

Abbau und Rückhalt von Pyrazol in einer industriellen Kläranlage

Fachgebiet für Siedlungswasser- und Abfallwirtschaft
Abteilung Bauwissenschaften
Fakultät für Ingenieurwissenschaften
Universität Duisburg-Essen

Dissertation

Zum Erwerb des akademischen Grades
Doktor der Ingenieurwissenschaften (Dr.-Ing.)
vorgelegt von Leonard Friedrich Lattenkamp
geboren in Dorsten

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Martin Denecke (Universität Duisburg-Essen)
Prof. Dr.-Ing. Stefan Panglisch (Universität Duisburg-Essen)
Vor-Ort-Betreuung: Dr.-Ing. Thiemo Dunkel (INEOS Manufacturing Deutschland)

Eingereicht: 08. Februar 2022
Mündliche Prüfung: 07. Dezember 2022
in Essen

DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken

ub | universitäts
bibliothek

Diese Dissertation wird via DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt und liegt auch als Print-Version vor.

DOI: 10.17185/duepublico/78172

URN: urn:nbn:de:hbz:465-20230413-143122-1

Alle Rechte vorbehalten.

„Random chance plays a huge part in everybody’s life.“

Ernest Gary Gygax, 2008

Abstract

Refractory organic compounds are a major challenge for wastewater treatment facilities of chemical production sites. They arise as by-products of chemical manufacturing and can leave treatment systems unchanged and thus, enter the receiving water bodies. A variety of technical options is available for treatment of such problematic compounds (e.g. oxidation treatment, active carbon filtration). However, they are cost-intensive, require energy and additional feedstock and provide a significant carbon-footprint. Furthermore, they may require handling of dangerous substances (e.g. ozone) and operation of additional dedicated technical equipment. Since biological treatment consumes less energy and requires no additional feedstock it has a much smaller carbon footprint. Additionally, the process does not create unwanted transformation products. Thus, it is an interesting and preferable alternative to technical degradation. This study shows that, against current state of literature, biological degradation of pyrazole is possible. It is, however, a sensitive system, prone to disturbance. Stable biodegradation of pyrazole depends on multiple factors. To the organisms of an activated sludge, pyrazole is the least preferable carbon compound. If other compounds are available, pyrazole will be left over. Thus, the pyrazole-loaded stream needs to be isolated and treated separately. Wastewater pre-treatment units of production sites need to be operated in a way that discharges as little non-pyrazolic carbon compounds as possible to biological treatment. Pyrazole sludge loading rate is another important factor. In a laboratory-scale setup, a pyrazole sludge loading rate of $0,01 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}}\cdot\text{d}$ was feasible to establish a biodegradation of pyrazole from an activated sludge that was used to pyrazole but could not degrade it. An activated sludge that is adapted to pyrazole and can degrade it showed a threshold of $0,04 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}}\cdot\text{d}$ before biodegradation of pyrazole declined. Finally, wastewater matrix has an important influence on the performance of pyrazole degradation. Process wastewater from reactions where water is produced can be very low on trace elements and important ions, this is especially relevant when isolating those streams from other wastewater streams. Addition of Sodium, Magnesium and Potassium showed an increase in pyrazole degradation, while a lack of those elements lead to a decrease of degradation capacity. Additionally, a low sludge loading rate alone was not sufficient to initiate pyrazole degradation while ions were low in supply. Implementation of the recommendations based on this study led to a reestablishment of large-scale biological pyrazole degradation. Genetic analysis revealed that a pyrazole-degrading activated sludge is little diverse and mainly dominated by two species. An undescribed *Terrimonas* species (relative abundance: 45 %) and *Ottowia pentelensis* (20,5 %). While the latter species is a possible candidate for complete or partial pyrazole degradation, the former is probably either a cooperative partner in biodegradation pathways or simply an opportunistic coexisting organism.

Kurzbeschreibung

Refraktäre organische Verbindungen stellen die Abwasserbehandlungsanlagen industrieller Standorte vor große Herausforderungen. Als Nebenprodukte der chemischen Produktion gelangen sie ins Abwasser und können unverändert durch die Kläranlagen in die Vorfluter gelangen. Es existieren verschiedene technische Methoden solche Verbindungen aus Abwasserströmen zu entfernen. Diese Methoden, wie beispielsweise Oxidationsverfahren oder Aktivkohlefiltration, sind jedoch mit hohen Kosten, Stromverbrauch, CO₂-Fußabdruck und zusätzlichen Verbrauchsmitteln und ggf. Gefahrstoffen (z.B. Ozon) verbunden. Der biologische Abbau solcher Verbindungen kommt mit weniger Energie und ohne zusätzliche Einsatzstoffe aus und birgt zudem nicht das Risiko ungewollter Transformationsprodukte. Daher ist dieser Prozess zu bevorzugen. Diese Arbeit zeigt, dass der refraktäre fünf-gliedrige Heteroaromat Pyrazol, entgegen dem derzeitigen Stand der Literatur, biologisch abbaubar ist. Dieser Prozess ist jedoch ein empfindliches System, das von mehreren Faktoren abhängig ist. Pyrazol wird von den Mikroorganismen eines Belebtschlammes offenbar erst nach allen anderen Kohlenstoffverbindungen abgebaut. Daher muss der belastete Abwasserstrom gesondert behandelt werden und die Abwasservorbehandlung so betrieben werden, dass möglichst wenig Kohlenstoff neben Pyrazol in die Kläranlage gelangt. Weiterhin ist die Pyrazol-Schlammbelastung ein wichtiger Faktor. Laborversuche mit Belebtschlamm, der zwar an Pyrazol gewöhnt war, die Verbindung jedoch nicht abbauen konnte, zeigten, dass eine Belastung von 0,01 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d geeignet ist, um einen biologischen Abbau zu etablieren. Ein etablierter Belebtschlamm, der in der Lage ist, Pyrazol abzubauen, kann mit bis zu 0,04 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d belastet werden, bevor der Abbau abfällt. Als dritter Faktor wurde die Abwassermatrix ermittelt. Isolierte Prozessabwässer, bei denen Wasser als Reaktionsprodukt entsteht, können sehr arm an Ionen und Spurenelementen sein, dies war auch hier der Fall. Unter Zugabe von Natrium, Magnesium und Kalium zeigte sich ein verstärkter biologischer Pyrazolabbau. Gleichzeitig führt ein Fehlen der Elemente zu einem Einbruch der Abbauleistung. Bei einem Mangel der Elemente reichte eine niedrige Schlammbelastung allein nicht aus, um einen biologischen Pyrazolabbau zu etablieren. Es gilt daher, die Faktoren Abwasserinhaltsstoffe, Kohlenstofffrachten und Pyrazol-Schlammbelastung korrekt einzustellen und zu überwachen, um einen Abbau zu ermöglichen. Die Implementierung der in dieser Studie ausgearbeiteten Empfehlungen führten dazu, dass der biologische Pyrazolabbau großtechnisch wiederhergestellt werden konnte. Genetische Analysen zeigten, dass ein Pyrazol-abbauender Belebtschlamm wenig divers ist und vor allem von zwei Organismen dominiert wird: eine unbeschriebene *Terrimonas* Spezies (relative Häufigkeit: 45 %) und *Ottowia pentelensis* (20,5 %). Letztere Art könnte die Art sein, die in der Lage ist, Pyrazol ganz oder teilweise zu verstoffwechseln. Die erstere Art könnte eher ein kooperativer Partner in den Abbauprozessen oder lediglich ein opportunistischer Co-existierender Organismus sein.

Inhaltsverzeichnis

Abstract.....	i
Kurzbeschreibung.....	ii
Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungen und Formelzeichen	III
Tabellenverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Danksagung.....	IX
1. Einleitung.....	1
2. Grundlagen.....	3
2.1. Belebtschlammverfahren	4
2.1.1. Mikrobiologie des Belebtschlammes	6
2.1.2. Membranbelebungsverfahren	7
2.2. Biologische Abbauprozesse	8
2.2.1. Enzyme	8
2.2.2. Nitrifikation	10
2.2.3. Denitrifikation	11
2.2.4. Biologischer Abbau ringförmiger Verbindungen	12
2.3. Refraktäre organische Stoffe	16
2.3.1. Pyrazol.....	17
2.4. Standard-Oil-of-Ohio Prozess	19
3. Industrielle Pyrazol-Biologiestufe.....	23
3.1. Verfahrensbeschreibung der biologischen Pyrazol-Reinigungsstufe	23
3.2. Abwassereigenschaften.....	25
3.3. Beobachtungen und Schlüsse aus dem großtechnischen Betrieb.....	26
3.4. Pyrazolelimination durch Ozon-Oxidation.....	33
4. Motivation und Arbeitshypothesen	34
5. Material und Methoden	36
5.1. Allgemeine Parameter und Analytik.....	36
5.1.1. Schlamm- und Anlagencharakteristika	36
5.1.2. Chemische Analytik	37
5.2. Abbauversuche	39
5.2.1. Halbtechnischer Versuch 1	39
5.2.2. Sequencing-Batch Versuch.....	41
5.2.3. Kontinuierlicher Laborversuch 1	43
5.2.4. Kontinuierlicher Laborversuch 2	50

5.2.5. Halbtechnischer Versuch 2	52
5.3. Genetische Untersuchungen	55
6. Ergebnisse und Diskussionen	56
6.1. Ergebnisse und Diskussion der Abwasser-Versuche	56
6.1.1. Halbtechnischer Versuch 1	56
6.1.2. Sequencing-Batch Versuch.....	61
6.1.3. Kontinuierlich beschickter Versuch 1.....	65
6.1.4. Kontinuierlich beschickter Versuch 2.....	79
6.1.5. Halbtechnischer Versuch 2	91
6.1.6. Bedeutung der Ergebnisse und Beobachtungen für den Betrieb	93
6.1.7. Umsetzung der Erkenntnisse	94
6.2. Genetische Untersuchungen	96
7. Zusammenfassung und Ausblick	102
Literatur.....	105
Anhang	112

Abkürzungen und Formelzeichen

Abkürzung	Bedeutung	Einheit
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie	
ABS	Acrylnitril-Budadien-Styrol	
ACN	Acrylnitril	
ad	Auffüllen auf angegebenes Volumen	
AOP	Advanced Oxidation Processes	
ATP	Adenosintriphosphat	
BSB	Biologischer Sauerstoffbedarf	mg/L
CoA	Coenzym A	
COMMAMOX	Complete Ammonium Oxidation	
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf	mg/L
DNA	Desoxyribonukleinsäure	
DOC	gelöster organisch-gebundener Kohlenstoff	mg/L
EC50	Mittlere akute effektive Wirkkonzentration	mg/L
EC50	Mittlere Inhibitionskonzentration	
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen	
GC-FID	Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor	
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie	
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	
LD50	Mittlere akute Letalkonzentration	
MBR	Membranbioreaktor	
MMM	Multi-Metall-Molybdat	
NADPH	Nicotinamidadeninindinukleotidphosphat	
NCBI	National Center for Biotechnology Information	
NDIR	nichtdispersiver Infrarotsensor	
nPyr-DOC	nicht-Pyrazolischer DOC	mg/L
oTS	organischer Trockensubstanzgehalt	g/L
PCR	Polymerase-Kettenreaktion	
PVDF	Polyvinylidenfluorid	
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure	
SOHIO	Standard-Oil-of-Ohio	
THF	Tetrahydrofuran	
TKN	Gesamt Kjeldhal-Stickstoff	
TN	Gesamtstickstoff	
TOC	Gesamter organisch-gebundener Kohlenstoff	mg/L
TS	Trockensubstanz	g/L
VE-Wasser	Vollentsalztes Wasser	
VZ-Abwasser	Abwasser aus der Vielzahl-Wasser Produktion (Grignard-Reaktion)	
WHG	Wasserhaushaltsgesetz	

Formelzeichen	Bedeutung	Einheit
B_{TS}	Schlammbelastung durch <i>Komponente</i>	$\text{kg}_{\text{Komponente}}/\text{kg}_{TS} \cdot \text{d}$
c	Konzentration	mg/L
M	Molare Masse	g/mol
$m_{T+F, \text{beladen}}$	Masse des Tiegels und Filters nach Filtration	g
$m_{T+F, \text{unbeladen}}$	Masse des Tiegels und Filters vor Filtration	g
$m_{\text{Rückstand}}$	Masse des Tiegels und Rückstands nach Verbrennung	g
m_{Tiegel}	Masse des leeren Tiegels	g
Q	Volumenstrom	L/h oder L/d
t_{hr}	hydraulische Verweilzeit	h oder d
TS	Trockensubstanzgehalt	g/L oder kg/L
V_B	Reaktor- oder Belebungsvolumen	L oder m^3
V_{BSP}	Volumen einer Belebtschlammprobe	L

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: Pysiko-chemische Eigenschaften von Pyrazol.....	18
Tabelle 2-2: Effektive Konzentrationen, die zur 50-prozentigen Hemmung der Nitrifikation (EC ₅₀) in Belebtschlämmen führen.....	19
Tabelle 2-3: Übersicht über Summenparameter und anorganische Verbindungen verschiedener ACN-Abwässer.....	20
Tabelle 2-4: Vergleich von Einzelkomponenten verschiedener ACN-Abwasser Analysen.....	22
Tabelle 3-1: Eigenschaften der Pyrazol-Biologiestufe	25
Tabelle 3-2: Ausgewählte chemische Eigenschaften des Zulaufs der Pyrazol-Biologiestufe	25
Tabelle 3-3: Vergleich von Ionengehalten aus Belebtschlammproben der Pyrazol-Biologiestufe.	28
Tabelle 5-1: Verwendete Küvettentests und deren Bestimmungsgrenzen.....	38
Tabelle 5-2: Technische Parameter des ersten halbtechnischen Versuchs.....	40
Tabelle 5-3: Zusammensetzung der Abwasserzugaben der Batchtests	43
Tabelle 5-4: Eigenschaften des kontinuierlich beschickten Versuchs	44
Tabelle 5-5: Übersicht der verschiedenen Versuchsphasen.....	46
Tabelle 5-6: Zusammensetzungen des Abwasserzulaufgemischs für den ersten kontinuierlich beschickten Versuch	46
Tabelle 5-7: Versuchsphasen des zweiten kontinuierlich beschickten Versuchs.	50
Tabelle 5-8: Ionengehalte aus verschiedenen Anzuchtmedien und dem vorherigen Versuch.	51
Tabelle 5-9: Eigenschaften des halbtechnischen Versuchs 2	53
Tabelle 5-10: PCR Programm für die Nanopore Sequenzierung.....	55
Tabelle 6-1: Ergebnisse aus Phase 1	67
Tabelle 6-2: Ergebnisse aus Phase 2	68
Tabelle 6-3: Ergebnisse aus Phase 3	70
Tabelle 6-4: Ergebnisse aus Phase 4	71
Tabelle 6-5: Ergebnisse aus Phase 5	72
Tabelle 6-6: Ergebnisse aus Phase 6	73
Tabelle 6-7: Ergebnisse aus Phase 7	73
Tabelle 6-8: Analyse der Einsatzmedien aus Phase 7.	74
Tabelle 6-9: Ergebnisse aus Phase 8	75
Tabelle 6-10: Ergebnisse aus Phase 9	75
Tabelle 6-11: Ergebnisse aus Phase 1	79
Tabelle 6-12: Ergebnisse aus Phase 2	82
Tabelle 6-13: Ergebnisse der Phase 3	83

Tabelle 6-14: Ergebnisse aus Phase 485

Tabelle 6-15: Ergebnisse aus Phase 586

Tabelle 6-16: Ergebnisse der Ionenanalysen in Phase 5 des zweiten kontinuierlich beschickten
Versuchs.....87

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2-1: Schematischer Aufbau einer Kläranlage	3
Abbildung 2-2: Schematische Beispiele für den Aufbau einer Belebungsstufe: a) Etablierung der Zustände durch alternierende Belüftung, b) Trennung des Beckens in eine belüftete und eine unbelüftete Zone, c) Betrieb eines belüfteten und eines unbelüfteten Beckens. Nach HAMANN (2011)	5
Abbildung 2-3: Schematische Darstellung der Nahrungsbeziehung in einem Belebtschlamm (nach GERARDI, 2006)	7
Abbildung 2-4: Schematische Darstellung eines Enzym-katalysierten Spaltungsprozesses.....	9
Abbildung 2-5: Schematischer Ablauf der Denitrifikation (nach CYPIONKA, 2010).....	12
Abbildung 2-6: Aerober Benzolabbau (Brenzcatechin-Weg mit ortho-Spaltung) nach FUCHS et al. (2011) und REINECKE et SCHLÖMANN (2020). Die Oxidation von Benzol kann durch verschiedene Monoxygenasen vollzogen werden (siehe Kapitel 2.2.4)	14
Abbildung 2-7: Mögliche Abbauege von Pyridin durch Ring-Reduktion und Ring-Hydroxylierung (nach GUPTA et al., 2019)	16
Abbildung 2-8: Strukturformel von Pyrazol	17
Abbildung 3-1: Schematischer Aufbau der Pyrazol-Biologiestufe und Vorreinigung zur Ozonanlage	24
Abbildung 3-2: Zusammensetzung der Kohlenwasserstoffe im Zulauf der Pyrazol Biologiestufe .	26
Abbildung 3-3: Relativer (a) und absoluter (b) Verlauf des Pyrazolabbaus in der Pyrazol-Biologiestufe von 2016 bis 2021. Die dreieckigen Marker zeigen wichtige Veränderungen in der Pyrazol-Biologiestufe an: April 2017: Inbetriebnahme zweites Belebungsbecken; September 2018: keine Übernahme mehr aus Stapelbecken.....	28
Abbildung 3-4: Verlauf der Schlammbelastungen durch a) nicht-pyrazolischen DOC und b) Pyrazol in der Pyrazol-Biologiestufe von 2016 bis 2021.....	29
Abbildung 3-5: Pyrazolkonzentrationen der Pyrazol-Biologiestufe von 2016 bis 2021 im Vergleich	30
Abbildung 3-6: Verlauf des Trockensubstanzgehaltes (Mittelwert aus beiden Belebungsbecken) in der Pyrazol-Biologiestufe	31
Abbildung 3-7: Mittlere Ammoniumkonzentrationen im Zu- und Ablauf der Pyrazol-Biologiestufe	32
Abbildung 5-1: Aufbau und Verlauf der Versuchsreihe	39
Abbildung 5-2: Aufbau der Versuchsanlage für den halbtechnischen Versuch 1	41
Abbildung 5-3: Versuchsaufbau der Batchtests.....	42
Abbildung 5-4: Aufbau des kontinuierlich beschickten Versuchs.....	44
Abbildung 5-5: Aufbau der Versuchsanlage zur Ozonierung von Abwasserproben.....	45

Abbildung 5-6: Schematische Darstellung der Versuchsanlage für den halbtechnischen Versuch	253
Abbildung 6-1: Übersicht der Ergebnisse aus dem ersten halbtechnischen Versuch	57
Abbildung 6-2: Verlauf von Ammonium-Stickstoff und Nitrat-Stickstoff in Zu- und Ablauf vom ersten halbtechnischen Versuch	60
Abbildung 6-3: Verlauf des Sequencing-Batch Tests	62
Abbildung 6-4: Gesamte abgebaute Menge Pyrazol im Sequencing-Batch Versuch	63
Abbildung 6-5: Ergebnisse des ersten kontinuierlich beschickten Versuchs.....	66
Abbildung 6-6: Vergleich der DOC Konzentrationen zwischen Phase 2 und dem Anfang der Phase 3	68
Abbildung 6-7: Verlauf der Pyrazolkonzentrationen in Phase 3	69
Abbildung 6-8: Ergebnisse des zweiten kontinuierlich beschickten Versuchs R = Referenz-Straße; P = Pilot-Straße (Fortsetzung der Beschreibung auf folgender Seite)	81
Abbildung 6-9: Verlauf vom Anteil des Pyrazols am DOC im Zulauf.....	86
Abbildung 6-10: Nitratkonzentrationen der Versuchs-Straßen im zweiten kontinuierlichen Versuch	89
Abbildung 6-11: Pyrazolkonzentrationen im zweiten halbtechnischen Versuch	91
Abbildung 6-12: Verlauf der Pyrazol-Schlammbelastung im zweiten halbtechnischen Versuch ...	92
Abbildung 6-13: Verlauf der Schlammbelastungen durch a) nicht-pyrazolischen DOC und b) Pyrazol in der Pyrazol-Biologiestufe nach Umsetzung der Erkenntnisse	95
Abbildung 6-14: Relativer (a) und absoluter (b) Abbau von Pyrazol in der Pyrazol-Biologiestufe nach Umsetzung der Erkenntnisse	96
Abbildung 6-15: Ergebnisse der Sequenzierung aus dem Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm der Versuchsanlage	98
Abbildung 6-16: Ergebnisse der Sequenzierung aus dem Belebtschlamm der Pyrazol-Biologiestufe ohne Pyrazolabbau.....	99
Abbildung 6-17: Phylogenetischer Baum basierend auf 16S rRNA Sequenzen zur Einordnung der dominanten Terrimonas Species. Als Outlier wurde Flavitalea populi gewählt, die ebenfalls in der Probe gefunden wurde und wie Terrimonas zu den Chitinophagaceae gehört. Der Maßstabbalken gibt die Abweichungen pro Nukleotid an.	100

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Prof. Dr. Martin Denecke für die Betreuung und Begutachtung dieser Arbeit. Durch die Möglichkeit diese Arbeit in seiner Arbeitsgruppe durchzuführen, bekam ich Gelegenheit, tief in die vielfältige Welt der Abwasserreinigung und ihrer Mikroorganismen einzutauchen. Prof. Dr.-Ing. Stefan Panglisch danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Ebenso danke ich der INEOS in Köln für die Forschungskooperation mit der Universität Duisburg-Essen, die diese Arbeit finanziert und ermöglicht hat. Ganz besonderer Dank gilt dabei Herrn Dr. Thimo Dunkel, dessen Unterstützung, Ratschläge und konstruktive Diskussionen einen unschätzbaren Wert für diese Arbeit bargen.

Auch dem gesamten Team der Kläranlage der INEOS in Köln danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung von Untersuchungen vor Ort, insbesondere Herrn Jörg Peters bei der Unterstützung rund um die halbtechnischen Versuchsanlagen. Ich bedanke mich bei dem Team von Herrn Erik Assing für die Bearbeitung zahlloser Proben und die Beantwortung ebenso vieler Fragen. Besonderer Dank gilt dabei auch Herrn Waldemar Magiera, dessen analytische Expertise in der Aufschlüsselung des Abwassers von großem Wert war.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern von Prof. Dr. Rainer Meckenstock sowie der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Alexander Probst danke ich herzlich für die Unterstützung bei den mikrobiologischen Isolationsversuchen und genetischen Analysen. Insbesondere danke ich Frau Astrid Dannehl für die Vermittlung ihres Wissens und die Beantwortung so vieler Fragen.

Ich danke allen Studentinnen und Studenten, die mit ihren Abschlussarbeiten einen Beitrag zu diesem Projekt lieferten. Hervorzuheben sind vor allem die herausragenden Arbeiten von Herrn Stefan Podzelny und Herrn Thomas Hinsken, die ich betreuen durfte.

Besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden. Ich danke Andreas Schielke für den interdisziplinären Austausch und die Notfallversorgung mit koffeinhaltigen Heißgetränken nach ungeplant verlaufenden Versuchen. Ich danke meinen Eltern für den steten Rückhalt und das Ermöglichen meines Ausbildungsweges.

Zu guter Letzt gilt mein ganz besonderer Dank meiner Frau Katharina. Ohne ihre Unterstützung und Geduld wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

1. Einleitung

Wasser ist ein besonderer Stoff. In riesigen Mengen auf unserem Planeten vorhanden und doch nur ein Bruchteil davon für unser Leben nutzbar. Die physikochemischen Eigenschaften des Wassers sind einzigartig und machen es nicht nur zur Grundlage des Lebens, sondern auch zu einem begehrten Stoff als Nutzmittel in der Industrie. Insbesondere für Mensch und Gesellschaft ist der Zugang zu sauberem Trinkwasser jedoch essenziell. So erkannte auch die Generalversammlung der Vereinten Nationen im Juli 2010 das Recht auf sauberes Trinkwasser als Menschenrecht an (UN GENERAL ASSEMBLY, 2010). Gleichzeitig gibt es sowohl in den Medien als auch der Wissenschaft ein steigendes Interesse an Nachhaltigkeit, Klima-, Umwelt- und Naturschutz. So ist es also eine unerlässliche Aufgabe der Gesellschaft, Wasser und Gewässer zu schützen, um auch den folgenden Generationen eine Lebensgrundlage zu bieten. Doch auch die industriellen Gewerbe kommen ohne eine Nutzung von Wasser nicht aus. Als Kühl-, Extraktions- oder Trägermedium wird Wasser weltweit täglich genutzt. Nach §54 Abs. 1 Wasserhaushaltsgesetz (WHG) gilt ein so genutztes und in seinen Eigenschaften verändertes Wasser als Abwasser. Abwasser aus kommunalen und industriellen Quellen würde bei unbehandelter Einleitung in den Vorfluter zu erheblichen Schäden im Gewässer führen. Nicht nur toxische Effekte von Einzelsubstanzen, die ihren Weg bis ins Trinkwasser finden können und der Eintrag von pathogenen Mikroorganismen in den Vorfluter spielen hier eine Rolle, sondern auch der Eintrag von erheblichen Mengen an Nährstoffen, die zur Eutrophierung führen: Vor allem das Überangebot von Stickstoff und Phosphor führt zu übermäßigem Wachstum von Phytoplankton, bis hin zur sogenannten Algenblüte. Algen und Cyanobakterien bilden dann eine dichte Schicht auf der Wasseroberfläche. Folglich kommt es zu einem Lichtmangel in tieferliegenden Gewässerebenen sowie einem Mangel an Sauerstoff. Hohe Kohlenstofffrachten führen zudem zu starkem Biomassewachstum und so zur Sauerstoffzehrung. Ohne Sauerstoff können die aquatischen Wirbellosen und Wirbeltiere nicht im Wasser überleben.

Bevor Abwasser einem Vorfluter zugeführt wird, muss es also aufbereitet werden.

Während bereits im antiken Rom schon Abwasserkanäle gebaut wurden, entwickelten sich die Möglichkeiten zur Aufbereitung von Abwasser vor allem seit dem frühen 19. Jahrhundert ständig weiter (RIFFAT, 2013). Was in der Neuzeit mit dem Bau von Abwasserkanälen in London begann, gipfelt heute in einer Vielzahl von biologischen und chemisch-physikalischen Möglichkeiten, Wasser von Schadstoffen zu reinigen. Dabei ist die biologische Reinigung mittels Belebtschlamm das am häufigsten eingesetzte Verfahren (GERNAEY et SIN, 2008). Mit der immer genauer

werdenden Analytik und den dadurch steigenden Anforderungen an die Abwasserbehandlung stößt das Belebtschlammverfahren jedoch insbesondere in Hinsicht auf refraktäre Stoffe an seine Grenzen. Als refraktäre organische Stoffe bezeichnet man die organischen Verbindungen, die sich aufgrund ihrer stabilen chemischen Struktur schwer biologisch abbauen lassen. Hinsichtlich der biologischen Abbaubarkeit zeichnen sich diese refraktären Verbindungen durch ein niedriges Verhältnis von biologischem Sauerstoffbedarf (BSB) zu chemischem Sauerstoffbedarf (CSB) aus. Als biologisch schwer abbaubar zählen unter anderem mono- und polycyclische Aromaten und Heteroaromaten (WILD et JONES, 2013). Um diese Stoffe aus Abwasserströmen zu entfernen, stehen verschiedene chemisch-physikalische Verfahren zur Verfügung. Dazu zählen Stofftrennungen durch Membranen, Adsorptionsverfahren, beispielsweise an Aktivkohle, sowie Oxidations- und erweiterte Oxidationsprozesse (engl. *advanced oxidation processes*, AOPs). In einfachen Oxidationsprozessen werden Oxidationsmittel wie Ozon oder Wasserstoffperoxid genutzt, die aufgrund ihrer reaktiven Eigenschaften Moleküle angreifen und so umwandeln. AOPs sind definiert als Verfahren, in denen Hydroxyl-Radikale gebildet und als hochreaktives Oxidationsmittel genutzt werden (GLAZE et al., 1987). Um den zunehmend höher werdenden Ansprüchen an die Ablaufqualität gerecht zu werden, gilt es in der modernen Abwasserreinigung biologische und chemisch-physikalische Verfahren sinnvoll miteinander zu kombinieren. Die chemisch-physikalischen Methoden zur Entfernung von Schadstoffen sind jedoch häufig mit hohen Kosten und einem großen CO₂-Fußabdruck verbunden. Neben dem Bau und Betrieb von komplexen technischen Anlagen, benötigen die Prozesse zudem viel elektrische Energie und zusätzliche Einsatzstoffe. Eine Oxidation durch Ozon benötigt beispielsweise neben Energie nicht nur Sauerstoff und Kühlwasser, sondern unter Umständen auch zusätzliche chemische Entschäumer. All diese Einsatzmittel müssen aufwändig produziert werden. Zudem kommen mit reinem Sauerstoff und Ozon zwei zusätzliche Gefahrenquellen in den Betrieb. Andere Methoden wie die Aktivkohlefiltration bergen ebenfalls durch Filterwechsel, -transporte und -regeneration hohe Kosten und einen großen CO₂-Fußabdruck. Da die biologische Abwasserbehandlung mit deutlich geringerem Energieverbrauch, weniger Einsatzstoffen und geringeren Kosten auskommt, ist sie nach wie vor hochaktuell.

2. Grundlagen

Moderne Abwasserreinigungsanlagen bestehen aus mehreren Stufen, die Inhaltsstoffe schrittweise aus dem Abwasserstrom entfernen und eine hohe Ablaufqualität sicherstellen.

Abbildung 2-1 zeigt einen schematischen Aufbau einer Kläranlage.

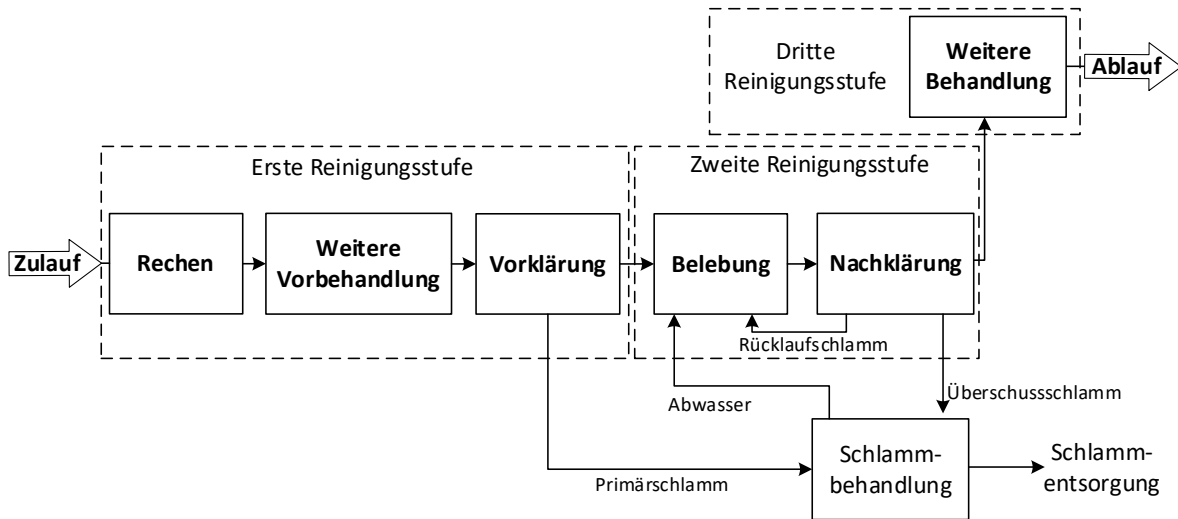


Abbildung 2-1: Schematischer Aufbau einer Kläranlage

In der ersten Reinigungsstufe wird das Abwasser vor allem mechanisch gereinigt. Grobe Inhaltsstoffe wie mitgeschwemmter Abfall oder Pflanzenteile werden mittels eines Rechens entfernt. In einem weiteren Schritt können je nach Abwasserart verschiedene weitere Vorbehandlungen folgen. Bei starken Belastungen mit Sedimenten kann hier ein Sandfang betrieben werden, bei industriellen Kläranlagen wird häufig eine chemische Vorbehandlung zur pH-Neutralisierung eingesetzt. In der Vorklärung wird die Fließgeschwindigkeit des Wassers so weit verlangsamt, dass sich weitere feinere Partikel absetzen können, hier bildet sich der Primärschlamm. Von der Vorklärung gelangt der Abwasserstrom in die zweite Reinigungsstufe. Hier findet eine biologische Abwasserreinigung statt. Das Belebtschlammverfahren wird im folgenden Kapitel näher beschrieben. In der Nachklärung wird der Belebtschlamm abgeschieden und zurück in die Belebung sowie zur Schlammbehandlung für die Vorbehandlung zur Entsorgung gefördert. Der biologisch gereinigte Abwasserstrom gelangt von der Nachklärung zur dritten Reinigungsstufe. Hier werden Stoffe, die nicht oder nur schwer biologisch abbaubar sind, gezielt eliminiert. Je nach Abwasser kommen dafür verschiedene Technologien und Anlagen in Betracht. Zur Elimination von Phosphat können Anlagen zur Ausfällung von Phosphat zum Einsatz kommen. Zur Entfernung von Spurenstoffen wie Medikamenten- oder Hormonrückständen können Aktivkohlefilter oder Ozonanlagen eingesetzt werden. Nach der dritten Reinigungsstufe wird das gereinigte Abwasser in den Vorfluter abgegeben. Bei den

anfallenden Schlämmen kommt es zu unterschiedlichen Weiterbehandlungen. Schlämme mit hohem organischen Anteil können sich für eine Faulung eignen. Ist eine Faulung nicht vorhanden, werden die Schlämme mittels Hochleistungsdekantern oder Filterpressen entwässert, gegebenenfalls weiter getrocknet und dann der Verbrennung oder Deponie zugeführt.

2.1. Belebtschlammverfahren

Wie eingangs bereits erwähnt, ist das Belebtschlammverfahren das Abwasseraufbereitungsverfahren, was weltweit am häufigsten zum Einsatz kommt. Das zu reinigende Wasser wird in diesem Verfahren einem Bioreaktor zugeführt, in dem eine hochkonzentrierte Mikroorganismensuspension gehalten und zirkuliert wird. Diese Mikroorganismensuspension wird als Belebtschlamm bezeichnet. Je nach Abwasser müssen verschiedenste Inhaltsstoffe abgebaut werden, was unter unterschiedlichsten Bedingungen erfolgt. In der Regel muss der Belebtschlamm sowohl Stickstoff- als auch Kohlenstoffverbindungen abbauen, wobei sich der Stickstoffabbau in die Nitrifikation und Denitrifikation unterteilt. Diese Abbauprozesse werden in Kapitel 2.2 beschrieben. Für Nitrifikation und Denitrifikation sind zwei unterschiedliche Zustände des Belebungsbeckens erforderlich: ein aerober Zustand, in dem das Becken aktiv belüftet wird, und ein anoxischer Zustand, in dem kein gelöster Sauerstoff (O_2) mehr verfügbar ist. Diese Zustände können sowohl durch bauliche Trennung der Belebungsbecken als auch durch die Betriebsweise eingestellt werden. Abbildung 2-2 zeigt einige Beispiele hierfür. In Schema a) der Abbildung wird das Belebungsbecken in Intervallen belüftet. Die aeroben Organismen zehren den gelösten Sauerstoff auf, so dass sich im unbelüfteten Intervall ein anoxischer Zustand einstellt. In Schema b) werden zwei Zonen etabliert. Der Großteil des Beckenvolumens (ca. 85 %) wird als oxische Zone belüftet, ein kleinerer Teil bleibt unbelüftet. Im Übergangsbereich bildet sich ein Sauerstoffgradient aus. Eine weitere Möglichkeit ist die Nutzung mehrerer Becken, von denen jedes eine Funktion als oxisches oder anoxisches Becken übernimmt (Schema c). Weitere Varianten dieser Lösung sind das abwechselnde Hintereinanderschalten mehrerer belüfteter und unbelüfteter Becken (Kaskadenbiologie) oder die Etablierung von spezialisierten Belebtschlämmen, in dem durch Nachklärungen hinter belüfteten sowie unbelüfteten Becken isolierte Schlammkreisläufe geschaffen werden. Eine Gemeinsamkeit aller Ansätze des klassischen Belebtschlammverfahrens ist die Notwendigkeit einer Nachklärung. Zum einen brauchen die Mikroorganismen deutlich länger, um sich zu vermehren, als die hydraulische Verweilzeit zulassen würde, zum anderen dürfen Feststoffe wie Belebtschlammbestandteile den

Vorfluter nicht verschmutzen. Daher wird der Belebtschlamm in der Nachklärung vom gereinigten Wasser getrennt. Das am häufigsten eingesetzte Verfahren dazu ist die gravitative Trennung in strömungsberuhigten Becken. In diesen Becken, beispielsweise nach Bauart eines Dortmundbrunnens oder eines Rundbeckens mit Krählerwerk, kann sich das Belebtschlamm-Wasser-Gemisch absetzen. Die Belebtschlammflocken sinken aufgrund ihrer höheren Dichte ab und der Belebtschlamm dickt im unteren Teil des Beckens ein. Von dort aus wird er zurück in die Belebungsbecken oder zur Schlammbehandlung gefördert. Der klare Überstand läuft im oberen Teil des Beckens über und wird weiter behandelt oder in den Vorfluter geleitet. Technologien wie die Membranbioreaktoren (Kapitel 2.1.2) kommen ohne eine Nachklärung aus.

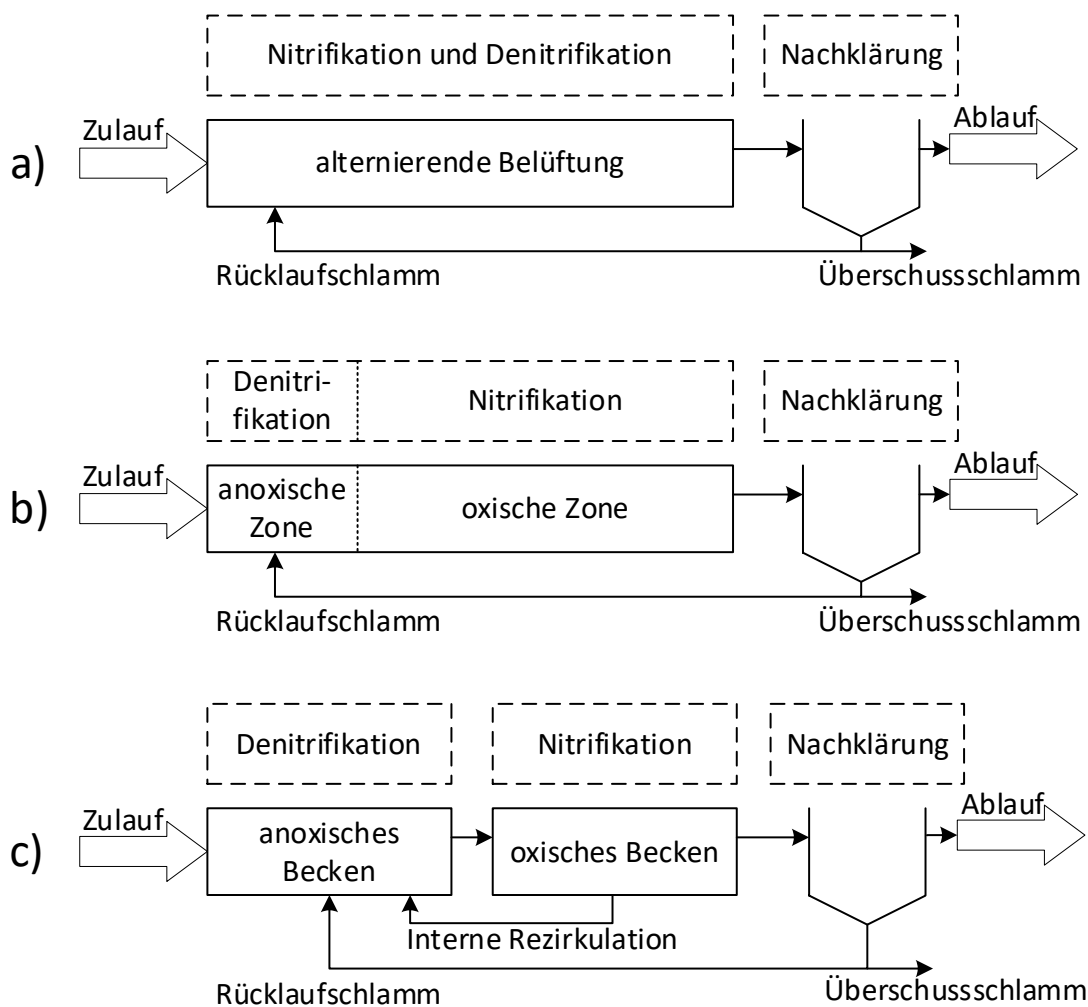


Abbildung 2-2: Schematische Beispiele für den Aufbau einer Belebungsstufe: a) Etablierung der Zustände durch alternierende Belüftung, b) Trennung des Beckens in eine belüftete und eine unbelüftete Zone, c) Betrieb eines belüfteten und eines unbelüfteten Beckens. Nach HAMANN (2011)

2.1.1. Mikrobiologie des Belebtschlammes

Neben den Mikroorganismen enthält ein Belebtschlamm auch organische und anorganische Fasern und Partikel sowie kleine höhere Lebewesen. Die wichtigste Einheit im Belebtschlamm ist jedoch die Belebtschlammflocke. Das Grundgerüst der Flocke wird von organischen Fasern und anorganischen Partikeln gebildet, auf denen Mikroorganismen wie Bakterien und Archaeen wachsen. Fadenförmige Bakterien wie *Microthrix parvicella* geben der Flocke weitere Stabilität und Möglichkeiten zur Quervernetzung und bieten weiteren Bakterien die Möglichkeit, anzuhafte und zu wachsen (epiphytisches Wachstum). Extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) unterstützen die Flockenbildung, in dem sie es den Organismen ermöglichen, aneinander oder an anderen Bestandteilen der Flocke anzuhafte. Die Stabilität und ausreichende Größe einer Flocke ist ein wichtiges Kriterium für ihre Absetzbarkeit. Nur wenn sich eine Belebtschlammflocke in der Nachklärung absetzt, kann sie auch in das Belebungsbecken zurückgeführt werden.

In kommunalen Belebtschlämmen beträgt der organische Anteil an der trockenen Belebtschlammmasse ca. 70 bis 75 % (MUDRACK et KUNST, 2003). Davon ist jedoch nur ein kleiner Teil tatsächlich auch aktive Biomasse: nach SEVIOUR et NIELSEN (2010) beträgt der Anteil lebender Bakterienzellen an der organischen Masse etwa 5 bis 20 %. Der Belebtschlamm ist ein komplexes Ökosystem, der jedoch nicht nur aus Bakterien besteht. Der Rest setzt sich aus abgestorbenen Zellen sowie aus weiteren höheren Lebewesen zusammen, die sich wiederum von Bakterien, Archaeen und Pilzen ernähren. Abbildung 2-3 zeigt eine Nahrungspyramide, die die Nahrungskette im Belebtschlamm skizziert (nach GERARDI, 2006). Die Abwasserinhaltsstoffe werden von Bakterien, Archaeen und Pilzen verstoffwechselt. Aus diesen drei Gruppen ist die Rolle der Bakterien am genauesten untersucht worden, dennoch übernehmen Archaeen (FREDRIKSSON et al., 2012) und Pilze (NIU et al., 2017) durchaus wichtige Funktionen im Belebtschlamm. Die Bakterien-, Archaeen- und Pilzzellen dienen wiederum als Nahrungsquelle für höher entwickelte Einzeller wie Amöben, Wimpertierchen oder Glockentierchen. Auf der nächsten Stufe ernähren sich die Rotifera (Rädertierchen) von den Organismen der unteren Stufen. An der Spitze der Pyramide stehen die freilebenden Nematoden, die sich von allen Organismen der darunter liegenden Stufen ernähren. Die Pyramide ist dabei eine stark vereinfachte Darstellung. Welche Organismen im Belebtschlamm tatsächlich zu finden sind, hängt stark vom zu behandelnden Abwasser und den verfahrenstechnischen Randbedingungen der Belebung (z.B. Schlammalter, Temperatur, Sauerstoffgehalt, pH-Wert) ab. Im Belebtschlamm kommunaler Kläranlagen sind die genannten Organismen in der Regel vorzufinden, in

Industriekläranlagen kann das zu behandelnde Abwasser jedoch so spezielle Ansprüche stellen, dass höhere Einzeller oder Mehrzeller nur selten oder gar nicht vorkommen. Zudem sind die Nahrungsbeziehungen in allen Ökosystemen unserer Welt deutlich vielschichtiger und ähneln eher einem komplexen Netz als einer Pyramide. So gibt es in Belebtschlämmen beispielsweise auch Pilzarten, die sich als Endoparasiten auf Nematoden als Nahrungsquelle stützen (GRAY, 1984).

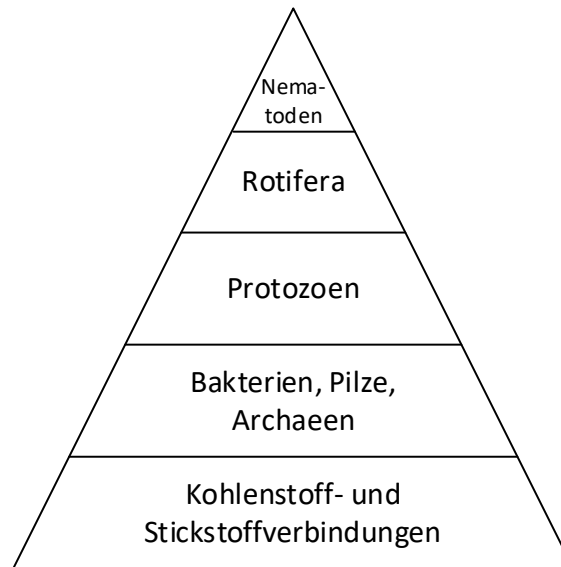


Abbildung 2-3: Schematische Darstellung der Nahrungsbeziehung in einem Belebtschlamm (nach GERARDI, 2006)

2.1.2. Membranbelebungsverfahren

Eine besondere Form des Belebtschlammverfahrens ist das Membranbelebungsverfahren. In diesem Verfahren kommt in Membranbioreaktoren (MBR) eine Membran zum Einsatz, um das gereinigte Abwasser vom Belebtschlamm zu trennen. Das Belebungsverfahren selbst, also der Einsatz von Mikroorganismen zur Abwasserreinigung in Belebungsbecken mit belüfteten und unbelüfteten Zonen bleibt unverändert. Die durch die Membran stattfindende Mikro- oder Ultrafiltration ersetzt die Nachklärung. Das klassische Belebtschlammverfahren mit gravimetrischer Fest-Flüssig-Trennung ist in der Menge an Biomasse, die im System gehalten werden kann, limitiert: In der Regel kann sich der Belebtschlamm in der Nachklärung ab einem Trockensubstanz-Gehalt (TS-Gehalt) von ca. 5 g/L den Belebtschlamm nicht mehr sauber absetzen, so dass die Nachklärung nicht mehr stabil und abtriebsfrei betrieben werden kann (PARK et al., 2015). Der Einsatz von Membranen umgeht diese Limitierungen und ermöglicht deutlich höhere Belebtschlammkonzentrationen. In den meisten Anwendungen haben sich TS-

Gehalte zwischen 8 und 12 g/L etabliert – es wären auch noch höhere Werte möglich, jedoch steigt dann der Reinigungsaufwand und das Risiko des Foulings (PARK et al., 2015).

Fouling dient als Überbegriff für die verschiedenen Deckschichten, die sich auf einer porösen Membran ausbilden können (MELIN et RAUTENBACH, 2007): Die verschiedenen Inhaltsstoffe des zu filtrierenden Mediums treten in Wechselwirkung mit der Membran und bilden auf und in den Poren der Membran Verblockungen. Einige dieser Deckschichten lassen sich durch regelmäßiges Rückspülen der Membran mit Permeat verringern, andere sind persistenter und bedürfen eines erhöhten Reinigungsaufwandes. Die Ablagerung von Mikroorganismen auf der Membran wird als „Bio-Fouling“ bezeichnet. Dabei lagern sich die Organismen in einem Biofilm auf den Membranen an. Dieser Prozess lässt sich durch Rückspülungen verlangsamen, in der Abwasserbehandlung wird das Bio-Fouling zudem durch in-situ Reinigungen bekämpft. Dabei wird dem Rückspülstrom in regelmäßigen Abständen z.B. Natriumhypochlorit zugesetzt. Anorganische Ablagerungen und Ausfällungen können sich ebenfalls an den Membranen ausbilden, hierbei spricht man von „Scaling“. Gegen diese Art von Deckschichten wird dem Rückspülstrom in einer in-situ Reinigung eine milde Säure, z.B. Zitronensäure zugesetzt.

Der Markt bietet eine Vielzahl verschiedenster Membranmaterialien, -bauweisen und Betriebsweisen. Für den Einsatz einer Membran in einem Membranbioreaktor haben sich jedoch vor allem Platten- und Hohlfasermembranen in Cross-Flow-Betriebsweise (auch: Tangentialflussfiltration) etabliert (PARK et al., 2015). In der Cross-Flow Betriebsweise wird die Membran permanent mit Medium überströmt, während die Filtration quer zur Fließrichtung des Mediums stattfindet. Die Scherkräfte des überströmenden Mediums tragen dazu bei, die Deckschichtbildung zu verlangsamen. Häufig werden zudem Belüftungssysteme eingesetzt, die durch das Eintragen von Luftblasen weitere Scherkräfte zur Verringerung der Deckschichtbildung erzeugen. Im Falle von Hohlfasermembranen tragen die Luftblasen auch dazu bei, dass die Membranfilamente gegeneinander reiben, was der Deckschichtbildung weiter entgegenwirkt.

2.2. Biologische Abbauprozesse

2.2.1. Enzyme

Die Mikroorganismen des Belebtschlammes bauen die Abwasserinhaltsstoffe ab, indem sie sie in ihren Stoffwechsel integrieren und so zur Energiegewinnung und zum Biomasseaufbau nutzen. Die grundlegenden Werkzeuge der Organismen dabei sind die Enzyme. Enzyme sind komplexe

Proteine, teilweise mit anorganischen Anteilen, die die Zellen nach Bedarf für ihren Stoffwechsel bilden. Aus bio-chemischer Sicht handelt es sich hierbei um Katalysatoren, die chemische Reaktionen ermöglichen und beschleunigen, in dem sie die Aktivierungsenergie der Reaktion herabsetzen. Das Reaktionsgleichgewicht wird durch Enzyme nicht verändert (KRIEGEL et SCHELLENBERGER in LÖFFLER et al., 2007). Formel (2-1) stellt den Verlauf einer enzymatischen Reaktion dar.



Das Enzym (E) und das Substrat (S) bilden den Enzym-Substrat-Komplex (ES). Es findet eine Reaktion statt, die das Substrat zum Produkt (P) umwandelt, sodass sich der Enzym-Produkt-Komplex (EP) bildet. Abschließend trennen sich Produkt oder Produkte und Enzym.

Enzyme arbeiten dabei selektiv nach dem Schlüssel-Schloss Prinzip. Das bedeutet, dass ein Substrat oder eine Gruppe von sehr ähnlichen Substraten nur von einem passenden Enzym gespalten oder verändert werden kann. Abbildung 2-4 skizziert den Ablauf eines Spaltungsprozesses durch ein Enzym. Im ersten Schritt müssen Enzym und Substrat räumlich zueinander finden. Passen Enzym und Substrat zueinander, bindet das Substrat im aktiven Zentrum des Enzyms und es bildet sich der Enzym-Substrat-Komplex. Dabei wird das Substrat in einen reaktionsfähigen Übergangszustand überführt, sodass im nächsten Schritt die Reaktion stattfinden kann. Das Substrat wird so zu einem oder mehreren Produkten überführt und es bildet sich ein Enzym-Produkt-Komplex. Im letzten Schritt trennen sich Enzym und Produkt. Das Enzym verändert sich durch die Reaktion nicht und steht dann wieder für weitere Reaktionen zur Verfügung.

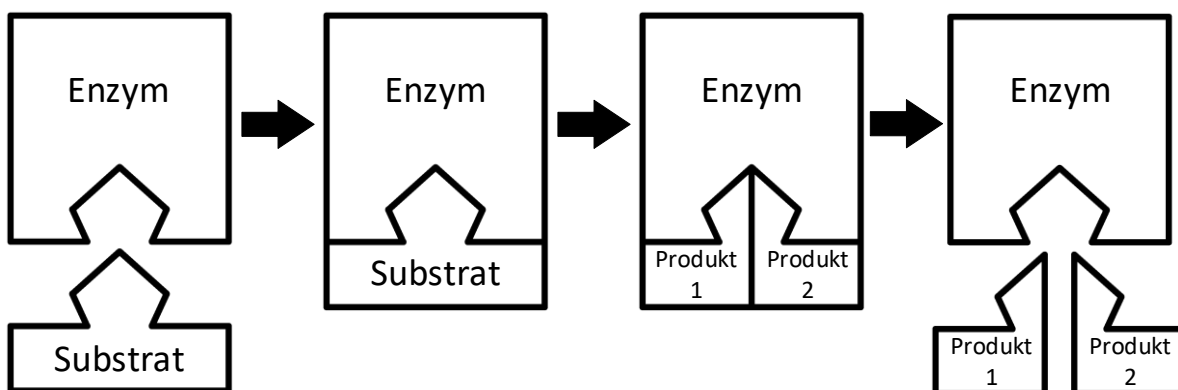


Abbildung 2-4: Schematische Darstellung eines Enzym-katalysierten Spaltungsprozesses

Häufig benötigen Enzyme für ihre Funktion noch die Hilfe anderer Stoffe. Diese sogenannten Coenzyme und Cofaktoren können sowohl niedermolekulare organische Verbindungen, aber auch Metallionen sein. Die Funktionen, die diese Stoffe erfüllen, sind vielfältig. Sie unterstützen bei der räumlichen Positionierung von Enzym und Substrat und der Bindung im aktiven Zentrum, können aber auch bei der chemischen Umwandlung des Substrats durch Übertragung von Stoffgruppen oder Elektronen beteiligt sein. KRIEGEL et SCHELLENBERGER (in LÖFFLER et al., 2007) schätzen, dass zwei Drittel aller Enzyme Metallionen als Cofaktoren benötigen, um aktiv zu sein.

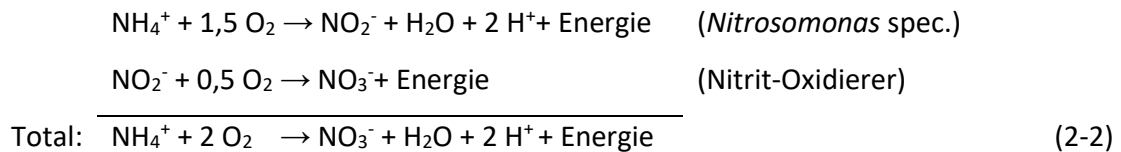
Ein Beispiel für eine Gruppe von Enzymen, welche Eisen als Cofaktor benötigen, sind die Rieske Nicht-Hämeisen Oxygenasen. Hierbei handelt es sich um ein Mehr-Komponentensystem aus Elektronentransportproteinen und einer Oxygenase (HUNOLD, 2019). Diese Oxygenasen spielen eine essenzielle Rolle im aeroben Abbau von aromatischen Kohlenstoffen (PÉREZ-PANTOJA et al., 2010): Die Enzyme bereiten die Ringstruktur des Substrats auf die Öffnung vor, in dem sie zwei Sauerstoffatome in das Molekül integrieren. Dabei agieren in den aktiven Zentren der Oxygenase Eisen-Atome als Elektronenüberträger. Andere Elemente, die sehr häufig als Cofaktoren auftreten, sind beispielsweise Magnesium, Zink, Kupfer oder Molybdän: Magnesium und Zink sind häufig bei Hydrolasen beteiligt (MORTIMER et al., 2007). Kupfer spielt häufig eine Rolle bei Oxidasen (ZEECK et al., 2005). Molybdän findet sich beispielsweise in der Nitratreduktase (CYPIONKA, 2010) oder in Molybdän-Hydroxylasen (FETZNER, 2000). Der Abbau von schwerabbaubaren Kohlenstoffverbindungen wird im Kapitel 2.2.4 noch eingehender beleuchtet.

2.2.2. Nitrifikation

In kommunalem Abwasser findet sich Stickstoff meist reduziert als Ammonium oder in Aminogruppen wieder. Die oxidierten Formen Nitrit und Nitrat spielen im noch unbehandelten Abwasser in der Regel eine eher geringere Rolle (CYPIONKA, 2010). In industriellem Abwasser ist Stickstoff ebenfalls häufig als Ammonium, aber auch als Nitrit und Nitrat aufzufinden. Ebenfalls kann Ammonium hier auch in Form von organischen und heteroaromatischen Verbindungen auftreten. Ein Teil des Stickstoffs aus dem Abwasser wird von den Organismen beim Aufbau von Biomasse integriert. Die meisten Abwässer, sowohl kommunal als auch industriell, enthalten jedoch deutlich mehr Stickstoff, als durch diese Integration aufgezehrt werden kann. In der Abwasserreinigung wird daher auf die biologischen Prozesse der Nitrifikation und Denitrifikation gesetzt.

In der Nitrifikation wird Ammonium in zwei Schritten zu Nitrat oxidiert. Diese zwei Schritte werden durch unterschiedliche Bakteriengruppen vollzogen, die zusammenfassend als

Nitrifikanten bezeichnet werden. Im ersten Schritt wird Ammonium durch Bakterien der Gattung *Nitrosomonas* zu Nitrit oxidiert und von der Zelle wieder abgegeben. Der zweite Schritt erfolgt durch Nitrit-Oxidierer wie Bakterien aus den Gattungen *Nitrobacter* oder *Nitrospira*. Diese Organismen nehmen Nitrit in die Zelle auf, oxidieren es dort weiter zu Nitrat und schleusen es wieder aus der Zelle aus. Der gesamte Prozess lässt sich wie in Formel (2-2) zusammenfassen (RIFFAT, 2013).



Eine besondere Form der Nitrifikation ist die *Complete Ammonium Oxidation* (COMAMMOX). In diesem Prozess finden beide Oxidationsschritte innerhalb eines Organismus statt. Nachgewiesen wurde dies innerhalb der Gattung *Nitrospira* (DAIMS et al., 2015).

2.2.3. Denitrifikation

In der Nitrifikation wird Ammonium-Stickstoff zu Nitrat umgewandelt. Um Nitrat endgültig aus dem Abwasserstrom zu entfernen, muss Nitrat zu molekularem Stickstoff (N₂) transformiert werden, sodass der Stickstoff schadlos in die Atmosphäre übergehen kann. Dies geschieht in der Denitrifikation. Anders als die Nitrifikation kann die Denitrifikation nur unter anoxischen Bedingungen stattfinden. Dies begründet sich in der thermodynamischen Hierarchie der Elektronenakzeptoren. Das Redoxpaar Sauerstoff / Wasser hat ein höheres Redoxpotential (0,82 mV) als das Paar Nitrat / Nitrit (0,43 mV) (CYPIONKA, 2010) und würde daher stets bevorzugt. In der Abwasserreinigung werden daher gezielt unbelüftete Zonen oder Becken etabliert, sodass die Nitrat-Atmer durch einen Sauerstoffmangel gezwungen werden, Nitrat zu nutzen. Zu den Nitrat-atmenden Organismen gehören Arten aus den Gattungen *Bacillus*, *Pseudomonas* oder *Hyphomicrobium* (DAIMS et WAGNER in SEVIOUR et NIELSEN, 2010).

Die Denitrifikation läuft in mehreren Schritten unter der Beteiligung mehrerer Enzyme ab und beginnt mit der Reduktion von Nitrat zu Nitrit durch die Nitratreduktase. Nitrit wird über die Nitritreduktase zu Stickstoffmonoxid reduziert. Dieses Molekül wird durch die NO-Reduktase zu N₂O (Lachgas) reduziert. N₂O wird schlussendlich durch die N₂O-Reduktase zu molekularem Stickstoff reduziert. Abbildung 2-5 skizziert diesen Ablauf. Mit jedem Schritt wird Sauerstoff abgespalten, der in Form von Wasser freigesetzt wird (CYPIONKA, 2010). Die dafür nötigen Reduktionsäquivalente stammen aus organischen Verbindungen. Für die Denitrifikation ist daher

ein Zugang zu leicht zu verwertbaren Kohlenstoffquellen wichtig. Aus diesem Grund werden die Denitrifikationszonen der Nitrifikationszone vorgeschaltet. So fließt das frische Abwasser mit den leicht zu verwertbaren organischen Verbindungen zunächst in die Denitrifikationszone. Das Nitrat aus der folgenden Nitrifikationszone wird über eine interne Rezirkulation oder den Rücklaufschlamm in die Denitrifikationszone gefördert (siehe auch Abbildung 2-2).

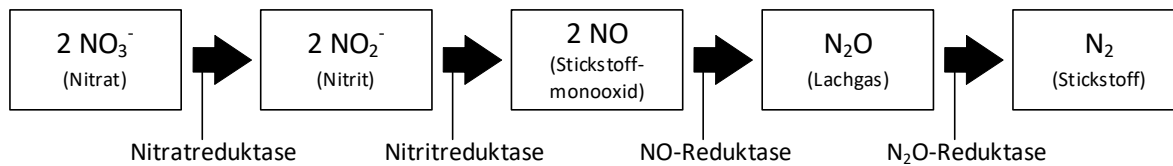


Abbildung 2-5: Schematischer Ablauf der Denitrifikation (nach CYPIONKA, 2010)

2.2.4. Biologischer Abbau ringförmiger Verbindungen

Besonderes Augenmerk wird in dieser Arbeit auf den Abbau von ringförmigen organischen Verbindungen, sogenannte Aromaten und Heteroaromaten, gelegt. Häufig – jedoch nicht immer – sind diese Verbindungen biologisch schwerabbaubar (siehe dazu auch Kapitel 2.3). Der entscheidende Faktor beim biologischen Abbau von schwerabbaubaren aromatischen und heteroaromatischen Verbindungen ist die Öffnung der Ringstruktur und damit zusammenhängend, die Anwesenheit von Sauerstoff (DIAZ et al, 2013): Unter aeroben Bedingungen dient Sauerstoff nicht nur als Co-Substrat für Reaktionen im gesamten Stoffwechsel, sondern wird insbesondere auch als finaler Elektronenakzeptor genutzt (FUCHS et al., 2011). Unter Abwesenheit von elementarem Sauerstoff erfolgt der Abbau über reduktive Stoffwechselforgänge (DIAZ et al., 2013) oder durch eine Hydrolyse (GUPTA et al., 2019).

Pyrazol, die Verbindung, die im Fokus dieser Arbeit steht, galt bisher als biologisch nicht abbaubar (siehe Kapitel 2.3.1), daher gibt es keine Formulierungen zu einem biologischen Abbaupfad. Zu den Abbauwegen anderer monocyclischer Aromaten und Heteroaromaten gibt es jedoch Erkenntnisse, die im Folgenden am Beispiel von Benzol und Pyridin vorgestellt werden.

Grundsätzlich lässt sich der Abbau aromatischer Verbindungen nach LADINO-ORJUELA et al. (2016) in zwei übergeordnete Prozesse gliedern:

- 1) Die oberen Abbauewege, in denen die aromatischen Verbindungen durch enzymatische Transformationen zu zentralen Zwischenprodukten umgewandelt werden.

- 2) Die unteren Abbauewege, in denen die zentralen Zwischenprodukte einer enzymatischen Ringspaltung unterzogen werden und die Spaltungsprodukte von da aus zur Energie- und Biomassegewinnung weiter verstoffwechselt werden.

Biologischer Abbau von Benzol

LADINO-ORJUELA et al. (2016), FUCHS et al. (2011) und REINECKE et SCHLÖMANN (2020) beschreiben den Abbaupfad von Benzol wie folgt (Abbildung 2-6): Im oberen Abbaueweg wird Benzol zunächst durch eine Monooxygenase zu Phenol oxidiert. In der Literatur finden sich mehrere Monooxygenasen, die diesen Schritt vollziehen können. ZHOU et al. (1999) bewiesen, dass die Alken-Monooxygenase Benzol zu Phenol oxidiert, TAO et al. (2004) beschreiben, dass die Enzyme Toluol-4-Monooxygenase, Toluol-5-Monooxygenase und Toluol-ortho-Monooxygenase in der Lage sind, Benzol zu Phenol zu oxidieren. Allen Enzymen gemein ist, dass sie Sauerstoff (O_2) spalten. Eines der Sauerstoffatome wird an den Benzolring übertragen, das andere Sauerstoffatom wird dabei zu Wasser reduziert. Die Enzyme benötigen dabei Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) oder Eisen als Cofaktor (FUCHS et al. 2011) und das Coenzym Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH) als Elektronendonator. Im nächsten Schritt wird Phenol durch die Phenol-2-Monooxygenase zu Brenzcatechin oxidiert. Wie im Schritt zuvor findet dies unter Spaltung von Sauerstoff statt. Brenzcatechin ist das zentrale Zwischenprodukt. Beim aeroben Abbau anderer aromatischer Verbindungen wie Antranilsäure, Anilin oder Naphthalin wird im oberen Abbaueweg ebenfalls zunächst Brenzcatechin gebildet (REINECKE et SCHLÖMANN, 2020). Der untere Abbaueweg beginnt mit der Ringspaltung des Brenzcatechins. Die Spaltung des Rings kann in der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung zwischen oder neben einer der beiden Hydroxygruppen geschehen. Im letzteren Falle folgt der *meta*-Weg. Im Falle einer Spaltung zwischen den beiden Hydroxygruppen folgt der *ortho*-Weg. Im Folgenden wird der *ortho*-Weg weiter beschrieben. Die Brenzcatechin-1,2-Dioxygenase oxidiert das Molekül zu Muconat, indem es die Ringstruktur des Brenzcatechinmoleküls unter Spaltung von Sauerstoff öffnet. Essenziell für die Funktion dieses Enzyms ist ein Fe^{3+} -Atom als Cofaktor: Es dient im aktiven Zentrum als Elektronenüberträger (siehe auch Kapitel 2.2.1). Nachdem das Molekül nun vom aromatischen in einen aliphatischen Zustand überführt wurde, wird es in den folgenden Schritten mittels verschiedener Enzyme und über mehrere Zwischenprodukte zu Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) überführt. Das Endprodukt sowie die abfallenden Produkte Succinat und Succinyl-CoA können dann im Citratzyklus weiter verstoffwechselt werden.

Der hier dargelegte Abbaueweg ist jedoch nur eine von vielen Optionen. Wie oben erwähnt, kann Benzol, nachdem es zu Brenzcatechin oxidiert wurde, auch über den *meta*-Weg weiter abgebaut

werden, was letztendlich zu Acetaldehyd und Pyruvat führt. Unter anaeroben Bedingungen würde Benzol zu einem anderen zentralen Zwischenprodukt transformiert: dem Benzoyl-CoA. Am Ende dieses Weges stehen Acetyl-CoA und Succinyl-CoA (FUCHS et al. 2011).

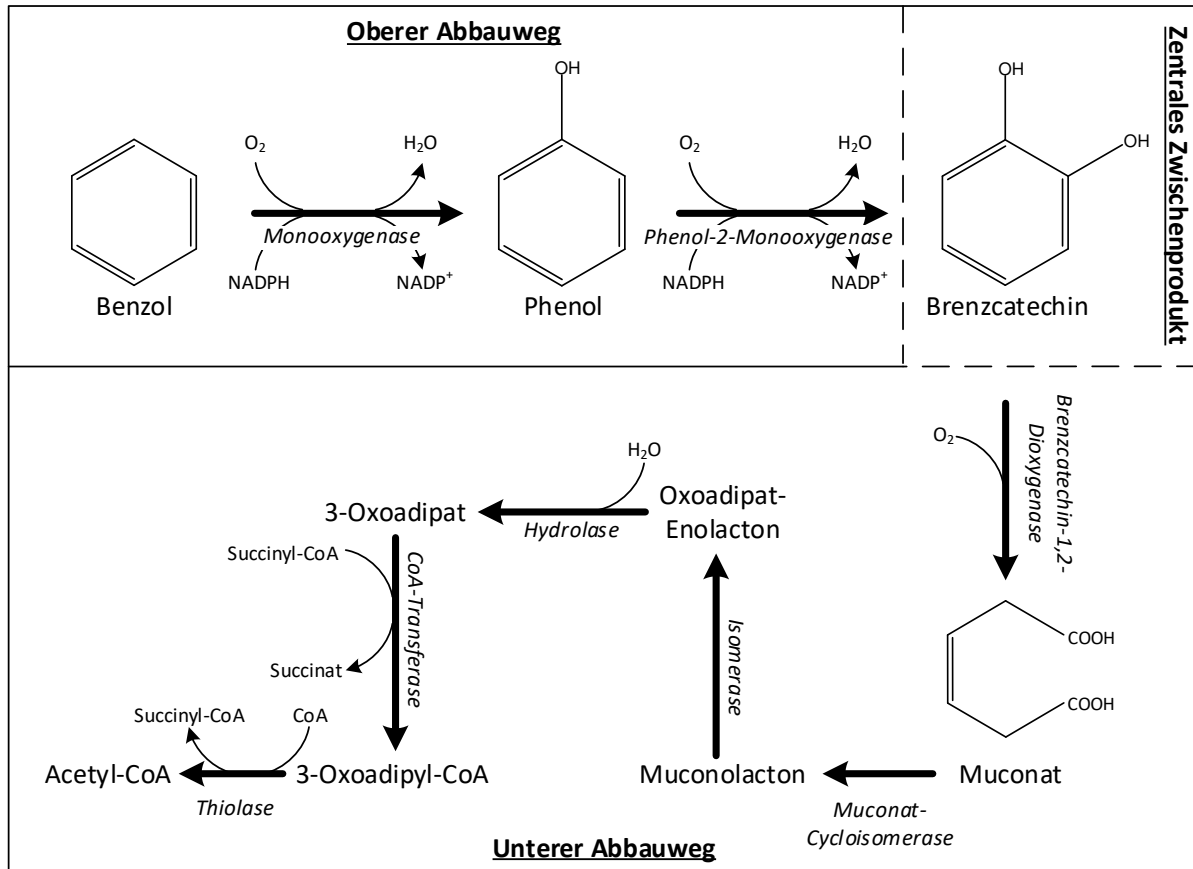


Abbildung 2-6: Aerober Benzolabbau (Brenzcatechin-Weg mit ortho-Spaltung) nach FUCHS et al. (2011) und REINECKE et SCHLÖMANN (2020). Die Oxidation von Benzol kann durch verschiedene Monoxygenasen vollzogen werden (siehe Kapitel 2.2.4)

Biologischer Abbau von Pyridin

Der Heteroaromat Pyridin ist dem Aufbau von Benzol sehr ähnlich. Strukturell unterscheidet sich Pyridin von Benzol lediglich dadurch, dass ein Kohlenstoffatom des Benzols durch ein Stickstoffatom ersetzt ist. Das Stickstoffatom in der ringförmigen Verbindung führt jedoch zu erheblichen Unterschieden in den chemischen Eigenschaften der Verbindungen und auch in der biologischen Abbaubarkeit (GUPTA et al., 2019). Während der biologische Abbauweg von Benzol bereits eingehend untersucht und detailliert beschrieben wurde, ist der biologische Abbauweg von Pyridin bisher nicht so genau beschrieben. Dass Pyridin sowohl unter aeroben als auch anoxischen Bedingungen biologisch abbaubar ist, ist jedoch schon seit längerem hinreichend belegt (FETZNER, 1998; LI et al., 2001). Im Vergleich zu Benzol bedingt die Elektronegativität des Stickstoffatoms jedoch eine Verschiebung der Elektronen in der Ringverbindung, sodass die

Kohlenstoffatome des Pyridins gegenüber Oxidation weniger anfällig sind (GUPTA et al., 2019). Die Autoren dieser Studie beschreiben daher, dass eine Öffnung der Ringstruktur sowohl durch eine vorbereitende Reduktion als auch durch Hydroxylierung wahrscheinlich ist. Abbildung 2-7 zeigt zwei mögliche Abbauewege für Pyridin. Die gezeigten Abbauewege sind Formulierungen, die auf dem chromatografischen Nachweis von Transformationsprodukten basieren. Es wurde bislang nicht nachgewiesen, welche Enzyme an dem Prozess beteiligt sind, woher die zugeführten Atome, bzw. Atomgruppen kommen und was genau mit den abgespaltenen Atomen passiert. Ebenso gibt es noch keine genaue Einteilung in obere und untere Abbauewege (GUPTA et al., 2019).

Eine mögliche Reduktion des Ringes wurde von KAISER et al. (1996) beschrieben. In diesem Prozess, der für nicht näher beschriebene Species aus den Gattungen *Bacillus* und *Nocardia* nachgewiesen wurde, wird Pyridin zunächst zu 1,4-Dihydroxypyridin reduziert. Durch Abspaltung von Ammoniak wird dieses Molekül im nächsten Schritt desaminiert und zu Glutarsäure-Semialdehyd überführt. Nachdem die Ringstruktur auf diese Weise geöffnet wurde, wird sie zu Glutarsäure oxidiert. Der weitere Weg von Glutarsäure wird von den Autoren nicht dargelegt, ein mögliches Schicksal dieser Verbindung wäre aber, dass Glutarsäure weiter zu Glutaryl-CoA und dann über mehrere Schritte weiter zu Acetyl-CoA verstoffwechselt wird (Sui et al., 2020).

Die Hydroxylierung von Pyridin wurde von ZEFIROV et al. (1994) in einer Spezies aus der Gattung *Arthrobacter* nachgewiesen. Hier wird Pyridin zunächst zu 3-Hydroxypyridin und dann zu 2,3-Dihydroxypyridin oxidiert. Die beteiligten Enzyme sind nicht beschrieben, es ist aber denkbar, dass diese Prozesse ähnlich wie beim Abbau von Benzol durch Monooxygenasen unter Aufwand von NADPH geschieht. Die Öffnung der Ringstruktur findet dann durch eine Spaltung zwischen dem Stickstoffatom und dem Kohlenstoffatom statt, bei der 5-Amino-s-oxo-4-pentonsäure entsteht. Dieses Molekül wird dann zu Succinylsäure-Semialdehyd umgewandelt, wobei unklar bleibt, welchen Weg die abgespaltene Amino- und Carbonsäuregruppe gehen. Der weitere Weg von Succinylsäure-Semialdehyd ist ebenfalls nicht beschrieben, eine weitere Oxidation zu Succinylsäure ist aber denkbar. Succinat, das Anion der Succinylsäure, könnte dann direkt im Citratzyklus verwertet werden.

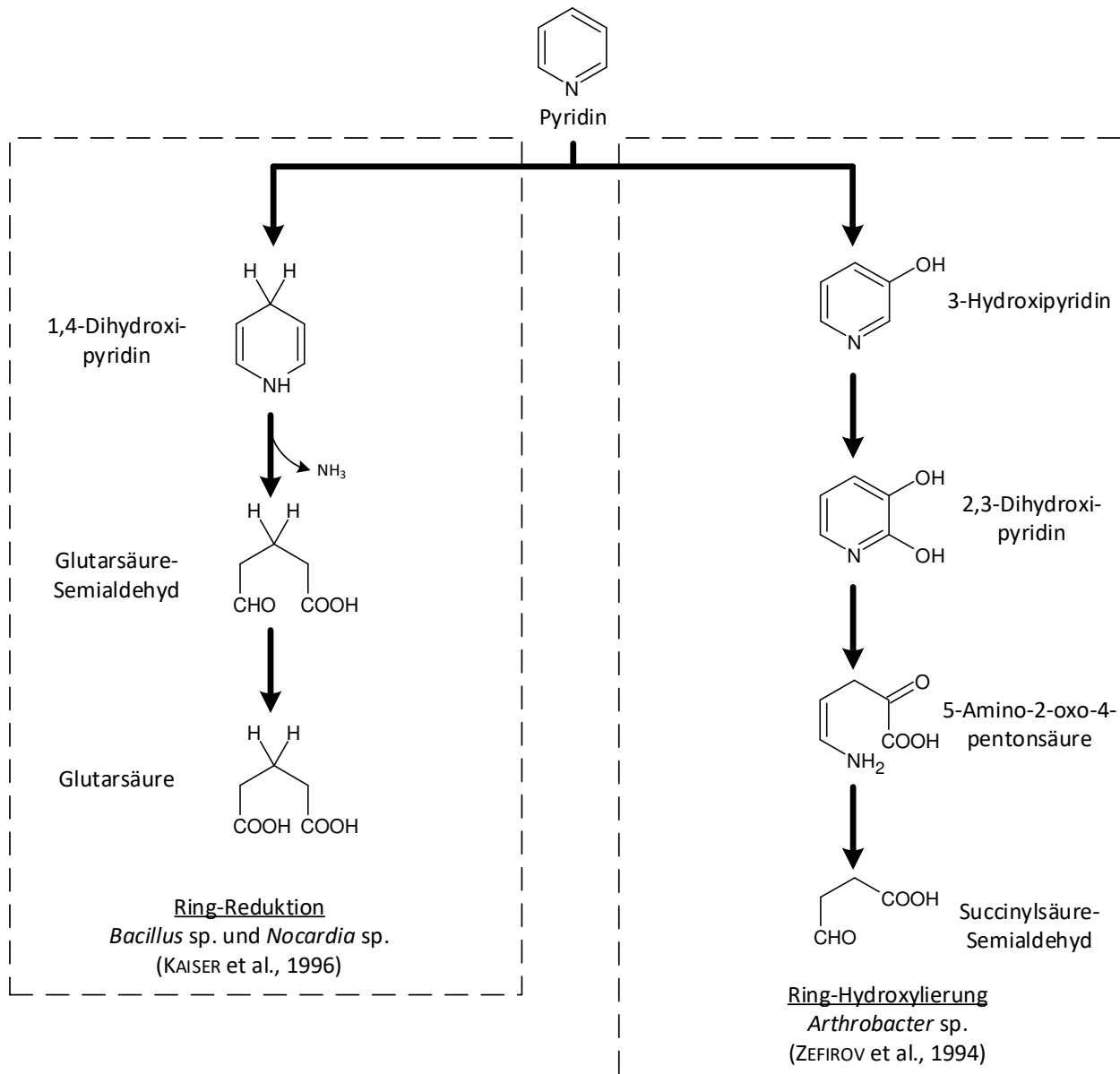


Abbildung 2-7: Mögliche Abbauewege von Pyridin durch Ring-Reduktion und Ring-Hydroxylierung (nach GUPTA et al., 2019)

2.3. Refraktäre organische Stoffe

Als refraktäre organische Stoffe bezeichnet man die organischen Verbindungen, die sich aufgrund ihrer stabilen chemischen Struktur nur schwer abbauen lassen. Solche Stoffe können sowohl aus natürlichen als auch anthropogenen Quellen stammen (LADINO-ORJUELA et al., 2016), sind aber nicht grundsätzlich giftig oder umweltschädlich (KÖLLE, 2017). Hinsichtlich der biologischen Abbaubarkeit zeichnen sich diese refraktären Verbindungen durch ein niedriges Verhältnis von biologischem Sauerstoffbedarf (BSB) zu chemischem Sauerstoffbedarf (CSB) aus. Als biologisch schwer abbaubar zählen vor allem mono- und polycyclische Aromaten und Heteroaromaten (WILD et JONES, 2013), da diese aufgrund ihres symmetrischen π -Elektronen

Systems thermodynamisch sehr stabil sind (VOGT et al., 2011). Aromatische Verbindungen sind jedoch nicht grundsätzlich schwer abbaubar. Einfache und große Aromaten wie Benzol sind zwar thermodynamisch sehr stabil, dennoch können Benzol und Phenol relativ schnell mikrobiologisch abgebaut werden, solange ausreichend Sauerstoff zur Verfügung steht (VOGT et al., 2011). Pyrazol, die Verbindung, die im Zentrum dieser Arbeit steht, ist eine refraktäre, monocyclische und heteroaromatische Verbindung und wird in Kapitel 2.3.1 näher betrachtet. Da Abwasserströme in den meisten Fällen eine Vielzahl von Komponenten unterschiedlichster Abbaubarkeit enthalten, ist es für eine effektive und effiziente Abwasserbehandlung unerlässlich, die zur Verfügung stehenden Methoden und Technologien sinnvoll zu kombinieren.

2.3.1. Pyrazol

Pyrazol ist ein fünfgliedriger Heteroaromat mit zwei Stickstoffatomen. Abbildung 2-8 zeigt die Strukturformel, die physiko-chemischen Eigenschaften sind in Tabelle 2-1 zusammengefasst. Pyrazol wurde vom Umweltbundesamt als stark wassergefährdend (Wassergefährdungsklasse 3) eingestuft (UMWELTBUNDESAMT, 2017). Aus diesem Grund gilt es, einen Eintrag von Pyrazol in Gewässer strikt zu vermeiden. Die toxikologischen und mutagenen oder karzinogenen Eigenschaften sind noch nicht eindeutig geklärt. In einem Sicherheitsdatenblatt (SDB) der Firma Merck KGaA wird der Stoff mit den Gefahren akut toxisch (oral und Haut), spezifisch Zielorgan-toxisch, ätzend (Haut und Augen) und aquatisch chronisch toxisch ausgezeichnet (MERCK KGAA, 2020a; Produkt: „Pyrazol“), während er in einem anderen SDB der gleichen Firma lediglich mit den Gefahren akut toxisch (Oral) und mit Reizwirkung auf Augen und Haut gekennzeichnet wird (MERCK KGAA, 2020b; Produkt: „Pyrazol zur Synthese“). Der Pyrazolring findet sich auch als Teil vieler Wirksubstanzen wie dem Biozid Fipronil oder verschiedenen Medikamenten mit entzündungshemmenden, fiebersenkenden oder analgetischen Eigenschaften (NAIM et al., 2016).

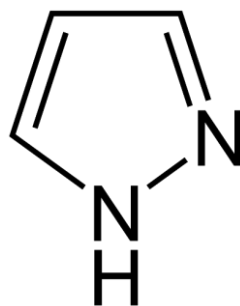


Abbildung 2-8: Strukturformel von Pyrazol

Tabelle 2-1: Pysiko-chemische Eigenschaften von Pyrazol

Name (Synonyme)	1H-Pyrazol (Pyrazol, 1,2-Diazol)	
Summenformel	C ₃ H ₄ N ₂	
Molmasse	68,08 g/mol	
Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient (log P)	0,33	MERCK KGAA (2020a)
	0,28	LI et al (2020)
Schmelzpunkt	67 – 70 °C	
Wasserlöslichkeit	1000 g/L	
Wassergefährdungsklasse	3	
Toxizität	MERCK KGAA (2020a)	
LD50 (Oral) Ratte	1010 mg/kg	
LC50 <i>Lepomis macrochirus</i>	66 - 111 mg/L; 96h	
EC50 <i>Daphnia magna</i>	24 – 60 mg/L; 48h	
Biologische Abbaubarkeit	< 10 %	PAGGA et al. (2006)
	< 15 %	MERCK KGAA (2020a)

Pyrazol kann bei der Herstellung von Acrylnitril durch das Standard-Oil-of-Ohio-(SOHIO)-Verfahren entstehen. Dieser Prozess und seine Nebenprodukte werden in Kapitel 2.4 näher beleuchtet.

Als Nebenprodukt ist Pyrazol besonders interessant, da es in der Behandlung der Produktionsabwässer zu erheblichen Problemen führen kann. Wie bereits erwähnt, stellt Pyrazol aufgrund seiner refraktären und toxischen Eigenschaft eine potenzielle Bedrohung für Gewässer dar. Hinzu kommt, dass Stickstoff-Heteroaromaten wie Pyrazol von Böden kaum zurückgehalten werden und dadurch eine Gefahr für das Grundwasser darstellen (BI et al., 2006). Würde ein Pyrazol-haltiger Strom in eine gewöhnliche Kläranlage geleitet, würde der Stoff von dort in den Vorfluter gelangen. PAGGA et al. (2006) stellten im DOC-Abbautest gemäß ISO 7827 einen Abbau von weniger als 10% fest. Neben dieser Bedrohung für angeschlossene Gewässer und das Grundwasser stellt Pyrazol jedoch auch eine Gefahr für den Abwasserreinigungsprozess selbst dar, da der Stoff nitrifikationshemmend ist. Die Hemmwirkung wurde in verschiedenen Studien nachgewiesen, Tabelle 2-2 fasst die relevanten Erkenntnisse zusammen.

Erste Angaben zur Hemmung der Nitrifikation durch Pyrazol finden sich in der Arbeit von McCARTY et al. (1989), der die Hemmwirkung in Bodenproben untersuchte. In dieser Arbeit stellten die Autoren bei einer Dosis von 0,1 µmol Pyrazol pro g Bodenprobe (entspricht 0,68 µg/g) eine Hemmwirkung von 57 % fest. PAGGA et al. (2006) untersuchten die hemmende Wirkung von 29 verschiedenen Verbindungen auf Belebtschlamm. Für Pyrazol wurde dabei nach

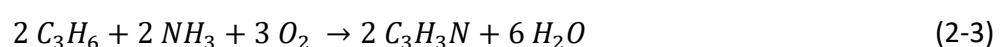
ISO 9509 eine effektive Konzentration für eine 50-prozentige Hemmung (EC_{50}) von 0,16 mg/L für die Nitratbildung und 0,2 mg/L für die Ammoniumtransformation festgestellt. Da der Belebtschlamm in dieser Studie einige Tage nach Abbruch der Pyrazoldosierung die Nitrifikation wieder aufnahm, deutet dies auf eine reversible Hemmwirkung hin. DENECKE et al. (2017, nicht publiziert) untersuchten die Hemmwirkung auf einen Belebtschlamm aus einer industriellen Kläranlage mittels Respirometrie (VANROLLEGHEM, 2002) und ermittelten eine EC_{50} von 2,6 mg/L. LI et al. (2020) untersuchten die hemmende Wirkung von verschiedenen Azolen auf Belebtschlämme nach ISO 9509 und ermittelten für Pyrazol eine EC_{50} von 2,69 mg/L. Die Autoren dieser Studie vermuten, dass Azole an den aktiven Zentren der Metall-Enzyme binden. Da in der Studie eine stärkere Toxizität auf Nitrifikanten als auf heterotrophe Organismen beobachtet wurde, vermuten die Autoren, dass Azole gezielt an das kupferhaltige Enzym Ammoniummonooxygenase binden und es inhibieren. Die Diskrepanz zu den Erkenntnissen von PAGGA et al. (2006) erklären die Autoren mit den teils sehr unterschiedlichen Biozöosen, die in Belebtschlämmen vorgefunden werden können.

Tabelle 2-2: Effektive Konzentrationen, die zur 50-prozentigen Hemmung der Nitrifikation (EC_{50}) in Belebtschlämmen führen

Quelle	EC_{50} in mg/L	Methode
PAGGA et al. (2006)	0,16 – 0,2	ISO 9509
DENECKE et al. (2017)	2,6	Respirometrie
LI et al. (2020)	2,69	ISO 9509

2.4. Standard-Oil-of-Ohio Prozess

Pyrazol ist ein Nebenprodukt aus der Acrylnitrilsynthese. Mit einer Produktion von mehr als 7 Millionen Tonnen im Jahr (GRASSELLI, 2014) ist Acrylnitril einer der wichtigsten Grundstoffe für die Herstellung von Kunststoffen und findet Anwendung in der Herstellung von Nitrilkautschuk, Polyacryl, Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS) Copolymer und weiteren Produkten. Dabei nutzen nahezu alle Produktionsanlagen das Standard-Oil-of-Ohio (SOHIO) Verfahren (GRASSELLI et TRIFICÒ, 2016). Bei diesem Verfahren reagieren in einem Wirbelschichtreaktor bei ca. 450 °C und 1,5 bar Druck Propen, Ammoniak und Luft mittels eines Katalysators nach der folgenden Reaktionsgleichung (2-3):



Zunächst wurde für die kommerzielle Produktion ein Bismuth-Phosphormolybdat-Katalysator eingesetzt, bei Betrachtung der eingesetzten Propenmoleküle lässt sich für dieses Verfahren ein

Acrylnitril-Ertrag von 65 % feststellen (LOWENBACH et al., 1978). Mittlerweile gibt es jedoch weitere patentierte Multi-Metall-Molybdat (MMM)-Katalysatoren, die Molybdän, Antimon und weitere Metalle enthalten (DIMIAN et BILDEA, 2008; CESPI et al., 2014; GRASSELLI, 2014). Die modernen Katalysatoren erhöhen den Ertrag auf 80 bis 95 % (CESPI et al., 2014), dennoch entstehen bei der Acrylnitrilsynthese weiterhin Nebenprodukte. Die wesentlichen Nebenprodukte sind Blausäure und Acetonitril, die großtechnisch jedoch gehandhabt und verwertet werden können (CESPI et al., 2014). Weitere Verbindungen, die als Nebenprodukt entstehen und in den Abwasserstrom gelangen können, sind unter anderem 3-Cyanopyridin, Succinonitril, Ammonium, Acetat und Pyrazol (LOWENBACH et al., 1978). Während sich die Autoren jener Studie jedoch vor allem auf theoretische Betrachtungen stützen, finden sich in den Analysen von ACN-Abwässern aus unterschiedlichen Anlagen unterschiedliche Komponenten wieder. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2-3 und Tabelle 2-4 dargestellt. Erstere führt die Summenparameter und anorganischen Komponenten auf, letztere fasst die gefundenen organischen Einzelkomponenten im Abwasser von ACN-Produktionsanlagen zusammen. NA et al. (2016) und DAI et al. (2015) nutzten für die Analyse der Einzelkomponenten eine Gas-Chromatographie mit Massenspektrometrie (GC-MS), WYATT et al. (1995) nutzten eine Gas-Chromatographie mit Flammenionisationsdetektor (GC-FI) und eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Tabelle 2-3: Übersicht über Summenparameter und anorganische Verbindungen verschiedener ACN-Abwässer

Parameter	NA et al. (2016)	DAI et al. (2015)	WYATT et al. (1995) ¹
	Konzentration in mg/L		
TOC	411	1777	11000 / 4300
CSB	378	2986	22000 / 10000
NH4-N	47,6	-	22000 / 160
Gesamt-Stickstoff (TN)	-	432	-
Gesamt-Kjeldhal-Stickstoff (TKN)	-	-	46600 / 180

¹ = Die Autoren untersuchten zwei ACN-Abwasserströme, die jedoch nicht näher beschrieben wurden.
 - = keine Angabe

Dass in der Studie von NA et al. (2016) der TOC höher als der CSB liegt, erklären die Autoren damit, dass der CSB in der Studie mit Dichromat unter Microwellen-Bestrahlung bestimmt wurde und das Pyrimidin, Pyrimidin-Derivative, Nicotinamid und Imidazol gegenüber der Oxidation

mittels der hier angewandten Methode resistent sein könnten (CHEN, 2021; persönliche Kommunikation).

Beim Vergleich dieser Abwassereigenschaften wird auffällig, dass sie sich enorm voneinander unterscheiden. In keiner der Studien wird darauf eingegangen, ob und wie der Abwasserstrom noch in Rektifikationskolonnen oder anderen Einrichtungen aufbereitet wird, bevor er die Anlage verlässt und der biologischen Behandlung zugeführt wird. Es liegt jedoch nahe, dass hier starke Unterschiede in der Beschaffenheit und Betriebsweise der Anlagen vorherrschen. Bei Betrachtung der organischen Einzelstoffe (Tabelle 2-4) fällt auf, dass Pyrazol in keiner der Untersuchungen auftaucht. In der Literatur findet Pyrazol als nachgewiesenes Nebenprodukt der Acrylnitrilsynthese lediglich in einer Patentanmeldung von 1992 Erwähnung (HERWIG et al. 1992). NA et al. (2016) wiesen jedoch Imidazol nach, welches dem Pyrazol strukturell sehr ähnlich ist. Die Verbindungen, die in allen drei Studien nachgewiesen wurden, sind:

- 3-Cyanopyridin (auch: Nicotinsäurenitril)
- 2-Butendinitril (auch: Fumaronitril oder Fumarsäuredinitril)
- Butandinitril (auch: Succinonitril oder Bernsteinsäuredinitril)

2-Butendinitril ist hier ebenfalls von Interesse, da WYATT et al. (1995) der Verbindung eine toxische Wirkung auf Bakterienkulturen nachwies. Gemäß der Studie verlangsamte sich das Wachstum von neun verschiedenen Bakterien-Reinkulturen ab einer Konzentration von 4 ppm bereits stark. Bei einer Konzentration von 40 ppm zeigten lediglich drei der Kulturen überhaupt noch ein Wachstum.

Tabelle 2-4: Vergleich von Einzelkomponenten verschiedener ACN-Abwasser Analysen

Verbindung	NA et al. (2016)	DAI et al. (2015)	WYATT et al. (1995) ¹
Konzentration in mg/L, sofern angegeben			
1-(methylsulfonyl)azetidin		1,24	
1,2,4-Benzentricarbonitril	+	15,2	
1,3,5-Benzentricarbonitril		8,31	
1,4-Dihydropyridin-3-carbonitril	+		
1-Cyano-4-methylnaphthalen		10,5	
2-Butendinitril	+	46,85	794 / 66
2-Cyanopyridin	+		(620 / 65)
2,3-Dimethylbutanedinitril	+		
2-Methyleneglutaronitril	+		
2-Phenylpyrimidin		52,55	
3-(Diethylamino)propionitril	+		
3-Anilinopropionitril	+		
3-Cyanopyridin	+	868,16	(620 / 65)
4-Oxobutanitril		4,25	
5-Chloro-1-indanon		17,8	
5-Oxohexannitril	+		
Acetaldehyd			28 / 5
Acetat			1310 / 2323
Acrolein			52 / 36
Acrylamid			821 / 49
Acrylnitril		17,25	+
Acrylsäure			1827 / 786
Benzamidin	+		
Butandinitril	+	10,71	231 / 2380
Imidazol	+		
Isophthalonitril		6,2	
Maleimid			1818 / 91
N-(2-Cyanoethyl)-imidazol	+		
Nicotinamide	+		
o-phenanthrolin		13,5	
Pyridin		6,79	
Terephthalonitril		128,9	

¹ = Die Autoren untersuchten zwei ACN-Abwasserströme, die jedoch nicht näher beschrieben wurden.

+ = Verbindung nachgewiesen, aber nicht quantifiziert

Angaben in Klammern: Die Autoren beschreiben die Stoffe undifferenziert als „Cyanopyridine“

3. Industrielle Pyrazol-Biologiestufe

Am Standort des Chemparks Dormagen sind eine Vielzahl von Chemiebetrieben ansässig. Während Currenta für die meisten Betriebe für die Wasserentsorgung zuständig ist und einige Abwasserströme in der Abwasseraufbereitungsanlage C600 behandelt, betreibt INEOS in Köln die eigene Kläranlage K31. Die Kläranlage K31 der INEOS behandelt die Abwasserströme der eigenen Produktionsanlagen, zusätzlich werden weitere Chemparkabwässer sowie der Klarphasenablauf der Kläranlage C600 der Currenta durch die Kläranlage K31 geleitet. Pro Tag werden so bis zu 65.000 m³ (Trockenwetterzufluss) gereinigtes Wasser von der Kläranlage über den B1 Kanal in den Rhein geleitet. Eine Untereinheit der Kläranlage K31 ist die biologische Pyrazol-Reinigungsstufe (kurz: Pyrazol-Biologiestufe), die im Fokus dieser Arbeit steht. Im Folgenden wird diese Reinigungsstufe vorgestellt. Zudem werden Beobachtungen aus dem Betrieb dieser Stufe vorgestellt, welche die Grundlage der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studien bilden.

3.1. Verfahrensbeschreibung der biologischen Pyrazol-Reinigungsstufe

Mit Aufkommen der Pyrazol Thematik im September 2015, wurden das Belebungsbecken 1 (siehe Abbildung 3-1) und ein Nachklärbecken aus dem laufenden Betrieb der Kläranlage K31 ausgegliedert und zu einem eigenständigen Belebtschlammkreislauf umgebaut. Diese Maßnahme markiert den Beginn der Pyrazol-Biologiestufe. Hintergrund war, dass Pyrazol in der Kläranlage K31 biologisch nicht abgebaut werden konnte und der belastete Abwasserstrom daher vom Rest der Kläranlage abgeschnitten wurde, um ihn isoliert behandeln zu können. Als schnell zu etablierende Maßnahme wurde die Behandlung mit Aktivkohlefiltern gewählt. Da der Rückhalt von Pyrazol mittels Aktivkohlefilter aus wirtschaftlichen und betrieblichen Gründen keine dauerhafte Lösung sein konnte, wurde gleichzeitig zur Etablierung der Pyrazol-Biologiestufe die Planung einer Ozonanlage begonnen. Durch die biologische Vorbehandlung des Abwasserstromes wurden leichtabbaubare Verbindungen entfernt, sodass nur die schwerabbaubaren Komponenten auf die Aktivkohlefilter geschickt wurden. Die Pyrazol-Biologiestufe wurde mit der Zeit immer weiter umgebaut und optimiert. Aufgrund von Problemen mit Verschlammung der Aktivkohlefilter wurde eine zusätzliche Aufreinigung des Ablaufs des Nachklärbeckens geschaffen. Eine Dosierung von Fällungshilfsmitteln (Aluminiumchlorid (AlCl₃) und Polymer (Drewfloc 2454, Solenis Germany GmbH, Krefeld)) mit einem nachgeschalteten Lamellenklärer und Sandfilter konnten den Ablauf so weit von Trübstoffen befreien, dass eine Verschlammung der Aktivkohlefilter verhindert wurde. Zusätzlich wurde das Belebungsbecken 2 aus dem Betrieb der Kläranlage K31 ausgegliedert und der

Pyrazol-Biologiestufe angeschlossen, um das verfügbare Belegungsvolumen zu vergrößern. Die Becken wurden dabei vollständig belüftet, also ohne anoxische Zone. Mit Fertigstellung der Ozonanlage wurde diese als letzte Reinigungsstufe in den Prozess integriert und die Aktivkohlefilter entfernt. Wie in Kapitel 6 im Detail besprochen wird, stellte sich die Pyrazol-Schlammbelastung als ein entscheidendes Kriterium heraus. Um die Belastung gezielt steuern zu können, wurde die Pyrazol-Biologiestufe mit einer Umfahrung versehen, die es ermöglicht, einen Teilstrom direkt auf die Ozonanlage zu fahren und Belastungsspitzen abzufangen. Um die Vorreinigung zur Ozonanlage noch weiter zu optimieren, wurde noch ein weiterer Lamellenklärer installiert. Abbildung 3-1 zeigt das Layout zu diesem Zeitpunkt, Tabelle 3-1 fasst die technischen und hydraulischen Daten zusammen. Die Probennahme erfolgte im Zulauf hinter der pH-Neutralisation und im Ablauf in der Klarphase des Nachklärbeckens.

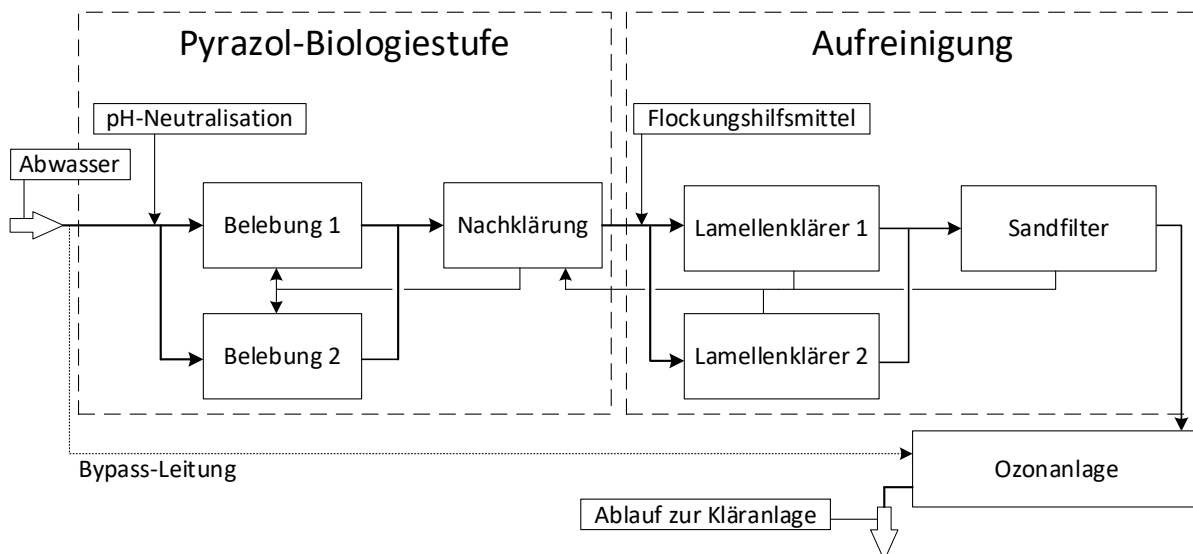


Abbildung 3-1: Schematischer Aufbau der Pyrazol-Biologiestufe und Vorreinigung zur Ozonanlage

Nach Inbetriebnahme der Pyrazol-Biologiestufe konnte Ende 2016 erstmals beobachtet werden, dass die Pyrazolfracht im Ablauf geringer war als im Zulauf (Abbildung 3-3). Mit Inbetriebnahme des zweiten Belebungsbeckens konnte diese Reinigungsleistung noch weiter gesteigert werden.

Um die verfügbare Belebtschlammmenge noch weiter zu steigern und um eine optimale Ablaufqualität für eine Nachbehandlung durch die Ozonanlage gewährleisten zu können, wurde das MBR Verfahren getestet und, wie in Kapitel 6.1.1 besprochen, für erfolgsversprechend befunden. In Zukunft wird die Pyrazol-Biologiestufe daher auf das MBR-Verfahren umgebaut.

Tabelle 3-1: Eigenschaften der Pyrazol-Biologiestufe

Volumen Belebung		2x 2155 m ³
Volumen Nachklärung		1040 m ³
Volumenstrom Zulauf	Min – Max (Mittel)	21 - 75 (45) m ³ /h
Hydraulische Verweilzeit Belebung	Min – Max (Mittel)	51 – 173 (92) h
Belüftungsleistung pro Becken	Min – Max (Mittel)	1000 – 4500 (1637) Nm ³ /h

Nm³ = Normkubikmeter

3.2. Abwassereigenschaften

Wie in Kapitel 2.4 erörtert, sind Abwasserströme aus Acrylnitrilproduktionsanlagen stark durch Kohlenstoff und Stickstoff belastet. Tabelle 3-2 gibt eine Übersicht über die wichtigsten übergreifenden Abwasserparameter aus dem Abwasserstrom, der die Grundlage dieser Arbeit bildet.

Tabelle 3-2: Ausgewählte chemische Eigenschaften des Zulaufs der Pyrazol-Biologiestufe

	DOC n = 800	Gesamt-Stickstoff n = 814	Gesamt-Phosphor n = 330
Konzentration min. – max. (Mittel) in mg/L	471 – 5210 (1348)	134 – 1870 (610)	0,05 – 8 (0,15)

Um die Inhaltsstoffe genauer zu beleuchten, wurden vier Abwasserproben mittels einer non-target Gaschromatographie vermessen und die identifizierbaren Kohlenwasserstoffe quantifiziert. Abbildung 3-2 zeigt wie sich die Kohlenwasserstoffe im Mittel anteilig zusammensetzen. Pyrazol macht mit 34 % den größten Anteil an Kohlenwasserstoffen im ACN-Abwasser aus, gefolgt von 3-Cyanopyridin (15,6 %), Butandinitril (11,9 %) und Essigsäure (7,7 %). Gut ein Viertel der Kohlenwasserstoffe konnte nicht identifiziert und quantifiziert werden. Mögliche Komponenten, die den unbekanntem Anteil bilden können, sind in Tabelle 2-4 aufgeführt.

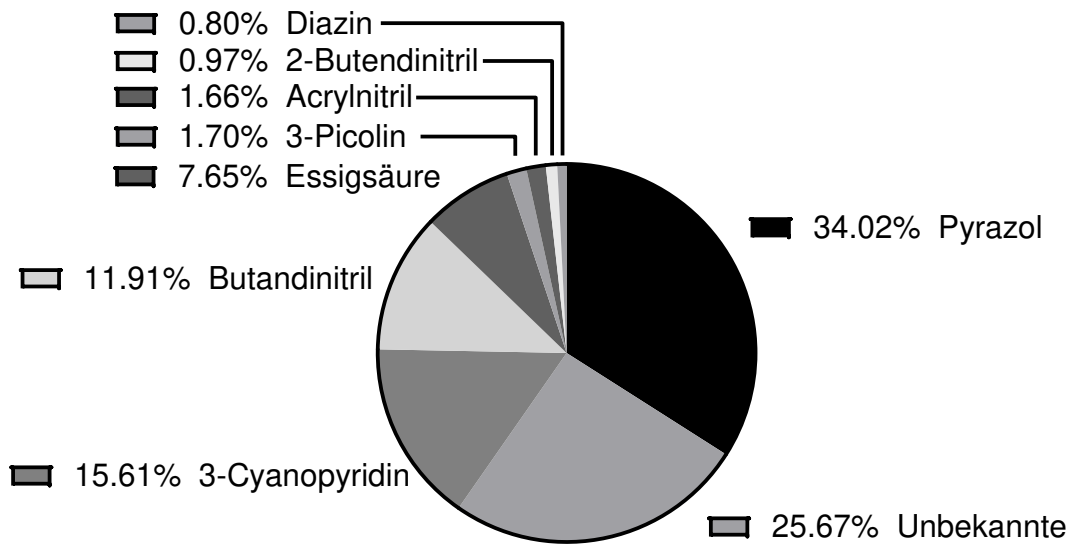


Abbildung 3-2: Zusammensetzung der Kohlenwasserstoffe im Zulauf der Pyrazol Biologiestufe

Neben den organischen Komponenten enthält das Abwasser zudem auch erhebliche Mengen anorganischen Stickstoffs. Durchschnittlich 150 mg/L Ammonium-N (min.: 63 mg/L bis max.: 494 mg/L) wurde im Abwasser gemessen. Nitrit und Nitrat waren nicht nachweisbar.

3.3. Beobachtungen und Schlüsse aus dem großtechnischen Betrieb

Die Etablierung der großtechnischen Pyrazol-Biologiestufe erfolgte im März 2016. Es wurde ein Belebungsbecken aus der Kläranlage ausgegliedert und ein eigener Belebtschlammkreislauf zur Behandlung des pyrazolhaltigen Abwassers geschaffen. Es dauerte bis in den September 2016, bis sich ein erster, sehr geringer Pyrazolabbau zeigte (Abbildung 3-3). Dieser Abbau stieg in der Folge bis zum Januar 2017 auf einen mittleren monatlichen Abbau von 305 kg_{Pyrazol}/d an, was einem Anteil von 55 % der Pyrazolfracht des Zulaufs entspricht. In der Folge sank der Abbau über Februar und März 2017 wieder auf ein monatliches Mittel von 98 kg/d, was einem relativen Abbau von 21 % entspricht. Grund für diese rückläufige Entwicklung könnten die Schlammbelastungen durch Pyrazol und die übrigen organischen Verbindungen (non-Pyrazol-DOC) sein (Abbildung 3-4). Die Pyrazol-Schlammbelastung stieg von 0,12 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d im Januar auf 0,16 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d im Februar 2017 und erreichte damit den Höchststand seit Mai 2016. Gleichzeitig stieg auch die Belastung durch die übrigen organischen Verbindungen von 0,25 auf 0,3 kg_{nPyr-DOC}/kg_{TS}*d an. Diese Belastungsspitzen könnten sich bis in den März ausgewirkt haben, sodass die Abbauleistung dort trotz einer deutlich niedrigeren

Schlammbelastung von $0,06 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ noch eingeschränkt war. Zusätzlich gab es zum Ende März 2017 eine Umstellung der Betriebsweisen der Abwasserkolonnen, die es ermöglichte, dass mehr Abwasserinhaltsstoffe zur Verbrennung geschickt werden konnten und nicht in die Kläranlage gelangten. Dadurch wurden die Belastungen der Biologiestufe verringert. Im April 2017 wurde das zweite Belebungsbecken der Pyrazol-Biologiestufe in Betrieb genommen, wodurch sich eine Verdoppelung der hydraulischen Verweilzeit ergab. Da sich der Abbau in der folgenden Zeit verbesserte, wurde die Verweilzeit als ein möglicher wichtiger Faktor zur Erprobung in den Versuchsreihen ausgewählt. Der vorhandene Belebtschlamm wurde auf beide Becken aufgeteilt, sodass es zunächst zu keiner großen Veränderung der Schlammbelastung kam. Ab April 2017 stieg die Abbauleistung dann stark auf 558 kg/d an, was einem Anteil von 85 % der zulaufenden Pyrazolfracht entspricht. Im weiteren Verlauf des Jahres 2017 schwankte der Pyrazolabbau zwischen 354 kg/d (60 %) und 730 kg/d (87 %). Im Januar 2018 kam es in der Pyrazol-Biologiestufe nochmal zu einem Einbruch der Reinigungsleistung 276 kg/d (27 %). Auch hier könnte die Pyrazolschlammbelastung ausschlaggebend gewesen sein, da sich diese von Dezember 2017 ($0,06 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$) auf Januar 2018 um 50 % erhöhte ($0,09 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$). Auffällig ist dabei, dass die Belastung durch non-Pyrazol DOC hier nicht zunahm. Dies und die Tatsache, dass die Spitze insgesamt nicht so hoch war wie im Ereignis Anfang 2017, könnte erklären, weswegen sich diese Belastungsspitze nicht so lange auswirkte, wie die Spitze im Februar 2017. Im weiteren Verlauf von 2018 stieg der Abbau dann auf 99 % an und hielt sich auf hohem Niveau zwischen 95 % und 99 %. In dieser Zeit wurde regelmäßig Gebrauch von der Bypass-Leitung (Abbildung 3-1) gemacht, um Belastungsspitzen abzufangen.

Bei Betrachtung der relativen Abbauleistung setzte ab Oktober 2018 ein Abwärtstrend ein – hervorzuheben ist bei dieser Entwicklung, dass die abgebaute Pyrazolfracht dabei schwankend war und im Dezember nochmal zunahm. Insgesamt blieb dieser frachtbezogene Abbau im letzten Quartal 2018 jedoch schwächer als zuvor. Die Gründe hierfür können, wie zuvor auch, nicht exakt fest gemacht werden. Die Schlammbelastungen zu diesem Zeitpunkt waren jedoch nicht auffällig hoch. Im September 2018 wurde die Abwasserführung jedoch so umgebaut, dass die Pyrazol-Biologiestufe ausschließlich mit dem Prozesswasser der Reaktoren beschickt wurde. Zuvor wurden auch Wassermengen aus Stapelbecken in die Pyrazol-Biologiestufe übernommen, die auch Abwasser von Prozess-Spülungen mit Rohwasser (Uferfiltrat) enthielten. Tabelle 3-3 zeigt einen Vergleich des Natrium-, Kalium-, Magnesium- und Calciumgehaltes aus aufgetauten Belebtschlammproben von Juli 2018 und Juli 2019.

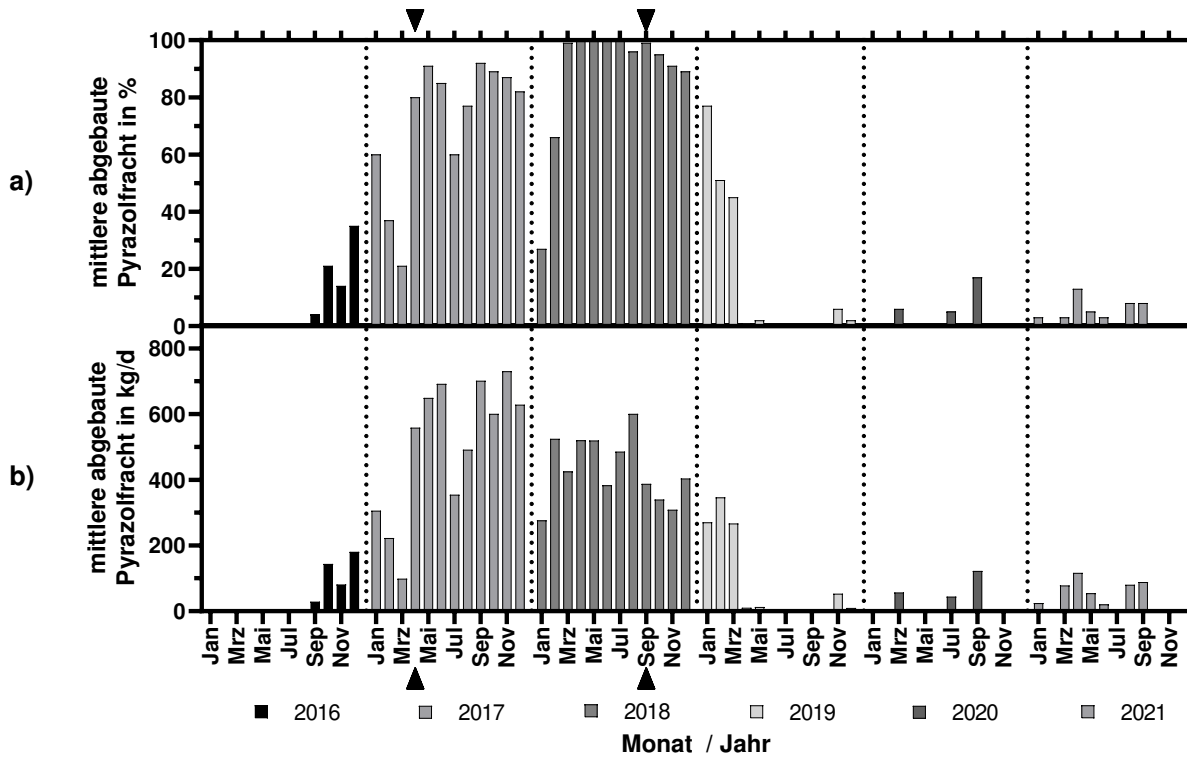


Abbildung 3-3: Relativer (a) und absoluter (b) Verlauf des Pyrazolabbaus in der Pyrazol-Biologiestufe von 2016 bis 2021. Die dreieckigen Marker zeigen wichtige Veränderungen in der Pyrazol-Biologiestufe an: April 2017: Inbetriebnahme zweites Belebungsbecken; September 2018: keine Übernahme mehr aus Stapelbecken

Tabelle 3-3: Vergleich von Ionengehalten aus Belebtschlammproben der Pyrazol-Biologiestufe.

Parameter	Einheit	Probe Juli 2018	Probe Juli 2019
Natrium	mg/L	305,4	1,6
Kalium	mg/L	28,79	0,7
Magnesium	mg/L	9,15	0,27
Calcium	mg/L	317,8	9,2

Da die Probe aus 2018 deutlich höhere Ionen-Gehalte aufzeigen als die Probe aus 2019, ist es denkbar, dass diese rohwasserhaltigen Abwassermengen einen positiven Effekt auf die gesamte Abwassermatrix gehabt haben. Das Fehlen dieser Komponenten würde sich in der Folge langsam auswirken, da im System vorhandene Ionen zunächst ausgespült werden müssten. Der Einfluss von Ionen auf die Abbauleistung wurde daher als ein zu evaluierender Faktor für die Versuchsreihen ausgewählt. Die Ergebnisse hierzu werden in den Kapiteln 6.1.2 bis 6.1.4 diskutiert.

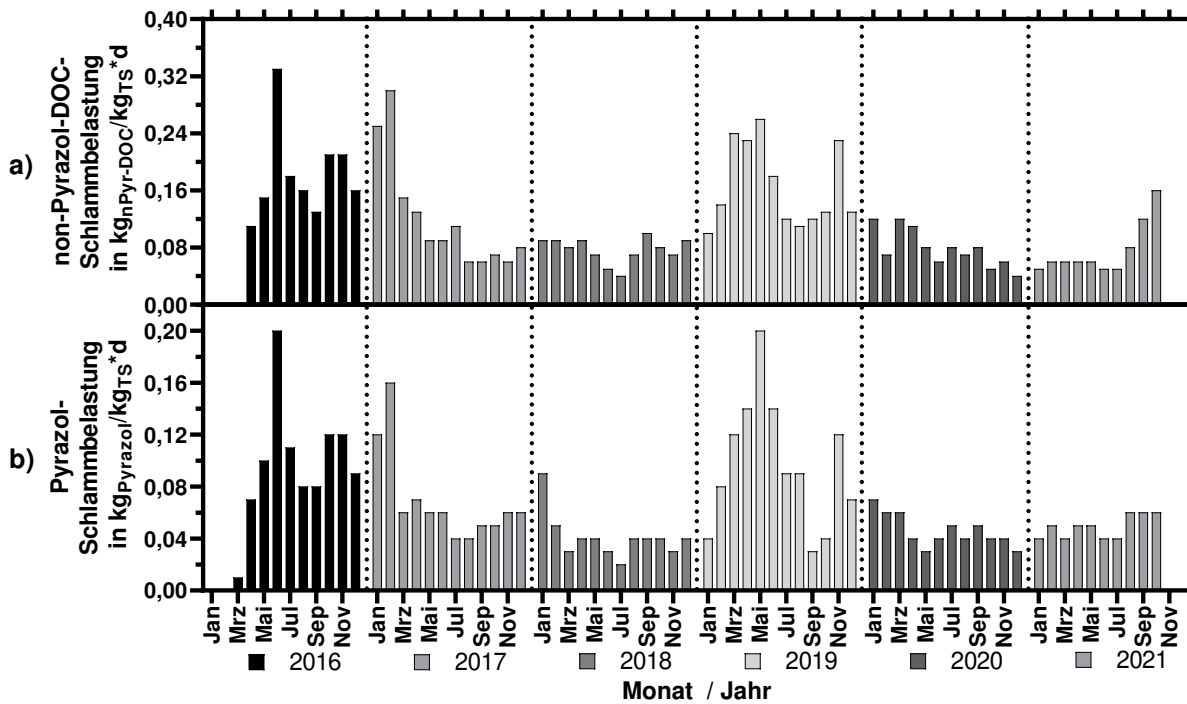


Abbildung 3-4: Verlauf der Schlammbelastungen durch a) nicht-pyrazolischen DOC und b) Pyrazol in der Pyrazol-Biologiestufe von 2016 bis 2021

Im April 2019 kam es dann zum kompletten Einbruch der Abbauleistung. Während im Februar und März noch ein Abbau von 51 % bzw. 45 % möglich war, kam der Abbau dann zum Erliegen. Im gleichen Zeitraum stiegen sowohl die Pyrazol-Schlammbelastung als auch die non-Pyrazol-DOC-Schlammbelastung stark an. Dieser Anstieg begründet sich auf drei Faktoren: Im Jahr 2019 stiegen die Pyrazolkonzentrationen im Zulauf (Abbildung 3-5), bedingt durch eine veränderte Betriebsweise der Abwasserkolonnen. Zudem musste die Bypass-Leitung (siehe Abbildung 3-1) betriebsbedingt geschlossen werden. Gleichzeitig sank der Trockensubstanzgehalt in der Belebung (Abbildung 3-6), bis er im Mai einen Tiefpunkt mit durchschnittlich 0,98 g/L erreichte. Die Gründe für diesen Verlust an Biomasse könnten ebenfalls in der veränderten Abwassermatrix liegen. Durch den Mangel an Ionen musste sich die Belebtschlammbiozönose an die neuen Bedingungen einstellen, was zur Folge hatte, dass bestimmte Organismen starben und ihre ökologischen Nischen von anderen Organismen besetzt wurden. Dass eine Versorgung mit Ionen einen positiven Einfluss auf das Schlammwachstum hat, wurde auch in den Versuchsreihen (Kapitel 6.1.2 bis 6.1.4) gezeigt. Um dem Biomassemangel entgegenzuwirken, wurden seit 2019 in unregelmäßigen Abständen geringe Mengen Belebtschlamm aus der Kläranlage C600 der Currenta zugeführt.

Im weiteren Verlauf von 2019 sowie in den Folgejahren 2020 und 2021 stiegen die Pyrazolkonzentrationen im Zulauf an, die Schlammbelastung wurde jedoch durch Einsatz der Bypass-Leitung und hohe TS-Gehalte kontrolliert. Trotzdem konnte sich kein stabiler und leistungsfähiger Pyrazolabbau mehr etablieren. In den Jahren 2020 und 2021 fand jedoch in einzelnen Monaten ein geringer, instabiler Pyrazolabbau statt. Die Gründe dafür können in der bereits diskutierten Abwassermatrix liegen. Zudem ist der Trockensubstanzgehalt lediglich ein Summenparameter. Der Parameter gibt keinerlei Auskunft über die Zusammensetzung des Belebtschlammes. Da offensichtlich nicht jedes Bakterium in der Lage ist, Pyrazol zu verstoffwechseln, erfordert es spezialisierte Bakterien für den Abbau. Ein ungerichteter hoher TS-Gehalt (und daraus resultierende niedrige Pyrazol-Schlammbelastung) ist also keine Garantie für einen stabilen biologischen Pyrazolabbau. Die Biozönose eines Pyrazol-abbauenden Belebtschlammes wird in Kapitel 6.2 weiter betrachtet.

Eine weitere Besonderheit der Pyrazol-Biologiestufe ist der sehr langsam wachsende Belebtschlamm. Nur selten stieg der TS-Gehalt so hoch, dass geringe Mengen Überschussschlamm abgezogen werden mussten. In den Jahren 2019 bis 2021 wurde kein Überschussschlamm mehr abgezogen, um den TS-Gehalt so hoch wie möglich zu halten.

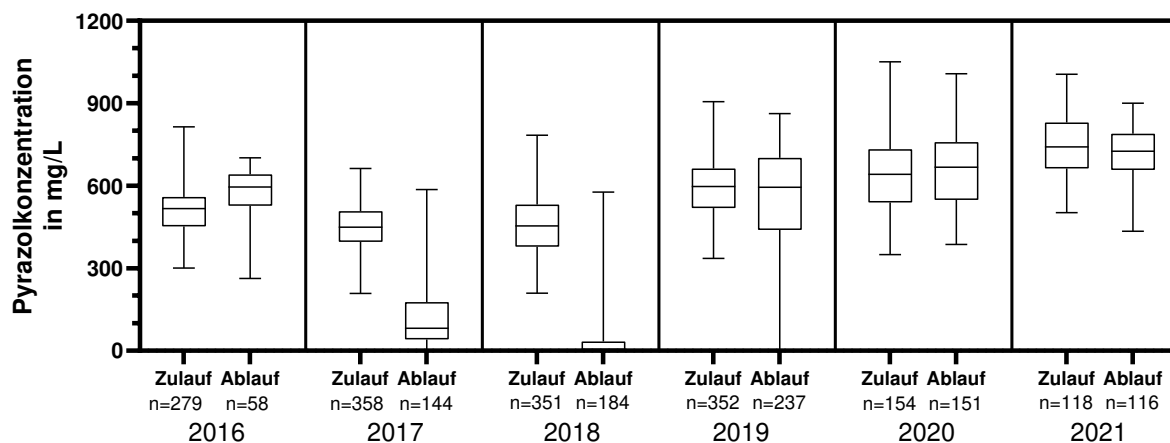


Abbildung 3-5: Pyrazolkonzentrationen der Pyrazol-Biologiestufe von 2016 bis 2021 im Vergleich

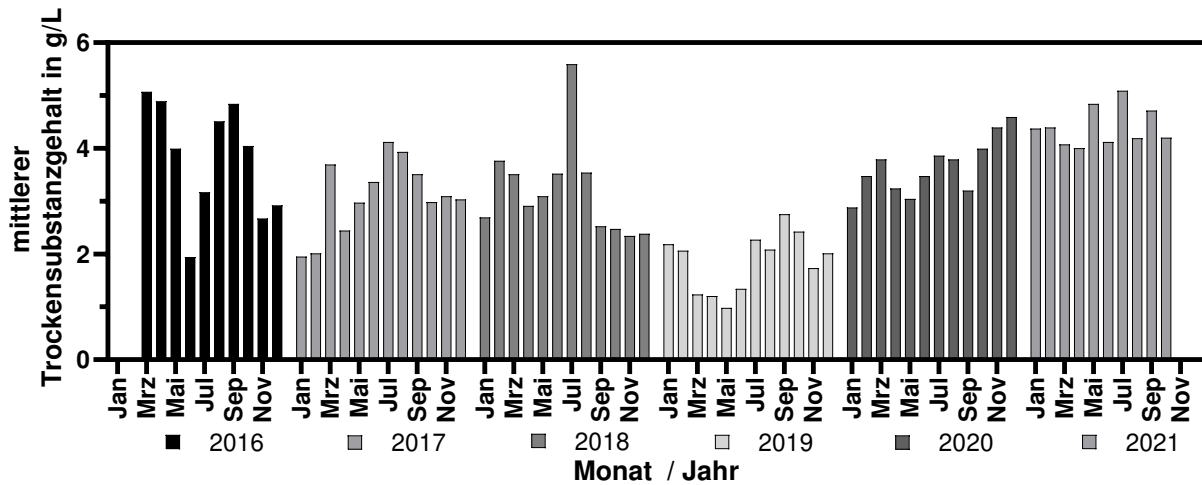


Abbildung 3-6: Verlauf des Trockensubstanzgehaltes (Mittelwert aus beiden Belebungsbecken) in der Pyrazol-Biologiestufe

Die stickstoffhaltigen Kohlenwasserstoffe, die neben dem Pyrazol im Abwasser enthalten sind, wurden in der Regel bis unter die Nachweisgrenze abgebaut. Ausnahmen ergaben sich lediglich zu einzelnen Zeitpunkten, an denen die Pyrazol-Biologie mit außergewöhnlich hohen Frachten belastet wurde. Beim Abbau dieser Verbindungen bleibt der Stickstoff in Form von Ammonium über, wie aus Abbildung 3-7 deutlich wird. Es fand sich deutlich mehr Ammonium im Ablauf der Pyrazol-Biologiestufe als im Zulauf. Für das Jahr 2018 lässt sich jedoch eine Besonderheit feststellen: Der Gehalt war hier im Ablauf nicht so hoch wie in den übrigen Jahren. Dies ist durch die Nitrifikation zu erklären. Wie bereits erläutert, war der Pyrazolabbau im Jahr 2018 so gut, dass der Nitrifikations-hemmende Effekt durch Pyrazol nicht zur Geltung kam: Im Jahr 2016 lag die Konzentration von Nitrat-N ($\text{NO}_3\text{-N}$) im Ablauf noch unter 0,09 mg/L. 2017 wurde Nitrat nicht beobachtet, in der zweiten Jahreshälfte 2018 wurde die Analytik dann wieder aufgenommen und es wurden bis November 2018 durchschnittlich 49,5 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ gemessen. Mit dem sinkenden Pyrazolabbau ab Ende 2018 (Abbildung 3-3 a) stoppte die Nitrifikation, sodass seit Ende November 2018 kein Nitrat mehr im Ablauf nachgewiesen wurde. Während des Zeitraums, in dem die Nitrifikation stattfand, war diese zudem so leistungsfähig, dass das Belüftungssystem in Spitzenzeiten mit über 4900 Nm^3/h (Normkubikmeter / h) bei voller Leistung lief und dabei lediglich ein Sauerstoffgehalt von 0,9 mg/L im Belebungsbecken erreicht werden konnte.

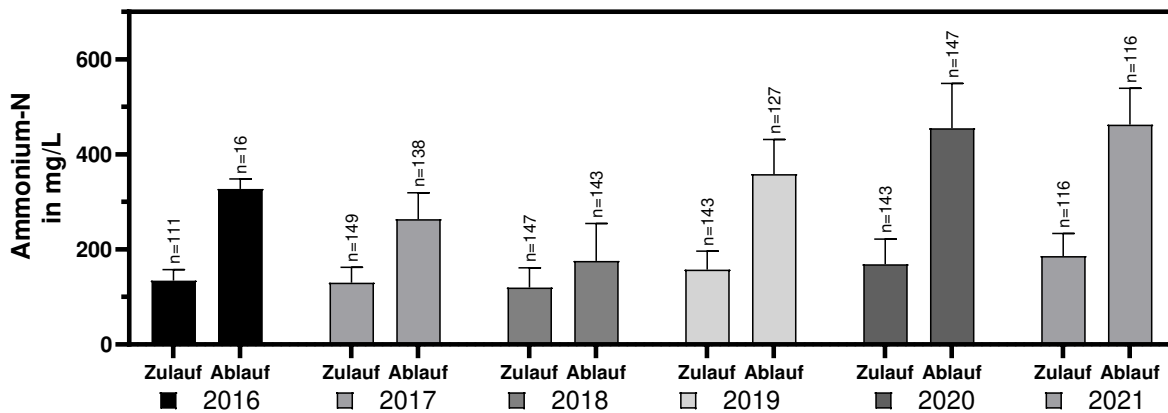


Abbildung 3-7: Mittlere Ammoniumkonzentrationen im Zu- und Ablauf der Pyrazol-Biologiestufe

Ein weiterer Faktor, der dem zuvor diskutierten Mangel an Ionen zugeschrieben werden könnte, ist die Schaumbildung. In den Jahren 2017 und 2018 kam es nur sporadisch zur Bildung dicker Schaumdecken, die innerhalb weniger Tage wieder zurückgingen. Seit 2019 war die Pyrazol-Biologiestufe durchgehend mit einer hellen, weißlichen Schaumdecke von ca. 0,5 m bedeckt, die sporadisch so stark wurde, dass Entschäumungsmittel eingesetzt werden mussten, um ein Übersäumen zu verhindern. Die Gründe für das Schäumen eines Belebtschlammes sind vielfältig und stehen nicht im Fokus dieser Arbeit. Weißer Schaum ist in der Regel ein Anzeichen, dass synthetische Tenside aus dem Abwasserstrom für die Schaumbildung verantwortlich sind (COLLIVIGNARELLI et al., 2020). Das reine Abwasser wurde jedoch in unregelmäßigen Abständen auf sein Schäumungsverhalten überprüft, in dem es in einem Becherglas über einen Diffusor mit Druckluft begast wurde. Dabei zeigte sich nur eine sehr geringe Tendenz zur Bildung von stabilem Schaum. Dies deutet daraufhin, dass die Schaumbildung nicht auf synthetische Tenside im Abwasser zurückzuführen ist, sondern biologisch begründet ist. Fadenbakterien sind ein möglicher Grund für schäumenden Belebtschlamm, diese konnten in diesem Belebtschlamm jedoch nie nachgewiesen werden. Eine andere Ursache für die Bildung von Schaumdecken auf Belebungsbecken sind extrazelluläre polymere Substanzen (EPS). Die Bildung von EPS ist ein komplexes Phänomen, das derzeit sehr intensiv erforscht wird (COLLIVIGNARELLI et al., 2017). Ein beschriebener Grund für die verstärkte Bildung von EPS ist eine Stresssituation durch Ungleichgewicht im Nährstoffangebot. Bei hoher Verfügbarkeit von Kohlenstoff- und Stickstoffquellen und Mangel an Phosphorquellen kann es zur verstärkten Bildung von EPS kommen (SHENG et al. 2010). In der Literatur findet sich bislang keine Untersuchung, ob und wie

ein Mangel an bestimmten Ionen und/oder Spurenelementen zur Produktion von EPS beträgt – da Phosphormangel jedoch ein bekannter Grund ist, ist dies denkbar.

3.4. Pyrazolelimination durch Ozon-Oxidation

Ozon gehört zu den wirksamsten technischen Methoden, um Schadstoffe aus einem Wasserstrom zu eliminieren (SCHINDLER-WILDHABER et al., 2015). In diesem Verfahren wird Sauerstoff (O_2) aus Luft oder Reinsauerstoff durch Hochspannung gespalten, die dabei freigesetzten einzelnen Sauerstoffatome lagern sich an anderen Sauerstoffmolekülen zum Ozonmolekül (O_3) zusammen. Sowohl Sauerstoff als auch Ozon sind sehr energieintensiv in ihrer Produktion, wodurch das Verfahren einen großen CO_2 -Fußabdruck bekommt. Zudem sind sowohl Sauerstoff als auch Ozon im Falle von Leckagen nicht zu unterschätzende Gefahrenquellen. Dennoch ist Ozon eine interessante technische Methode zur Eliminierung von Schadstoffen, da das Ozon selbst zu Sauerstoff zerfällt und die Transformationsprodukte in der Regel biologisch gut abbaubar sind (VAN LEEUWEN et al., 2009). Letzte Aussage muss allerdings immer in Abhängigkeit von der zu behandelnden Abwassermatrix stehen – es kann unter Umständen durchaus dazu kommen, dass durch eine Ozonbehandlung Verbindungen entstehen, die toxischer sind als die Ausgangsverbindung (STALTER et al., 2010).

TEKLE-RÖTTERING et al., (2020) untersuchten, welche Transformationsprodukte bei der Reaktion von Pyrazol und Ozon entstehen. In dieser Studie wurden als einzige quantifizierbare Produkte Formiat und Oxalaldehyd gefunden. Vergleichend hierzu wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit Laboruntersuchungen durchgeführt: Eine reine Pyrazollösung sowie der tatsächliche Zulauf von der Ozonanlage wurden ozonisiert und mittels GC/MS und Ionenchromatographie untersucht. Dabei wurden als Produkte die Anionen der Essigsäure (Acetat), der Ameisensäure (Formiat) und der Oxalsäure (Oxalat) gefunden. Oxalaldehyd wurde hingegen nicht gefunden. Da Ozon jedoch im Überschuss eingesetzt wurde, könnte es sein, dass Oxalaldehyd weiter zu Oxalat oxidiert wurde. In Bezug auf Abbaubarkeit und Toxikologie sind die gefundenen Produkte unbedenklich. In Bezug auf den Anlagenbetrieb hat sich Oxalat jedoch als problematisch herausgestellt. Oxalat fällt in Verbindung mit Calcium zu dem in Wasser unlöslichen Calcium-Oxalat aus. Dies hat dazu geführt, dass sich in der Ozonanlage an Ventilen, Pumpen und Injektoren Ablagerungen bildeten, die die Ozon-Eintragsleistung und damit die Abbauleistung minderten. Die Ablagerungen konnten nur unter großem Aufwand entfernt werden. Für den Betrieb der Ozonanlage ist also von großer Bedeutung, möglichst wenig Calcium in die Anlage gelangen zu lassen.

4. Motivation und Arbeitshypothesen

Aus den Beobachtungen, die im Vorfeld und im Verlauf dieser Arbeit gemacht wurden (Kapitel 3.3) wird deutlich, dass der biologische Pyrazolabbau möglich ist und sowohl aus Kostengründen als auch wegen des CO₂-Fußabdrucks forciert werden sollte. Zudem ist es für den Betrieb erstrebenswert, möglichst wenig Gefahrstoffe (Ozon, Sauerstoff) einzusetzen, um das Risiko für Mensch und Umwelt in Falle einer Leckage so gering wie möglich zu halten. Ziel soll sein, dass der oxidative Abbau von Pyrazol durch Ozon nur als sekundäre Option genutzt wird, während der primäre Abbau von Pyrazol durch Mikroorganismen im Belebungsbecken geschieht. Dazu dienen die folgenden fünf Arbeitshypothesen, deren Untersuchung und Debatte den Kern dieser Arbeit bilden.

➤ **„Unter den richtigen Bedingungen ist Pyrazol biologisch abbaubar.“**

Die Beobachtungen haben gezeigt, dass Pyrazol entgegen der gängigen Meinung in der Literatur biologisch abbaubar ist. Gleichzeitig ist der Abbau jedoch ein empfindliches System, welches schnell auf Störungen reagiert und dann einbricht.

➤ **„Die Abbaubarkeit wird von den hydraulischen und biologischen Faktoren, die sich aus dem Kläranlagenbetrieb ergeben (Verweilzeit, Schlammbelastung), beeinflusst.“**

Jede Kläranlage unterliegt einem hydraulischen Einfluss. Abwassermengen schwanken zuweilen, und da die technischen Begebenheiten wie Beckenvolumina fix sind, ergeben sich durch die hydraulischen Änderungen auch Einflüsse auf den Belebtschlamm. Sowohl die Verweilzeiten als auch die Belastung der Organismen durch Stofffrachten verändern sich und beeinflussen somit die biologischen Prozesse.

➤ **„Die Abbaubarkeit wird durch die Abwassermatrix beeinflusst.“**

Nicht jedes Abwasser ist gleich. Insbesondere in der Industrie unterscheiden sich die Abwasserströme erheblich voneinander. Die Zusammensetzung hat jedoch entscheidenden Einfluss auf das biologische System, mit dem das Abwasser in Kontakt kommt. Kationen wie Kalium oder Natrium werden von Zellen für den Aufbau elektrochemischer Gradienten genutzt, wichtige Enzyme benötigen metallische Co-Faktoren, um zu funktionieren. All diese Stoffe müssen im Abwasser im richtigen Maße enthalten sein, damit der Belebtschlamm arbeiten kann. Gleichzeitig dürfen keine Störstoffe in zu hohen Konzentrationen vorkommen – sei es durch direkte Hemmung an Enzymen oder

durch einen Verdrängungseffekt: Wenn zu viele leicht zu verdauende Stoffe im Abwasser vorhanden sind, werden die schwerverdaulichen nicht abgebaut.

- **„Ein zuverlässiger Pyrazolabbau ermöglicht eine übergreifend bessere Reinigungsleistung der Kläranlage, da die negativen Auswirkungen des Pyrazols entfallen.“**

Pyrazol ist ein Nitrifikationshemmer. Nur wenn Pyrazol eliminiert wird, kann sich eine Nitrifikation etablieren, die der erste Schritt in der Stickstoffentfernung ist. Der Pyrazolhaltige Abwasserstrom ist stark Stickstoff-beladen. Eine Elimination dieser Stoffe würde deutlich zur Verbesserung der Ablaufqualität beitragen.

- **„Der biologische Abbau von Pyrazol kann nur mit Hilfe eines spezialisierten Belebtschlammes erfolgen.“**

Nicht jeder Belebtschlamm kann ohne weiteres Pyrazol abbauen. Die Literatur zeigt, dass für die Öffnung von ringförmigen Molekülen spezielle Enzyme benötigt werden, die nicht jeder Organismus zur Verfügung hat. Es gilt also ein selektives Regime innerhalb des Belebtschlammes zu schaffen, das den Pyrazol-abbauenden Organismen einen Vorteil bietet und ihnen Wachstum und optimale Aktivität ermöglicht.

Ziel dieser Arbeit ist es, die aufgestellten Hypothesen zu erforschen und zu bestätigen oder zu widerlegen. Anhand dessen soll eine Empfehlung für eine Etablierung und den Betrieb einer biologischen Reinigungsstufe für Pyrazol-haltiges Abwasser gegeben werden.

5. Material und Methoden

5.1. Allgemeine Parameter und Analytik

5.1.1. Schlamm- und Anlagencharakteristika

Trockensubstanzgehalt und organischer Trockensubstanzgehalt

Der Trockensubstanzgehalt (TS) gibt die Masse gelöster Feststoffe einer Probe nach Filtration an. Für die Bestimmung wurden 0,01 L Belebtschlammprobe mit einem Cellulose-Acetat Membranfilter mit einer Porengröße von 0,45 µm (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen) filtriert. Die Trocknung erfolgte bei 105° C für mindestens 8 h.

$$TS = \frac{m_{T+F, beladen} - m_{T+F, unbeladen}}{V_{BSP}} \quad (5-1)$$

TS = Trockensubstanzgehalt in g/L

$m_{T+F, beladen}$ = Masse des Tiegels und Filters nach Filtration in g

$m_{T+F, unbeladen}$ = Masse des Tiegels und Filters vor Filtration in g

V_{BSP} = Volumen der filtrierten Probe in L

Der organische Trockensubstanzgehalt (oTS) gibt die Masse gelöster organischer Feststoffe an. Dafür wurden Filter und Probenrückstand, aus der zuvor der TS-Gehalt gemessen wurde, bei 550°C verbrannt.

$$oTS = \frac{(m_{T+F, beladen} - m_{T+F, unbeladen}) - (m_{Rückstand} - m_{Tiegel})}{V_{BSP}} \quad (5-2)$$

oTS = organischer Trockensubstanzgehalt in g/L

$m_{T+F, beladen}$ = Masse des Tiegels und Filters nach Filtration in g

$m_{T+F, unbeladen}$ = Masse des Tiegels und Filters vor Filtration in g

$m_{Rückstand}$ = Masse des Tiegels und Rückstands nach Verbrennung in g

m_{Tiegel} = Masse des leeren Tiegels in g

V_{BSP} = Volumen der filtrierten Probe in L

Hydraulische Verweilzeit

Die hydraulische Verweilzeit ist die Angabe darüber, wie lange das Abwasser in der biologischen Reinigungsstufe verbleibt und in Kontakt mit dem Belebtschlamm ist. Sie wird durch Formel (5-3) berechnet.

$$t_{hr} = \frac{V_B}{Q} \quad (5-3)$$

t_{hr} = hydraulische Verweilzeit in d

Q = Zulaufvolumenstrom in L/d

V_B = Volumen des Reaktors / der Belebungsbecken in L

Schlammbelastung

Die Schlammbelastung (B_{TS}) beschreibt die tägliche Fracht eines Sammel- oder Einzelparameters (z.B. DOC-Fracht oder Pyrazol-Fracht) in Bezug auf die im System vorhandene Biomasse (SPERLING, 2007). Sie wird anhand von Formel (5-4) berechnet.

$$B_{TS} = \frac{Q * c_x}{TS * V_B} \quad (5-4)$$

B_{TS} = Schlammbelastung in $kg_x/(kg_{TS} * d)$

Q = Zulaufvolumenstrom in L/d

c_x = Konzentration von Komponente X (z.B. DOC oder Pyrazol) im Zulaufvolumenstrom in kg/L

TS = Trockensubstanzgehalt in kg/L

V_B = Volumen des Reaktors / der Belebungsbecken in L

5.1.2. Chemische Analytik

Die chemische Analytik wurde durch das Asset *Analytical Technical Services* der INEOS in Köln durchgeführt.

Pyrazol und weitere Kohlenwasserstoffe

Pyrazol und weitere Kohlenwasserstoffe wie Acrylnitril oder 3-Cyanopyridin (siehe auch Abbildung 3-2) wurde mittels Gaschromatographie (GC) und Flammenionisationsdetektor (FID) analysiert. Für die Analyse wurden 2 μ L Abwasserprobe bei einer Heizrate von 4 °C pro Minute bis auf 220°C erhitzt. Als Trägergas diente Helium. Als Säule wurde eine 50 m lange Quarzsäule verwendet. Die Methode erlaubt eine Bestimmungsgrenze von 20 mg/L, für Pyrazol wurde diese im Verlauf der Versuche auf 5 mg/L optimiert.

Gelöster organisch-gebundener Kohlenstoff (DOC)

Der DOC-Gehalt wurde gemäß DIN EN 1484 mittels Verbrennung und nichtdispersivem Infrarotsensor (NDIR) (TOC-VTM von Shimadzu, Kyoto, Japan) nach vorheriger Filtration der Probe bestimmt.

Nicht-pyrazolischer DOC (non-Pyrazol DOC)

Der Teil des DOCs, der nicht durch Pyrazol zu erklären ist, wurde anhand von Formel (5-5) errechnet.

$$c_{n\text{Pyr-DOC}} = c_{\text{DOC}} - (c_{\text{Pyrazol}} * \frac{3 * M_{\text{Kohlenstoff}}}{M_{\text{Pyrazol}}}) \quad (5-5)$$

$c_{n\text{Pyr-DOC}}$ = Konzentration non-Pyrazol DOC in mg/L

c_{DOC} = Konzentration DOC in mg/L

c_{Pyrazol} = Konzentration Pyrazol in mg/L

$M_{\text{Kohlenstoff}}$ = Molare Masse Kohlenstoff = 12 g/mol

M_{Pyrazol} = Molare Masse Pyrazol = 68,08 g/mol

Nitrit und Nitrat

Nitrit und Nitrat wurden gemäß DIN EN ISO 10304-1 und 10304-2 mittels Ionenchromatographie (Thermo Scientific™ ICS-3000 von Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) bestimmt.

Kationen

Kationen wurden gemäß DIN EN ISO 7980, DIN 38406-13 und DIN 38406-14 mittels Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) (AAnalyst™ 200 von Perkin Elmer Inc., Waltham, USA) bestimmt.

Gesamtstickstoff

Der Gesamtstickstoff-Gehalt wurde gemäß DIN EN 12260 mittels Oxidation zu Stickstoffoxiden (TN100 von a1-envirosciences GmbH, Düsseldorf) bestimmt.

Chemischer Sauerstoffbedarf, Ammonium, Gesamtphosphat

Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB), Ammonium, und Gesamtphosphat wurden photometrisch mittels Spectroquant® (Merck KGaA, Darmstadt) und LCK® (Hach Lange GmbH, Düsseldorf) Küvettentests bestimmt. Tabelle 5-1 zeigt die verwendeten Kits sowie die zugehörigen Bestimmungsgrenzen. Im Falle einer Überschreitung der Bestimmungsgrenze wurde die Probe verdünnt und erneut gemessen. Die Küvetten wurden mittels UV-VIS Spektralphotometer analysiert (Spectroquant® Küvetten: Prove 300, Merck KGaA sowie LCK® Küvetten: DR3900 Hach Lange GmbH).

Tabelle 5-1: Verwendete Küvettentests und deren Bestimmungsgrenzen

Parameter	Kit	Bestimmungsgrenzen
CSB	Spectroquant 101796	5 – 80 mg/L
	LCK 114	150 – 1000 mg/L
	LCK 314	15 – 150 mg/L
Ammonium-Stickstoff	Spectroquant 114558	0,26 – 10,3 mg/L
	Spectroquant 114559	5,2 – 103 mg/L
Gesamtphosphat	LCK 303	2 – 47 mg/L
	Spectroquant 114543	0,2 – 15,2 mg/L
	LCK 348	0,5 – 5 mg/L

5.2. Abbauversuche

Zur Klärung der zugrundeliegenden Fragen dieser Arbeit wurde eine Reihe von statischen und kontinuierlichen Versuchen im Labor- sowie halbtechnischen Maßstab durchgeführt. Die Erkenntnisse jeder Versuchsreihe wurden dabei auf den nachfolgenden Versuch angewandt und verifiziert. Das ACN-Prozessabwasser, was in den Versuchen zum Einsatz kam, war stets das gleiche, wie es zu jenem Zeitpunkt auch in der Pyrazol-Biologiestufe einlief. Damit unterlagen die Versuche auch immer betriebsbedingten Änderungen der Abwassermatrix, die sich beispielsweise durch die Betriebsweisen der Abwasserkolonnen oder Produktionslasten der Anlagen ergaben.

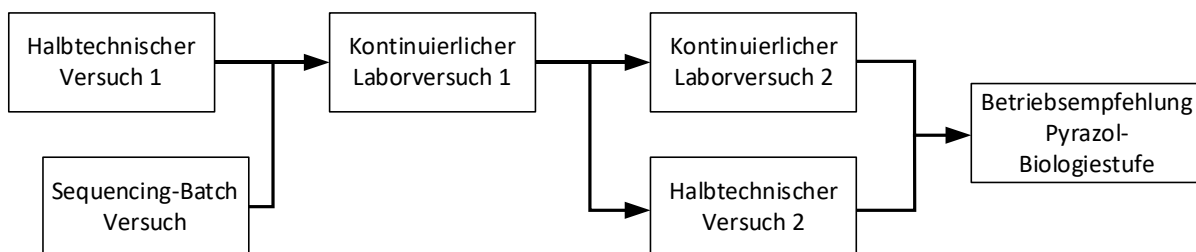


Abbildung 5-1: Aufbau und Verlauf der Versuchsreihe

5.2.1. Halbtechnischer Versuch 1

Wie in Kapitel 3.3 beschrieben, gab es anfangs viele Hinweise darauf, dass die Verweilzeit und/oder die Pyrazolschlammbelastung eine entscheidende Rolle für die biologische Abbaubarkeit spielen. Da sich diese Parameter im großtechnischen Betrieb nicht unabhängig voneinander betrachten lassen, sollte dies in einem Versuch getestet werden. Wie in Kapitel 5.1.1 beschrieben, ergeben sich beide Parameter u.a. aus dem Zulaufvolumenstrom. Da das klassische Belebtschlammverfahren mit Dortmundbrunnen bei einem Trockensubstanzgehalt von ca. 4-5 g/L limitiert ist, bietet der Einsatz eines Membranbioreaktors (MBR) die Möglichkeit, TS-Gehalte bis zu 12 g/L zu halten (siehe auch Kapitel 2.1.2). Durch diesen höheren Biomassegehalt lässt sich die hydraulische Verweilzeit bei gleichbleibender Pyrazolschlammbelastung verkürzen. Gleichzeitig sollte mit dem Einsatz dieser Anlage die Verträglichkeit der Hohlfaser-Membranmaterialien mit dem Abwasser erprobt werden.

Die Versuchsanlage setzte sich aus einem 20-Fuß-Container als Belebungsbecken, einem 1000 L Permeatspeicher und einem 20-Fuß-Container für Membrantank, Pumpen und Steuerungselektronik zusammen. Zwei Pulsion®-Membranmodule (PVDF-Membran mit je 43,5 m² Membranfläche) von Koch™ Separation Solutions kamen in dieser Anlage für die Fest-

Flüssig-Trennung zum Einsatz. Tabelle 5-2 fasst die wichtigsten technischen Parameter der Versuchsanlage zusammen, Abbildung 5-2 zeigt den Aufbau der Anlage.

Tabelle 5-2: Technische Parameter des ersten halbtechnischen Versuchs

Volumen Belebung	25 - 32 m ³	Abhängig von der Versuchsphase
Volumen Membrantank	2,5 m ³	
Membranfläche	87 m ²	
Zulaufstrom	0,43 – 1,34 m ³ /h	Abhängig von der Versuchsphase
Hydraulische Verweilzeit	20 – 83 h	Abhängig von der Versuchsphase

Die Membranmodule wurden durchgängig belüftet, dadurch ergab sich zum einen ein abtragender Effekt durch die Luftblasen selbst, zum anderen eine Scherwirkung durch die Reibung der Fasern aneinander. Dadurch wurde die Bildung von Deckschichten verlangsamt. Ein weiteres System zur Verlangsamung der Deckschichten war die diskontinuierliche Betriebsweise. Durch einen Zyklus von Filtration, Rückspülung und Relaxationspause können Membranporen freigespült und die Deckschichtbildung verlangsamt werden. Für diese Versuchsanlage wurde ein Zyklus von 600 s Filtration, 40 s Rückspülung, 600 s Filtration, 40 s Rückspülung und 600 s Relaxation gewählt. Später wurde die Relaxation anstatt alle 2 Filtrationszyklen alle 40 Filtrationszyklen durchgeführt, um den Netto-Permeatflux zu optimieren.

Das Abwasser wurde über die Pumpe P-1 in das Belebungsbecken D-01 gefördert. Die Pumpe wurde dabei über den Füllstand des Belebungsbeckens geregelt. Der gewählte Ziel-Füllstand wurde während des Versuchs verändert, um verschiedene Schlammbelastungen und Verweilzeiten einstellen zu können. Pumpe P-2 förderte das Belebtschlamm-Wasser-Gemisch aus dem Belebungsbecken in den Membrantank D-02. Der Membrantank wurde konstant beschickt und lief über einen Überlauf zurück ins Belebungsbecken. Auf diese Weise dichte der Belebtschlamm im Membrantank durch den Entzug von Wasser nicht zu stark ein. Die Pumpe P-03 erzeugte einen Unterdruck und förderte so das Wasser durch die Membran und in den Permeatspeicher D-03. Der Permeatspeicher lief im freien Gefälle in den Ablauf über. Im Reinigungsmodus förderte die Pumpe P-3 aus dem Permeatspeicher zurück in den Membrantank, dabei wurde mittels der Pumpen P-11 bzw. P-12 aus den Behältern D-11 bzw. D-12 zunächst Natriumhypochlorit und dann nach einem Spülschritt Zitronensäure in den Strom dosiert. Das Gebläse C-1 sorgte für den nötigen Sauerstoffgehalt im Belebungsbecken. Über eine

Sauerstoffsonde (Oxymax™, Endress+Hauser AG, Reinach, Schweiz) wurde das Gebläse so geregelt, dass ein Sauerstoffgehalt von 2,5 mg/L gehalten wurde. Das Gebläse C-2 sorgte für die Belüftung des Membranmoduls.

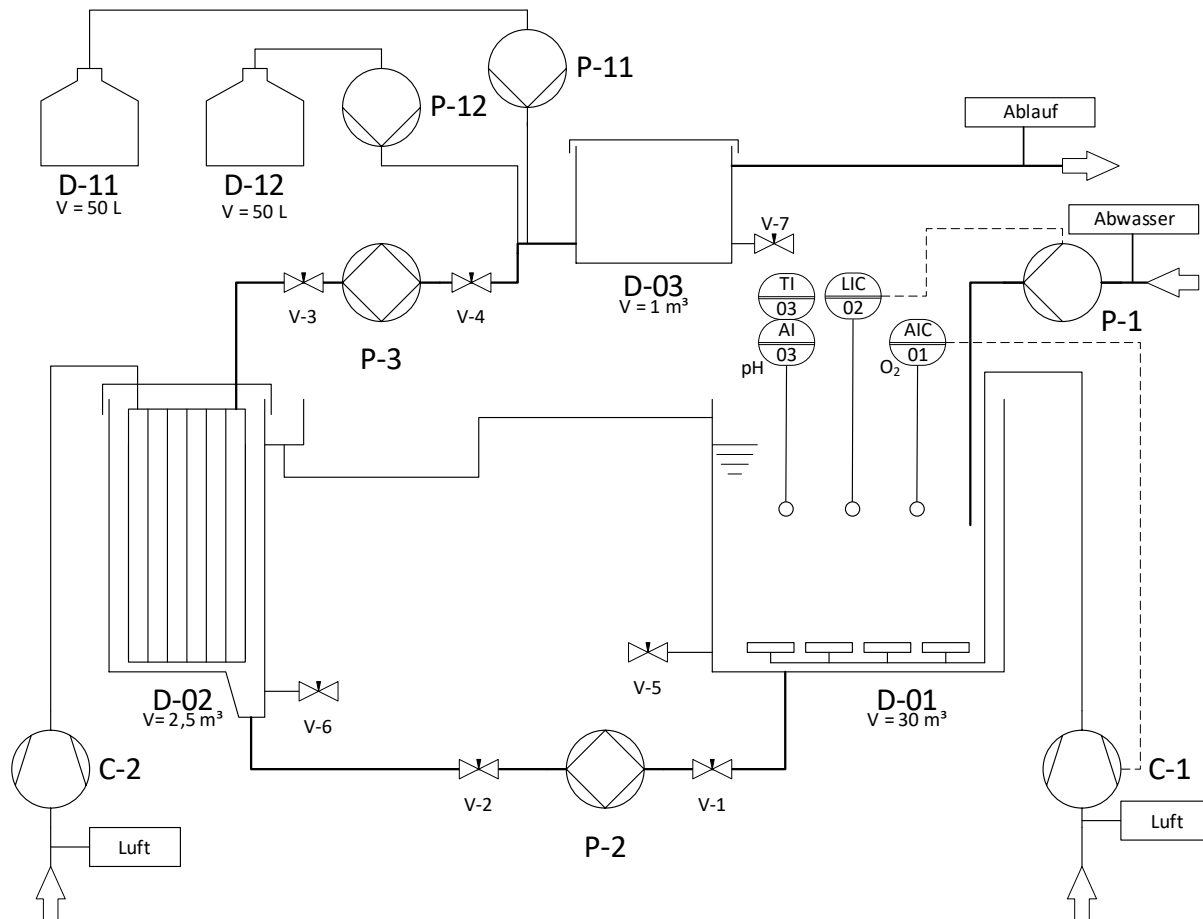


Abbildung 5-2: Aufbau der Versuchsanlage für den halbtechnischen Versuch 1

5.2.2. Sequencing-Batch Versuch

Die Batchtests wurden mittels drei identischer Behälter mit jeweils 6 L Volumen durchgeführt. Jeder Batch wurde permanent mittels Propellerrührer gerührt. Die Belüftung wurde über eine Sauerstoffsonde (IKS ODOS; IKS Computer Systeme GmbH, Karlsruhe) und ein Magnetventil geregelt, sodass die Konzentration von gelöstem Sauerstoff bei ca. 2 mg/L gehalten wurde. Abbildung 5-3 zeigt den Aufbau eines solchen Batchreaktors. Der Belebtschlamm für diese Versuche wurde aus dem Rücklaufschlammstrom der Pyrazol-Biologiestufe entnommen als der biologische Pyrazolabbau zwar funktionierte, jedoch unvollständig und stark schwankend. Dazu wurde eine große Probe genommen, die auf die drei Batchversuche aufgeteilt wurde. In jedem

Batch wurden 4,33 L Rücklaufschlamm eingesetzt und mit 1,67 L ACN-Abwasser vermischt. An jedem Werktag wurden 1,67 L Überstand (Batch C: 1,86 L) abgenommen und durch neues Abwasser ersetzt. Dadurch ergibt sich eine hydraulische Verweilzeit von 3,6 d, was der Pyrazol-Biologiestufe entsprach. An Wochenenden konnte dies nicht durchgeführt werden, sodass sich die Verweilzeit hier deutlich verlängert. Vor Abnahme des Überstandes wurden Belüftungs- und Rührsystem des Batches ausgeschaltet. Nach 30 min Absetzzeit wurde der Überstand abgenommen und neues Abwasser hinzugegeben. Die Beprobung erfolgte immer aus dem abgenommenen Überstand und dem Belebtschlamm-Abwasser-Gemisch nach Zugabe des neuen Abwassers.

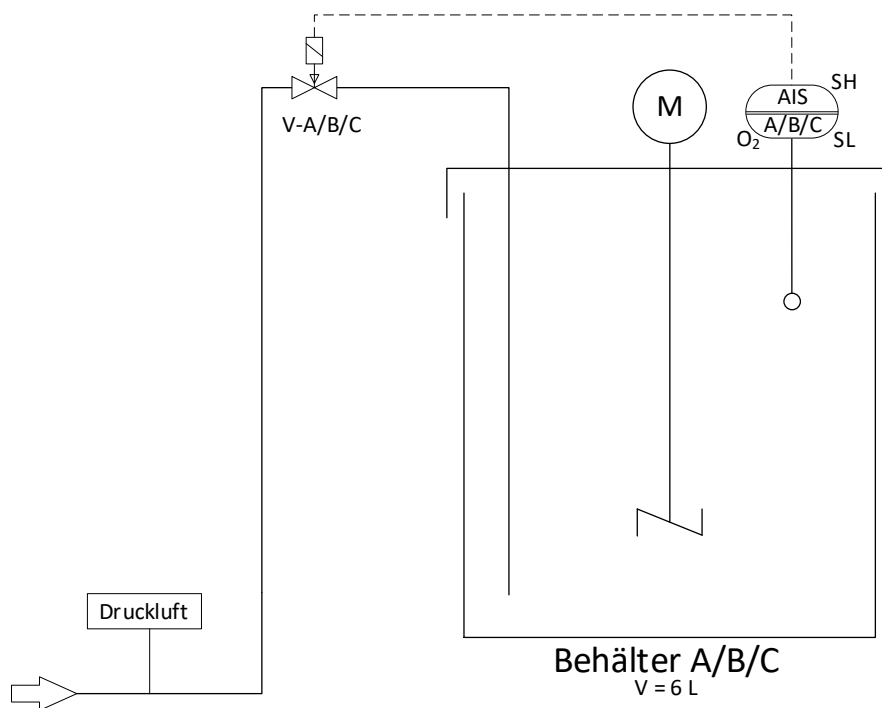


Abbildung 5-3: Versuchsaufbau der Batchtests

In diesem Versuch wurden drei Ansätze verfolgt: Eine Referenz mit unverändertem Abwasser (A), ein Batch mit zusätzlicher Kohlenstoffquelle (B) und ein Test mit zusätzlichen Nährsalzen (C). Tabelle 5-3 zeigt die Zusammensetzungen im Detail.

Tabelle 5-3: Zusammensetzung der Abwasserzugaben der Batchtests

Komponente	Einheit	Batch A	Batch B	Batch C
		Referenz	Kohlenstoffzusatz	Kationenzusatz
ACN-Abwasser	L	1,67	1,67	1,67
H ₃ PO ₄ 85%	mL	0,05	0,05	0,05
Methanol	mL	-	1,75	-
Nährsalzlösung	mL	-	-	200

Nährsalzlösung: KH₂PO₄: 680 mg/L; CaCl₂: 680 mg/L; MgSO₄*H₂O: 1500 mg/L; Na₂SO₄: 2130 mg/L

Durch den Einsatz der Nährsalzlösung ergibt sich in diesem Batch eine Verdünnung. Für die Auswertung wurde dieser Verdünnungseffekt herausgerechnet.

5.2.3. Kontinuierlicher Laborversuch 1

Der kontinuierlich beschickte Versuch stellt einen Versuch im Labormaßstab dar. Aufgrund der Limitationen der Batchtests wurde entschieden, eine kontinuierlich beschickte Kläranlage im Labor zu simulieren, um Parameter gezielt beeinflussen zu können. Der Aufbau ist in Abbildung 5-4 schematisch dargestellt, Tabelle 5-4 fasst die wichtigsten Parameter des kontinuierlichen Versuchs zusammen.

Der Aufbau verfügte über ein belüftetes Belebungsbecken (D-02) und ein Nachklärbecken (D-03). Das Belebungsbecken wurde aus einem Abwasservorlagetank (D-01) beschickt, in dem entsprechend vorbereitete Abwassermischungen bei Raumtemperatur vorgehalten wurden. Die Beschickung erfolgte durch die Pumpe P-1 (IKS aquastar vario blue), die in Intervallen betrieben wurde. Somit konnte ein ausreichend geringer Zulaufvolumenstrom erreicht werden. Das Belebungsbecken wurde permanent von einem Rührwerk mit Propellorrührer in Bewegung gehalten. Der Sauerstoffgehalt wurde über eine IKS ODOS Sonde gemessen. Die Belüftung erfolgte mittels Druckluft aus dem Druckluftnetz, die über ein Magnetventil (V-4) geregelt wurde. So wurde im Becken ein Sauerstoffgehalt von ca. 2 mg/L gehalten. Der im Nachklärbecken anfallende Schlamm wurde über die Pumpe P-2 (Masterflex L/S; Cole-Parmer GmbH, Wertheim) dem Belebungsbecken zurückgeführt. Der Ablauf des Nachklärbeckens wurde in einem Probenahmegefäß mit Überlauf (D-04) aufgefangen. Alle Proben des Ablaufs wurden nach sorgfältiger Durchmischung aus diesem Gefäß genommen. Proben des Zulaufs wurden aus dem Vorlagebehälter direkt genommen.

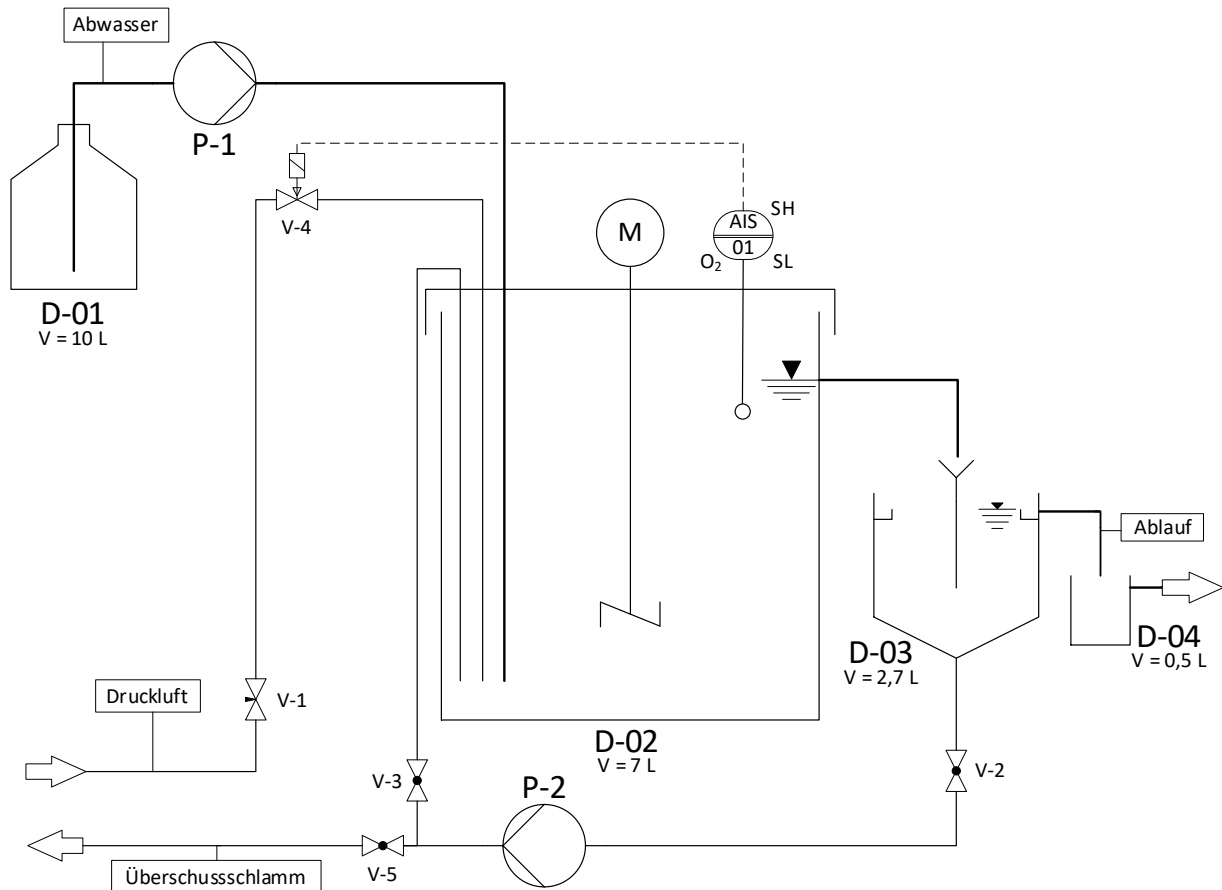


Abbildung 5-4: Aufbau des kontinuierlich beschickten Versuchs

Tabelle 5-4: Eigenschaften des kontinuierlich beschickten Versuchs

Volumen Zulaufspeicher D-01	10 L	
Volumen Belebung D-02	7 L	
Volumen Nachklärung D-03	2,7 L	
Volumen Probenahme Behälter D-04	0,5 L	
Zulaufstrom	0,06 – 0,1 L/h	abhängig von der Versuchsphase
Hydraulische Verweilzeit	2,9 – 4,9 d	abhängig von der Versuchsphase
Temperatur	21 – 30 °C	abhängig von der Raumtemperatur

Wie in den Batchtests, war das Ziel des kontinuierlich beschickten Versuchs, herauszufinden, welche Parameter für den biologischen Pyrazolabbau eine Rolle spielen. Der Versuch sollte sich so über mehrere Phasen hinweg erstrecken, in denen der Einfluss einzelner Parameter evaluiert wurde. Da zum Planungszeitpunkt noch nicht klar war, ob Schlammbelastung, Abwassermatrix oder beide Faktoren ausschlaggebend sind, wurde zunächst ein simples synthetisches Abwasser nach Vorbild des originalen ACN-Abwassers eingesetzt. Ziel war es, möglichst optimale Parameter einzustellen, die es dann nach und nach abzuschalten galt.

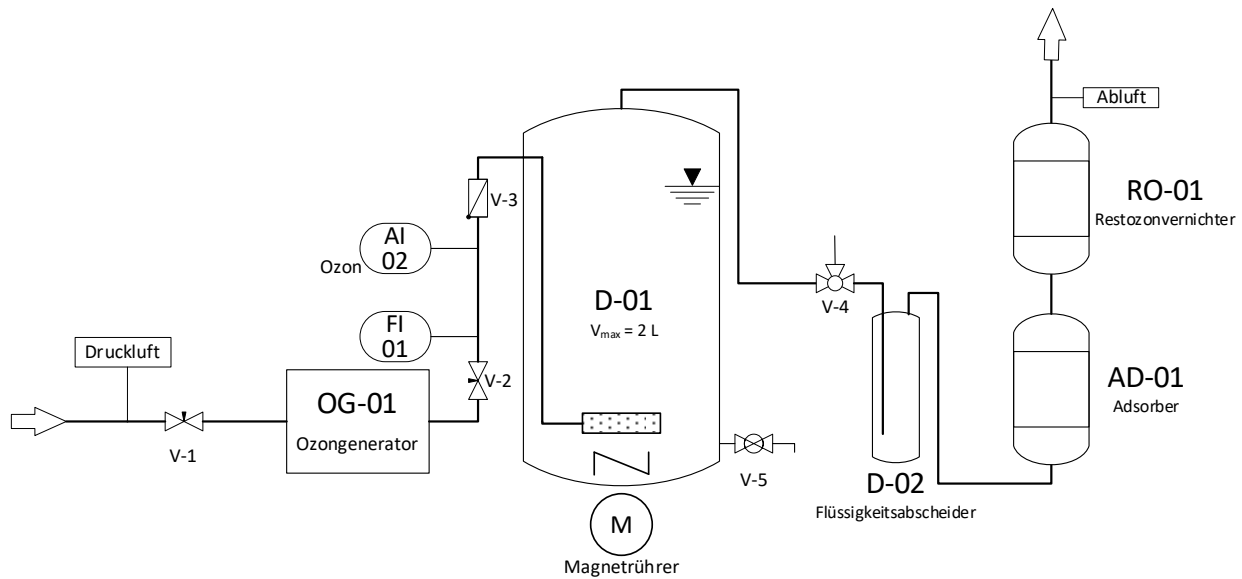


Abbildung 5-5: Aufbau der Versuchsanlage zur Ozonierung von Abwasserproben

Im Verlauf des Versuchs wurde das synthetische Abwasser dann durch originales ACN-Abwasser ersetzt, das phasenweise mit Ozon vorbehandelt wurde. Abbildung 5-5 zeigt den Aufbau zur Ozonierung des Abwassers.

Die Erzeugung von Ozon erfolgte mittels eines Labor-Ozongenerators (Modell 300.5; Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH, Uetze-Eltze) und Druckluft mit einem Taupunkt von ca. $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Das erzeugte Luft-Ozongemisch wurde über ein Ozonmessgerät (BMT-964; BMT Messtechnik GmbH, Berlin) in den Behälter D-01 geleitet, der mit der Abwasserprobe gefüllt war. Die Durchmischung erfolgte mittels eines Magnetrührers. Die Abluft wurde zunächst durch einen Flüssigkeitsabscheider (D-02) und einen mit Silikagel gefüllten Adsorber (AD-01) getrocknet und abschließend über den Restozonvernichter RO-01 (CAT-RS; BMT Messtechnik GmbH, Berlin) geleitet. Die Betriebseinstellungen der Vor-Ozonierung werden im Folgenden in den Erläuterungen zu den einzelnen Phasen dargestellt.

Tabelle 5-5 fasst die wichtigsten Eigenschaften der verschiedenen Versuchsphasen im kontinuierlichen Versuch zusammen, in Tabelle 5-6 sind die Zusammensetzungen des Zulaufgemischs aufgeschlüsselt. Die Hintergründe der einzelnen Phasen werden im Folgenden genauer dargelegt.

Tabelle 5-5: Übersicht der verschiedenen Versuchsphasen

Phase	Eigenschaft	Versuchstag
1	Synthetisches Abwasser	1-33
2	Zusatz von ACN-Abwasser, Vor-Ozonisiert	34-80
3	Verzicht auf zusätzliche C-Quelle, Erhöhung der Verweilzeit	81-207
4	VE-Wasser statt Leitungswasser	208-250
5	Zugabe Magnesium und Natrium über VZ-Abwasser	251-273
6	Zurückstellung von VE-Wasser und Zusätzen auf Leitungswasser	274-311
7	Verzicht auf Vor-Ozonisierung	312-325
8	VE-Wasser statt Leitungswasser	326-357
9	Zugabe Magnesium und Natrium über VZ-Abwasser	358-376

VZ-Abwasser = Abwasser aus Vielzweck-Wasser Produktion. Das Abwasser zeichnet sich durch einen sehr hohen Gehalt an Magnesium und Natrium aus. Siehe Beschreibung Phase 5.

Tabelle 5-6: Zusammensetzungen des Abwasserzulaufgemischs für den ersten kontinuierlich beschickten Versuch

		Phase								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pyrazol	mg	20	20	-	-	-	-	-	-	-
Methanol	mg	1980	1980	-	-	-	-	-	-	-
Salzglykol	mL	1,65	1,65	-	-	-	-	-	-	-
Ammoniumchlorid	mg	290	290	-	-	-	-	-	-	-
H₃PO₄ (85 %)	mL	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
ACN-Abwasser (ozonisiert)	mL	-	100	500	500	500	500	-	-	-
ACN-Abwasser (unbehandelt)	mL	-	-	-	-	-	-	500	500	500
VZ-Abwasser	mL	-	-	-	-	0,085	-	-	-	0,085
VE-Wasser	mL	-	-	-	ad 1000	ad 1000	-	-	ad 1000	ad 1000
Leitungswasser	mL	ad 1000	ad 1000	ad 1000	-	-	ad 1000	ad 1000	-	-

Phase 1:

Für den Start des Versuchs wurde ein simples Abwasser aus den Hauptkomponenten des ACN-Abwassers hergestellt. Wie in Tabelle 5-6 aufgeführt, wurde dabei Pyrazol, zwei Kohlenstoffquellen (Methanol und Salzglykol), eine Phosphorquelle und eine Ammoniumquelle eingesetzt. Salzglykol ist ein Gemisch aus Kohlenwasserstoffen, die in der Kläranlage K31 als zusätzliche Kohlenstoffquelle eingesetzt werden kann. Es setzt sich zusammen aus: Monoethylenglykol (0 – 65 %), Diethylenglykol (0 – 22 %), Natriumacetat (0 – 4,5 %), Natriumformiat (0 – 4,5 %), Triethylenglykol (0 – 2,5 %), Tetraethylenglykol (0 – 1 %)

Die Pyrazolkonzentration von 20 mg/L wurde gewählt, um so wenig Pyrazol wie möglich einzusetzen, dabei jedoch ausreichend weit über der Bestimmungsgrenze von 5 mg/L zu bleiben. Die Mengen an Kohlenstoff- und Ammoniumquellen wurden gewählt, um das originale ACN-Abwasser widerzuspiegeln. (Siehe Kapitel 3.2). Phosphorsäure wurde in einem ähnlichen Verhältnis zudosiert, wie es auch in der Pyrazol-Biologiestufe geschah. Leitungswasser wurde dabei bewusst als Verdünnungsmittel gewählt: Wie in Kapitel 3.3 erwähnt, wurde zu Zeiten, wo in der Pyrazol-Biologiestufe noch Pyrazol abgebaut wurde, auch Wasser aus Abwassergruben übernommen, die zum großem Teil Spülwasser aus Rohwasser enthielten. Da zu diesem Zeitpunkt der biologische Pyrazolabbau großtechnisch noch funktionierte, bestand die Annahme, dass die Versorgung mit Kationen aus dem Rohwasser einen Einfluss haben könnte.

Phase 2:

Da sich in Phase 1 bereits eine minimale Pyrazolreduktion zeigte, wurde entschieden, dem Versuch langsam originales ACN-Abwasser zuzuführen. Für Empfehlungen für den großtechnischen Betrieb ist ein rein synthetisches Abwasser nicht aussagekräftig genug. Zudem bergen synthetische Abwässer immer das Risiko, Erkenntnisse zu gewinnen, die sich unter realen Bedingungen nicht reproduzieren lassen (CERETTA et al., 2021). In dieser Phase wurde eine geringe Menge ACN-Abwasser ozonisiert und dem synthetischen Abwasser beigemischt. Die Vor-Ozonisierung wurde durchgeführt, um im Abwasser möglicherweise vorhandene, unbekannte Hemmstoffe zu eliminieren und das Pyrazolmolekül durch eine ungezielte Oxidation für einen biologischen Abbau besser angreifbar zu machen. Häufig beteiligen sich Oxigenasen am Abbau von aromatischen Verbindungen durch eine Öffnung der Ringstruktur mittels Transfers eines oder mehrerer Sauerstoffatome an die Verbindung (URLACHER et SCHMID, 2004; COLBY et al., 1977). Das Sauerstoffradikal aus dem Ozon könnte das Pyrazolmolekül auf ähnliche Weise auf den biologischen Abbau vorbereiten.

Die Ozonisierung wurde mittels des in Abbildung 5-5 dargestellten Versuchsaufbaus durchgeführt. Dabei wurde 1 L ACN-Abwasser für 48 min bei einem Fluss von 1 L/min und einer Ozonkonzentration von 15 g/Nm³ (Normkubikmeter) begast. Dabei ergab sich eine Menge von 720 mg Ozon, die auf einen Liter ACN-Abwasser gegeben wurde. Diese Menge wurde basierend auf dem mittleren Pyrazolgehalt des ACN-Abwassers gewählt: Wenn Pyrazol in der Pyrazol-Biologiestufe nicht biologisch abgebaut wird, wird es mittels Ozons abgebaut. Dabei muss mindestens 2,7 kg Ozon pro kg Pyrazol aufgewendet werden. Sollte eine Vor-Ozonisierung einen positiven Effekt auf den biologischen Abbau haben, muss dies jedoch auch einen nennenswerten Vorteil im Ozonverbrauch mit sich bringen, um die Umstellung des Systems von der Ozonisierung des Ablaufs auf die Ozonisierung des Zulaufs zu rechtfertigen. Als Zielverhältnis wurde daher 1 kg Ozon pro kg Pyrazol für die Vor-Ozonisierung gewählt. Für den Betrieb des Labor-Ozonisators wurde angenommen, dass das Ozon im Abwasser nahezu vollständig abreagiert.

Phase 3:

Da sich in Phase 2 weiter ein geringer, aber zunehmender Pyrazolabbau zeigte, wurde in Phase 3 in einem ersten Schritt die hydraulische Verweilzeit von 2,9 d auf 4,9 d erhöht. Zusätzlich wurden in einem zweiten Schritt die zusätzlichen Kohlenstoffquellen und die Ammoniumquelle nicht mehr zugesetzt. Mit dem so eingeführten Hungerzustand sollten die vorhandenen Mikroorganismen dazu gezwungen werden, Pyrazol zu verstoffwechseln. Der Anteil an ACN-Abwasser wurde erhöht, um ausreichend Pyrazol anzubieten.

Phase 4:

Da sich in Phase 3 ein zunehmend starker und stabiler Pyrazolabbau einstellte, wurde in Phase 4 das Leitungswasser durch vollentsalztes Wasser (VE-Wasser) ersetzt. Da das reale ACN-Abwasser kaum Kationen enthält (siehe Kapitel 3.2), sollte die Abwassermatrix so näher an reale Zustände gerückt werden. Eine folgende Verschlechterung des Abbaus würde so darauf hindeuten, dass im Leitungswasser enthaltenen Komponenten wie Kationen oder Spurenelemente eine wichtige Rolle im Pyrazolabbau spielen.

Phase 5:

Da sich in Phase 4 eine Verschlechterung des Pyrazolabbaus zeigte, wurde in Phase 5 begonnen weitere Komponenten zuzusetzen. Um dies für den großtechnischen Betrieb möglichst kosteneffizient zu gestalten, wurde dabei nach Abwässern des Standorts gesucht, die möglichst reich an Kationen waren. Mit dem Abwasser aus der Vielzweck-Wasser Produktion (VZ-

Abwasser) wurde ein Abwasserstrom gefunden, der sehr reich an Magnesium und Natrium ist, dabei aber auch geringe Mengen anderer Kationen und einen hohen DOC-Gehalt aufweist. Da ein Verschneiden von verschiedenen Abwässern kosteneffizienter ist, als der Zukauf von Reinsubstanzen, wurde eine geringe Menge dieses Abwassers als Magnesium- und Natriumquelle zugesetzt. Hierfür wurde eine Probe vom VZ-Abwasser genommen und auf Magnesium, Natrium, Kalium und Calcium untersucht. Dem Abwassergemisch sollten so zunächst 2,5 mg/L Magnesium zugesetzt werden, mit der Absicht, dies schrittweise zu erhöhen. Bei der genommenen Probe des VZ-Abwassers entsprach dies einem Volumen von 85 µL. Dabei wurde immer die gleiche Probe VZ-Abwasser genutzt, die bei 4°C aufbewahrt wurde.

Phase 6:

Aufgrund einer technischen Störung kam es in Phase 5 zu längeren Verzögerungen in der Analytik. Rückstellproben für eine spätere Analyse wurden filtriert und bei -20° C eingefroren. Dadurch konnte die aktuelle Entwicklung des Pyrazolabbaus jedoch nicht mehr beobachtet werden und es bestand das Risiko, die Mikroorganismen zu lange einem unbekanntem und möglicherweise schädlichen Zustand auszusetzen. Daher wurde der Versuch zurück auf den Zustand von Phase 3 gesetzt.

Phase 7:

Da sich in Phase 6 wieder ein Pyrazolabbau zeigte, wurde als nächster Schritt auf die Vor-Ozonisierung des ACN-Abwassers verzichtet, bevor in den folgenden Phasen wieder VE-Wasser eingesetzt werden sollte. Alle übrigen Parameter blieben unverändert. Würde sich dadurch eine Verschlechterung einstellen, wäre dies ein Hinweis darauf, dass die Vor-Ozonisierung das Pyrazol besser abbaubar macht oder ob eventuelle Hemmstoffe in der Abwassermatrix vorhanden sein könnten.

Phase 8:

Da sich in Phase 7 keine negativen Auswirkungen auf den Pyrazolabbau zeigten, wurde weiter nicht-ozonisiertes ACN-Abwasser eingesetzt. In Phase 8 wurde dann wieder die Umstellung auf VE-Wasser als Verdünnungsmedium vollzogen, um den Einbruch des biologischen Abbaus aus Phase 4 zu wiederholen.

Phase 9:

Da sich der biologische Pyrazolabbau in Phase 8 wie erwartet verschlechterte, wurde wieder VZ-Abwasser als Kationenquelle zugesetzt.

Da sich in Phase 9 keine Verbesserung des biologischen Abbaus zeigte, wurde der Versuch nach 375 Tagen beendet, das Equipment gereinigt und ein neuer kontinuierlich beschickter Versuch in zwei-straßigem Aufbau aufgebaut (Kapitel 5.2.4).

5.2.4. Kontinuierlicher Laborversuch 2

Im zweiten kontinuierlichen Versuch wurde der Versuchsaufbau aus dem ersten kontinuierlichen Versuch dupliziert (Abbildung 5-4), sodass zwei Versuchsstraßen parallel betrieben werden konnten. Beide Versuchsstraßen wurden mit Belebtschlamm aus der Pyrazol-Biologiestufe bestückt. In der Pyrazol-Biologiestufe zeigte sich zu jenem Zeitpunkt kein Pyrazolabbau. Um zu verifizieren, dass die Entwicklung im vorherigen Versuch durch die veränderten Parameter bewirkt wurden, wurde dieser Versuch mit einer Pilot- und einer Referenzstraße betrieben. Die Referenzstraße wurde dabei mit den Parametern betrieben, die im vorherigen Versuch einen biologischen Abbau ermöglichte, die Pilotstraße unterlag Veränderungen (Tabelle 5-7).

Tabelle 5-7: Versuchsphasen des zweiten kontinuierlich beschickten Versuchs.

			Phase				
			1	2	3	4	5
Referenz	ACN-Abwasser	mL	500	500	500	500	500
	H ₃ PO ₄ (85 %)	mL	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
	Leitungswasser	mL	ad 1000	ad 1000	ad 1000	ad 1000	ad 1000
	Zulaufstrom	L/h	0,06	0,06	0,03	0,06	0,06
Pilot	ACN-Abwasser	mL	500	500	500	500	500
	VZ-Abwasser	mL	0,32	-	0,85	0,85	3,15
	KH ₂ PO ₄ (50 g/L)	mL	0,698	-	0,115	0,115	0,115
	H ₃ PO ₄ (85 %)	mL	-	0,08	-	-	-
	VE-Wasser	mL	ad 1000	ad 1000	ad 1000	ad 1000	ad 1000
	Zulaufstrom	L/h	0,06	0,06	0,03	0,06	0,06

Phase 1:

Als Starteinstellung für die Pilotstraße wurden die Gehalte von Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium aus künstlichen Nährmedien für universelle mikrobiologische Anzucht (STEINBÜCHEL et al., 2011) sowie für Anreicherungen aus Belebtschlamm (LIANG et al., 2010 und ZHENG et al., 2017) verglichen (Tabelle 5-8). Dazu wurde ausgewertet, welcher Gehalt sich aus dem vorherigen Versuch (Phase 7) mit gutem Pyrazolabbau ergab (Tabelle 6-8). Dabei fiel auf, dass die eingesetzten Mengen sehr stark variierten. Für Phase 1 wurde ein Startwert von 10 mg/L Magnesium gewählt, da dies in Phase 7 offenbar ausreichend war. Für die verwendete Probe aus dem VZ-Abwasser entsprach dies 320 µL, damit ergibt sich gleichzeitig ein Natriumgehalt von 10 mg/L. Obwohl der Kaliumgehalt in der Phase 7 des vorangegangenen Versuchs von 0,9 mg/L offenbar ausreichte, wurden ebenfalls 10 mg/L Kalium in Form von KH_2PO_4 zudosiert, da sich im Vergleich mit den künstlichen Nährmedien doch erhebliche Abweichungen zeigten. Das ACN-Abwasser hat einen Calcium-Gehalt von 0,6 mg/L (Tabelle 6-8), dennoch wurde kein Calcium zugegeben. Aufgrund der Calcium-Oxalat Problematik in der Ozonanlage (Kapitel 3.4) wäre eine großtechnische Zudosierung von Calcium mit Risiken verbunden, daher wurde zunächst entschieden, dass keine zusätzliche Calcium-Quelle zugegeben werden sollte.

Tabelle 5-8: Ionengehalte aus verschiedenen Anzuchtmedien und dem vorherigen Versuch.

		STEINBÜCHEL et al. (2011)	LIANG et al (2010)	ZHENG et al. (2017)	Phase 7 (rechnerisch)
Na	mg/L	302	138	899	3,15
K	mg/L	430	49	287	0,87
Mg	mg/L	38	52	2	10,63
Ca	mg/L	7	49	3	95,8

Phase 2:

Nachdem sich in Phase 1 ein Abbau etablierte, wurden keine zusätzlichen Ionen mehr zugegeben.

Phase 3:

In Phase 3 wurde weniger Kalium zugesetzt, dafür mehr VZ-Abwasser. Da Kalium großtechnisch zugekauft werden müsste und das VZ-Abwasser bereits vorhanden war, sollte erprobt werden, ob sich durch eine höhere Zugabe von Magnesium und Natrium eine geringere Kalium Zudosierung ausgleichen ließe. Dafür wurde ein Zielwert von 15 mg/L Magnesium und Natrium gewählt, was anhand einer neuen VZ-Abwasserprobe 0,85 mL entsprach. Kalium sollte nur noch

um 1,7 mg/L ergänzt werden, was zusammen mit dem Gehalt aus dem ACN-Abwasser dem doppelten Kaliumgehalt aus der Phase 7 des vorherigen Versuchs entspricht.

Da sich in Phase 2 in beiden Straßen eine Verschlechterung zeigte und technisch bedingte Verzögerungen in der Analytik auftraten, wurde in Phase 3 die Beschickung halbiert. Es sollte vermieden werden, die Schlammbelastung aufgrund unbekannter Zulaufparameter zu überfrachten.

Phase 4:

Nach Behebung der technischen Analytik-Störung während Phase 3 wurde der Zulauf wieder auf das ursprüngliche Maß angehoben.

Phase 5:

Da der Abbau in Phase 4 einbrach und nicht wieder aufkam, wurde in Phase 5 die Zugabe von VZ-Abwasser nochmals erhöht. Zielwert waren 52 mg/L Magnesium, was dem höchsten Wert aus der Vergleichsliteratur entsprach (Tabelle 5-8). In dieser Phase wurde eine vergleichende Ionenchromatographie durchgeführt. Die Proben dafür wurden aus den Zulaufmischungen von Referenz und Pilot-Straße genommen sowie aus dem für die Mischung eingesetzten rohen ACN-Abwasser.

5.2.5. Halbtechnischer Versuch 2

Die Erkenntnisse aus dem kontinuierlich beschickten Versuch wurden auf einen halbtechnischen Maßstab übertragen. In der INEOS-eigenen Membranbioreaktor-Versuchsanlage (MBR-Pilotanlage) wurde Belebtschlamm aus der Pyrazol-Biologiestufe eingesetzt und mit unverdünntem ACN-Abwasser beschickt. Das Abwasser wurde dabei direkt von der Leitung, die auch die Pyrazol-Biologiestufe beschickt, abgeführt und über eine Füllstandsregelung der Versuchsanlage zugeführt. Die Anlage ist der Anlage aus dem ersten halbtechnischen Versuch (Kapitel 5.2.1) ähnlich. Die wichtigsten technischen Parameter der MBR-Pilotanlage während des Versuchs sind in Tabelle 5-9 zusammengefasst, Abbildung 5-6 stellt die Anlage schematisch dar.

Tabelle 5-9: Eigenschaften des halbtechnischen Versuchs 2

Volumen Belegung	Variabel bis 13 m ³
Eingesetzte Membran	Koch Separation Solutions™ Puron® (Hohlfasermembran)
Verfügbare Membranfläche	43,5 m ²
Volumen Membrantank	1 m ³
Zulaufstrom	20 – 80 L/h

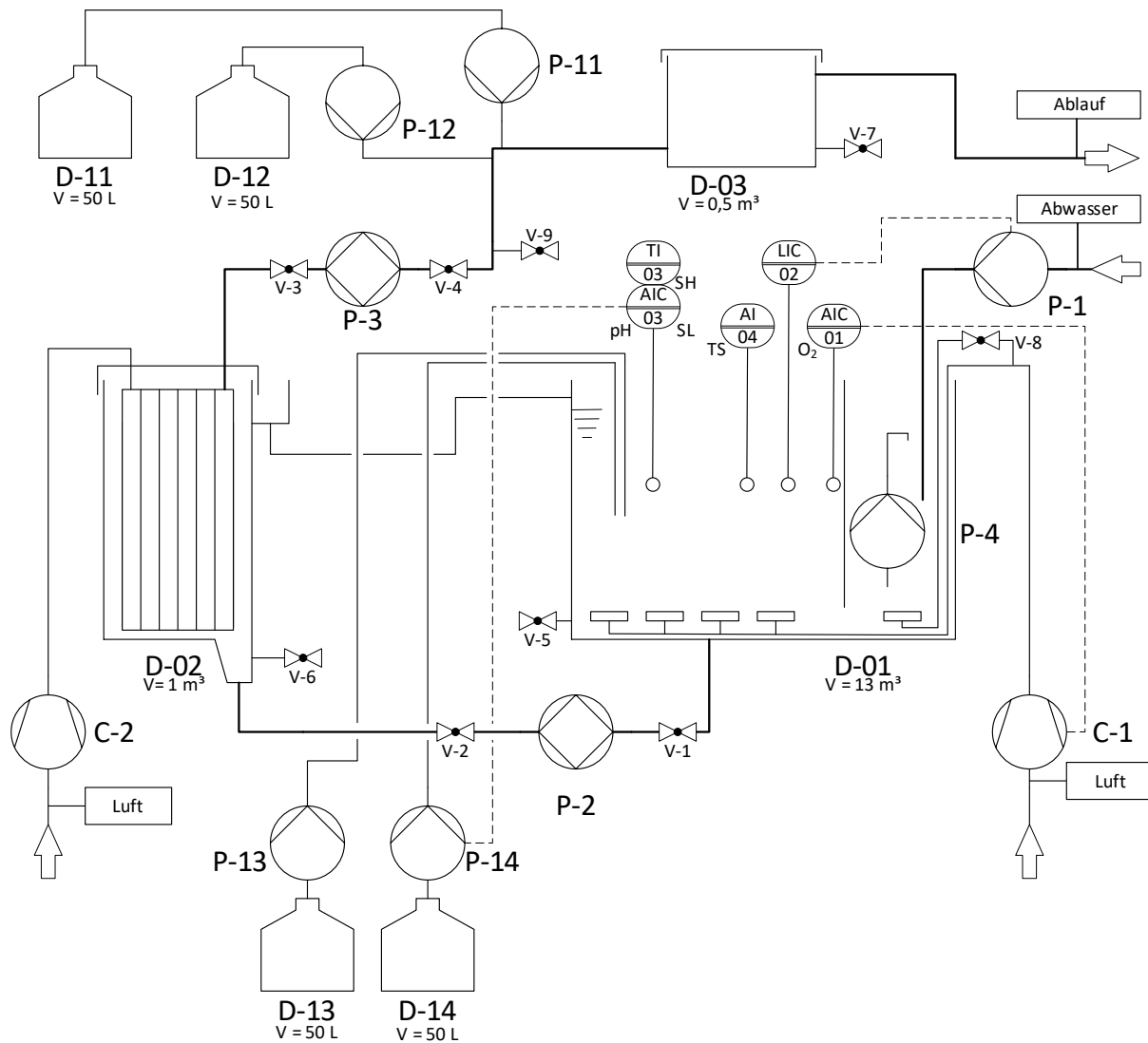


Abbildung 5-6: Schematische Darstellung der Versuchsanlage für den halbtechnischen Versuch 2

Das Belegungsvolumen im Behälter D-01 verfügte über eine belüftete und unbelüftete Zone, wobei die unbelüftete Zone durch eine Trennplatte auf 10% des Gesamtvolumens eingestellt

wurde. Wahlweise konnte über das Ventil V-8 die Belüftung in den abgetrennten Bereich durchgestellt werden, sodass das gesamte Behältervolumen belüftet wurde. Die Durchmischung im unbelüfteten Teil wurde mittels Umwälzung durch die Tauchpumpe P-4 gewährleistet. Der Zulauf für diese Anlage wurde in die unbelüftete Zone des Belebungsvolumens geführt. Durch einen Spalt unter der Trennplatte kann das Belebtschlamm-Wasser-Gemisch in die belüftete Zone gelangen. Hier wird dem Belebtschlamm durch das Gebläse C-1 über Tellerbelüfter Sauerstoff und CO₂ bereitgestellt und durch die Belüftung gleichzeitig durchmischt. Das Membranmodul ist in einem gesonderten Tank D-02 installiert, welcher durch Pumpe P-2 mit dem Belebtschlamm-Wasser-Gemisch beschickt wird. Die Fest-Flüssig-Trennung erfolgt über die Membran mittels Pumpe P-3, die das Permeat dann in den Permeattank D-03 fördert. Die Belüftung der Membran durch das Gebläse C-2 verringert die Schichtbildung auf der Membran (Fouling / Scaling) und treibt Verblockungen zwischen den Membranfilamenten aus. Über einen Überlauf gelangt der eingedickte Belebtschlamm zurück in die Belebung. Permeat und Überschussschlamm wurden der großtechnischen Pyrazol-Biologiestufe zugeführt. Zur weiteren Reduzierung von Scaling und Fouling wurde die Membran periodisch mit Permeat zurückgespült. Eine Reinigung der Membran konnte bei Bedarf über eine Zudosierung von Natriumhypochlorit und Zitronensäure (Behälter D-11 und D-12) in den Rückspülstrom durchgeführt werden. Der pH-Wert wurde über die Pumpe P-14 justiert, dort konnte im Behälter D-14 wahlweise NaOH (20 %) oder HCl (18 %) vorgelegt werden. Aus Behälter D-13 konnten bei Bedarf Hilfsmittel wie zusätzliche Kohlenstoffquellen oder Entschäumer dosiert werden. Die Probenahme des Belebtschlammes erfolgte über das Ventil V-5, die Proben zur Bestimmung der Ablaufqualität wurden über das Ventil V-9 gezogen.

Anders als die vorherigen Versuche, wurde der halbtechnische Versuch 2 nicht in mehrere Phasen gegliedert, sondern es wurde eine geringe Pyrazol-Schlammbelastung zwischen 0,01 und 0,015 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d eingestellt, um zu beobachten, wie lange es dauern würde, bis sich bei einer geringen Belastung ein biologischer Abbau einstellen würde.

5.3. Genetische Untersuchungen

Die DNA-Extraktion, PCR, DNA-Sequenzierung und anschließende bioinformatische Verarbeitung der Ergebnisse mittels NanoCLUST geschah durch die Mitarbeiter/-innen der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Alexander Probst des Biofilm Centre der Universität Duisburg-Essen.

Die genetische Untersuchung erfolgte mittels Nanopore-Sequenzierung, um die Biozönose eines Pyrazol-abbauenden Belebtschlammes zu beurteilen und zu vergleichen. Während des ersten kontinuierlich beschickten Versuchs wurde in Phase 7, als Pyrazol biologisch abgebaut wurde, eine Probe entnommen und bei -20°C eingefroren. Zeitgleich wurde aus der Pyrazol-Biologiestufe eine Probe entnommen und ebenfalls bei -20°C eingefroren. Die DNA-Extraktion aus den Proben erfolgte mittels Qiagen® DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen N.V., Venlo, Niederlande) nach Anweisung des Herstellers. Die DNA-Konzentrationen wurden mittels Qubit™ dsDNA Assay (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) bestimmt. Die PCR erfolgte mittels Rapid 16S Barcoding Kit (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, Vereinigtes Königreich), welches die Standard 27f/1492r Primer nutzt. Für die PCR kam zudem der LongAMP® Taq 2X Master Mix (New England Biolabs Inc., Ipswich, USA) zum Einsatz. Die PCR Zyklen sind in Tabelle 5-10 dargestellt. Die Nanopore-Sequenzierung erfolgte mittels MinION Flow Cell (R9.4.1) von Oxford Nanopore.

Tabelle 5-10: PCR Programm für die Nanopore Sequenzierung

Zyklus	Schritt	Temperatur	Zeit
1	Denaturierung	95°C	1 min
2-24	Denaturierung	95°C	20 s
	Anlagerung	55°C	30 s
	Extension	65°C	2 min
25	Extension	65°C	5 min
	Standby	4°C	

Für die taxonomische Zuordnung wurde das Programm NanoCLUST (RODRÍGUEZ-PÉREZ et al., 2020) mit Standard-Einstellungen verwendet. Die Analyse mittels NanoCLUST wurde in fünf Datenpaketen durchgeführt, die relativen Häufigkeiten wurden als Mittelwert aus den fünf Paketen gebildet. Spezies, die nicht in mindestens 4 von 5 Paketen auftauchten, wurden nicht beachtet. Die Erstellung des phylogenetischen Baumes erfolgte mittels der Plattform NGPylogeny (LEMOINE et al., 2019).

6. Ergebnisse und Diskussionen

6.1. Ergebnisse und Diskussion der Abwasser-Versuche

6.1.1. Halbtechnischer Versuch 1

Der erste halbtechnische Versuch mit einer MBR-Anlage erstreckte sich über 212 Tage. Ziel dieses Versuchs war zu evaluieren, ob eine höhere Biomasse im System zu einem höheren biologischen Pyrazolabbau führt und wie sich der Abbau in Abhängigkeit der Verweilzeit verhält. Der Versuch wurde 2018 zu einem Zeitpunkt durchgeführt, als auch großtechnisch ein Pyrazolabbau zu beobachten war. In diesem Versuch wurde die Anlage mit Belebtschlamm aus der Pyrazol-Biologiestufe angefahren, sodass sich von Anfang an ein biologischer Pyrazolabbau beobachten ließ. Abbildung 6-1a zeigt, dass anhand des MBR-Verfahrens ein deutlicher Zuwachs an Biomasse im System erreicht werden konnte. Der TS-Gehalt im Belebungsbecken stieg von anfänglich 5 g/L auf bis zu 12 g/L und wurde im Verlauf des Versuchs bei 8 bis 9 g/L eingestellt.

Abbildung 6-1b zeigt den Verlauf der Pyrazolkonzentrationen von Zu- und Ablauf der Versuchsanlage. Die Pyrazolkonzentration im Zulauf schwankte zwischen 209 mg/L und 725 mg/L. Nach 8 Tagen sank die Pyrazolkonzentration im Ablauf unter die Nachweisgrenze von 20 mg/L, was einen starken biologischen Abbau zeigt. Vorausgreifend auf die Betrachtung von Ammonium und Nitrat ließ sich in diesem Zeitraum eine Nitrifikation beobachten (Abbildung 6-2) was darauf hindeutet, dass die Pyrazolkonzentration vermutlich unter 2,6 mg/L gelegen hat, da dies der Grenzwert für eine Nitrifikationshemmung ist (DENECKE et al., 2017; LI et al., 2020). Die Bestimmungsgrenze für Pyrazol mittels GC-FID im INEOS-eigenen Labor wurde ab Tag 105 auf 5 mg/L gesenkt und lag zuvor bei 20 mg/L. Nach einem Ausfall der Zulaufpumpe von Tag 114 bis Tag 118 stieg die Pyrazolkonzentration im Ablauf an und bewegte sich danach schwankend zwischen 5 und 478 mg/L.

Da der Zulaufvolumenstrom während des Versuchs verändert wurde, ergaben sich dadurch nicht nur Veränderungen in der hydraulischen Verweilzeit, sondern auch in der Menge an Pyrazol, die der Biologie zur Verfügung steht. Daher dürfen nicht nur die Konzentrationen betrachtet werden, sondern auch die Frachten, die das System abbauen konnte. Diese sind zusammen mit dem relativen Abbau in Abbildung 6-1c dargestellt.

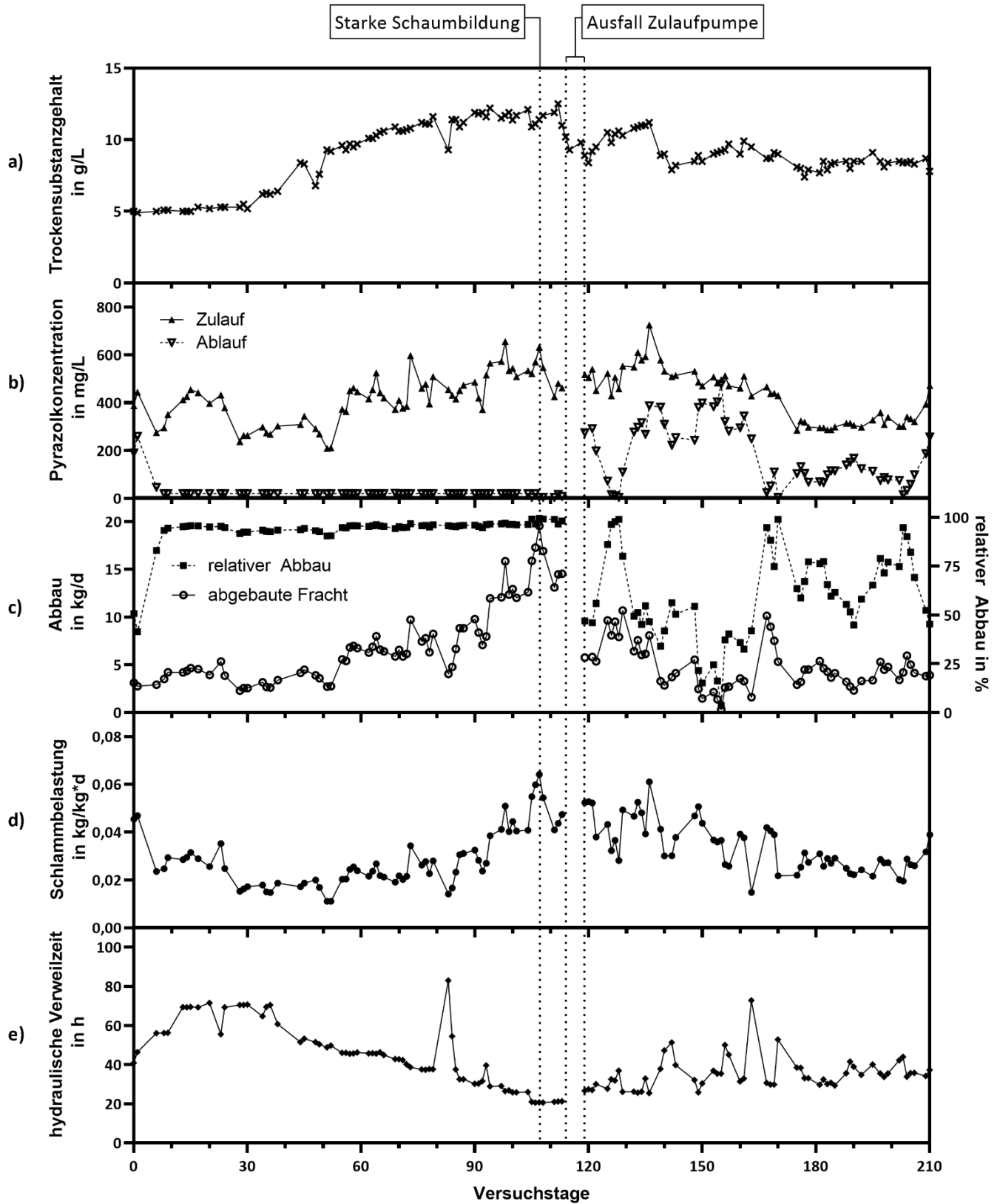


Abbildung 6-1: Übersicht der Ergebnisse aus dem ersten halbtechnischen Versuch

Anhand der abgebauten Pyrazolfracht wird deutlich, dass die Leistungsfähigkeit des biologischen Systems bis zum Ausfall der Pumpe ab Tag 114 stark gesteigert werden konnte. Die abgebaute Pyrazolfracht konnte von anfänglich ca. 3 kg/d bis auf maximal 19,7 kg an Tag 107 gesteigert werden. Nach dem Ausfall der Zulaufpumpe von Tag 114 bis 118 lässt sich von Tag 125 bis Tag 129 eine kurzzeitige Rückkehr auf einen nahezu vollständigen Pyrazolabbau beobachten. In den letzten 70 Tagen des Versuchs lässt sich eine verringerte Abbauleistung beobachten (min. 0,3 kg/d bis max. 10,1 kg/d; im Mittel 4 kg/d), die sich im Mittel auf dem Niveau der ersten 60 Tage bewegte (hier: min. 2,29 kg/d bis max. 6,97 kg/d; im Mittel 3,99 kg/d), dabei jedoch stärker schwankte. Dazu kommt, dass der TS-Gehalt in den ersten 60 Tagen geringer war als in den letzten 70 Tagen (durchschnittlich 7 g/L vs. 9 g/L), was darauf hindeutet, dass die Leistungsfähigkeit des biologischen Systems zum Ende des Versuchs eingeschränkt war. Als Gründe für diesen Einbruch der Abbauleistung kommen mehrere Faktoren in Betracht, sie werden im Folgenden erörtert.

Die hydraulische Verweilzeit in Vergleich mit der frachtbezogenen Abbauleistung ist in Abbildung 6-1e dargestellt. Die Verweilzeit wurde in den ersten 14 Tagen auf 70 h angehoben, um dem Belebtschlamm vergleichbare Bedingungen mit der großtechnischen Anlage zu bieten. Ab Tag 38 wurde die hydraulische Verweilzeit dann durch Erhöhung des Zulaufvolumenstroms schrittweise bis auf ca. 20 h abgesenkt. Dadurch wurde dem biologischen System immer mehr Pyrazol zur Verfügung gestellt, was nahezu vollständig aufgezehrt wurde (vgl. Abbildung 6-1b). Nach dem Absinken der Abbauleistung ab Tag 118 wurde die hydraulische Verweilzeit wieder erhöht, um zu prüfen, ob sich eine dauerhafte Rückkehr zu einem vollständigen Abbau realisieren lässt. Ein negativer Einfluss einer kurzen hydraulischen Verweilzeit auf den biologischen Abbau lässt sich dadurch ausschließen. Genauso gewährt eine höhere hydraulische Verweilzeit auch keinen vollständigen biologischen Pyrazolabbau.

Bei Betrachtung der Pyrazolschlammbelastung (Abbildung 6-1d) lässt sich eine Tendenz erkennen, dass bei einer Belastung um 0,02 bis 0,04 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ eher weniger Schwankungen und ein stärkerer Abbau stattfindet als bei Belastungen über 0,04 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$. Ebenso wurde ab Tag 106 (Schlammbelastung an Tag 106: 0,06 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$) eine verstärkte Schaumbildung im biologischen System beobachtet, die an Tag 113 in einem starken Überschäumen der gesamten Anlage gipfelte. Da die großtechnische Anlage zum gleichen Zeitpunkt keine übermäßige Schaumbildung aufzeigte, deutet dies darauf hin, dass dies nicht auf schaumbildende Abwasserinhaltsstoffe zurückzuführen ist. Eine interne Quelle für Schaumbildung kann auch die Bildung von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) sein, die

die Organismen unter anderem als Stressreaktion ausschütten können (SHENG et al., 2010; DI BELLA et TORREGOSSA, 2013), was bedeuten könnte, dass die Pyrazolschlammbelastung hier zu hoch wurde. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Pyrazolschlammbelastung und Abbauleistung lässt sich jedoch nicht feststellen.

Als weiterer Grund für den Einbruch der Abbauleistung kommt auch die Veränderung der Abwassermatrix in Frage. Ab Tag 121 wurde die Zulaufsituation so verändert, dass der Pyrazol-Biologiestufe und somit auch der Versuchsanlage nur noch reines Prozessabwasser und keine Abwässer aus Stapelbecken mehr zugeführt wurden (Kapitel 3.3). Eine solche Veränderung der Abwassermatrix und der damit verbundene Wegfall von Ionen und/oder unbekanntem Co-Substraten können ebenfalls eine Auswirkung haben.

Während des Versuchs wurden nicht nur der Abbau von Pyrazol untersucht, sondern auch die relevanten Stickstoffkomponenten Ammonium, Nitrit und Nitrat. Der Verlauf von Ammonium-Stickstoff und Nitrat-Stickstoff ist in Abbildung 6-2 dargestellt. Die Ammonium-Stickstoffkonzentration im Zulauf bewegte sich vergleichsweise gleichmäßig. Während im Zulauf jedoch kein Nitrat nachzuweisen war, stieg die Nitrat-Stickstoffkonzentration im Ablauf innerhalb von 18 Tagen von 0,2 auf 296 mg/L und bewegte sich dann bis Tag 90 auf einem Niveau von 186 bis 447 mg/L. Ab Tag 91 sank die Nitrat-Stickstoffkonzentration im Ablauf innerhalb von 15 Tagen auf 0,66 mg/L. Die Ammonium-Stickstoffkonzentration bewegte sich passend dazu: Während die hohen Nitratkonzentrationen im Ablauf nachgewiesen werden konnten, wurde nur wenig Ammonium gefunden. Ab dem Zeitpunkt, wo die Nitratkonzentrationen sanken, stiegen die Ammoniumkonzentrationen. Dies spricht eindeutig für eine Nitrifikation. Die Gründe für dieses Verhalten sind dem Pyrazol (Abbildung 6-1b) zuzuschreiben. In dem Zeitraum, in dem Nitrat in hohen Konzentrationen nachgewiesen wurde, lag die Pyrazolkonzentration unter der Bestimmungsgrenze von 20 mg/L. Die Grenze für eine 50-prozentige Hemmung (IC_{50}) der Nitrifikation durch Pyrazol liegt bei 2,6 - 2,7 mg/L (DENECKE et al., 2017; LI et al., 2020), was darauf hindeutet, dass das Pyrazol hier bis auf weniger als 2,6 mg/L abgebaut wurde. Der Einbruch der Nitrifikation ist demnach mit hoher Wahrscheinlichkeit durch eine steigende Pyrazolkonzentration zu begründen. Diese lässt sich jedoch nicht genau festlegen, da auch mit einer Optimierung der Pyrazolbestimmung ab Tag 105, die Bestimmungsgrenze bei 5 mg/L lag. Im weiteren Verlauf des Versuchs blieb die Pyrazolkonzentration deutlich über der Bestimmungsgrenze, sodass keine Nitrifikation mehr stattfand. Hervorzuheben ist aber, dass sich die Nitrifikation in diesem Versuch eingestellt hat, nachdem die Pyrazolkonzentration ausreichend tief gesunken war. Dies deutet darauf hin, dass die Hemmung der Nitrifikation

durch Pyrazol reversibel ist. PAGGA et al. (2006) formulierten ebenfalls die Erkenntnis, dass die Nitrifikation bei ausbleibender Pyrazoldosierung wieder einsetzt.

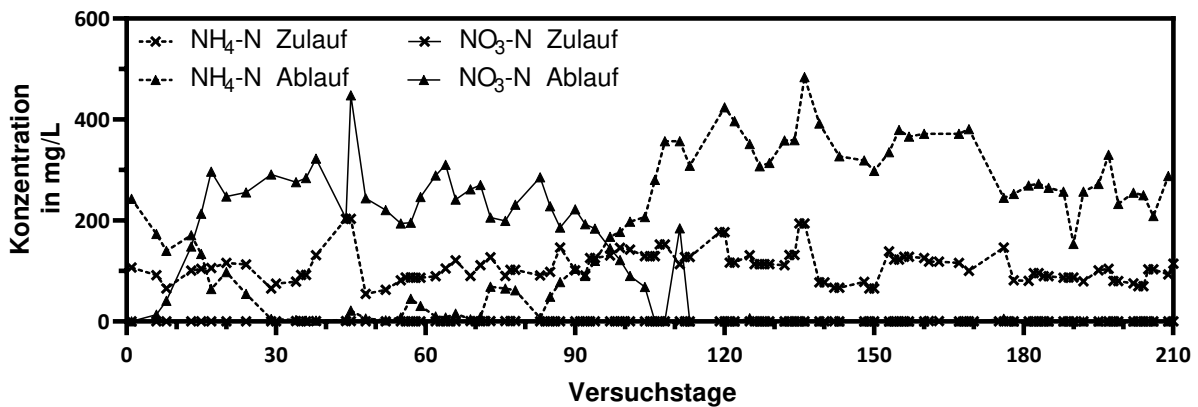


Abbildung 6-2: Verlauf von Ammonium-Stickstoff und Nitrat-Stickstoff in Zu- und Ablauf vom ersten halbtechnischen Versuch

Fazit für den ersten großtechnischen Versuch:

Die Erprobung der Membrantechnologie als Fest-Flüssig-Trennverfahren ist nicht Gegenstand dieser Arbeit, war jedoch für die betriebliche Seite des Projektpartners von großem Interesse. An dieser Stelle soll jedoch gesagt sein, dass die Membrantechnologie in der Industriekläranlage funktioniert und viele Vorteile bieten kann. Neben diesen Erkenntnissen konnten durch diesen Versuch mehrere Aussagen gemacht werden:

- Die hydraulische Verweilzeit ist kein primärer, ausschlaggebender Faktor. Ein biologischer Pyrazolabbau ist bei ca. 20 h immer noch möglich und eine höhere Verweilzeit garantiert keinen Pyrazolabbau.
- Die Pyrazolschlammbelastung könnte eine ausschlaggebende Wirkung haben. Tendenziell ließ sich ein besserer Abbau bei einer Belastung von weniger als $0,04 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ beobachten.
- Die Abwassermatrix könnte eine ausschlaggebende Wirkung haben. Eventuell vorhandene Ionen und/oder nicht näher bekannte Co-Substrate könnten für den Pyrazolabbau von essenzieller Bedeutung sein.
- Bei ausreichendem biologischen Pyrazolabbau ist eine Nitrifikation möglich.

6.1.2. Sequencing-Batch Versuch

Ziel des Sequencing-Batch-Versuchs war, herauszufinden, ob bestimmte Kationen einen Einfluss auf den biologischen Pyrazolabbau haben. Zu diesem Zweck wurden drei verschiedene Versuche angesetzt. Alle Versuche wurden mit Belebtschlamm aus einer großen Probe bestückt. Diese Probe wurde am 15. März 2019 aus der Pyrazol-Biologiestufe entnommen. Zu diesem Zeitpunkt herrschte in der Kläranlage ein stark schwankender Pyrazolabbau von 20 % bis 90 %. Ein Batch wurde mit unverändertem, realen ACN-Abwasser betrieben, einer mit ACN-Abwasser mit Methanolzusatz (externe Kohlenstoff-Quelle) und einer mit ACN-Abwasser mit zusätzlicher Nährsalzlösung. Über einen Versuchszeitraum von 18 Tagen wurde an jedem Werktag von jedem Batch ein festes Volumen entnommen und durch das gleiche Volumen ACN-Abwasser, das aus einer großen Probe stammte, wieder ersetzt. Abbildung 6-3a zeigt den Verlauf der Pyrazolkonzentrationen in den abgenommenen Volumina. Der stufenartige Verlauf ergibt sich durch die Sequencing-Batch Fahrweise: Es wurde zum Startzeitpunkt eine Probe aus dem fertig angesetzten Batch entnommen, der nächste Messpunkt stellt die Konzentration im abgenommenen Überstand am folgenden Messtag dar, der darauffolgende Punkt die Konzentration im Batch nach Zugabe des frischen Abwasservolumens. Es ist ersichtlich, dass bereits über das erste Wochenende in allen Batches ein Abbau von Pyrazol stattfand, jedoch unterschiedlich stark: Während der Batch mit zusätzlicher Kohlenstoff-Quelle eine minimal höhere Pyrazolkonzentration, also einen schlechteren Abbau, als der Batch mit dem reinen ACN-Abwasser aufwies, war die Konzentration im Batch mit der Kationenlösung bis unter die Nachweisgrenze von 5 mg/L gesunken. Im weiteren Verlauf stieg die Pyrazolkonzentration in allen abgenommenen Volumina stetig an, wobei besonders auffällig wird, dass über das zweite Wochenende im Batch mit Kationenzusatz ein starker Abbau stattfand, während in den anderen Batches keine Veränderungen stattfanden. Für Abbildung 6-3b wurde errechnet, wieviel Pyrazol im gesamten Batch zwischen zwei Messpunkten abgebaut wurde. Bei mehr als einem Tag zwischen den Messungen wurde der Abbau auf die verstrichene Zeit verteilt, um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Der Verlauf dieser täglichen Abbauleistung zeigt, dass der Batch mit Kationenzugabe am leistungsfähigsten war. Diese blieb jedoch nicht konstant hoch, sondern sank ab Tag 10, bis ab Tag 14 kein Pyrazol mehr abgebaut wurde. Die Gründe hierfür konnten nicht eindeutig geklärt werden. Die Schlammbelastung war, wie im Folgenden erläutert wird, unauffällig und auch waren keine technischen Probleme in der Versuchsdurchführung aufgetreten.

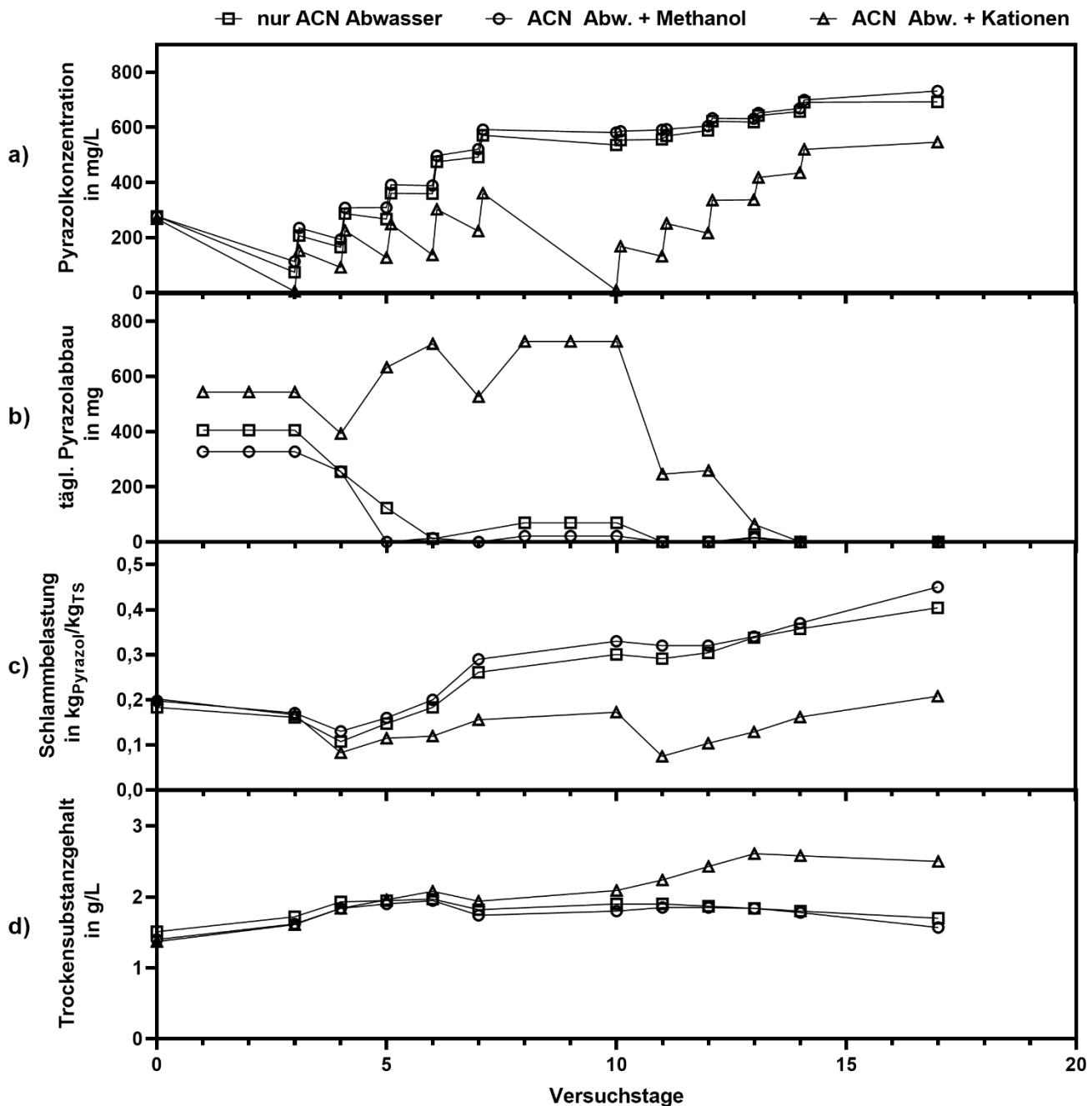


Abbildung 6-3: Verlauf des Sequencing-Batch Tests

- a) Verlauf der Pyrazolkonzentrationen in den täglich abgenommenen Volumina sowie im zugegebenen Abwasservolumen. Im Batch mit ACN+Kationen ergibt sich durch die Zugabe der Kationenlösung ein minimaler Verdünnungseffekt, für eine direkte Vergleichbarkeit ist dies hier korrigiert worden
- b) Verlauf der täglichen Abbauleistung
- c) Verlauf der Schlammbelastung
- d) Verlauf des Trockensubstanzgehaltes

Aus der Pyrazolmenge, die nach Abnahme des Volumens verblieb und der neu zugegebenen Menge Pyrazol ergibt sich eine Pyrazolschlammbelastung. Diese ist in Abbildung 6-3c dargestellt. Alle Batches starteten mit nahezu gleichen Belastungen von 0,18 bis 0,2 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}, aufgrund der unterschiedlichen Abbauleistungen kam es bereits nach vier Tagen zu unterschiedlichen

Trends in den Schlammbelastungen: Während die Belastungen im Batch mit reinem Abwasser und mit Methanol-Zugabe aufgrund mangelnden Abbaus bis auf max. 0,4 bzw. 0,45 kg_{Pyrazol}/kg_{TS} stiegen, blieb die Belastung im Batch mit Kationen-Zugabe auf einem niedrigeren Niveau (max. 0,2 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}). Obwohl in diesem Batch die Belastung nicht höher ist als zum Startzeitpunkt, sank die Abbauleistung dieses Batches ab Tag 11 rapide. Es ist zu beachten, dass die Sequencing-Batch Fahrweise des Versuchs einen schwallartigen Austausch von gereinigtem Abwasser und neuzugegebenem Abwasser bedingte. Dadurch ergab sich eine Schlammbelastungssituation, die mit der eines kontinuierlich durchströmten Systems nur bedingt vergleichbar ist.

Abbildung 6-3d zeigt den Verlauf des Trockensubstanzgehaltes. In allen Batches war der Verlauf des TS-Gehaltes über die ersten sechs Tage leicht steigend. In dem Batch mit Methanolzusatz und dem Batch ohne Zusätze blieb der TS-Gehalt danach stabil um 1,9 g/L. Im Batch mit Kationenzugabe stieg der TS-Gehalt über den Versuchszeitraum bis auf ein Maximum von 2,6 g/L an Tag 13.

Abbildung 6-4 zeigt wie viel Pyrazol über den gesamten Versuchszeitraum abgebaut wurde. Es wird deutlich, dass die Zugabe einer Kationenlösung einen positiven Effekt auf den Pyrazolabbau hat. Ebenso wird deutlich, dass die Zugabe von Methanol als zusätzliche Kohlenstoffquelle dem Pyrazolabbau nicht zuträglich ist, sondern den gegenteiligen Effekt hat. Dass die Abbauleistung des Batches mit Kationenzugabe zum Ende des Versuchs aus nicht eindeutig geklärten Gründen abfiel, zeigt jedoch auch, dass eine Kationenverfügbarkeit alleine keinen zuverlässigen Abbau garantiert.

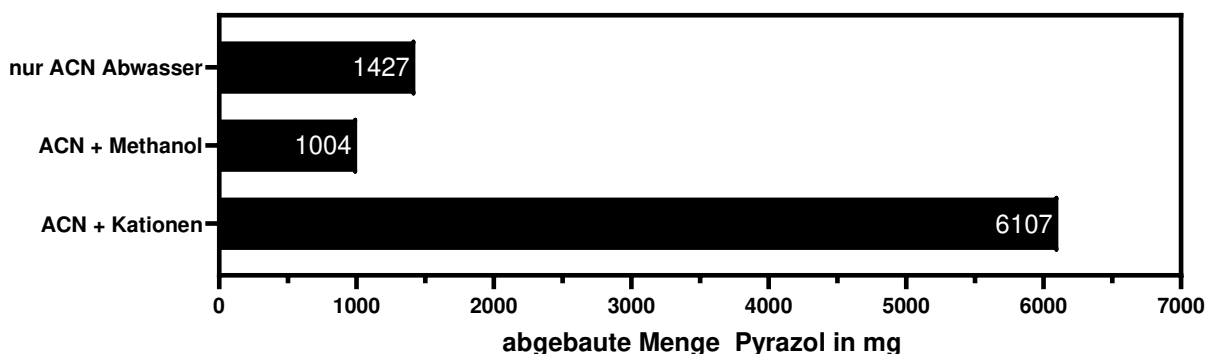


Abbildung 6-4: Gesamte abgebaute Menge Pyrazol im Sequencing-Batch Versuch

Die Sequencing-Batchversuche haben gezeigt, dass die Abwassermatrix einen deutlichen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit eines Belebtschlammes hat, der in der Lage ist, Pyrazol abzubauen. Die

Zugabe einer Nährstofflösung aus Magnesium, Calcium, Natrium und Kalium hat einen positiven Effekt auf den biologischen Pyrazolabbau und das Schlammwachstum, jedoch garantiert die Verfügbarkeit dieser Elemente keinen zuverlässigen Abbau. Dies zeigt, dass es weitere wichtige Einflussgrößen auf den biologischen Pyrazolabbau gibt. Die detaillierte Betrachtung und Diskussion dieser Erkenntnis erfolgen in der Auswertung des Laborversuchs in Kapitel 6.1.4. Der Versuch hat ebenfalls gezeigt, dass Methanol als zusätzliche Kohlenstoffquelle einen negativen Effekt auf den Pyrazolabbau hat. Die detaillierte Betrachtung und Diskussion vom Einfluss zusätzlicher Kohlenstoffquellen erfolgt in der Auswertung des Laborversuchs in Kapitel 6.1.3. Sequencing-Batch Versuche sind einfach und unkompliziert aufzusetzen und durchzuführen, sie spiegeln jedoch nicht die Bedingungen einer kontinuierlich beschickten Biologiestufe wider. Daher wurden in der Folge kontinuierlich beschickte Laborversuche durchgeführt.

Fazit für den Sequencing-Batchversuch:

- Die Zugabe einer Nährstofflösung aus Magnesium, Calcium, Natrium und Kalium fördert den biologischen Pyrazolabbau.
- Die Verfügbarkeit der Elemente allein garantiert keinen Pyrazolabbau.
- Eine Zugabe von Methanol verringert den biologischen Pyrazolabbau.

6.1.3. Kontinuierlich beschickter Versuch 1

Ziel des kontinuierlich beschickten Versuchs war es, die Erkenntnisse aus den Sequencing-Batch Versuchen auf eine komplexere und realitätsnähere kontinuierlich beschickte Versuchsanlage zu übertragen und zu bestätigen, um so die Limitationen der Sequencing-Batch Fahrweise zu überwinden. Für die Versuchsanlage wurde am 07. November 2019 eine Belebtschlammprobe aus der Pyrazol-Biologiestufe entnommen. Zu diesem Zeitpunkt fand dort seit gut 7 Monaten kein biologischer Pyrazolabbau mehr statt. Der Versuch mit 9 Phasen erstreckte sich über insgesamt 375 Tage. Abbildung 6-5 zeigt die Ergebnisse des Versuchs. DOC und anorganische Stickstoffverbindungen wurden in diesem Versuch nur für ausgewählte Zeiträume kontrolliert und sind entsprechend gesondert grafisch dargestellt.

Phase 1:

Wie in Kapitel 5.2.3 beschrieben, wurde der Versuch zunächst mit einem synthetischen Abwasser beschickt. Ziel war es zunächst zu prüfen, ob der biologische Pyrazolabbau aus dem Belebtschlamm überhaupt wiederhergestellt werden konnte. Dazu wurde durch das synthetische Abwasser eine möglichst geringe Pyrazolschlammbelastung etabliert und der Versuch konnte unabhängig von Einflüssen durch Betriebszustände der Produktionsbetriebe durchgeführt werden.

Wie in Abbildung 6-5a dargestellt, bewegte sich der Trockensubstanzgehalt in dieser Versuchsphase zwischen 3,6 g/L und 6,4 g/L mit einer steigenden Tendenz. Die Pyrazolkonzentration (Abbildung 6-5b und Tabelle 6-1) bewegte sich im Zulauf konstant auf einem niedrigen Niveau um 20 mg/L. Der Ablauf zeigte einen geringfügig niedrigeren Wert um 13 mg/L auf. Die Differenz könnte auf einen schnell einsetzenden biologischen Pyrazolabbau hindeuten. Da schwerabbaubare Verbindungen vom Belebtschlamm jedoch auch lediglich adsorbiert werden können, ohne dass ein Abbau stattfindet (ZHAO et al., 2018; GULNAZ et al., 2004), kann diese geringe Differenz zumindest teilweise auch auf eine Adsorption am wachsenden Belebtschlamm zurückzuführen sein. Die Schlammbelastung (Abbildung 6-5d und Tabelle 6-1) bewegte sich durchgehend auf einem sehr niedrigen Niveau um $0,0014 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$.

Da sich in dieser Phase ein Wachstum der Biomasse und eine Tendenz zur Verringerung der Pyrazolkonzentration zeigte, wurde nach 33 Tagen beschlossen, die nächste Versuchsphase einzuleiten und das synthetische Abwasser nun mit originalem ACN-Abwasser zu versetzen.

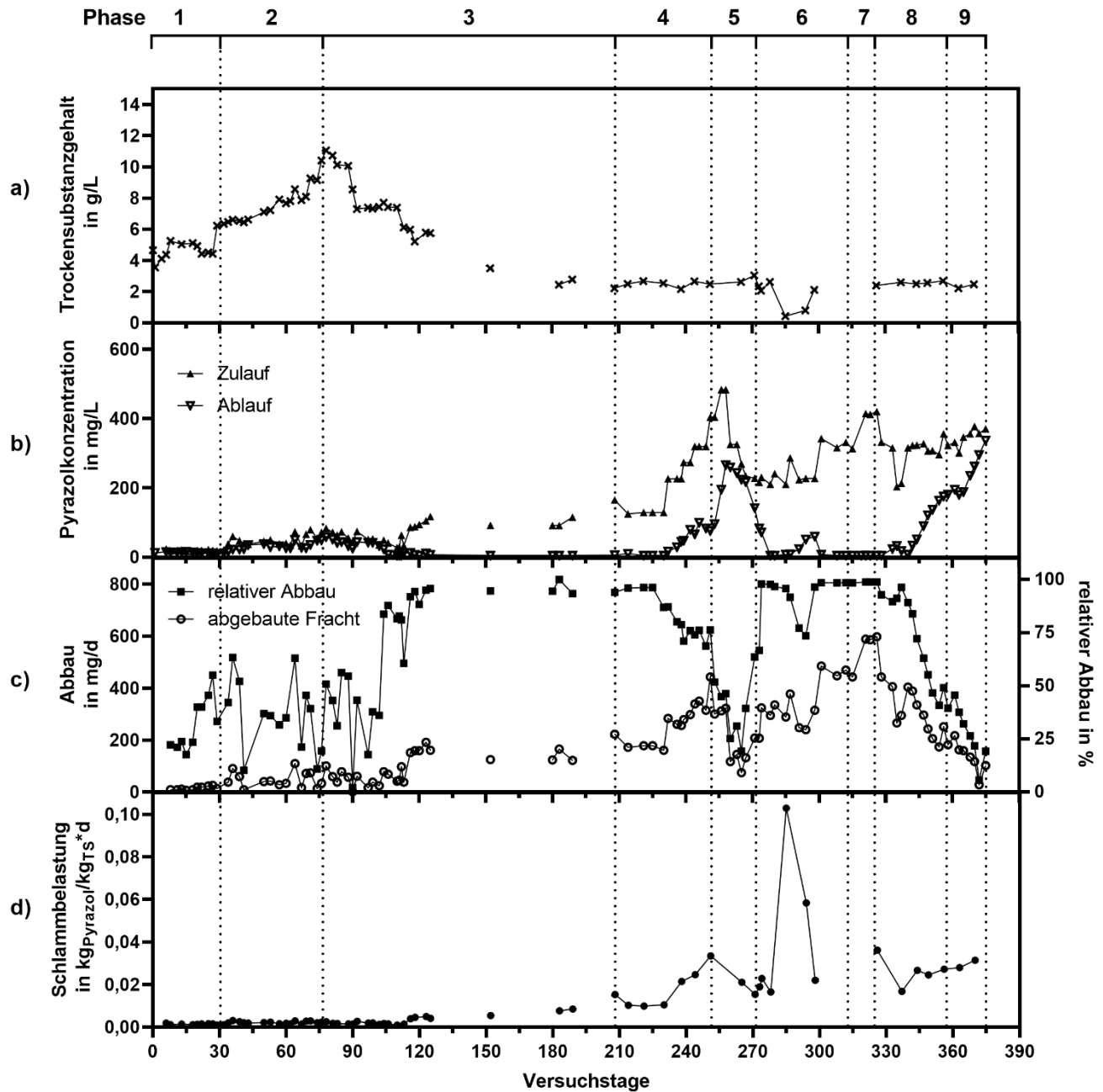


Abbildung 6-5: Ergebnisse des ersten kontinuierlich beschickten Versuchs

- a) Trockensubstanzgehalt
 b) Pyrazolkonzentration
 c) absoluter und relativer Pyrazolabbau
 d) Pyrazol Schlammbelastung

- Phase 1: Synthetisches Abwasser
 Phase 2: Zusatz von ACN-Abwasser, Vor-Ozonisiert
 Phase 3: Verzicht auf zusätzliche C-Quelle, Erhöhung der Verweilzeit
 Tag 125-208: pandemiebedingter Minimalbetrieb
 Phase 4: VE-Wasser statt Leitungswasser als Verdünnungsmedium
 Phase 5: Zugabe Magnesium und Natrium über VZ-Abwasser
 Phase 6: Zurückstellung auf Leitungswasser ohne Zusätze
 Phase 7: Verzicht auf Vor-Ozonisierung
 Phase 8: VE-Wasser statt Leitungswasser als Verdünnungsmedium
 Phase 9: Zugabe Magnesium und Natrium über VZ-Abwasser

Tabelle 6-1: Ergebnisse aus Phase 1

		Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit		d	2,9	2,9	2,9
Pyrazol	Zulauf	mg/L	17	24	19,75
	Ablauf	mg/L	9	16	13,15
DOC	Zulauf	mg/L	1432	2424	1708
	Ablauf	mg/L	42	528	129,26
Pyrazolschlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,001	0,0019	0,0014

Phase 2:

In Phase 2 wurde dem synthetischen Abwasser originales ACN-Abwasser zugesetzt, welches vorher ozonisiert wurde. Die Vor-Ozonisierung des ACN-Abwassers sollte dazu dienen, eventuell vorhandene unbekannte Hemmstoffe zu reduzieren und die Ringstruktur des Pyrazols durch eine ungezielte Oxidation auf den biologischen Abbau vorzubereiten.

In den 47 Tagen der Phase 2 stieg der TS-Gehalt von 6,4 g/L auf 10,7 g/L an (Abbildung 6-5a). Das starke Schlammwachstum lässt sich durch die hohe Verfügbarkeit leicht abbaubarer Kohlenstoffe sowie die Adaptierung der Biozönose des Belebtschlammes an die Versuchsbedingungen während Phase 1 erklären. Durch die Zugabe von ACN-Abwasser erhöhte sich die Pyrazolkonzentration im Zulauf deutlich (Tabelle 6-2). Gleichzeitig ließ sich auch eine weiter fortschreitende Reduzierung des Pyrazols beobachten. Abbildung 6-5c zeigt diesen Verlauf. Im Vergleich zu Phase 1 schwankte der relative Abbau deutlich stärker, insgesamt wurde jedoch mehr Pyrazol abgebaut. Aufgrund des stark steigenden Biomassegehaltes besteht jedoch auch die für Phase 1 diskutierte Möglichkeit, dass Pyrazol zumindest zum Teil lediglich am Belebtschlamm adsorbiert wurde.

Aufgrund der hohen DOC-Gehalte und des stark gewachsenen Belebtschlammes wurde beschlossen, für die folgende Phase die zusätzlichen Kohlenstoffverbindungen in Form von Methanol und Salzglykol wegzulassen und zusätzlich die hydraulische Verweilzeit zu erhöhen, um den Schlamm so in einen Hungerzustand zu bringen. Durch diesen Selektionsdruck sollten die Pyrazol-abbauenden Organismen gezwungen werden, die Verbindung in ihrem Stoffwechsel zu nutzen, um sich so einen Vorteil gegenüber den anderen Organismen der Biozönose zu verschaffen.

Tabelle 6-2: Ergebnisse aus Phase 2

	Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit	d	2,9	2,9	2,9
Pyrazol Zulauf	mg/L	33	83	52,4
Pyrazol Ablauf	mg/L	15	58	33
DOC Zulauf	mg/L	1428	1668	1567
DOC Ablauf	mg/L	66	153	96,5
Pyrazolschlammbelastung	kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,0014	0,0031	0,0022

Phase 3:

Phase 3 erstreckte sich über 127 Tage. Aufgrund pandemiebedingter betrieblicher und technischer Einschränkungen konnte von Tag 125 bis Tag 208 nur ein Minimum an Analysen erfolgen. Mit Beginn von Phase 3 wurde die Verweilzeit zunächst auf 3,7 d und in einem zweiten Schritt ab Tag 125 weiter auf 4,8 d angehoben. Weiterhin wurden ab Tag 95 die zusätzlichen leichtabbaubaren Kohlenstoffquellen Methanol und Salzglykol und die Stickstoffquelle Ammoniumchlorid nicht mehr zugegeben, dafür wurde der Anteil an vor-ozonisiertem ACN-Abwasser erhöht (vgl. Tabelle 5-6). Abbildung 6-6 zeigt die deutliche DOC-Verringerung im Zulauf mit Umstellung des Zulaufgemischs.

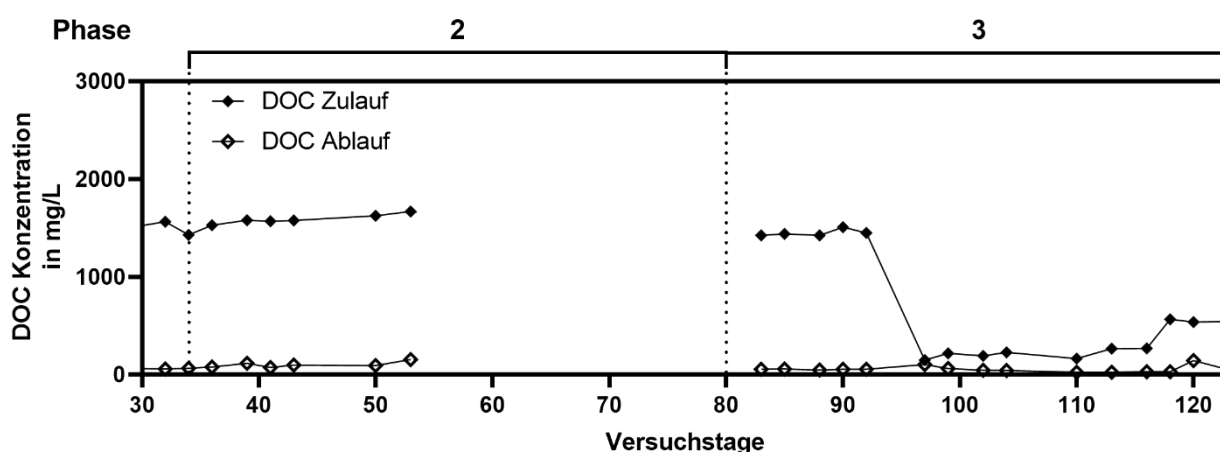


Abbildung 6-6: Vergleich der DOC Konzentrationen zwischen Phase 2 und dem Anfang der Phase 3

Da die Zulaufmischung ab Tag 95 nur noch aus verdünntem ACN-Abwasser und Phosphorsäure bestand, schwankte der Pyrazolgehalt produktionsanlagenbedingt stärker und war im Mittel höher (Tabelle 6-3) als in der vorangegangenen Phase. Ab Tag 102 lässt sich ein verstärkter Pyrazolabbau beobachten (Abbildung 6-5b und höher aufgelöst in Abbildung 6-7): Trotz steigender Tendenz der Pyrazolkonzentration im Zulauf sank die Konzentration im Ablauf bis unter die Nachweisgrenze von 5 mg/L. Dies entspricht einem Abbau von bis zu 223 mg/d bzw. über 90 % (Abbildung 6-5c). Gleichzeitig sank der TS-Gehalt in diesem Versuch aufgrund des Hungerzustandes von 10,7 g/L auf 2,5 g/L (Abbildung 6-5a). Es wurde kein Überschussschlamm abgezogen. Eine Pyrazolelimination durch Adsorption am Belebtschlamm lässt sich daher ausschließen.

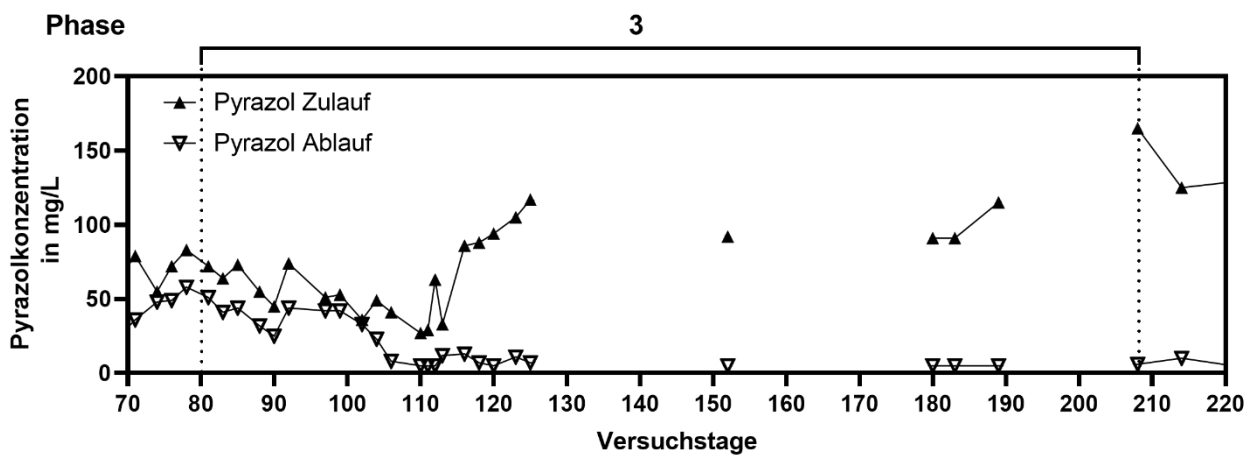


Abbildung 6-7: Verlauf der Pyrazolkonzentrationen in Phase 3

Ziel dieser Versuchsphase war es, die Organismen über eine starke Reduzierung der Kohlenstoffverfügbarkeit dazu zu zwingen, Pyrazol im Stoffwechsel zu nutzen oder den Organismen, denen es möglich ist, Pyrazol zu nutzen, einen selektiven Vorteil zu schaffen. Der Verlauf der Abbauleistung zeigt, dass dieser Ansatz funktioniert und bestätigt die Erkenntnis aus den vorangegangenen Batchversuchen, dass hohe Kohlenstoffverfügbarkeiten dem Pyrazolabbau nicht zuträglich sind.

Tabelle 6-3: Ergebnisse aus Phase 3

		Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit		d	3,7	4,8	3,9
Pyrazol	Zulauf	mg/L	27	117	68,5
	Ablauf	mg/L	5	51	20,4
DOC	Zulauf	mg/L	149	1508	691,3
	Ablauf	mg/L	24	144	54,7
Pyrazolschlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,001	0,0085	0,0031

Phase 4:

In Phase 4 wurde das Verdünnungsmedium verändert: Anstelle von Leitungswasser wurde VE-Wasser genutzt. Aufgrund des sehr niedrigen Kationengehaltes des ACN-Abwassers (siehe Tabelle 3-3) sollte der Versuch so weiter an realitätsnähere Versuchsbedingungen gerückt werden. Ziel war es, zu ermitteln, ob ein Fehlen von Kationen einen negativen Einfluss auf den biologischen Pyrazolabbau hat.

Die Phase erstreckte sich über 43 Tage. Der TS-Gehalt bewegte sich in dieser Zeit stabil zwischen 2,2 und 2,7 g/L (Abbildung 6-5a). Betriebsbedingt kam es zu einer Erhöhung des Pyrazolgehaltes im ACN-Abwasser. Da das Verdünnungsverhältnis des Zulaufgemischs nicht verändert wurde (Tabelle 5-6), stieg die Konzentration auch im Zulauf des Versuchs (Abbildung 6-5b) bis auf 319 mg/L (Tabelle 6-4). Dadurch bedingte sich ebenfalls eine Steigerung der Schlammbelastung auf bis zu 0,0247 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d. 12 Tage (Versuchstag 230) nach Einstellung dieser Phase ließ sich eine Veränderung der relativen Abbauleistung beobachten. Von 96 % an Tag 225, sank die Abbauleistung ab Tag 230 auf ein Minimum von 69 % an Tag 249 (Abbildung 6-5c). Als Ursache für diesen Rückgang kommen zwei Faktoren in Frage: Zum einen die gewollte Veränderung der Abwassermatrix durch Verdünnung mit VE-Wasser, zum anderen die erhöhte Schlammbelastung durch die steigende Pyrazolkonzentration im Zulaufgemisch. Da die hydraulische Verweilzeit mit 4,9 d sehr hoch war, brauchte es Zeit, bis die Kationen aus der vorhergegangenen Versuchsphase vollständig aus dem System gewaschen wurden. Andererseits stieg die maximale Schlammbelastung in dieser Phase auch um das 2,9-fache im Vergleich zur vorherigen Phase (vgl. Tabelle 6-4 und Tabelle 6-3). Obwohl die maximale Schlammbelastung von 0,0247 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d im Vergleich zu den Belastungen aus dem halbertechnischen Versuch (Abbildung 6-1d) immer noch

niedrig ist, ist nicht auszuschließen, dass diese Verdreifachung der Schlammbelastung in vergleichsweise kurzer Zeit einen Effekt auf den biologischen Pyrazolabbau hatte.

In Phase 4 wurde somit eine Verringerung des Pyrazolabbaus herbeigeführt, jedoch lässt sich nicht eindeutig festlegen, ob dies durch einen Mangel von Kationen oder durch die Erhöhung der Schlammbelastung hergeführt wurde.

Tabelle 6-4: Ergebnisse aus Phase 4

	Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit	d	4,9	4,9	4,86
Pyrazol	Zulauf	125	319	219,9
	Ablauf	5	100	38,31
DOC	Zulauf	-	-	-
	Ablauf	-	-	-
Pyrazolschlammbelastung	kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,0099	0,0247	0,0154

Phase 5:

In Phase 5 wurde dem Zulaufgemisch eine geringe Menge eines Abwassers mit hohem Gehalt an Magnesium und Natrium beigemischt. Ziel war es, zu ermitteln, ob durch Verschneiden verschiedener Abwässer eine optimale Abwassermatrix gefunden werden kann. Während Phase 5 kam es zu technisch bedingten Verzögerungen in der Analytik, weswegen die Phase vorzeitig abgebrochen wurde (siehe auch Kapitel 5.2.3).

Die fünfte Versuchsphase dauerte 23 Tage. In dieser Zeit kam es zu keinen nennenswerten Veränderungen im TS-Gehalt (Abbildung 6-5a). Jedoch stieg die Pyrazolkonzentration im Zulaufgemisch zunächst weiter bis auf ein Maximum von 483 mg/L an den Tagen 256 bis 258 an und sank im Anschluss wieder (Abbildung 6-5b). Damit einhergehend stieg auch die Pyrazolschlammbelastung zunächst weiter an (siehe auch Tabelle 6-5). Der Pyrazolabbau sank auf ein Minimum von 19 % ab. Ab Tag 267 stieg der Pyrazolabbau jedoch wieder an. Bemerkenswert ist dabei, dass diese Veränderung – ähnlich wie in der vorherigen Phase – etwa zwei Wochen nach Einstellung der Veränderung eintrat. Der Abbau stieg in der Folge wieder bis auf 66 % an Tag 273 an. Da die Pyrazolschlammbelastung sich zu diesem Zeitpunkt auf einem ähnlich hohen Niveau wie in der vorher gegangenen Phase befand, kommt jedoch auch dieser Faktor wieder als möglicher Einfluss in Betracht.

Da die Phase 5 aufgrund der Verzögerungen in der Analytik „blind“ betrieben wurde, wurde sie vorzeitig beendet. Eine eindeutige Aussage zu einem positiven Effekt durch ein Verschneiden von Abwässern lässt sich hier nicht treffen.

Tabelle 6-5: Ergebnisse aus Phase 5

		Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit		d	4,9	4,9	4,9
Pyrazol	Zulauf	mg/L	216	483	337,1
	Ablauf	mg/L	76	266	180,1
DOC	Zulauf	mg/L	-	-	-
	Ablauf	mg/L	-	-	-
Pyrazolschlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,0154	0,0335	0,0362

Phase 6:

In Phase 6 (35 Tage) wurde der Versuch auf die Einstellungen von Phase 3 zurückgestellt. Nach Umstellung auf Leitungswasser als Verdünnungsmittel setzte sich der zum Ende von Phase 5 einstellende Aufwärtstrend im Pyrazolabbau fort. Wie in Abbildung 6-5a zu sehen, sank der TS-Gehalt an Tag 285 auf 0,4 g/L ab. Dies ist auf einen Defekt der Rücklaufschlammpumpe zurückzuführen. Aufgrund der fehlenden Rückführung des Belebtschlammes akkumulierte sich dieser im Nachklärbehälter. Der Defekt wurde an Tag 294 bemerkt und behoben. Der TS-Gehalt stieg in der Folge wieder auf das vorhergehende Niveau von ca. 2,4 g/L an. Damit einhergehend kam es zu einer Spitze in der Schlammbelastung (0,1029 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d; Tabelle 6-6) im Belebungsbehälter. Leicht zeitversetzt sank der Pyrazolabbau in der Folge dieses Ereignisses. Von Tag 287 bis 294 sank der Abbau von >95 % auf 73,5% ab und stieg nach Behebung der Pumpenstörung wieder auf >95% an (Tag 298).

Das Ereignis unterstreicht die Bedeutung der Schlammbelastung auf die Abbauleistung.

Tabelle 6-6: Ergebnisse aus Phase 6

		Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit		d	4,9	4,9	4,9
Pyrazol	Zulauf	mg/L	210	342	251,2
	Ablauf	mg/L	5	72	24,7
DOC	Zulauf	mg/L	-	-	-
	Ablauf	mg/L	-	-	-
Pyrazolschlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,0165	0,1029	0,0445

Phase 7:

Bevor VE-Wasser wieder als Verdünnungsmittel eingesetzt werden sollte, wurde zunächst die Ozonisierung des ACN-Abwassers ausgelassen. Diese Änderung wurde in Phase 7 eingeführt. Mit 11 Tagen war diese Phase vergleichsweise kurz. Durch das Weglassen der Vor-Ozonisierung und die üblichen betriebsbedingten Schwankungen, stieg die Pyrazolkonzentration in der Folge dieser Umstellung. Da jedoch keine negative Auswirkung auf den hohen Pyrazolabbau beobachtet wurde, wurde die nächste Versuchsphase begonnen. Abgesehen von der Möglichkeit, die Pyrazolkonzentration im Zulauf kontrollieren zu können, hat eine Vor-Ozonisierung des ACN-Abwassers demnach keinen vorteilhaften Effekt. Nitrat wurde in diesem Versuch nur stichprobenartig kontrolliert – während Phase 7 wurde jedoch 93 – 156 mg/L Nitrat-N im Ablauf detektiert, während der Nitratwert im Zulauf zwischen 0,03 und 1 mg/L lag.

Tabelle 6-7: Ergebnisse aus Phase 7

		Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit		d	4,9	4,9	4,9
Pyrazol	Zulauf	mg/L	313	414	367,5
	Ablauf	mg/L	5	5	5
DOC	Zulauf	mg/L	-	-	-
	Ablauf	mg/L	-	-	-
Pyrazolschlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	-	-	-

Eine Analyse des ACN-Abwassers und ein Auszug der regelmäßigen Überwachung des Verdünnungsmediums (Leitungswasser) aus diesem Zeitraum sind in Tabelle 6-8 dargestellt. Eine genaue Analyse des ACN-Abwassers und Zulaufmischungen erfolge im folgenden Versuch (Tabelle 6-16).

Tabelle 6-8: Analyse der Einsatzmedien aus Phase 7.

Parameter	Einheit	Probe Leitungswasser	Probe ACN-Abwasser
Natrium	mg/L	10,9	0,4
Kalium	mg/L	1,7	0,04
Magnesium	mg/L	21,2	0,06
Calcium	mg/L	191	0,6

Phase 8:

Da in der vorangegangenen Phase keine Verschlechterung des Pyrazolabbaus eintrat, wurde in dieser Phase das Verdünnungsmittel wieder auf VE-Wasser umgestellt. 7 Tage nach dieser Umstellung, an Tag 333, zeigte sich ein steigender Pyrazolgehalt im Ablauf und eine sinkende Abbauleistung (Abbildung 6-5b und c). Die Pyrazolkonzentration im Ablauf stieg konstant bis zu einem Maximum von 175 mg/L. Für den relativen Abbau bedeutet das, dass er dabei von 98,8 % zu Beginn der Phase (Tag 326) auf ein Minimum von 40,9 % an Tag 354 sank. Die Pyrazolschlammbelastung bewegte sich dabei auf einem Niveau, das – unter Nichtbeachtung des Peaks in Phase 6 – ähnlich der Phase 6 war. Da in Phase 6 ein guter biologischer Pyrazolabbau herrschte, deutet dies darauf hin, dass die Schlammbelastung in Phase 8 nicht der ausschlaggebende Faktor war.

Da das VE-Wasser offenbar einen negativen Effekt auf den biologischen Pyrazolabbau hat, wurde mit Beginn von Phase 9 VZ-Abwasser als Quelle für Kationen zugegeben. Phase 8 streckte sich über 32 Tage.

Tabelle 6-9: Ergebnisse aus Phase 8

		Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit		d	4,9	4,9	4,9
Pyrazol	Zulauf	mg/L	208	420	310,4
	Ablauf	mg/L	5	175	66,6
DOC	Zulauf	mg/L	425,7	970,7	658,8
	Ablauf	mg/L	20,2	147,7	76,69
Pyrazolschlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,0169	0,0362	0,0263

Phase 9:

In Phase 9 setzte sich der Negativtrend aus Phase 8 weiter fort: die Pyrazolkonzentration im Ablauf stieg, bis sie an Tag 375 das Maximum von 337 mg/L erreichte. Dies entsprach einem relativen Abbau von 5 % (Abbildung 6-5b und c).

Da die Zugabe von VZ-Abwasser allein in den 19 Tagen der Phase 9 offenbar keinen positiven Effekt zeigte, wurde der Versuch beendet. In der folgenden Versuchsreihe (Kapitel 6.1.4) sollte als weiterer Nährstoff Kalium in Form von Kaliumphosphat zugegeben werden. Im Vergleich zu Natrium und Magnesium enthielt das VZ-Abwasser nur geringe Mengen Kalium. Da Kalium ein Bestandteil von essenziellen Zellfunktionen wie der ATP-Synthese durch die Natrium-Kalium-ATPase ist, könnte ein Mangel dazu beitragen, dass die Pyrazol-abbauenden Organismen keine optimalen Wachstumsbedingungen vorfanden.

Tabelle 6-10: Ergebnisse aus Phase 9

		Einheit	Min.	Max.	Mittel
Hydraulische Verweilzeit		d	4,9	4,9	4,9
Pyrazol	Zulauf	mg/L	301	377	345
	Ablauf	mg/L	180	337	234,1
DOC	Zulauf	mg/L	690	908	797,1
	Ablauf	mg/L	134,7	242,9	184,04
Pyrazolschlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,0208	0,0314	- (n=2)

Die Phasen 1 bis 3 zeigen deutlich, dass eine hohe Kohlenstoffverfügbarkeit den biologischen Pyrazolabbau beschränken und bestätigt die Erkenntnis aus den vorhergehenden Batchversuchen. Mit der Reduktion der DOC-Konzentration und Einführung von Hungerphasen durch Erhöhung der hydraulischen Verweilzeit konnte eine deutliche Steigerung des biologischen Pyrazolabbaus erreicht werden. Dabei ist jedoch auch wichtig hervorzuheben, dass die eingeführten Änderungen keinen umgehenden Effekt zeigten, sondern mit mehreren Tagen Verzögerung eintraten. Zum einen ist dies auf die hohen hydraulischen Verweilzeiten zurückzuführen, zum anderen bedeutet dies jedoch auch, dass der Anpassungsprozess des Belebtschlammes langsam ist. Zu erklären wäre dieser langsame Prozess durch eine Veränderung der Biozönose: Schnell wachsende Organismen, die leichtverfügbaren Kohlenstoff aber kein Pyrazol nutzen können, belegen Ressourcen wie weitere Nährstoffe, Sauerstoff oder Platz, sodass die langsam wachsenden Spezialisten im Hintergrund bleiben. In dem Moment, wo die erstere Gruppe stirbt, gibt sie somit den Organismen, die in der Lage sind, Pyrazol zu verstoffwechseln, den Weg frei. Dass die gesamte Biomasse in Phase 3 stark sinkt, obwohl der biologische Pyrazolabbau steigt, stützt diese These. Abwasserzusammensetzung und Fahrweisen von Kläranlagen haben einen erheblichen Einfluss auf die Entwicklung einer Biozönose von Belebtschlamm (WILÉN et al., 2008). Während es Belege für diese Einflüsse gibt, ist der genaue Prozess der Bildung einer Belebtschlamm-Biozönose noch nicht beschrieben (JIANG et al., 2021). ZHAO et al. (2018) bewiesen beispielsweise, dass Rückstände von Antibiotika einen starken Einfluss auf Zusammensetzung und Biodiversität von Belebtschlämmen haben. Die Betrachtung, wie sich ein Selektionsdruck durch Hungerzustände auf den biologischen Abbau schwerabbaubarer Verbindungen auswirkt, ist jedoch noch nicht gemacht worden. Auch in anderen Studien konnten durch Ausübung eines Selektionsdrucks Belebtschlammcharakteristika verändert werden: SGUANGI et al. (2019) oder EHLERS et TURNER (2013) übten einen Selektionsdruck durch Hungerzustände aus und stellten eine Verbesserung der Bildung von granulearem Belebtschlamm fest, eine genaue Betrachtung der Biozönose auf Spezies-Ebene wurde dabei jedoch nicht gemacht.

Auf der anderen Seite kann das Ausüben eines Selektionsdrucks durch Hungerzustände keinesfalls als allgemeingültige Empfehlung dienen: ZHANG et al. (2019) zeigten, dass die Zugabe von Fruktose, eine leichtverwertbare Kohlenstoffquelle, einen positiven Effekt auf den biologischen Abbau von schwer-abbaubaren Farbstoffen hat. Auch kann die Art der verfügbaren Kohlenstoffquellen signifikanten Einfluss auf die Biozönose und ihre Fähigkeit, refraktäre Verbindungen abzubauen, haben. MERY-ARAYA et al. (2019) fanden heraus, dass beim biologischen Abbau von Pharmazeutika die Zugabe von Glycerol als Kohlenstoffquelle eine

deutlich höhere Biodiversität und Abbauleistung bewirkte als die Zugabe von Acetat. Für das Vorhaben der vorliegenden Arbeit könnte dies bedeuten, dass Methanol und/oder Salzglykol schlicht die falschen Co-Substrate sind und durch Einsatz von Glycerol, Fruktose oder einer anderen Kohlenstoffquelle ein erhöhter biologischer Abbau möglich wäre. HE et al. (2015) bewiesen einen erhöhten biologischen Abbau von Tetrahydrofuran (THF) bei Zugabe von Trehalose im Verhältnis von 10:1 (mol THF : mol Trehalose). Trehalose dient in diesem Fall jedoch nicht als Kohlenstoffquelle, sondern als Biostimulanz. Laut den Autoren verhindert Trehalose Proteindenaturierung, DNA- und Membranschäden und fördert die Produktion von Proteinen (sog. „group-5 soluble di-iron monooxygenases“), die am biologischen THF-Abbau maßgeblich beteiligt sind. Für den effizienten Betrieb einer Kläranlage wäre ein Zukauf dieser Stoffe jedoch nur bedingt tragbar. Daher wird der Fokus auf die Verfügbarkeit anderer Nährstoffe und den Einfluss der Pyrazol-Schlammbelastung gelegt.

Die Phasen 4 und 8 zeigen, dass das Verdünnungsmedium einen deutlichen Einfluss auf die biologische Abbauleistung hat und unterstützen somit die Erkenntnis aus dem vorher gegangenen Batchversuch. Dass Mineralstoffe wie Magnesium, Kalium, Natrium oder Calcium eine essenzielle Rolle in den biochemischen Prozessen von Organismen spielen, steht außer Frage. Die Nutzung von Natrium-Kalium Gradienten entlang einer Membran zur Energieerzeugung liegt allen zellulären Organismen zu Grunde (DIBROVA et al., 2015) aber auch weitere Stoffwechselprozesse in der Zelle unterliegen der Nutzung von Protonengradienten. *Klebsiella pneumoniae* baut beispielsweise einen Natriumgradienten auf, um diesen Gradienten dann für den Import von Citrat in die Zelle zu nutzen (DIMROTH, 1990). Für die Herstellung synthetischer Nährmedien, die auf optimales Zellwachstum abzielen, werden diese Verbindungen daher stets gezielt, z.B. in Form von KH_2PO_4 oder ungezielt in Form von Extrakten, z.B. Hefeextrakt, zugegeben (STEINBÜCHEL et al., 2011). Der durchgeführte Versuch zeigt, dass ein Mangel an Stoffen, die im Leitungswasser enthalten sind und dem VE-Wasser fehlen, eine verringerte Abbauleistung bewirken kann. BURGESS et al. (1999) stellten ebenfalls fest, dass eine Zugabe von verschiedenen Spurenelementen und Mineralstoffen die Abbaubarkeit eines organisch stark belasteten, aber Mineralstoff-armen Einzelstroms aus der chemischen Industrie deutlich verbesserte. Das Anheben der Calciumkonzentration von 0,44 auf 1 mg/L erhöhte den CSB-Abbau um 70 %. Die Einstellung einer Konzentration von jeweils 1 mg/L Aluminium und Mangan bewirkte in der Studie eine Verdreifachung des CSB-Abbaus (Referenz-Konzentration von Aluminium: 0,02 mg/L und Mangan < 1 mg/L). Ebenfalls fanden die Autoren heraus, dass eine Zugabe der Vitamine Niacin, Pyridoxin und Lactoflavin einen stimulierenden Effekt hat.

Natrium und Kalium wurden in jener Studie nicht beachtet. Gerade diese Komponenten könnten jedoch für die Abbaubarkeit von refraktären Komponenten wichtig sein: Bereits 1958 beschrieben MACLEOD et al. anhand einer *Pseudomonas* oder *Spirillum* species, dass Natrium und Kalium von essenzieller Bedeutung für die Oxidation extrazellulärer Substrate sind.

Bei der Abwasserreinigung ist Phosphormangel ein bekannter Grund für schlechte biologische Abbauleistungen. Die Dosierung zusätzlicher Phosphorquellen ist auf Kläranlagen üblich (GRAU, 1991). Ein Mangel von anderen Mineralstoffen ist in vielen Abwässern kein Problem. ARIENZO et al. (2009) verglichen die Natrium- und Kaliumgehalte von kommunalem Abwasser und verschiedenen Produktions- und Verarbeitungsanlagen der Lebensmittelindustrie und zeigten, dass kommunales Abwasser mit 13-20 mg/L Kalium noch am niedrigsten unter den verglichenen Abwasserströmen war. Abwasser aus der chemischen Produktion unterscheidet sich hier jedoch grundlegend von kommunalen oder Lebensmittel-verarbeitenden Betrieben. In der chemischen Produktion kann, je nach Produktionsverfahren, Wasser als Nebenprodukt entstehen. So zum Beispiel im SOHIO-Verfahren (siehe Kapitel 2.4). Kommen im Prozess keine anderen Quellen für Mineralstoffe zum Einsatz oder wird das Prozessabwasser nicht mit anderen Abwässern vermischt, fehlen diese Mineralstoffe. In der Regel werden an Produktionsstandorten die Abwässer und Spülwässer verschiedenster Produktionen und Anlagen zentral behandelt. Durch eine solche Vermischung fällt ein Nährstoffmangel in einem der Ströme nicht unbedingt ins Gewicht. Der hier durchgeführte Versuch und die oben diskutierten Erkenntnisse aus der Literatur verdeutlichen hingegen, dass ein Nährstoffmangel bei gezielter Einzelstrombehandlung erheblichen Einfluss haben kann und es sich lohnt, den zu behandelnden Abwasserstrom genau zu analysieren und die Mängel auszugleichen.

Fazit für den ersten kontinuierlich beschickten Versuch:

- Eine hohe Verfügbarkeit von organisch gebundenem Kohlenstoff beschränkt den Pyrazolabbau.
- Eine Vor-Ozonisierung des Abwassers bringt keinen nennenswerten Vorteil.
- Die Ionenmatrix des Verdünnungsmediums (Leitungswasser vs. vollentsalztes Wasser) hat Einfluss auf den biologischen Pyrazolabbau.

6.1.4. Kontinuierlich beschickter Versuch 2

Ziel des zweiten Laborversuchs war es, die Erkenntnisse aus dem vorangegangenen Versuch anhand einer Pilot- und Referenzstraße zu verifizieren und detaillierter auszuarbeiten. Für die Versuchsreihe wurde am 18.01.2021 Belebtschlamm aus der Pyrazol-Biologiestufe entnommen und auf beide Versuchsstraßen aufgeteilt. Ein biologischer Abbau fand zu diesem Zeitpunkt nicht statt. Der Versuch erstreckte sich mit fünf Phasen über 256 Tage. Abbildung 6-8 zeigt die Ergebnisse des Versuchs.

Phase 1:

Tabelle 6-11: Ergebnisse aus Phase 1

		Pilot			Referenz			
		Einheit	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Pyrazol	Zulauf	mg/L	260	420	336	275	378	342
	Ablauf	mg/L	15	404	272	12	356	240
DOC	Zulauf	mg/L	478	779	636	469	799	641
	Ablauf	mg/L	39	280	175	50	228	158
Pyrazol-Schlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,008	0,016	0,013	0,009	0,038	0,018

In Phase 1 der Versuchsreihe wurde die Referenz-Straße (R) mit einer Mischung aus ACN-Abwasser, Leitungswasser und einer geringen Zugabe von Phosphorsäure beschickt. Die Pilot-Straße (P) wurde mit einer Mischung aus ACN-Abwasser, VE-Wasser, 320 µL/L VZ-Abwasser und 10 mg/L Kalium beschickt. Da beide Versuche mit Rücklaufschlamm aus der Pyrazol-Biologiestufe gestartet wurden, war der TS-Gehalt (Abbildung 6-8 a) zu Beginn hoch (R: 6,6 g/L; P: 6,4 g/L). Durch die geringe Beschickung beider Versuchsansätze wurde den Organismen direkt eine Hungersituation aufgezwungen. Dies erklärt, dass der TS-Gehalt über den Verlauf der Phase 1 auf 4,9 g/L (P) bzw. 5,1 g/L (R) sank. In der Probenvorlage des Ablaufs wurde zudem eine deutlich wahrnehmbare Trübung festgestellt, sodass über den Ablauf ebenfalls Biomasse verloren ging. Aufgrund des sinkenden TS-Gehalts stieg die Pyrazol-Schlammbelastung an. Es fällt auch auf, dass der TS-Gehalt der Referenz-Straße schneller fiel und stärker schwankte. Aufgrund der starken Schwankung ist nicht davon auszugehen, dass es sich um natürliches Wachstum handelte. Vielmehr ist es darauf zurückzuführen, dass sich zeitweise Belebtschlamm in der Nachklärung akkumulierte und die Schwankung so auf die Probenahme zurückzuführen ist. Die

Pyrazol-Schlammbelastung bewegte sich in der Referenz-Straße aufgrund der stark schwankenden TS-Werte auf leicht höherem Niveau als in der Pilot-Straße (Tabelle 6-11).

In den Pyrazolkonzentrationen ließen sich ab Versuchstag 18 erste Veränderungen der Trends feststellen: Wo anfänglich Zu- und Ablaufkonzentrationen eng beieinander lagen (Abbildung 6-8 b), bewegten sich die Verläufe ab diesem Punkt auseinander und es ließ sich eine abgebaute Fracht feststellen (Abbildung 6-8 c), dieser Trend wurde ab Tag 26 noch deutlicher. Beide Versuchsansätze zeigten ab hier einen zunehmenden Abbau von Pyrazol, bis an Tag 36 die Minima detektiert wurden (Tabelle 6-11).

Da nun ein ausgeprägter Pyrazolabbau in beiden Versuchsstraßen erreicht war (Pilot: 95 %, Referenz: 85 %), wurde die nächste Phase eingeleitet.

Phase 2:

In der zweiten Phase des Versuchs wurde der Referenz-Ansatz nicht verändert. Dem Pilot-Ansatz wurden hingegen VZ-Abwasser und KH_2PO_4 -Zugabe entzogen. Bereits vier Tage nach der Umstellung ließ sich eine Veränderung feststellen: Die abgebaute Pyrazolfracht der Pilot-Straße sank von anfänglich 485 mg/d kontinuierlich auf ein Minimum von 102 mg/d. Die Abbauleistung der Referenz-Straße stieg hingegen zunächst weiter bis auf ein Maximum von 613 mg/d und pendelte sich dann um einen Mittelwert von 431 mg/d ein. Während Phase 2 blieb der Pyrazolabbau also in beiden Versuchs-Ansätzen unvollständig. Der Referenz-Ansatz zeigte allerdings eine deutlich höhere Abbauleistung als der Pilot-Ansatz.

Der Trockensubstanzgehalt der Referenz-Straße pendelte in dieser Phase um einen Mittelwert von 4 g/L, während der Pilot-Ansatz in der ersten Hälfte der Phase um 4,5 g/L pendelte, dann jedoch zum Ende der Phase einen Abfall bis auf 2,14 g/L zeigte. Insgesamt war in beiden Ansätzen der TS-Gehalt jedoch niedriger als in der Phase 1, wodurch sich für beide Ansätze eine erhöhte Pyrazol-Schlammbelastung ergab (Tabelle 6-12).

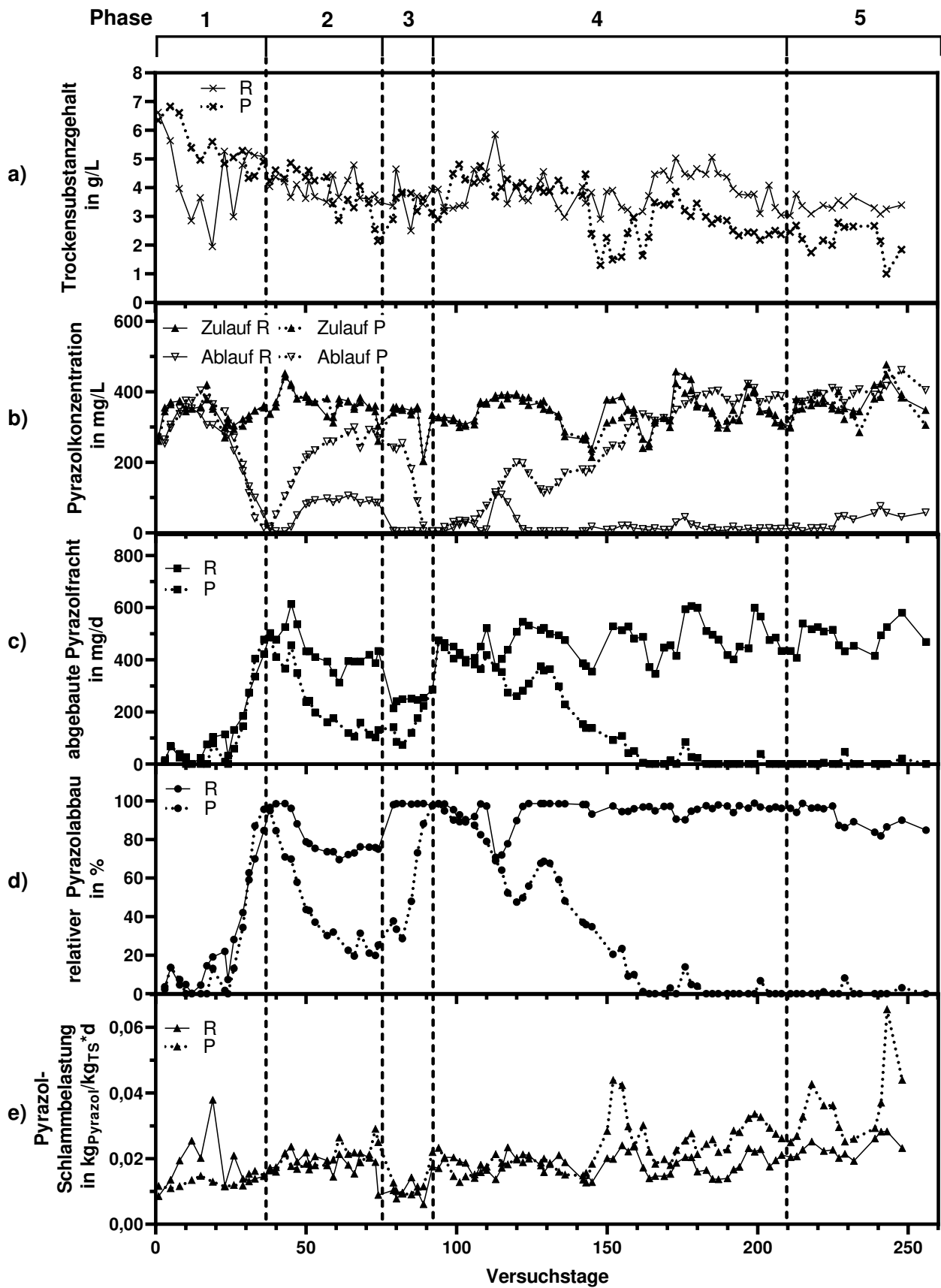


Abbildung 6-8: Ergebnisse des zweiten kontinuierlich beschickten Versuchs
 R = Referenz-Straße; P = Pilot-Straße (Fortsetzung der Beschreibung auf folgender Seite)

(Fortsetzung der Abbildungsbeschreibung Abbildung 6-8)

a) Trockensubstanzgehalt	Phase 1: hohe Kalium-Zugabe, niedrige VZ-Abwasser-Zugabe
b) Pyrazolkonzentration	Phase 2: ohne zusätzliche Ionenquellen
c) absoluter Pyrazolabbau	Phase 3: niedrige Kalium-Zugabe, moderate VZ-Abwasser-Zugabe, halbierte Beschickung
d) relativer Pyrazolabbau	Phase 4: wie Phase 3, aber volle Beschickung
e) Pyrazolschlammbelastung	Phase 5: niedrige Kalium-Zugabe, hohe VZ-Abwasser-Zugabe

Als Grund für die Verringerung der Abbauleistung kommt die Pyrazol-Schlammbelastung in Betracht. Insbesondere für die Referenz-Straße erhöhte sich die mittlere Belastung in Phase 2 um 57 % (Vgl. Tabelle 6-11 und Tabelle 6-12). Für den Referenz-Ansatz ist der Vergleich hier schwieriger, da die TS-Werte in der vorherigen Phase stark schwankten und sich dadurch bereits in der vorherigen Phase eine höhere Schlammbelastung ergab. Dennoch ist es für beide Ansätze denkbar, dass eine steigende Pyrazol-Schlammbelastung einen negativen Einfluss auf die sich adaptierende Belebtschlammbiozönosen hatte. Durch den Mangel an Ionen und Spurenelementen schienen die Organismen im Pilot-Ansatz mit der Situation jedoch schlechter umgehen zu können, so dass sich ein stärkerer Abfall in der Abbauleistung zeigte.

Aufgrund von technisch bedingten Verzögerungen in der Analytik wurde die nächste Phase eingeleitet.

Tabelle 6-12: Ergebnisse aus Phase 2

		Pilot			Referenz			
Einheit		Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel	
Pyrazol	Zulauf	mg/L	328	452	373	312	443	370
	Ablauf	mg/L	18	299	205	5	106	69
DOC	Zulauf	mg/L	592	964	822	651	972	834
	Ablauf	mg/L	56	211	137	35	102	73
Pyrazol-Schlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,016	0,029	0,02	0,014	0,024	0,019

Phase 3:

Um die Belebtschlämme durch unbekannte Pyrazolkonzentrationen im Zulauf nicht zu überfrachten, wurde die Beschickung vorsichtshalber halbiert, sodass sich eine geringere Pyrazol-Schlammbelastung einstellte (Tabelle 6-13). Gleichzeitig wurde die Zugabe von Ionen-Quellen wieder aufgenommen. Im Vergleich zu Phase 1 jedoch mit mehr VZ-Abwasser und weniger Kaliumphosphat.

Innerhalb von fünf Tagen nach Umstellung ließ sich im Ablauf des Referenz-Ansatzes kein Pyrazol mehr nachweisen. Der Abbau war hier also nahezu vollständig, während die abgebaute Fracht aufgrund der geringeren Zufuhr sank. In der Pilot-Straße kam es elf Tage nach der Umstellung wieder zu einer Erhöhung der Abbauleistung. Der TS-Gehalt stieg in der Pilot-Straße innerhalb von acht Tagen nach Umstellung von 2,1 g/L auf 3,8 g/L. Die Referenz-Straße bewegte sich um einen Mittelwert von 3,6 g/L; eine tendenzielle Veränderung ließ sich hier nicht feststellen.

Mit Behebung der technischen Störung in der Analytik wurde die Beschickung zurück auf 0,06 L/h gestellt und damit die nächste Phase eingeleitet.

Tabelle 6-13: Ergebnisse der Phase 3

		Pilot			Referenz			
		Einheit	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Pyrazol	Zulauf	mg/L	203	357	316	204	357	322
	Ablauf	mg/L	21	269	185	5	86	17
DOC	Zulauf	mg/L	413	821	638	415	787	616
	Ablauf	mg/L	58	185	129	25	79	39
Pyrazol-Schlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,009	0,025	0,013	0,006	0,014	0,01

Phase 4:

In dieser Phase wurde lediglich die Beschickung verändert, die Zulauf-Zusammensetzung blieb unverändert.

Mit Erhöhung des Zulaufstroms ließ sich in beiden Ansätzen ab Tag 96 ein sinkender Abbau beobachten. Auffällig ist jedoch, dass sich der Abbau im Referenz-Ansatz kurz korrigierte (Tag

108), den Abwärtstrend dann noch einmal aufnahm (Tag 113), sich aber letztendlich stabil bei nahezu vollem Abbau einstellte (ab Tag 122). Im Pilot-Ansatz fiel der Abbau in dieser Phase zunächst von 464 mg/d (99 %) an Tag 96 auf 261 mg/d (48 %) an Tag 120. Eine Kurskorrektur zwischen den Tagen 108 und 113 wie im Referenz-Ansatz gab es hier jedoch nicht. An Tag 128 stieg der Abbau nochmal kurzzeitig auf 347 mg/d (67 %) an. Ab diesem Tag sank die Abbauleistung jedoch kontinuierlich, bis sie an Tag 162 vollständig zum Erliegen gekommen war.

Die Gründe für diese Entwicklung lassen sich nicht genau festmachen. Die Pyrazol-Schlammbelastungen beider Straßen bewegen sich anfangs auf ähnlichem Niveau. Der TS-Gehalt stieg in der Pilot-Straße zu Beginn der Phase 4 auf 4,5 g/L an und bewegte sich bis Tag 143 auf diesem Niveau. Aufgrund eines Pumpendefekts in der Pilot-Straße ging an Tag 143 Rücklaufschlamm verloren, weswegen der TS-Gehalt an diesem Tag stark einbrach und die Pyrazol-Schlammbelastung stark stieg. Der TS-Gehalt erholte sich von dem Verlust und stieg an Tag 166 wieder auf 3,49 g/L, zeigte danach jedoch wieder eine sinkende Tendenz und eine hohe Abweichung vom Wert der Referenz-Straße. Der absteigende Trend der Abbauleistung setzte jedoch schon vor dem Verlust der Biomasse in der Pilot-Straße ein, ein direkter Zusammenhang mit der Entwicklung der Abbauleistung lässt sich nicht feststellen.

Der Trockensubstanzgehalt zeigte zu Beginn des Abwärtstrends noch keine Veränderung – jedoch gibt der TS-Gehalt auch keine Auskunft über die Zusammensetzung oder spezifische Aktivität der Biozönose. In beiden Ansätzen wurde in den Probenahmebehältern immer eine deutlich sichtbare Trübung festgestellt, jedoch nicht quantifiziert. Es ist möglich, dass aus beiden Systemen Pyrazol-abbauende Organismen ausgewaschen wurden, diese im Referenz-System jedoch ausreichend schnell nachwachsen konnten. Für den Pilot-Ansatz müssen die Phasen 1 bis 3 zum Vergleich herangezogen werden: Die Versorgung mit Kalium war in Phase 4 geringer als in Phase 1, Magnesium und Natrium waren durch die höhere VZ-Abwasserzugabe in höherer Konzentration vorhanden. Dennoch sank die Abbauleistung – jedoch nicht so schnell wie in Phase 2, wo keinerlei Ionen zugegeben wurden. Dies ließe den Schluss zu, dass die entsprechenden Organismen im Pilot-Ansatz aufgrund einer vorhandenen, aber nicht ausreichenden Kaliumversorgung zwar wuchsen, jedoch nicht ausreichend schnell, um den Verlust über die Nachklärung auszugleichen. Im Vergleich zur Phase 3 wurde die hydraulische Belastung erhöht – während also in Phase 3 die Organismen unterversorgt waren, jedoch aufgrund niedrigerer hydraulischer Belastung nicht oder deutlich geringer ausgespült wurden, wurden sie in Phase 4 durch die höhere hydraulische Belastung aus dem System getragen.

Verifizieren ließe sich die Theorie allerdings nur mit einer vergleichenden genetischen Analyse der Belebtschlammökosysteme.

Da sich weiter kein biologischer Pyrazolabbau mehr einstellte, wurde die nächste Phase eingeleitet und die VZ-Abwasserzugabe weiter erhöht.

Tabelle 6-14: Ergebnisse aus Phase 4

		Pilot			Referenz			
		Einheit	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Pyrazol	Zulauf	mg/L	215	424	336	238	457	343
	Ablauf	mg/L	5	423	237	5	109	19
DOC	Zulauf	mg/L	438	1074	747	423	1083	744
	Ablauf	mg/L	12	264	160	20	97	36
Pyrazol-Schlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,013	0,044	0,023	0,013	0,024	0,018

Phase 5:

In Phase 5 wurde die Zugabe von VZ-Abwasser nochmal vervielfacht, um zu überprüfen, ob sich der biologische Abbau in der Pilot-Straße mit der höheren Konzentration an Magnesium und Natrium so wieder anfachen ließe. Über den Verlauf von 48 Tagen zeigte sich jedoch kein Abbau von Pyrazol.

Die absolute Abbauleistung in der Referenz-Straße zeigte sich stabil, allerdings mit einer geringfügig sinkenden relativen Abbauleistung zum Ende des Versuchs. Ebenfalls sank in diesem Zeitraum im Zulauf der Anteil an Pyrazol am DOC (Abbildung 6-9). Diese Angabe gibt Auskunft darüber, wie viel DOC durch Pyrazol erklärbar ist. In den Phasen 1 bis 4 bewegte sich dieser Anteil zwischen 20 und 35 %, zum Ende der Phase 5 fiel er auf unter 20 %. Dies bedeutet, dass bei nur leicht steigendem Pyrazolgehalt, der DOC-Gehalt deutlicher stieg (vgl. auch Tabelle 6-14 und Tabelle 6-15). Die Organismen, die Pyrazol abbauen können, arbeiteten demnach zu Beginn der Phase 5 mit voller Kapazität; durch die höhere Pyrazolkonzentration im Zulauf konnte nicht noch mehr Pyrazol abgebaut werden, was möglicherweise an einem Überangebot anderer Kohlenstoffverbindungen lag.

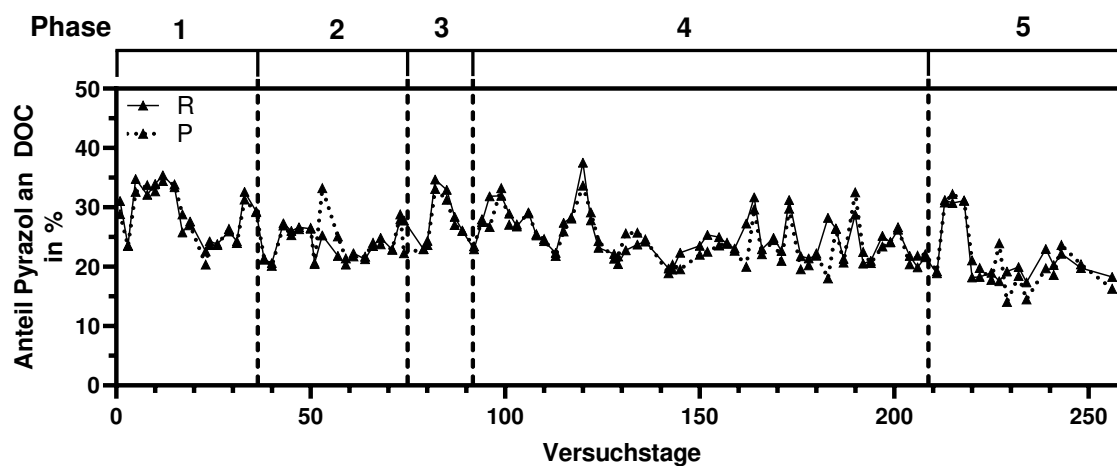


Abbildung 6-9: Verlauf vom Anteil des Pyrazols am DOC im Zulauf

Tabelle 6-15: Ergebnisse aus Phase 5

		Pilot			Referenz			
		Einheit	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Pyrazol	Zulauf	mg/L	285	477	361	301	448	371
	Ablauf	mg/L	318	462	394	5	76	34
DOC	Zulauf	mg/L	579	1212	938	643	1104	943
	Ablauf	mg/L	148	665	374	27	64	44
Pyrazol-Schlammbelastung		kg _{Pyrazol} /kg _{TS} *d	0,025	0,098	0,038	0,019	0,028	0,023

Während Phase 5 der Versuchsreihe wurde eine vergleichende Analyse der enthaltenen Anionen und Kationen durchgeführt (Tabelle 6-16). Es wurden die messbaren Ionen der Referenz- und Pilot-Straße sowie vom rohen Abwasser, mit dem die Ansätze für die beiden anderen Ansätze gemacht wurden, erfasst.

Tabelle 6-16: Ergebnisse der Ionenanalysen in Phase 5 des zweiten kontinuierlich beschickten Versuchs.

	Pilot mg/L	Referenz mg/L	ACN-Abwasser mg/L
Aluminium	⁻¹	0,004	0,017
Bor	0,004	0,033	⁻¹
Barium	⁻³	0,099	⁻³
Beryllium	⁻³	0,002	⁻³
Bismut	⁻¹	0,190	⁻¹
Calcium	0,340	119,5	0,276
Cadmium	⁻¹	⁻¹	⁻¹
Kobalt	⁻¹	0,007	0,010
Chrom	⁻¹	0,008	0,003
Kupfer	⁻¹	0,152	⁻¹
Eisen	0,013	0,020	0,019
Gallium	⁻¹	⁻¹	⁻¹
Kalium	0,862	2,083	0,251
Lithium	⁻¹	⁻¹	⁻¹
Magnesium	67,536	9,582	0,011
Mangan	0,015	⁻²	⁻²
Natrium	25,184	4,742	0,047
Nickel	0,036	0,052	0,057
Blei	0,012	0,100	0,046
Selen	0,124	0,360	0,176
Strontium	⁻¹	0,195	⁻¹
Tellur	⁻¹	0,096	0,033
Thallium	⁻¹	⁻¹	0,107
Zink	0,029	0,294	0,033
Chlorid	408,3	91,1	154
Nitrit	⁻⁴	⁻⁴	⁻⁴
Nitrat	⁻⁵	8,4	⁻⁵
Sulfat	⁻⁵	53,5	5,5
Acetat	295,4	332,7	608,7
Formiat	17,7	16,5	23,9

⁻¹: < Nachweisgrenze 0,001 mg/L; ⁻²: < Nachweisgrenze 0,003 mg/L; ⁻³: < Nachweisgrenze 0,0001 mg/L
⁻⁴: < Nachweisgrenze 0,4 mg/L; ⁻⁵: < Nachweisgrenze 1 mg/L

Bei einem Vergleich mit der für den Versuch angepeilten Kaliumkonzentration (Kapitel 5.2.4) wird deutlich, dass diese hier unter den geplanten Werten lag. Dies ist auf einen Pipettierfehler im Ansatz der Zulaufmischung oder einen Fehler beim Ansatz der KH₂PO₄-Stammlösung zurückzuführen. Letzteres würde bedeuten, dass die Kaliumkonzentrationen in den Phasen 3 und 4 ebenfalls niedriger als geplant waren, da nach Phase 1 eine neue Stammlösung angesetzt wurde, die dann durchgehend benutzt wurde. Der Referenz-Ansatz hat gezeigt, dass er die geeigneten Voraussetzungen mit sich brachte, um einen stabilen Pyrazolabbau zu etablieren.

Wie bereits diskutiert, ist Kalium eine der besonders wichtigen Komponenten. Dennoch lohnt sich ein Blick auf die Spurenelemente, da auch die Verfügbarkeit dieser essenziellen Elemente maßgeblichen Einfluss auf das Wachstum und die Aktivität von Organismen hat (MEYER-DOMBARD et al., 2012). Die Autoren jener Studie stellten fest, dass bei der Anzucht von thermophilen Organismen aus einer Probe aus natürlicher Umgebung Wachstum und Diversität dann am höchsten sind, wenn die Konzentrationen der Spurenelemente den natürlichen Bedingungen am nächsten sind. Demnach kann sowohl eine Über- als auch Unterversorgung negative Folgen haben. Thermophile sind Organismen, die in Lebensräumen mit außergewöhnlich hohen Temperaturen gedeihen, übergreifend werden solche an extreme Lebensbedingungen angepasste Organismen auch als Extremophile bezeichnet. Auch in der vorliegenden Arbeit lassen sich Parallelen zu extremen Bedingungen ziehen: Das genutzte Abwasser stellt durch seine außergewöhnlich hohen Konzentrationen von Pyrazol und weiteren Einzelstoffen hohe Anforderungen.

Im Vergleich der Spurenelemente (Tabelle 6-16) stechen einige Unterschiede besonders hervor:

- Der Pilot-Ansatz und das reine Abwasser verfügten über keinen messbaren Kupfergehalt, während der Referenz-Ansatz über eine Konzentration von 0,152 mg/L verfügte. Kupfer ist eines der Spurenelemente, was häufig als Co-Faktor von Enzymen dient, insbesondere von Oxidasen (siehe auch Kapitel 2.2.1).
- Zink war im Referenz-Ansatz etwa um den Faktor 10 höher konzentriert als im Pilot-Ansatz. Zink ist – wie Kupfer – eines der Metalle, welche häufig als Co-Faktor von Enzymen auftreten (Kapitel 2.2.1). Zink ist weiterhin wichtiger Bestandteil in Proteinen-Systemen, die der Zellstabilität und der Ausbildung von Biofilmen dienen (SURYAWATI, 2018).
- Selen war im Referenz-Ansatz etwa um den Faktor 3 höher konzentriert als im Ansatz der Pilot-Straße. Selen ist Bestandteil der Aminosäure Selenocystein, welches wiederum ein Bauteil der Selenoproteine ist. Diese Proteine erfüllen als Oxidoreduktasen wichtige Funktionen in der Zelle (LABUNSKYY et al., 2014). Da Selen jedoch auch im rohen Abwasser vorhanden war und der Grat zwischen Unterversorgung und toxischer Überdosierung sehr schmal ist (NANCHARAIAH et LENS, 2015), sollte von einer zusätzlichen Dosierung abgesehen werden.
- Bor war im rohen Abwasser nicht nachweisbar und im Referenz-Ansatz etwa um den Faktor 8 höher konzentriert als im Pilot-Ansatz. Bor ist ein bekanntes essenzielles Spurenelement für Eukaryoten (MIWA et FUJIWARA, 2009), die Bedeutung als Nährstoff für

Bakterien ist jedoch nur wenig erforscht. JORDAN et ANDERSON (1950) stellten jedoch eine deutlich erhöhte Stickstofffixierung in Bodenproben unter Zugabe von Bor fest. Borsäure zeigt jedoch auch antibakterielle und anti-biofilmbildende Wirkung (SAYIN et al., 2016). Die Autoren jener Studie stellten anhand verschiedener Bakterienspezies minimale Hemmkonzentrationen zwischen 770 mg/L und 3090 mg/L fest. Eine Überdosierung von Bor gilt es also zu vermeiden, jedoch sind diese Konzentrationen schon weit über dem, was als „Spurenelement“ bezeichnet würde.

- Die Elemente Barium, Bismut, Beryllium und Strontium waren im Referenz-Ansatz vorhanden, fanden sich jedoch weder im Rohabwasser noch im Pilot-Ansatz. Über die Rolle dieser Elemente als Nährstoff für Bakterien gibt es bisher keine Erkenntnisse. Für Strontium gibt es keine Belege von Mangelercheinungen und einzelne Berichte über wachstumsfördernde Eigenschaften bei Pflanzen (PORS NIELSEN, 2004). Während ein Einfluss nicht auszuschließen ist, sollte der Fokus zunächst auf die bereits erwähnten Elemente gelegt werden.

Bei der Betrachtung der Spurenelemente ist jedoch auch einschränkend festzuhalten, dass in Phase 1 des Versuchs ein Pyrazolabbau etabliert wurde, ohne dass Spurenelemente hinzugegeben wurden. Es wurde in Phase 1 jedoch deutlich mehr KH_2PO_4 zugegeben als in den Phasen 3 bis 5 – die verwendete Rohsubstanz hatte dabei einen Reinheitsgrad von lediglich $\geq 98\%$, weswegen über die Dosierung dieser Substanz Spurenelemente bereitgestellt worden sein könnten.

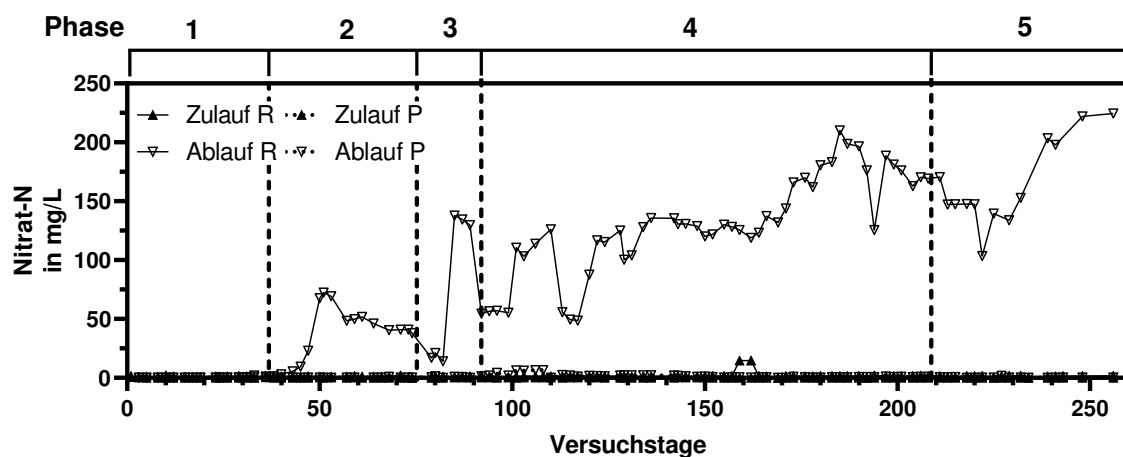


Abbildung 6-10: Nitratkonzentrationen der Versuchs-Straßen im zweiten kontinuierlichen Versuch

Eine genaue Analyse der Nitrifikationsleistung war nicht Gegenstand dieses Versuchs, dennoch muss festgehalten werden, dass bei ausreichend niedrigem Pyrazolgehalt im Ablauf eine leistungsfähige Nitrifikation möglich ist. Abbildung 6-10 zeigt den Verlauf von Nitrat-N in den Zu- und Abläufen beider Versuche. Es wird deutlich, dass in der biologischen Abwasserbehandlung in der Referenz-Straße große Mengen Nitrat entstanden.

Die Versuchsreihe hat gezeigt, dass sich aus einem Belebtschlamm, der über sehr lange Zeit keinen biologischen Pyrazolabbau zeigte, ein stabiler Abbau etablieren lässt. Eine Pyrazol-Schlammbelastung zwischen 0,01 und 0,015 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}}\cdot\text{d}$ erschien dabei für die Etablierung eines Pyrazol-abbauenden Belebtschlammes optimal. Eine Belastung um 0,02 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}}\cdot\text{d}$ wirkte sich während der Etablierung offenbar nachteilig aus. Zu einem späteren Zeitpunkt, nachdem sich der Belebtschlamm angepasst hatte, waren auch Belastungen bis 0,028 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}}\cdot\text{d}$ kein Problem.

Die Versuchsreihe bestätigte ebenfalls die These, dass die Abwassermatrix erheblichen Einfluss auf die Pyrazolabbauleistung hat. Insbesondere die ausreichende Versorgung mit Kalium ist für die Organismen essenziell und kann nicht substituiert werden. Der Vergleich der Spurenelemente aus Phase 5 hat zudem gezeigt, dass das rohe Abwasser einen Mangel an verschiedenen Elementen aufwies. Insbesondere Zink und Kupfer sind wichtige Elemente im Stoffwechsel von Organismen und waren im Abwasser nicht oder nur unzureichend vorhanden. Eine externe Zudosierung von wichtigen Nährstoffen ist daher erfolgsversprechend. Natrium und Magnesium kann über das VZ-Abwasser zugegeben werden, jedoch ist dies allein nicht ausreichend. Es muss eine weitere Quelle für Kalium gefunden werden, eine Quelle für Zink und Kupfer ist ratsam. Offen bleibt, ob die genannten Elemente direkt in den Abbauvorgängen von Pyrazol beteiligt sind, oder lediglich dafür sorgen, dass sich eine allgemein stabile, aktive und schnell wachsende Biomasse ausbilden kann, sodass die Pyrazol-Schlammbelastung niedrig bleibt. Zuletzt ist anzumerken, dass die Anpassungen viel Zeit brauchen, bis sie Wirkung zeigen. Die Versuchsstraßen aus Kapitel 6.1.4 brauchten 18 bis 30 Tage unter stabilen Bedingungen, bis sich ein deutlicher Effekt im biologischen Pyrazolabbau zeigte.

Fazit für den zweiten kontinuierlich beschickten Versuch:

- Eine Pyrazol-Schlammbelastung zwischen 0,01 und 0,015 kg_{Pyrazol}/kg_{TS}*d ist für die Etablierung eines biologischen Pyrazolabbaus geeignet.
- Eine zusätzliche Versorgung mit einer Nährstofflösung aus Magnesium, Natrium und Kalium ermöglicht einen biologischen Pyrazolabbau.
- Ein Mangel an Spurenelementen wie Zink oder Kupfer könnte sich negativ auf den biologischen Pyrazolabbau auswirken.
- Die Anpassungen des Belebtschlamms, bis ein biologischer Pyrazolabbau eintritt, brauchen viel Zeit (18 bis 30 Tage).

6.1.5. Halbtechnischer Versuch 2

Ziel des zweiten Versuchs in halbtechnischem Maßstab war, zu testen, ob eine niedrige Pyrazol-Schlammbelastung allein ausreicht, um einen biologischen Pyrazolabbau wiederherzustellen. Für den Versuch wurde die Anlage am 28.06.2021 mit Rücklaufschlamm aus der Pyrazol-Biologiestufe befüllt. Der Versuch erstreckte sich über 67 Tage.

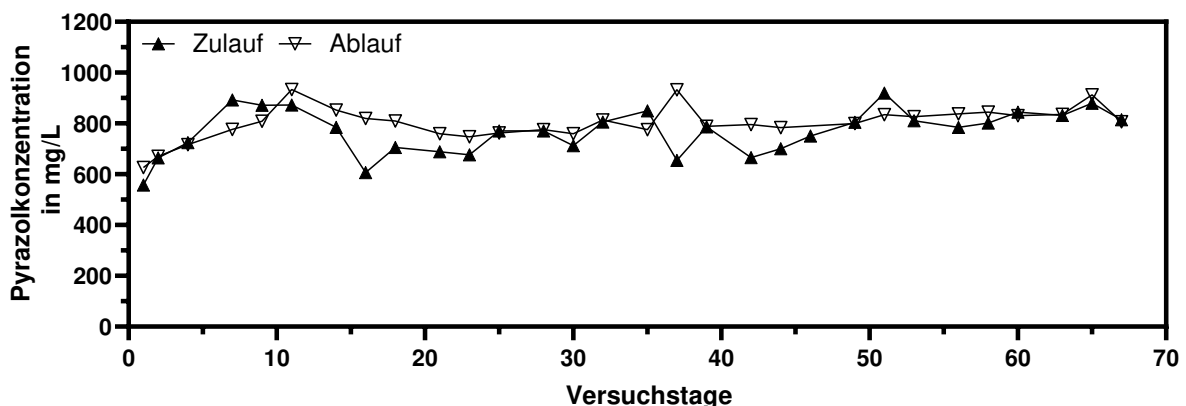


Abbildung 6-11: Pyrazolkonzentrationen im zweiten halbtechnischen Versuch

Abbildung 6-11 zeigt den Verlauf der Pyrazolkonzentration im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage. Es wird deutlich, dass im Versuchsverlauf kein Pyrazol abgebaut wird. Stellenweise liegt der Ablaufwert der Anlage über den Zulaufwerten, was darauf zurückzuführen ist, dass die Beprobung nur drei Mal wöchentlich in Einfachbestimmung erfolgte, die Anlage jedoch kontinuierlich beschickt wurde. Einzelne unbemerkte Pyrazol-Peaks würden dann in Kombination mit der langen hydraulischen Verweilzeit von durchschnittlich 13,5 Tagen dazu

führen, dass es lange dauert, bis die Pyrazolkonzentration im Ablauf sinkt, obwohl diese im Zulauf bereits gesunken ist. Da es sich bei dem angewandten Verfahren um eine Ultrafiltration (nominale Porengröße: 0,03 μm) handelte, ist eine Aufkonzentrierung durch die Membran auszuschließen.

Abbildung 6-12 stellt den Verlauf der Pyrazol-Schlammbelastung dar. An den Tagen 1 und 2 wurde die Anlage noch mit 80 L/h beschickt. Da die Pyrazol-Schlammbelastung damit jedoch über dem angepeilten maximalen Wert von 0,015 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ lag, wurde die Beschickung ab Tag 3 auf 40 L/h halbiert. Trotz der steigenden Pyrazolkonzentration im Zulauf konnte so eine zuverlässige Belastung zwischen 0,01 und 0,015 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ eingestellt werden (Mittelwert: 0,012 $\text{kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$).

Zum Ende des Versuchs, ab Tag 67, wurde die Beschickung weiter auf 20 L/h reduziert und dann ganz abgestellt. Ziel war zu erproben, ob sich in einem statischen System ohne Zulauf ein biologischer Abbau etabliert. Der Versuch wurde so noch 60 weitere Tage betrieben, jedoch ohne eine signifikante Verringerung des Pyrazolgehaltes.

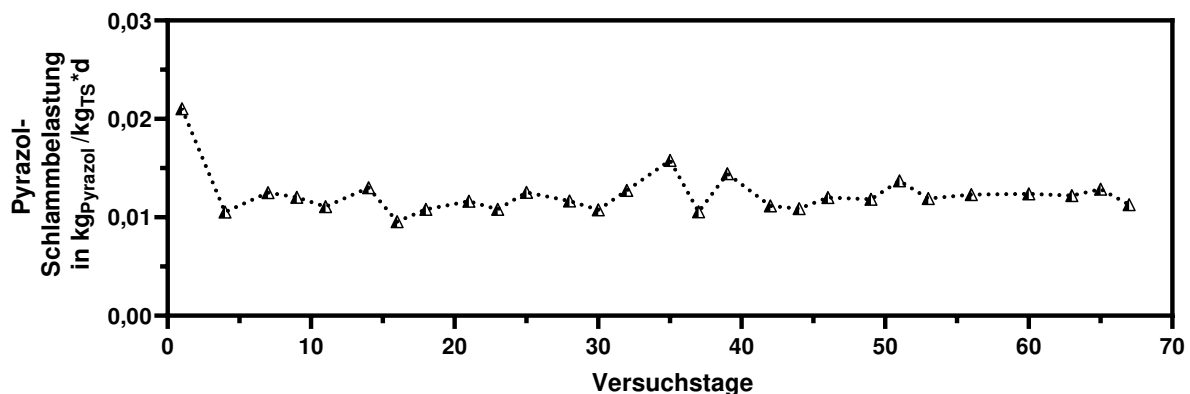


Abbildung 6-12: Verlauf der Pyrazol-Schlammbelastung im zweiten halbtechnischen Versuch

Auffällig während des Versuchs war, dass der Belebtschlamm immer wieder stark schäumte. An einzelnen Tagen so stark, dass die Versuchsanlage überschäumte. Das eingesetzte Abwasser allein zeigte hingegen nur eine geringe Tendenz zum Schäumen. Ein ähnliches Bild zeigte sich in der Pyrazol-Biologiestufe in den Jahren 2019 bis 2021 – auch hier kam es zur Bildung einer dauerhaften ausgeprägten Schaumdecke, die zeitweise mit chemischen Entschäumern niedergehalten werden musste. Mikroskopische Untersuchungen ergaben, dass keinerlei Fadenbakterien im Belebtschlamm der Versuchsanlage enthalten waren. Dies lässt den Schluss zu, dass die schaubildenden Inhaltstoffe biologischen Ursprungs sind und von den

Mikroorganismen im Belebtschlamm erzeugt werden. Wie bereits in Kapitel 3.3 diskutiert, ist auch hier wieder eine Schaumbildung durch stressbedingte EPS-Bildung denkbar.

Fazit für den zweiten halbtechnischen Versuch:

Der zweite halbtechnische Versuch hat gezeigt, dass eine niedrige Pyrazol-Schlammbelastung allein nicht ausreichend ist, um einen biologischen Abbau von Pyrazol zu etablieren.

6.1.6. Bedeutung der Ergebnisse und Beobachtungen für den Betrieb

Die Versuche haben gezeigt, dass es zwei maßgebliche Faktoren für die Etablierung eines biologischen Pyrazolabbaus gibt: Pyrazol-Schlammbelastung und Abwassermatrix. Die Versuche aus den Kapiteln 6.1.3 und 6.1.4 haben gezeigt, dass die Wiederherstellung eines Pyrazolabbauenden Belebtschlammes möglich ist. Dafür muss den Organismen Natrium, Kalium und Magnesium über externe Quellen bereitgestellt werden. Der Versuch aus Kapitel 6.1.5 hat gezeigt, dass eine niedrige Schlammbelastung allein nicht ausreicht, um einen biologischen Pyrazolabbau zu etablieren. Solange eine Ozonierung des Ablaufs der biologischen Reinigung nötig ist, sollte nur wenig Calcium zugegeben werden, um Calcium-Oxalat Ausfällungen zu vermeiden. Eine Quelle für Zink und Kupfer als Spurenelement könnte ebenfalls nötig sein. Ein Verschneiden mit anderen Calcium-armen Abwasserströmen ist dabei möglich. Ebenfalls ist es denkbar, dass Überschussschlamm anderer Belebungsstufen zugegeben wird. Ein solcher Strom könnte nicht nur die genannten Ionen mit sich bringen, sondern auch Organismen bereitstellen, die dafür sorgen, dass Nicht-Pyrazol Kohlenstoffverbindungen schnell abgebaut werden. Dabei muss aber beachtet werden, dass zusätzliche Biomasse auch das Risiko eines Wettbewerbs um Ressourcen wie Spurenelemente, Platz oder Sauerstoff birgt. In den Versuchen hat sich ebenfalls gezeigt, dass für den Aufbau des gewünschten Belebtschlammes eine Pyrazol-Schlammbelastung zwischen $0,01$ und $0,015 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ geeignet ist und anfangs nicht höher sein sollte. Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Belastung durch weitere Kohlenstoffverbindungen. Die Beobachtungen aus Kapitel 3.3 und die Ergebnisse der Versuche aus Kapitel 6.1.2 und 6.1.3 zeigten, dass Pyrazol von den Organismen nicht angegriffen wird, solange es andere, einfacher zu verstoffwechselnde Verbindungen (zusammengefasst als „non-Pyrazol DOC“) gibt. Für die Produktionsbetriebe bedeutet dies, dass die Abwasserkolonnen so betrieben werden sollten,

dass die Abtrennleistung in Richtung Verbrennung möglichst hoch ist und wenig organischer Kohlenstoff neben dem Pyrazol in die biologische Abwasserreinigung geschickt wird.

Hat sich erst einmal eine Pyrazol-abbauende Belebtschlammbiozönose etabliert, kann die Pyrazol-Schlammbelastung auch erhöht werden. Der Versuch aus Kapitel 6.1.1 zeigte, dass Pyrazol-Schlammbelastungen bis $0,04 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ akzeptabel sind und hohe Verweilzeiten nicht zwingend nötig sind. Weiterhin haben die Versuche aus den Kapiteln 6.1.1 und 6.1.4 bewiesen, dass bei starkem Pyrazolabbau auch eine ausgeprägte Nitrifikation möglich ist.

6.1.7. Umsetzung der Erkenntnisse

Zum Ende des Jahres 2021 wurde begonnen, die Erkenntnisse aus dem vorangegangenen Kapitel umzusetzen:

- Abhängig vom Calciumgehalt wurden ab November (KW45) zwei- oder dreimal wöchentlich 100 m^3 Überschussschlamm der benachbarten Kläranlage C600 in die Pyrazol-Biologiestufe gefördert. Der Überschussschlamm erfüllte dabei zwei Funktionen. Zum einen diente er als Quelle für Ionen und Spurenelemente, zum anderen diente er als Quelle für Biomasse zur Verringerung der Schlammbelastung.
- Es wurden keine weiteren Abwasserströme in die Pyrazol-Biologiestufe beigemischt, um zu verhindern, dass die Biologie dort mit zusätzlicher Organik belastet wird, die zudem auch die nachgeschaltete Ozonanlage belasten kann.
- Um die Biologiestufe zu entlasten, wurde ab Dezember (KW49) die Bypass-Leitung in Richtung Ozonanlage geöffnet, sodass dort ca. 40 bis 50 % des anfallenden Abwasservolumenstroms an der Biologiestufe vorbei direkt behandelt werden konnte.
- In den Produktionsbetrieben wurden die Abwasserkolonnen ab November (KW45) so betrieben, dass die Abtrennleistung erhöht wurde. Die Konzentrationen an Pyrazol und non-Pyrazol-DOC im Abwasserstrom zur Biologiestufe wurden damit gesenkt.

Durch diese Maßnahmen kam es zu einer deutlichen Verringerung der Pyrazolfracht, die in die Biologiestufe geleitet wurde. Durch den gleichzeitig steigenden Biomassegehalt konnte die Pyrazol-Schlammbelastung sowie die Schlammbelastung durch non-Pyrazol-DOC gesenkt werden. Die Schlammbelastungen sind in Abbildung 6-13 dargestellt. Im Vergleich mit den Schlammbelastungen aus der Zeit vorher (siehe auch Abbildung 3-4) konnte die Pyrazol-Schlammbelastung von einer mittleren Belastung von $0,06 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ im Oktober 2021 um 83 % auf $0,01 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ in KW50 gesenkt werden. Die Belastung durch non-Pyrazol-DOC

wurde von $0,16 \text{ kg}_{\text{nPyr-DOC}}/\text{kg}_{\text{TS}}^* \text{d}$ im Oktober 2021 ebenfalls um 81 % auf $0,03 \text{ kg}_{\text{nPyr-DOC}}/\text{kg}_{\text{TS}}^* \text{d}$ in KW50 gesenkt.

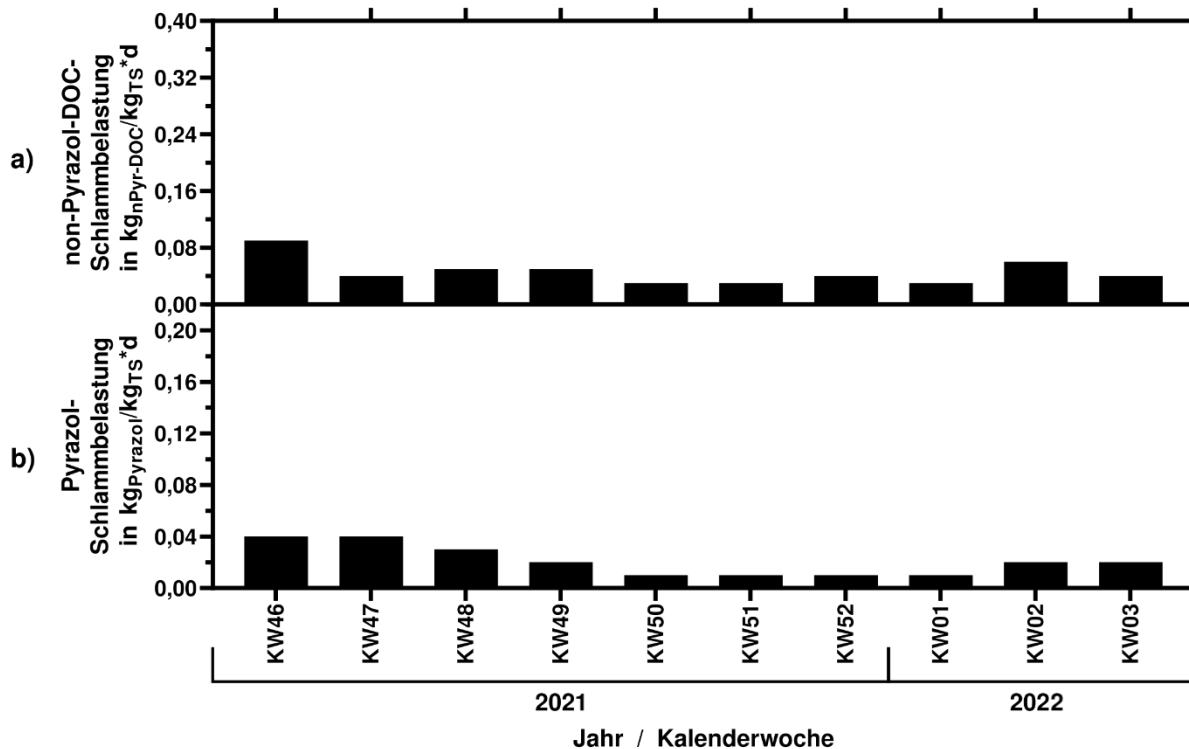


Abbildung 6-13: Verlauf der Schlammbelastungen durch a) nicht-pyrazolischen DOC und b) Pyrazol in der Pyrazol-Biologiestufe nach Umsetzung der Erkenntnisse

Vier Wochen nach Öffnung der Bypass-Leitung (KW49) ließ sich in KW01 in der Pyrazol-Biologiestufe eine erste Reduktion von Pyrazol feststellen, die sich in der folgenden Woche noch deutlicher manifestierte. Der Verlauf des Pyrazolabbaus ist in Abbildung 6-14 dargestellt (siehe zum Vergleich auch Abbildung 3-3). In KW02 konnten im Mittel 358 kg Pyrazol pro Tag abgebaut werden, was einem relativen Anteil von 97 % entsprach. In KW03 stieg die Leistung noch etwas weiter auf 413 kg/d (95 %) an. Diese Entwicklung zeigt, dass die durchgeführten Änderungen gemäß der in dieser Studie erlangten Erkenntnisse Wirkung zeigen und der biologische Pyrazolabbau unter den richtigen Bedingungen wieder einsetzt. Sobald sich der biologische Abbau sicher etabliert hat, soll die Bypass-Leitung schrittweise wieder zurückgefahren werden, um so viel Abwasser wie möglich biologisch zu behandeln.

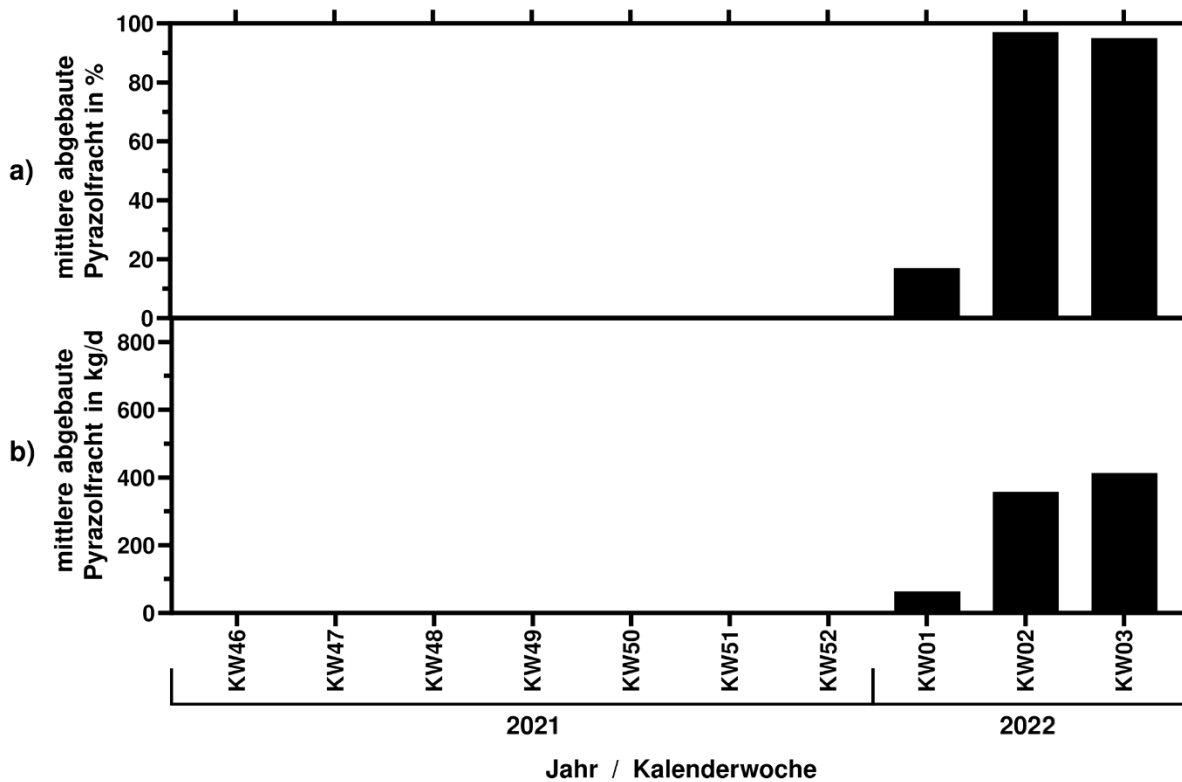


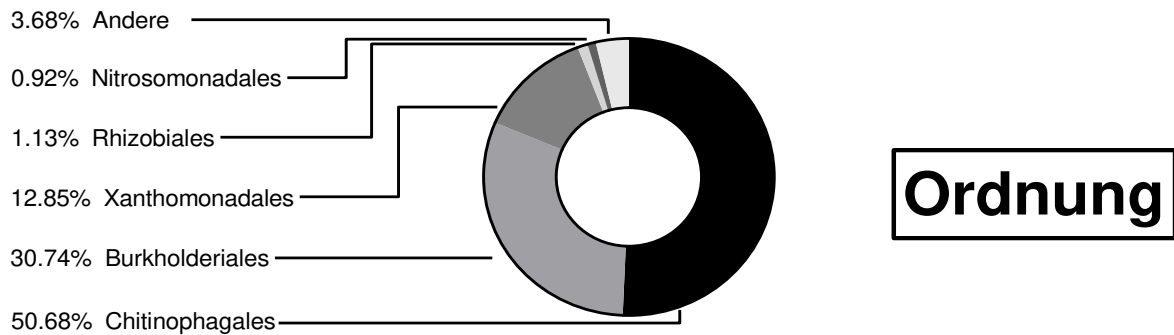
Abbildung 6-14: Relativer (a) und absoluter (b) Abbau von Pyrazol in der Pyrazol-Biologiestufe nach Umsetzung der Erkenntnisse

6.2. Genetische Untersuchungen

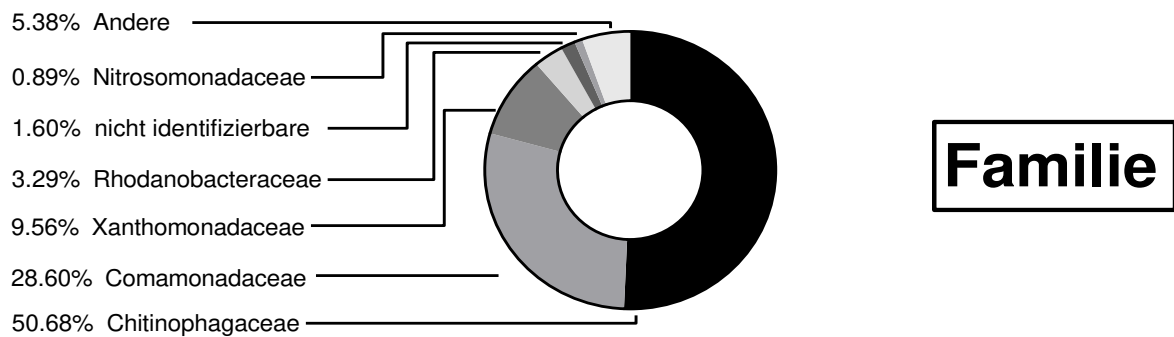
Für die Untersuchung auf genetischer Ebene wurden zwei Proben genommen. Eine Probe wurde aus der Labor-Versuchsanlage des ersten kontinuierlich beschickten Versuchs in Phase 7 genommen. Zu diesem Zeitpunkt wurde Pyrazol biologisch abgebaut (Kapitel 6.1.3). Die Vergleichsprobe kam zur gleichen Zeit aus der Pyrazol-Biologiestufe, in der kein Pyrazol abgebaut wurde. Für die durchgeführten Nanopore™-Sequenzierung wurde zunächst die DNA extrahiert und die Ausbeute bestimmt. Aus der Probe der Versuchsanlage wurden 93 ng/μL extrahiert, aus der Probe der Biologiestufe 57 ng/μL. Für die Identifikation wurde das 16S rRNA Gen mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert. Das PCR-Produkt aus der Probe der Versuchsanlage enthielt 9,62 ng/μL DNA; das der Biologiestufe 9,72 ng/μL. Der Abgleich mit der NCBI 16S-rRNA-Datenbank ergab die in Abbildung 6-15 und Abbildung 6-16 dargestellten Verteilungen. Aus der Probe der Versuchsanlage konnten 57 Spezies zugeordnet werden, aus der Probe der Pyrazol-Biologiestufe 58 Spezies.

In der Biozönose des Pyrazol-abbauenden Belebtschlammes der Versuchsanlage (Abbildung 6-15) fällt auf, dass die Diversität gering ist. Gut 45 % der aus der Probe amplifizierten DNA kann einer nicht näher beschriebenen *Terrimonas* Spezies zugeordnet werden (NCBI-Accession-No.: GU454926; Übereinstimmung: 99,65 %), die in einer Überschussschlammprobe einer kommunalen Kläranlage in China gefunden wurde (ZHANG et al., 2010). Die nächste näher beschriebene Verwandte zu dieser Species ist *Terrimonas soli* (95,4 % Übereinstimmung, siehe auch Abbildung 6-17). Obwohl der Rückschluss von einer 16S-rRNA Verwandtschaft auf die Funktion eines Organismus in seiner Biozönose spekulativ ist, ist der Blick auf *Terrimonas soli* dennoch interessant. JIANG et al. (2018) isolierten den Organismus aus Carbofuran-belasteten Böden. In der Studie wurde festgestellt, dass *Terrimonas soli* selbst das Insektizid nicht abbauen konnte, jedoch gut in Co-Existenz mit den Carbofuran-abbauenden Organismen leben konnte. Für den hier untersuchten Belebtschlamm mit Pyrazol-abbauenden Eigenschaften könnte dies bedeuten, dass die dominierende *Terrimonas* Spezies ebenfalls nicht in der Lage ist, Pyrazol abzubauen, sondern vielmehr in einer ökologischen Nische neben den Pyrazol-abbauenden Organismen existiert. Denkbar ist auch, dass der Pyrazolabbau nicht in einem Organismus allein stattfindet, sondern, dass sich die *Terrimonas* Spezies von Stoffwechselprodukten aus dem Pyrazolabbau ernährt. Eine solche Beziehung zwischen Organismen wäre nicht ungewöhnlich: ZHAO et al. (2016) formulierten in einer Studie zum mikrobiologischen Abbau des polyzyklischen Aromaten Flouranthen in Bodenproben, dass der Abbau kooperativ abläuft. Während Bakterien der Gattung *Mycobacterium* in der Lage sind, mittels Dihydrogenasen die Ringstruktur zu hydrolysieren und zu spalten, stellten Bakterien der Gattung *Diaphrobacter* die nötigen Dehydrogenasen für weitere Abbauschritte. Unter der Beteiligung noch weiterer Gattungen kann das refraktäre Molekül so Schritt für Schritt zerlegt werden. In diesem Hinblick wird die zweithäufigste Spezies aus der Belebtschlammprobe interessant.

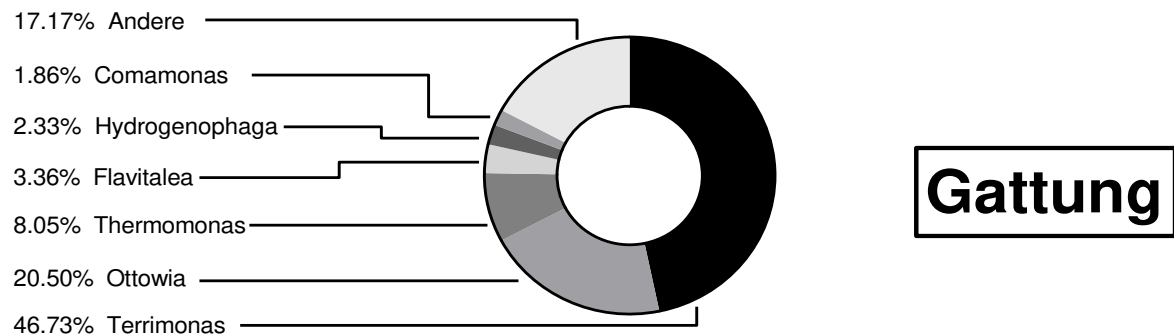
Versuchsanlage



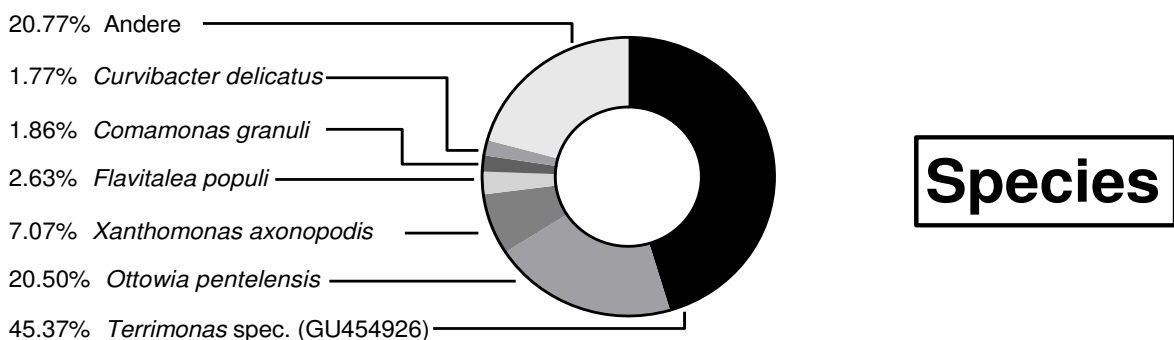
Ordnung



Familie



Gattung

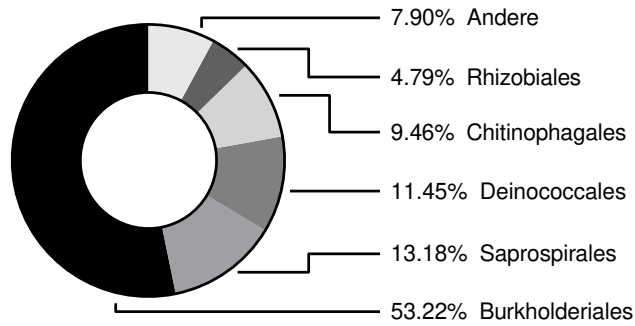


Species

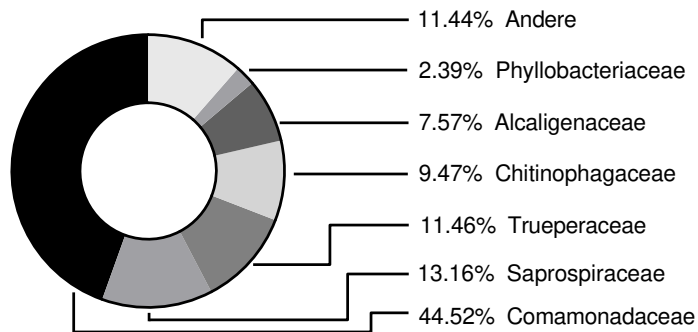
Abbildung 6-15: Ergebnisse der Sequenzierung aus dem Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm der Versuchsanlage

Pyrazol-Biologiestufe

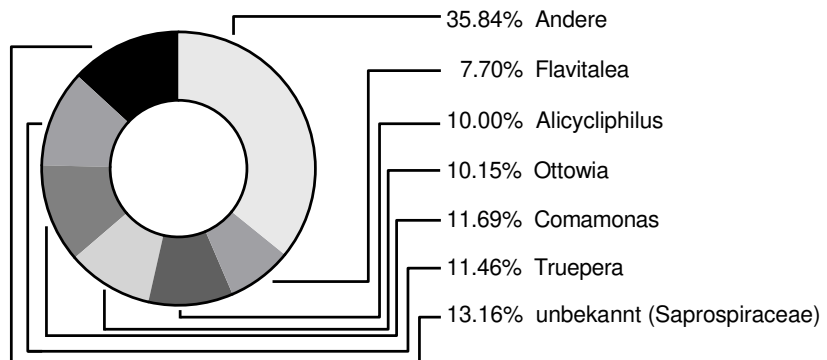
Ordnung



Familie



Gattung



Species

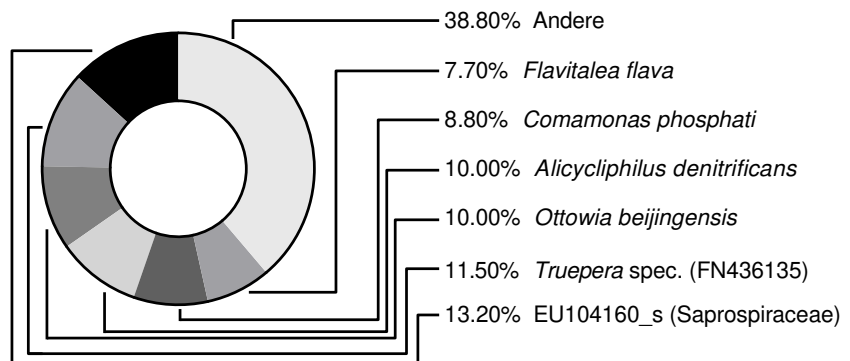


Abbildung 6-16: Ergebnisse der Sequenzierung aus dem Belebtschlamm der Pyrazol-Biologiestufe ohne Pyrazolabbau

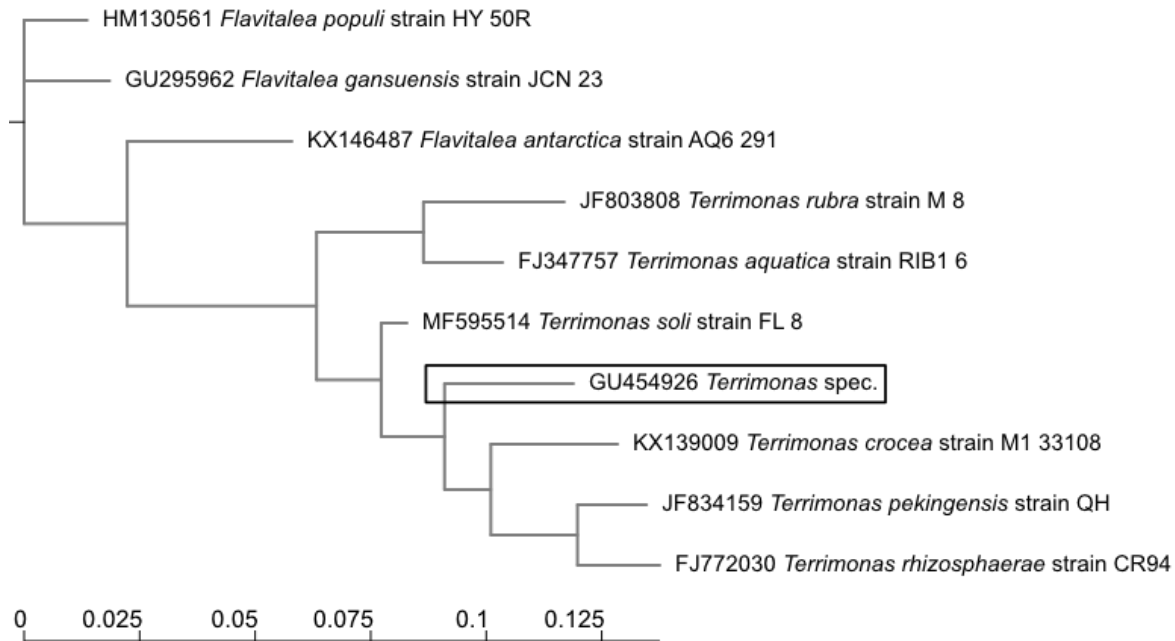


Abbildung 6-17: Phylogenetischer Baum basierend auf 16S rRNA Sequenzen zur Einordnung der dominanten *Terrimonas* Species. Als Outlier wurde *Flavitalea populi* gewählt, die ebenfalls in der Probe gefunden wurde und wie *Terrimonas* zu den Chitinophagaceae gehört. Der Maßstabalken gibt die Abweichungen pro Nukleotid an.

Mit einer Häufigkeit von 20,5 % ist *Ottowia pentelensis* (98,7 % Übereinstimmung) der zweithäufigste Organismus im Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm. Die Gattung *Ottowia* gehört zur Familie der Comamonadaceae. FÉLŐLDI et al. (2011) isolierten *O. pentelensis* aus einem Belebtschlamm, der zur biologischen Behandlung des Ablaufs einer nicht näher beschriebenen Kokerei eingesetzt wurde. Eine detaillierte Analyse der Inhaltsstoffe des Abwassers wird hingegen nicht aufgeführt und damit auch keine Aussage, ob Pyrazol enthalten war. Das Abwasser von Kokereien zeichnet sich jedoch durch einen hohen Gehalt an Ammonium und refraktären aromatischen und heteroaromatischen Kohlenwasserstoffen aus (FÉLŐLDI et al., 2020), insbesondere Phenole sowie mono- und polyzyklische Stickstoff-Heteroaromaten (LI et al., 2003). Es könnte also vergleichbare Ansprüche an die Organismen im Belebtschlamm stellen, wie das Abwasser aus der Acrylnitrilproduktion. Ob *O. pentelensis* tatsächlich in der Lage ist, Pyrazol zu verstoffwechseln oder lediglich die übrigen heteroaromatischen Verbindungen im Abwasser wie 3-Cyanopyridin verarbeitet, lässt sich nicht abschließend bewerten – der Organismus kommt jedoch als möglicher Pyrazol-Abbauer in Betracht.

Im Vergleich mit den Ergebnissen der Probe aus der Pyrazol-Biologiestufe, wo kein Pyrazolabbau stattfand, zeigte sich, dass der Pyrazol-abbauende Belebtschlamm offenbar spezialisierter und weniger divers war. Im Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm nahm der am häufigsten vertretene Organismus gut 45 % der analysierten Sequenzen ein und der zweit häufigste gut 20 %. Damit

verteilt sich zwei Drittel der analysierten Sequenzen auf zwei Spezies. In der Probe der Pyrazol-Biologiestufe war der Top-Vertreter lediglich mit gut 13 % vorhanden (Abbildung 6-16). Die Top 6 Vertreter aus dieser Probe stellten insgesamt 61 % der zugeordneten Sequenzen, somit war dieser Belebtschlamm deutlich diverser. In der Pyrazol-Biologiestufe wurde zum Zeitpunkt der Probenahme kein Pyrazol abgebaut, die aromatischen Stickstoffverbindungen neben dem Pyrazol wurden jedoch zuverlässig abgebaut. Da *O. pentelensis* in der Biologiestufe nicht nachgewiesen werden konnte, könnte dies jedoch ein weiterer Hinweis darauf sein, dass *O. pentelensis* tatsächlich am Abbau von Pyrazol beteiligt ist. Ein anderer Organismus der Gattung *Ottowia* taucht in der Biologiestufe jedoch auf: *Ottowia beijingensis*. Dieser Organismus wurde ebenfalls aus dem Abwasser einer Kokerei isoliert, welches nicht näher spezifiziert wird (CAO et al., 2014). Eine Verbindung zwischen stark mit Aromaten belasteten Abwässern und der Familie *Ottowia* ist also nicht von der Hand zu weisen.

Abschließend lässt sich der biologische Abbau von Pyrazol keinem Organismus genau zuschreiben. Die oben diskutierten Punkte deuten auf *Ottowia pentelensis* als Kandidaten hin, möglicherweise in Kooperation mit einer *Terrimonas* Spezies. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche zur Isolation des Pyrazol-abbauenden Organismus mittels Minimalnährmedien waren erfolglos. Obwohl die Gründe dafür vielfältig sein können, könnte dies auch ein Hinweis darauf sein, dass Pyrazol nicht von einem einzelnen Organismus abgebaut wird.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Die in dieser Arbeit durchgeführten Studien zeigen deutlich, dass Pyrazol entgegen der gängigen Meinung in der Literatur biologisch sehr wohl abbaubar ist. Die erste Arbeitshypothese „Unter den richtigen Bedingungen ist Pyrazol biologisch abbaubar“ wurde bestätigt. In den Versuchen konnte dabei auch ein Pyrazolabbau aus einem Belebtschlamm, der Pyrazol zum Zeitpunkt der Probenahme nicht abbauen konnte, hergeführt werden. Dafür war jedoch viel Zeit erforderlich: 18 bis 30 Tage unter stabilen Bedingungen dauerte es in den Labor-Versuchen, bis sich ein biologischer Pyrazolabbau feststellen ließ. Es hat sich auch gezeigt, dass ein Pyrazol-abbauender Belebtschlamm empfindlich auf Störungen wie Veränderungen der Abwassermatrix oder Schwankungen in der Pyrazol-Schlammbelastung reagiert. Die Organismen im Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm bevorzugen nicht-pyrazolische Kohlenstoffverbindungen. Bei einem Überangebot an Kohlenstoffverbindungen neben Pyrazol werden diese bevorzugt abgebaut und der Pyrazolabbau kommt zum Erliegen. Gleichermäßen wichtig ist die Pyrazol-Belastung des Belebtschlammes. Werden die Organismen im Belebtschlamm zu viel Pyrazol ausgesetzt, führt dies auch zu einem Einbruch der Abbauleistung. In den Versuchen dieser Arbeit zeigte sich ein Grenzwert von $0,04 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ ab dem die Abbauleistung zurückging. Für die Etablierung eines Pyrazol-abbauenden Belebtschlammes muss die Belastung dabei noch geringer ($0,01$ bis $0,015 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$) gehalten werden als im Falle eines etablierten Belebtschlammes. Damit wurde die zweite Hypothese „Die Abbaubarkeit wird von den hydraulischen und biologischen Faktoren, die sich aus dem Kläranlagenbetrieb ergeben beeinflusst“ in Teilen bestätigt. Die hydraulische Verweilzeit spielt keine ausschlaggebende Rolle – Pyrazolabbau ist sowohl bei 100 h als auch 20 h Verweilzeit möglich. Die Belastung ergibt sich u.a. jedoch auch aus den hydraulischen Verhältnissen und ist ein maßgeblicher Faktor.

Der Übergang zur dritten Hypothese „Die Abbaubarkeit wird durch die Abwassermatrix beeinflusst“ ist hier fließend, da die Pyrazolkonzentration sowohl Teil der Abwassermatrix als auch der Schlammbelastung ist. Jedoch sind nicht nur Pyrazol und begleitende Kohlenstoffverbindungen wichtige Punkte der Abwassermatrix. Es konnten keine akuten Hemmstoffe identifiziert werden. Die Versuche haben aber gezeigt, dass der Belebtschlamm auf Nährstoffe wie Magnesium, Kalium oder Natrium angewiesen ist und ein Fehlen dieser Stoffe negative Auswirkungen auf die Abbauleistung hat. Weitere Spurenelemente wie Kupfer und Zink könnten ebenfalls einen Einfluss haben.

Die vierte Hypothese „Ein zuverlässiger Pyrazolabbau ermöglicht eine übergreifend bessere Reinigungsleistung der Kläranlage, da die negativen Auswirkungen des Pyrazols entfallen“ wurde

ebenfalls bestätigt. Kurze Zeit nachdem sich in den Versuchen ein stabiler und leistungsfähiger Pyrazolabbau einstellte, fand auch eine Nitrifikation statt. Die Hemmwirkung von Pyrazol auf die Nitrifikation ist also reversibel. Mit der gezielten Behandlung und nahezu vollständigem Abbau von Pyrazol wird es in den nachgeschalteten Belebungsstufen möglich, dass sich eine Nitrifikation etablieren und das Abwasser so von Ammonium-Stickstoff befreit werden kann. Auch die fünfte Hypothese „Der biologische Abbau von Pyrazol kann nur mit Hilfe eines spezialisierten Belebtschlammes erfolgen“ wurde bestätigt. Die Biozöosen zweier Belebtschlämme wurden verglichen. Eine Probe stammte dabei aus einem Laborversuch, in dem Pyrazol biologisch abgebaut werden konnte, die andere Probe stammte aus der Pyrazol-Biologiestufe, in der der Belebtschlamm Pyrazol zwar ausgesetzt war, den Stoff jedoch nicht abbauen konnte. In diesem Vergleich wurde ein erheblicher Unterschied zwischen den Belebtschlamm-biozöosen festgestellt. Der Pyrazol-abbauende Belebtschlamm ist spezialisierter und weniger divers als der Belebtschlamm, der zwar permanent mit Pyrazol belastet wird, Pyrazol jedoch nicht abbaut. *O. pentelensis* kommt als Kandidat für den biologischen Pyrazolabbau in Frage, möglicherweise in Kooperation mit einer unbeschriebenen *Terrimonas* Spezies.

Die Umsetzung der in dieser Arbeit erlangten Erkenntnisse sorgte in der großtechnischen Pyrazol-Biologiestufe dafür, dass der biologische Pyrazolabbau wieder einsetzte. Durch Verbesserungen der Abwasservorbehandlung der Produktionsbetriebe sowie durch eine hydraulische Entlastung der Biologiestufe durch die Bypass-Leitung konnte die Pyrazol-Schlammbelastung auf $0,01 \text{ kg}_{\text{Pyrazol}}/\text{kg}_{\text{TS}} \cdot \text{d}$ gesenkt werden. Einen weiteren Beitrag zur Senkung dieser Belastung lieferte die regelmäßige Übernahme von Überschussschlamm einer anderen Kläranlage, um Biomasse bereitzustellen. Zusätzlich lieferte dieser Überschussschlamm Ionen und Spurenelemente für die Organismen im Belebtschlamm. Durch diese Maßnahmen konnte erreicht werden, dass der biologische Abbau von Pyrazol auf bis zu 413 kg/d zum Ende des Beobachtungszeitraums anstieg.

Für weitere Forschungsvorhaben ist besonders interessant, welche Organismen für den Abbau von Pyrazol verantwortlich sind. Mit Hilfe von Minimalnährmedien konnte der Organismus in dieser Arbeit nicht isoliert werden. Hier könnte angesetzt werden, indem genaues Augenmerk auf die Zusammensetzung der Nährmedien hinsichtlich der Spurenelemente gelegt wird. Die Analyse aus Tabelle 6-16 könnten dabei als Referenz dienen. Ein anderer, jedoch sehr kostenintensiver Ansatz wäre, isotopenmarkiertes Pyrazol einzusetzen. Eine Markierung der Kohlenstoffatome könnte dazu führen, dass diese schwereren Atome über den Stoffwechsel in

die DNA integriert würden. Die markierte DNA ließe sich aufgrund des Dichteunterschieds von der DNA der irrelevanten Organismen trennen. In Bezug auf den Stoffwechsel ist ebenfalls sehr interessant auszuleuchten, wie Pyrazol überhaupt abgebaut wird und welche Enzyme und Prozesse dabei beteiligt sind. Diese Erkenntnis könnte auch die Stellen aufdecken, die den biologischen Abbau von Pyrazol so empfindlich machen, sodass solche nachteiligen Zustände vermieden würden.

Ebenfalls von großem Interesse ist, welche Abwasser- und/oder Überschussschlammströme in Betracht kommen könnten, mit denen der Nährstoffmangel im ACN-Abwasser ausgeglichen werden könnte. Das Verschneiden mehrerer Ströme zu einer Zulaufsituation, die optimale Wachstumsbedingungen für einen Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm bietet, wäre eine kostengünstige und nachhaltigere Option als der Zukauf von Einzelsubstanzen. Dabei muss jedoch immer die Calcium-Oxalat Problematik in der Ozonanlage beachtet werden. Weiterhin ist die Idee eines kontinuierlich betriebenen Belebtschlamm-Zuchtreaktors im halbertechnischen Maßstab interessant. Es wurde gezeigt, dass der Pyrazol-abbauende Belebtschlamm sehr empfindlich ist. Störungen in der Abwasserqualität lassen sich in chemischen Produktionsbetrieben jedoch nie ganz ausschließen. Mittels eines kontinuierlich laufenden Zuchtreaktors, dessen Zulauf genau kontrolliert und justiert werden würde, wäre es möglich, permanent einen Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm zur Verfügung zu haben und damit die großtechnische Anlage im Falle einer Störung wieder anzupfen zu können.

Literatur

Arienzo, M. *et al.* (2009) 'A review of the fate of potassium in the soil–plant system after land application of wastewaters', *Journal of Hazardous Materials*, 164(2–3), pp. 415–422. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.08.095.

Bi, E., Schmidt, T.C. and Haderlein, S.B. (2006) 'Sorption of Heterocyclic Organic Compounds to Reference Soils: Column Studies for Process Identification', *Environmental Science & Technology*, 40(19), pp. 5962–5970. doi:10.1021/es060470e.

Burgess, J.E., Quarmby, J. and Stephenson, T. (1999) 'Micronutrient Supplements to Enhance Biological Wastewater Treatment of Phosphorus-Limited Industrial Effluent', *Process Safety and Environmental Protection*, 77(4), pp. 199–204. doi:10.1205/095758299530071.

Cao, J. *et al.* (2014) 'Ottowia beijingensis sp. nov., isolated from coking wastewater activated sludge, and emended description of the genus *Ottowia*', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt_3), pp. 963–967. doi:10.1099/ij.s.0.054015-0.

Ceretta, M.B., Nercessian, D. and Wolski, E.A. (2021) 'Current Trends on Role of Biological Treatment in Integrated Treatment Technologies of Textile Wastewater', *Frontiers in Microbiology*, 12, p. 651025. doi:10.3389/fmicb.2021.651025.

Cespi, D. *et al.* (2014) 'Life Cycle Assessment comparison of two ways for acrylonitrile production: the SOHIO process and an alternative route using propane', *Journal of Cleaner Production*, 69, pp. 17–25. doi:10.1016/j.jclepro.2014.01.057.

Colby, J., Stirling, D.I. and Dalton, H. (1977) 'The soluble methane mono-oxygenase of *Methylococcus capsulatus* (Bath). Its ability to oxygenate n-alkanes, n-alkenes, ethers, and alicyclic, aromatic and heterocyclic compounds', *Biochemical Journal*, 165(2), pp. 395–402. doi:10.1042/bj1650395.

Collivignarelli, M.C. *et al.* (2017) 'Sewage sludge treatment in a thermophilic membrane reactor (TMR): factors affecting foam formation', *Environmental Science and Pollution Research*, 24(3), pp. 2316–2325. doi:10.1007/s11356-016-7983-4.

Collivignarelli, M.C. *et al.* (2020) 'Foams in Wastewater Treatment Plants: From Causes to Control Methods', *Applied Sciences*, 10(8), p. 2716. doi:10.3390/app10082716.

Cypionka, H. (2010) *Grundlagen der Mikrobiologie*. 4., überarb. und aktualisierte Aufl. Berlin Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch). doi:10.1007/978-3-642-05096-1.

Dai, Y. *et al.* (2015) 'Sequential shape-selective adsorption and photocatalytic transformation of acrylonitrile production wastewater', *Water Research*, 85, pp. 216–225. doi:10.1016/j.watres.2015.08.034.

Daims, H. *et al.* (2015) 'Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria', *Nature*, 528(7583), pp. 504–509. doi:10.1038/nature16461.

Denecke, M., Moesgen, L. and Stubbe, D. (2017) 'Abschlussbericht: Untersuchungen zum biologischen Abbau von Pyrazol und Monitoring biologischer Parameter einer Abwasserbehandlungsstufe der INEOS Köln GmbH'.

Di Bella, G. and Torregrossa, M. (2013) 'Foaming in membrane bioreactors: Identification of the causes', *Journal of Environmental Management*, 128, pp. 453–461. doi:10.1016/j.jenvman.2013.05.036.

- Díaz, E., Jiménez, J.I. and Nogales, J. (2013) 'Aerobic degradation of aromatic compounds', *Current Opinion in Biotechnology*, 24(3), pp. 431–442. doi:10.1016/j.copbio.2012.10.010.
- Dibrova, D.V. *et al.* (2015) 'Ancient systems of sodium/potassium homeostasis as predecessors of membrane bioenergetics', *Biochemistry (Moscow)*, 80(5), pp. 495–516. doi:10.1134/S0006297915050016.
- Dimian, A.C. and Bildea, C.S. (2008) *Chemical Process Design*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. doi:10.1002/9783527621583.
- Dimroth, P. (1990) 'Mechanisms of sodium transport in bacteria', *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 326(1236), pp. 465–477. doi:10.1098/rstb.1990.0025.
- Ehlers, G.A.C. and Turner, S.J. (2013) 'Strong selection pressures impact the capacity of flocculating activated sludge bacteria to granulate', *Water Science and Technology*, 67(8), pp. 1678–1687. doi:10.2166/wst.2013.039.
- Felföldi, T. *et al.* (2011) 'Ottowia pentelensis sp. nov., a floc-forming betaproteobacterium isolated from an activated sludge system treating coke plant effluent', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(9), pp. 2146–2150. doi:10.1099/ij.s.0.020818-0.
- Felföldi, T. *et al.* (2020) 'Biological treatment of coke plant effluents: from a microbiological perspective', *Biologia Futura*, 71(4), pp. 359–370. doi:10.1007/s42977-020-00028-2.
- Fetzner, S. (1998) 'Bacterial degradation of pyridine, indole, quinoline, and their derivatives under different redox conditions', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49(3), pp. 237–250. doi:10.1007/s002530051164.
- Fetzner, S. (2000) 'Enzymes Involved in the Aerobic Bacterial Degradation of N -Heteroaromatic Compounds: Molybdenum Hydroxylases and Ring-Opening 2,4-Dioxygenases', *Naturwissenschaften*, 87(2), pp. 59–69. doi:10.1007/s001140050011.
- Fredriksson, N., Hermansson, M. and Wilén, B.-M. (2012) 'Diversity and dynamics of Archaea in an activated sludge wastewater treatment plant', *BMC Microbiology*, 12(1), p. 140. doi:10.1186/1471-2180-12-140.
- Fuchs, G., Boll, M. and Heider, J. (2011) 'Microbial degradation of aromatic compounds — from one strategy to four', *Nature Reviews Microbiology*, 9(11), pp. 803–816. doi:10.1038/nrmicro2652.
- Gerardi, M.H. (2006) *Wastewater bacteria*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience (Wastewater microbiology series). Glaze, W.H., Kang, J.-W. and Chapin, D.H. (1987) 'The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation', *Ozone: Science & Engineering*, 9(4), pp. 335–352. doi:10.1080/01919518708552148.
- Gernaey, K.V. and Sin, G. (2008) 'Wastewater Treatment Models', in *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier, pp. 3707–3718. doi:10.1016/B978-008045405-4.00828-4.
- Glaze, W.H., Kang, J.-W. and Chapin, D.H. (1987) 'The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation', *Ozone: Science & Engineering*, 9(4), pp. 335–352. doi:10.1080/01919518708552148.
- Grasselli, R.K. (2014) 'Site isolation and phase cooperation: Two important concepts in selective oxidation catalysis: A retrospective', *Catalysis Today*, 238, pp. 10–27. doi:10.1016/j.cattod.2014.05.036.

- Grasselli, R.K. and Trifirò, F. (2016) 'Acrylonitrile from Biomass: Still Far from Being a Sustainable Process', *Topics in Catalysis*, 59(17–18), pp. 1651–1658. doi:10.1007/s11244-016-0679-7.
- Grau, P. (1991) 'Criteria for Nutrient-Balanced Operation of Activated Sludge Process', *Water Science and Technology*, 24(3–4), pp. 251–258. doi:10.2166/wst.1991.0481.
- Gray, N.F. (1984) 'The effect of fungal parasitism and predation on the population dynamics of nematodes in the activated sludge process', *Annals of Applied Biology*, 104(1), pp. 143–149. doi:10.1111/j.1744-7348.1984.tb05596.x.
- Gulnaz, O. (2004) 'Sorption of basic dyes from aqueous solution by activated sludge', *Journal of Hazardous Materials*, 108(3), pp. 183–188. doi:10.1016/j.jhazmat.2004.02.012.
- Gupta, N., O'Loughlin, E.J. and Sims, G.K. (2019) 'Microbial Degradation of Pyridine and Pyridine Derivatives', in Arora, P.K. (ed.) *Microbial Metabolism of Xenobiotic Compounds*. Singapore: Springer Singapore (Microorganisms for Sustainability), pp. 1–31. doi:10.1007/978-981-13-7462-3_1.
- Hamann, A. (2011) *Abwasserreinigung: Umweltrechtliche und verfahrenstechnische Betrachtung Praxishilfen zur Anwendung wasserrechtlicher Vorschriften und zur verfahrenstechnischen Optimierung einer Kaskadendenitrifikation*. München: Deutscher Industrieverlag. Available at: <https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:101:1-201509091736> (Accessed: 20 July 2021).
- He, Z. et al. (2015) 'Trehalose promotes Rhodococcus sp. strain YYL colonization in activated sludge under tetrahydrofuran (THF) stress', *Frontiers in Microbiology*, 6. doi:10.3389/fmicb.2015.00438.
- Herwig, J., Stüwe, A. and Grub, J. (1992) 'Verfahren zur Reinigung von Acrylnitril-Abwasser'. Köln.
- Hunold, A. (2019) 'Über die Rieske Nicht-Hämeisen Oxygenasen aus Phenyllobacterium immobile Stamm E'. doi:10.18419/OPUS-10779.
- ISO 9509:2006-07 (2006) *Water Quality Toxicity test for assessing the inhibition of nitrification of activated sludge microorganisms*. Available at: <https://www.iso.org/standard/34812.html>.
- Jiang, W.-K. et al. (2018) 'Terrimonas soli sp. nov., isolated from farmland soil', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(3), pp. 819–823. doi:10.1099/ijsem.0.002590.
- Jiang, Y. et al. (2021) 'Stochasticity versus determinism: Microbial community assembly patterns under specific conditions in petrochemical activated sludge', *Journal of Hazardous Materials*, 407, p. 124372. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.124372.
- Jordan, J.V. and Anderson, G.R. (1950) 'EFFECT OF BORON ON NITROGEN FIXATION BY AZOTOBACTER', *Soil Science*, 69(4), pp. 311–320. doi:10.1097/00010694-195004000-00006.
- Kaiser, J.P., Feng, Y. and Bollag, J.M. (1996) 'Microbial metabolism of pyridine, quinoline, acridine, and their derivatives under aerobic and anaerobic conditions', *Microbiological Reviews*, 60(3), pp. 483–498. doi:10.1128/mr.60.3.483-498.1996.
- Kölle, W. (2017) *Wasseranalysen – richtig beurteilt: Grundlagen, Parameter, Wassertypen, Inhaltsstoffe*. 1st edn. Wiley. doi:10.1002/9783527807871.
- Labunskyy, V.M., Hatfield, D.L. and Gladyshev, V.N. (2014) 'Selenoproteins: Molecular Pathways and Physiological Roles', *Physiological Reviews*, 94(3), pp. 739–777. doi:10.1152/physrev.00039.2013.

- Ladino-Orjuela, G. *et al.* (2016) 'Metabolic Pathways for Degradation of Aromatic Hydrocarbons by Bacteria', in de Voogt, W.P. (ed.) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 237*. Cham: Springer International Publishing (Reviews of Environmental Contamination and Toxicology), pp. 105–121. doi:10.1007/978-3-319-23573-8_5.
- van Leeuwen, J. (Hans) *et al.* (2009) 'Improving the Biodegradation of Organic Pollutants with Ozonation during Biological Wastewater Treatment', *Ozone: Science & Engineering*, 31(2), pp. 63–70. doi:10.1080/01919510802668380.
- Lemoine, F. *et al.* (2019) 'NGPhylogeny.fr: new generation phylogenetic services for non-specialists', *Nucleic Acids Research*, 47(W1), pp. W260–W265. doi:10.1093/nar/gkz303.
- Li, G. *et al.* (2020) 'Diazole and triazole inhibition of nitrification process in return activated sludge', *Chemosphere*, 241, p. 124993. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.124993.
- Li, Y. *et al.* (2001) 'Anoxic degradation of nitrogenous heterocyclic compounds by acclimated activated sludge', *Process Biochemistry*, 37(1), pp. 81–86. doi:10.1016/S0032-9592(01)00176-5.
- Li, Y. *et al.* (2006) 'Effects of Nutrient Addition on Phenol Biodegradation Rate in Biofilm Reactors for Hypersaline Wastewater Treatment', *Environmental Technology*, 27(5), pp. 511–520. doi:10.1080/09593332808618662.
- Li, Y.M. *et al.* (2003) 'Treatment of coke-plant wastewater by biofilm systems for removal of organic compounds and nitrogen', *Chemosphere*, 52(6), pp. 997–1005. doi:10.1016/S0045-6535(03)00287-X.
- Liang, Z. *et al.* (2010) 'Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge', *Chemosphere*, 81(5), pp. 626–632. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.03.043.
- Löffler, G., Petrides, P.E. and Heinrich, P.C. (eds) (2007) *Biochemie und Pathobiochemie*. 8., völlig neu bearb. Aufl. Heidelberg: Springer-Medizin-Verl (Springer-Lehrbuch).
- Lowenbach, W., Schlesinger, J. and King, J. (1978) *Toxic Pollutant Identification: Acrylonitrile Manufacturing*. Washington: U.S. Environmental Protection Agency (EPA - IMPQE).
- MacLeod, R.A. *et al.* (1958) 'OBSERVATIONS ON THE FUNCTION OF SODIUM IN THE METABOLISM OF A MARINE BACTERIUM', *Journal of Biological Chemistry*, 232(2), pp. 829–834. doi:10.1016/S0021-9258(19)77401-8.
- McCarty, G.W. and Bremner, J.M. (1989) 'Inhibition of nitrification in soil by heterocyclic nitrogen compounds', *Biology and Fertility of Soils*, 8(3). doi:10.1007/BF00266480.
- Melin, T. and Rautenbach, R. (2007) *Membranverfahren: Grundlagen der Modul- und Anlagenauslegung*. 3., aktualisierte und erw. Aufl. Berlin ; New York: Springer (Chemische Technik/Verfahrenstechnik).
- Merck KGaA (2020a) *Sicherheitsdatenblatt gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006: Pyrazol*. Version 6.1.
- Merck KGaA (2020b) *Sicherheitsdatenblatt gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006: Pyrazol zur Synthese*. Version 6.8.
- Mery-Araya, C. *et al.* (2019) 'Using carbon substrate as a selection pressure to enhance the potential of aerobic granular sludge microbial communities for removing contaminants of emerging concern', *Bioresource Technology*, 290, p. 121705. doi:10.1016/j.biortech.2019.121705.

- Meyer-Dombard, D.R., Shock, E.L. and Amend, J.P. (2012) 'Effects of trace element concentrations on culturing thermophiles', *Extremophiles*, 16(2), pp. 317–331. doi:10.1007/s00792-012-0432-5.
- Miwa, H. and Fujiwara, T. (2009) 'Isolation and identification of boron-accumulating bacteria from contaminated soils and active sludge', *Soil Science and Plant Nutrition*, 55(5), pp. 643–646. doi:10.1111/j.1747-0765.2009.00402.x.
- Mortimer, C.E. and Müller, U. (2007) *Chemie: das Basiswissen der Chemie; ... 126 Tabellen*. 9., überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme.
- Mudrack, K. and Kunst, S. (2010) *Biologie der Abwasserreinigung: 18 Tabellen*. 5., vollständig überarb. und erw. Aufl., unveränd. Nachdr. Heidelberg: Spektrum, Akad. Verl.
- Na, C. et al. (2016) 'Evaluation of the detoxication efficiencies for acrylonitrile wastewater treated by a combined anaerobic oxic-aerobic biological fluidized tank (A/O-ABFT) process: Acute toxicity and zebrafish embryo toxicity', *Chemosphere*, 154, pp. 1–7. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.03.037.
- Naim, M. et al. (2016) 'Current status of pyrazole and its biological activities', *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 8(1), p. 2. doi:10.4103/0975-7406.171694.
- Nancharaiyah, Y.V. and Lens, P.N.L. (2015) 'Ecology and Biotechnology of Selenium-Respiring Bacteria', *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(1), pp. 61–80. doi:10.1128/MMBR.00037-14.
- Niu, L. et al. (2017) 'Ignored fungal community in activated sludge wastewater treatment plants: diversity and altitudinal characteristics', *Environmental Science and Pollution Research*, 24(4), pp. 4185–4193. doi:10.1007/s11356-016-8137-4.
- Pagga, U., Bachner, J. and Strotmann, U. (2006) 'Inhibition of nitrification in laboratory tests and model wastewater treatment plants', *Chemosphere*, 65(1), pp. 1–8. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.03.021.
- Park, H.-D., Chang, I.-S. and Lee, K.-J. (2015) *Principles of membrane bioreactors for wastewater treatment*. Boca Raton London New York: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Pérez-Pantoja, D., González, B. and Pieper, D.H. (2010) 'Aerobic Degradation of Aromatic Hydrocarbons', in Timmis, K.N. (ed.) *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 799–837. doi:10.1007/978-3-540-77587-4_60.
- Pors Nielsen, S. (2004) 'The biological role of strontium', *Bone*, 35(3), pp. 583–588. doi:10.1016/j.bone.2004.04.026.
- Reineke, W. and Schlömann, M. (2020) *Umweltmikrobiologie*. 3. Auflage. Berlin: Springer Spektrum. doi:10.1007/978-3-662-59655-5.
- Riffat, R. (2013) *Fundamentals of wastewater treatment and engineering*. Boca Raton, FL; London: CRC Press; Co-published by IWA Publishing. Available at: <http://www.crcnetbase.com/isbn/9780203815717> (Accessed: 22 August 2021).
- Rodríguez-Pérez, H., Ciuffreda, L. and Flores, C. (2020) *NanoCLUST: a species-level analysis of 16S rRNA nanopore sequencing data*. preprint. Bioinformatics. doi:10.1101/2020.05.14.087353.
- Sayin, Z., Ucan, U.S. and Sakmanoglu, A. (2016) 'Antibacterial and Antibiofilm Effects of Boron on Different Bacteria', *Biological Trace Element Research*, 173(1), pp. 241–246. doi:10.1007/s12011-016-0637-z.

- Schindler-Wildhaber, Y. *et al.* (2015) 'Novel test procedure to evaluate the treatability of wastewater with ozone', *Water Research*, 75, pp. 324–335. doi:10.1016/j.watres.2015.02.030.
- Seviour, R.J. and Nielsen, P.H. (eds) (2010) *Microbial ecology of activated sludge*. New ed. London: IWA Publishing.
- Sguanci, S. *et al.* (2019) 'Long-term stability of aerobic granular sludge for the treatment of very low-strength real domestic wastewater', *Journal of Cleaner Production*, 222, pp. 882–890. doi:10.1016/j.jclepro.2019.03.061.
- Sheng, G.-P., Yu, H.-Q. and Li, X.-Y. (2010) 'Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review', *Biotechnology Advances*, 28(6), pp. 882–894. doi:10.1016/j.biotechadv.2010.08.001.
- Sperling, M. von (2007) *Basic principles of wastewater treatment*. London: IWA Publ. [u.a.] (Biological wastewater treatment series, 2).
- Stalter, D., Magdeburg, A. and Oehlmann, J. (2010) 'Comparative toxicity assessment of ozone and activated carbon treated sewage effluents using an in vivo test battery', *Water Research*, 44(8), pp. 2610–2620. doi:10.1016/j.watres.2010.01.023.
- Steinbüchel, A., Oppermann-Sanio, F.B. and Ewering, C. (2011) *Mikrobiologisches Praktikum: Versuche und Theorie; mit 106 Tabellen*. Nachdr., Studienausg. Berlin: Springer (Springer-Lehrbuch).
- Sui, X. *et al.* (2020) 'Enhancing glutaric acid production in *Escherichia coli* by uptake of malonic acid', *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 47(3), pp. 311–318. doi:10.1007/s10295-020-02268-6.
- Suryawati, B. (2018) 'Zinc homeostasis mechanism and its role in bacterial virulence capacity', in: *THE 8TH ANNUAL BASIC SCIENCE INTERNATIONAL CONFERENCE: Coverage of Basic Sciences toward the World's Sustainability Challenges*, East Java, Indonesia, p. 070021. doi:10.1063/1.5062819.
- Tao, Y. *et al.* (2004) 'Oxidation of Benzene to Phenol, Catechol, and 1,2,3-Trihydroxybenzene by Toluene 4-Monooxygenase of *Pseudomonas mendocina* KR1 and Toluene 3-Monooxygenase of *Ralstonia pickettii* PKO1', *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7), pp. 3814–3820. doi:10.1128/AEM.70.7.3814-3820.2004.
- Tekle-Röttering, A. *et al.* (2020) 'Reactions of pyrrole, imidazole, and pyrazole with ozone: kinetics and mechanisms', *Environmental Science: Water Research & Technology*, 6(4), pp. 976–992. doi:10.1039/C9EW01078E.
- Umweltbundesamt (2017) 'Bundesanzeiger vom 10. August 2017'. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz.
- UN General Assembly (2010) 'Resolution adopted by the General Assembly on 28 July 2010: 64/292 The human right to water and sanitation'. UN General Assembly Resolutions. Available at: <https://archive.unescwa.org/human-right-water-and-sanitation> (Accessed: 29 November 2021).
- Urlacher, V.B. and Schmid, R.D. (2006) 'Recent advances in oxygenase-catalyzed biotransformations', *Current Opinion in Chemical Biology*, 10(2), pp. 156–161. doi:10.1016/j.cbpa.2006.02.001.

Vanrolleghem, P.A. (2002) *Principles of Respirometry in Activated Sludge Wastewater Treatment*. Gent, Belgium: Universiteit Gent.

Vogt, C., Kleinsteuber, S. and Richnow, H.-H. (2011) 'Anaerobic benzene degradation by bacteria: Anaerobic benzene degradation by bacteria', *Microbial Biotechnology*, 4(6), pp. 710–724. doi:10.1111/j.1751-7915.2011.00260.x.

Wild and Jones (2013) *Organic Contaminants in the Environment Environmental Pathways & Effects (Chapter 4)*. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-94-009-4329-2> (Accessed: 6 January 2021).

Wilén, B.-M. *et al.* (2008) 'Microbial community structure in activated sludge floc analysed by fluorescence in situ hybridization and its relation to floc stability', *Water Research*, 42(8–9), pp. 2300–2308. doi:10.1016/j.watres.2007.12.013.

Wyatt, J.M. and Knowles, C.J. (1995) 'The development of a novel strategy for the microbial treatment of acrylonitrile effluents', *Biodegradation*, 6(2), pp. 93–107. doi:10.1007/BF00695340.

Zeeck, A. *et al.* (eds) (2005) *Chemie für Mediziner*. 6., völlig überarb. Aufl., [Nachdr.]. München Jena: Elsevier, Urban & Fischer.

Zefirov, N.S. *et al.* (1994) 'Degradation of pyridine by *Arthrobacter crystallopoietes* and *Rhodococcus opocus* strains', *FEMS Microbiology Letters*, 118(1–2), pp. 71–74. doi:10.1111/j.1574-6968.1994.tb06805.x.

Zhang, P. *et al.* (2010) 'Understanding short-chain fatty acids accumulation enhanced in waste activated sludge alkaline fermentation: kinetics and microbiology', *Environmental Science & Technology*, 44(24), pp. 9343–9348. doi:10.1021/es102878m.

Zhang, Q. *et al.* (2019) 'Fructose as an additional co-metabolite promotes refractory dye degradation: Performance and mechanism', *Bioresource Technology*, 280, pp. 430–440. doi:10.1016/j.biortech.2019.02.046.

Zhao, J.-K. *et al.* (2016) 'Reconstruction of metabolic networks in a fluoranthene-degrading enrichments from polycyclic aromatic hydrocarbon polluted soil', *Journal of Hazardous Materials*, 318, pp. 90–98. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.06.055.

Zhao, X. *et al.* (2018) 'Removal of polyacrylate in aqueous solution by activated sludge: Characteristics and mechanisms', *Journal of Cleaner Production*, 178, pp. 59–66. doi:10.1016/j.jclepro.2017.12.215.

Zheng, C. *et al.* (2017) 'Isolation of a 2-picolinic acid-assimilating bacterium and its proposed degradation pathway', *Bioresource Technology*, 245, pp. 681–688. doi:10.1016/j.biortech.2017.09.031.

Zhou, N.-Y. *et al.* (1999) 'The Alkene Monooxygenase from *Xanthobacter* Strain Py2 Is Closely Related to Aromatic Monooxygenases and Catalyzes Aromatic Monohydroxylation of Benzene, Toluene, and Phenol', *Applied and Environmental Microbiology*, 65(4), pp. 1589–1595. doi:10.1128/AEM.65.4.1589-1595.1999.

Anhang

Calcium-Oxalat Ablagerungen auf dem Kreisrad einer Pumpe der Ozonanlage:**Verwendete Chemikalien:**

Chemikalie	Hersteller
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \geq 98 \%$	Fisher Scientific GmbH, Schwerte
$\text{H}_3\text{PO}_4 \geq 99 \%$ EMSURE®	Merck KGaA, Darmstadt
Methanol $\geq 99,8 \%$	VWR International GmbH Darmstadt
CaCl_2 90-98 % TECHNICAL	VWR International GmbH Darmstadt
$\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} \geq 99 \%$	VWR International GmbH Darmstadt
$\text{Na}_2\text{SO}_4 \geq 99 \%$	Merck KGaA, Darmstadt
$\text{NH}_4\text{Cl} \geq 99,5 \%$	VWR International GmbH Darmstadt

Genetische Untersuchungen:

Spezies im Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm	Häufigkeit in %
<i>Terrimonas spec.</i> (GU454926)	45,4
<i>Ottowia pentelensis</i>	20,5
<i>Xanthomonas anoxonopodis</i>	7,1
<i>Flavitalea populi</i>	2,6
<i>Comamonas granuli</i>	1,9
<i>Curvibacter delicatus</i>	1,8
<i>Rhodanobacter lindaniclasticus</i>	1,7
<i>Terrimonas pekingensis</i>	1,3
<i>Hydrogenophaga intermedia</i>	1,3
<i>Piscinibacter aquaticus</i>	1,2
<i>Hydrogenophaga laconesensis</i>	1,1
<i>Xenophilus azovorans</i>	1,0
<i>Alicyclophilus denitrificans</i>	1,0
<i>Thermomonas fusca</i>	0,9
<i>Dokdonella immobilis</i>	0,8
<i>Tahibacter aquaticus</i>	0,8
<i>Chujaibacter soli</i>	0,8
<i>Nitrosomonas eutropha</i>	0,6
<i>Pseudoxanthomonas helianthi</i>	0,6
<i>Flavitalea flava</i>	0,4
<i>Pedobacter mongoliensis</i>	0,4
<i>Caldanaerobacter subterraneus</i>	0,4
<i>Solitaea koreensis</i>	0,3
<i>Rhizobacter dauci</i>	0,3
<i>Flavitalea gansuensis</i>	0,3
<i>Nitrobacter hamburgensis</i>	0,3
<i>Flaviaesturariibacter luteus</i>	0,3
<i>Cavicella subterranea</i>	0,3
<i>Nitrosospira multiformis</i>	0,3
<i>Stenotrophobacter terrae</i>	0,3
<i>Mesorhizobium australicum</i>	0,2
<i>Ferruginibacter alkalilentus</i>	0,2
<i>Caulobacter mirabilis</i>	0,2
<i>Caballeronia jiangsuensis</i>	0,2
<i>Povalibacter uvarum</i>	0,2
<i>Haliscomenobacter hydrossis</i>	0,2
<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i>	0,2
<i>Anaeromyxobacter dehalogenans</i>	0,2
<i>Quisquiliibacterium transsilvanicum</i>	0,2
<i>Devosia insulae</i>	0,2
<i>Castellaniella denitrificans</i>	0,1
<i>Nautilia profundicola</i>	0,1
<i>Mesorhizobium amorphae</i>	0,1
<i>Rhodoferax saidenbachensis</i>	0,1
<i>Gloeobacter kilaeensis</i>	0,1
<i>Cohnella fontinalis</i>	0,1
<i>Shinella yambaruensis</i>	0,1
<i>Gloeobacter violaceus</i>	0,1
<i>Prostheco bacter fluviatilis</i>	0,1
<i>Paludibaculum fermentans</i>	0,1
<i>Schlesneria paludicola</i>	0,1
<i>Pleomorphomonas oryzae</i>	0,1
<i>Devosia honganensis</i>	0,1
<i>Brevundimonas nasdae</i>	0,1
<i>Sediminibacterium roseum</i>	0,1
<i>Sorangium cellulosum</i>	0,1
<i>Zhizhongheella caldifontis</i>	0,1

Spezies im nicht-Pyrazol-abbauenden Belebtschlamm	Häufigkeit in %
EU104160 (Saprosiraceae)	13,2
<i>Truepera</i> spec. (FN436135)	11,5
<i>Ottowia beijingensis</i>	10,0
<i>Alicyclophilus denitrificans</i>	10,0
<i>Comamonas phosphati</i>	8,8
<i>Flavitalea flava</i>	7,7
<i>Xenophilus azovorans</i>	6,4
<i>Parapusillimonas granuli</i>	4,5
<i>Hydrogenophaga laconesensis</i>	3,1
<i>Comamonas granuli</i>	2,9
<i>Zhizhongheella caldifontis</i>	1,7
<i>Aquamicrobium lusatiense</i>	1,6
<i>Acidovorax wautersii</i>	1,3
<i>Pusillimonas noertemannii</i>	1,2
<i>Leadbetterella byssophila</i>	1,1
<i>Edaphobaculum flavum</i>	1,1
<i>Wandonia haliotis</i>	1,0
<i>Chiayiivirga flava</i>	0,8
<i>Paludibaculum fermentans</i>	0,8
<i>Quisquiliibacterium transsilvanicum</i>	0,8
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1,0
<i>Nitrobacter hamburgensis</i>	0,9
<i>Aquamicrobium terrae</i>	0,6
<i>Labilithrix luteola</i>	0,6
<i>Pseudochelatococcus lubricantis</i>	0,3
<i>Shinella yambaruensis</i>	0,3
<i>Flavisolibacter aluminii</i>	0,3
<i>Oligotropha carboxidovorans</i>	0,3
<i>Methylococcus capsulatus</i>	0,3
<i>Chthonomonas calidirosea</i>	0,2
<i>Sporomusa paucivorans</i>	0,2
<i>Racemicystis persica</i>	0,2
<i>Ideonella sakaiensis</i>	0,2
<i>Dokdonella ginsengisoli</i>	0,2
<i>Devosia honganensis</i>	0,3
<i>Leucobacter weissii</i>	0,2
<i>Nitratireductor lucknowense</i>	0,2
<i>Ottowia thiooxydans</i>	0,2
<i>Paracoccus versutus</i>	0,1
<i>Brevundimonas olei</i>	0,1
<i>Roseomonas oryzoicola</i>	0,1
<i>Chelatococcus composti</i>	0,1
<i>Gemmatimonas phototrophica</i>	0,1
<i>Lacisediminimonas profundus</i>	0,1
<i>Fluviicola taffensis</i>	0,1
<i>Diaphorobacter nitroreducens</i>	0,1
<i>Pseudogemmobacter bohemicus</i>	0,1
<i>Owenweeksia hongkongensis</i>	0,1
<i>Terrimonas ferruginea</i>	0,1
<i>Heliimonas saccharivorans</i>	0,1
<i>Alcaligenes endophyticus</i>	0,8
<i>Mucilaginibacter jinjuensis</i>	0,4
<i>Novosphingobium endophyticum</i>	0,2
<i>Castellaniella denitrificans</i>	0,2
<i>Terrimonas pekingensis</i>	0,2
<i>Fimbriimonas ginsengisoli</i>	0,1
<i>Sphingobium xanthum</i>	0,1