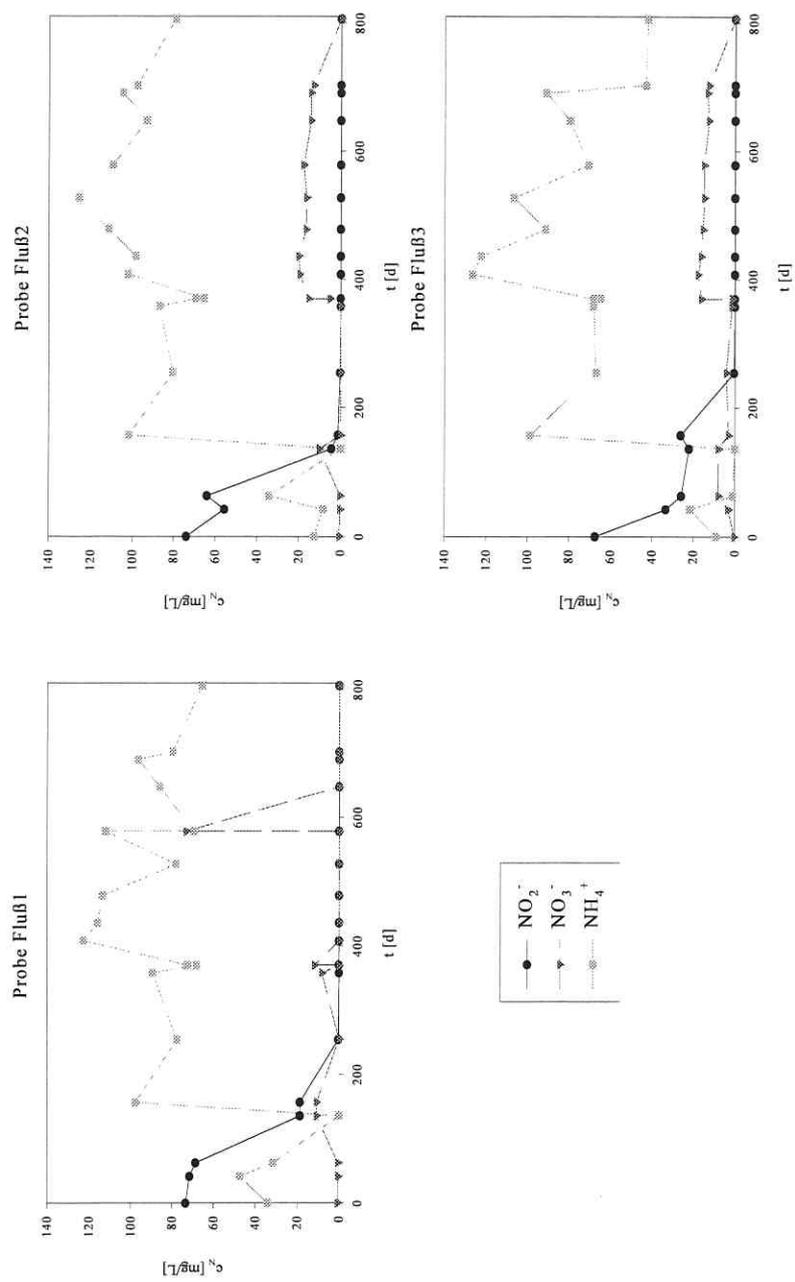
B-2

Abbildung B-1 Konzentrations-Zeit-Verläufe (A, B, C) und Häufigkeits-Zeit-Verläufe (D) zur Determination der anoxischen Ammoniumoxydation mittels ¹⁵N-Tracertechnik (Probe: Fluß)



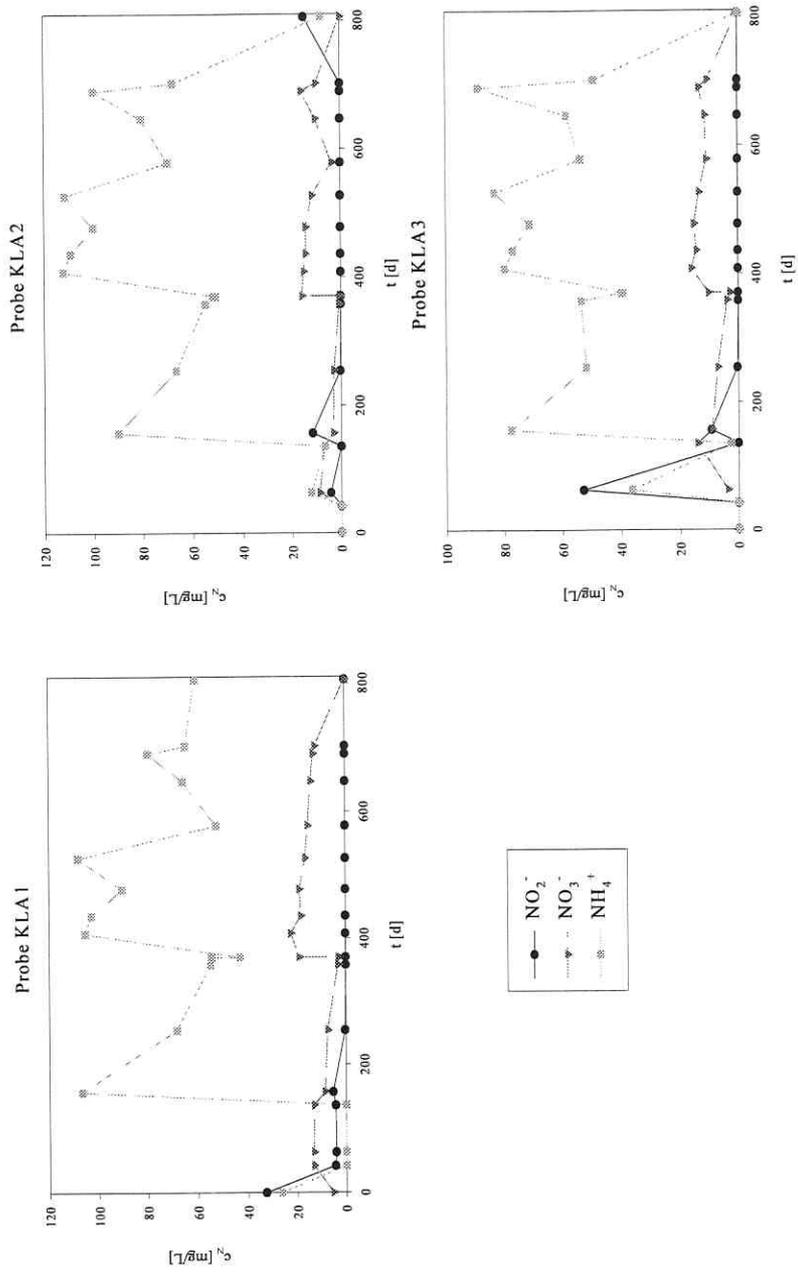
B-3

Abbildung B-2 Konzentrations-Zeit-Verläufe (A, B, C) und Häufigkeits-Zeit-Verläufe (D) zur Determination der anoxischen Ammoniumoxydation mittels ^{15}N -Tracertechnik (Probe: Teich)



B-4

Abbildung B-3 Nitrat-, Nitrit und Ammoniumkonzentrationen der Anreicherungsproben Fluß



B-5

Abbildung B-4 Nitrat-, Nitrit- und Ammoniumkonzentrationen der Anreicherungsproben Kläranlage

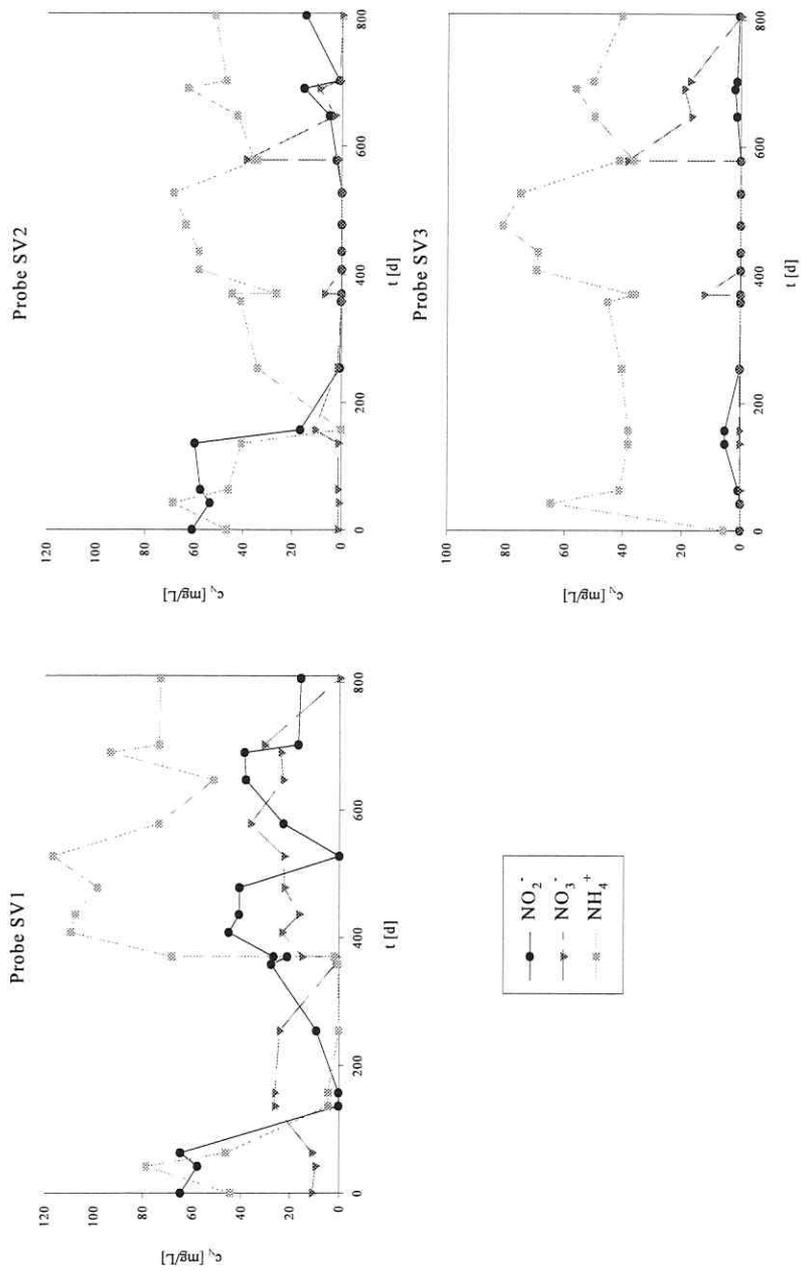
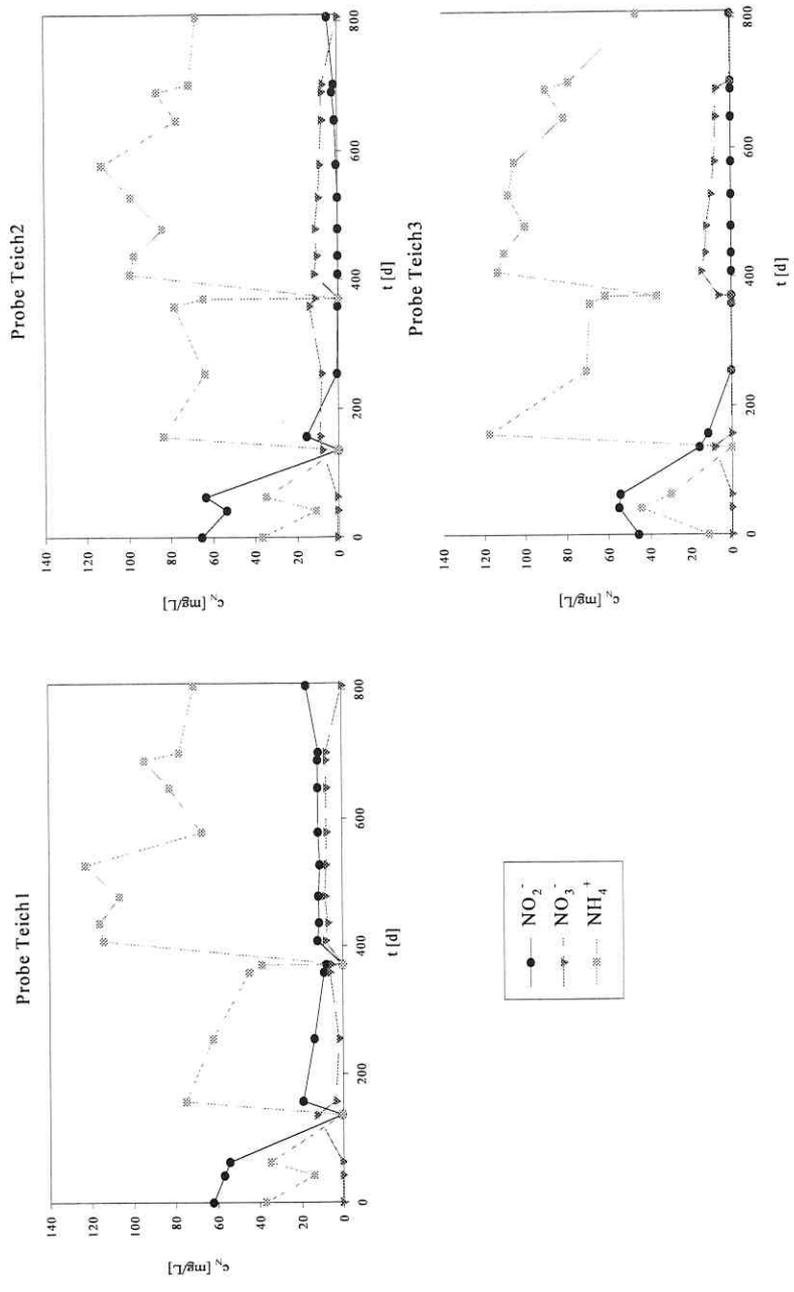


Abbildung B-5 Nitrat-, Nitrit und Ammoniumkonzentrationen der Anreicherungsproben SV



B-7

Abbildung B-6 Nitrat-, Nitrit und Ammoniumkonzentrationen der Anreicherungsproben Teich

Danksagung

Ich danke an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. rer. nat. P. Werner für die Übernahme der universitären Betreuung und die richtungsweisenden Gespräche.

Herrn Prof. Dr. habil. U. Stottmeister danke ich für die Bereitstellung des Themas und die Unterstützung und die Anteilnahme an dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich Dr. P. Kuschik für die Betreuung "vor Ort" sowie die ständige Erreichbarkeit, das Hinterfragen von Ergebnissen, für die kritische Durchsicht des Manuskripts und alle weiteren Unterstützungen danken. In diesem Zusammenhang danke ich auch Dr. A. Wießner, Frau Puschendorf und Frau Plötze für die vielen Gespräche und Unterstützungen.

Der Arbeitsgruppe um Dr. R. Russow gilt mein Danke der Diskussionsbereitschaft über Stickstoffumsetzungen, für die Ermöglichung der Arbeiten mit ^{15}N -Isotopen und der Bereitstellung der Technik und des Materials. In diesem Sinne sei besonders Frau Dr. I. Sich für Starthilfe gedankt.

Mein Dank gilt weiterhin Frau Prof. B.B. Ward von der University of California Santa Cruz und deren Team für die Aufnahme in ihrem Labor und das offene Arbeitsklima.

Weiterhin gilt mein Dank allen in der Sektion Sanierungsforschung, die mich durch Analysen, Ratschläge oder einfach Gespräche unterstützt haben und sich somit nicht unmaßgeblich für diese Arbeit engagiert haben.

Ein besonderer Dank gilt meiner Frau Silke für ihre große Toleranz, Rücksicht und die Durchsicht der Arbeit.

Mein Dank gilt auch meinen Freunden und Mitdoktoranden für die Unterstützung und die angenehme Zeit.

Thesen zur Dissertation

“Untersuchungen zu Mechanismen der Stickstoffumsetzung in Wässern bei der Passage durch bewachsene Bodenfilter (Pflanzenkläranlagen)”

vorgelegt von Uwe Kappelmeyer

1. Der im Rahmen der vorliegenden Promotion entwickelte und betriebene Wurzelraumreaktor eignet sich für die detaillierte, modellhafte Beschreibung der Stickstoffumsetzungsprozesse in bewachsenen Bodenfiltersystemen.
2. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen betrug die mittlere Nitrifikationsrate im bepflanzten Wurzelraumreaktor $0,11 \text{ mg N}/(\text{m}^2 \text{ d})$ und die maximale Nitrifikationsrate $2,7 \text{ mg N}/(\text{m}^2 \text{ d})$. Weiterhin wurde festgestellt, daß die Anzahl an Nitrifikanten in Richtung Wurzeloberfläche zunimmt.
3. Für die von der Nitrifikationsleistung unabhängige Denitrifikation wurden unter den gegebenen Versuchsbedingungen durch direkte Zugabe von Nitrat für den bepflanzten Wurzelraumreaktor eine mittlere Umsatzrate von $4,6 \text{ mg N}/(\text{m}^2 \text{ d})$ und eine maximale Denitrifikationsrate von $6,5 \text{ mg N}/(\text{m}^2 \text{ d})$ festgestellt. In den Versuchen zeigte sich, daß die Denitrifikation ab einem C:N-Verhältnis von 1,6 spontan und ohne Anreicherung von Nitrit einsetzt. Diese Denitrifikationsraten sind Ergebnisse von Messungen im Laborreaktor. Diese im Vergleich zur Behandlung kommunaler Abwässer geringen Denitrifikationsleistungen sind auf die Kohlenstofflimitierung und auf die geringen Biomassekonzentrationen im Laborreaktor zurückzuführen. Die geringen Kohlenstoffkonzentrationen sind dabei aus Analogiegründen in Hinblick auf den Deponiesee (Braunkohle-Schwelwasserdeponie in Trebnitz Sachsen-Anhalt) festgelegt worden. Die geringen Biomassekonzentrationen sind systembedingt auf das durchgängig geringe Kohlenstoffangebot in Verbindung mit relativ kurzen Versuchszeiträumen zurückzuführen.
4. Die Nitrifikation ist unter den gewählten Versuchsbedingungen der geschwindigkeitsbestimmende Schritt im Prozeß der Ammoniumentfernung.

5. Die Nitrifikation und die Denitrifikation stellen unter den gegebenen Bedingungen die Hauptprozesse der N-Umsetzung dar. Neben diesen Hauptprozessen finden aber auch die nichtsymbiotische N-Fixierung und die Chemodenitrifikation statt.
6. Unter günstigen Bedingungen kann die Chemodenitrifikation in bewachsenen Bodenfiltern als Konkurrenzprozeß zu den biotischen Umsetzungen des Nitrits auftreten. Zu diesen Bedingungen zählen saurer pH, Vorhandensein von Organika wie z.B. Huminstoffe und die Existenz von Nitrit in der Lösung. Als örtliches Abbild dieser Bedingungen kann der rhizomale Biofilm angesehen werden. Als Hauptendprodukt dieser Reaktion konnte NO bestimmt werden.
7. Hinweise auf die anoxische Ammoniumoxidation konnte in einigen Anreicherungskulturen gefunden werden. Diese Hinweise gehen auf den Metabolismus dieser Umsetzung zurück, wo Hydrazin als Zwischenprodukt auftritt. Im Wurzelraumreaktor konnten diese Beobachtungen nicht gemacht werden.
8. Die nichtsymbiotische Stickstofffixierung wurde in dem Wurzelraumreaktor mit Hilfe der ^{15}N -Ammoniumverdünnung und der Acetylenreduktion nachgewiesen. Für diesen Prozeß konnten somit zum ersten Mal Hinweise in einem nitrat- und ammoniumhaltigen System gefunden werden.
9. Bei den Versuchen im Wurzelraumreaktor konnten Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid als Zwischenprodukte der N-Umsetzungen nachgewiesen werden. Als Maximalwert wurden für das NO $182 \mu\text{g N}/(\text{m}^2 \text{ h})$ und für das N_2O $36 \mu\text{g N}/(\text{m}^2 \text{ h})$ bestimmt. Im Mittel lagen die NO-Emissionen bei $12 \mu\text{g N}/(\text{m}^2 \text{ h})$ und die N_2O -Emissionen bei $5 \mu\text{g N}/(\text{m}^2 \text{ h})$.