

Bewilligungsempfänger

MaxFlow Membran Filtration GmbH (MMF)

**Entwicklung einer umweltschonenden Technologie in der  
Aquakultur zur Entnahme von Stickstoff und Mikropartikeln in  
Kreislaufanlagen**

Abschlussbericht

Kooperationspartner

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

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

Aqua Schwarz GmbH, Aquarien- und Anlagenbau (AS)

Fischzucht Rhönforelle GmbH & Co. KG (RF)

Verfasser: Angela Boley, Julia Bauer, Karl Könecke, Adrian Basilico,  
W.-R. Müller, Dieter Steinhagen, Steffen Richter

Stuttgart, August 2019

Gefördert durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt

AZ: 33384/01

Projektlaufzeit

01.10.2016 - 30.06.2019





**Projektkennblatt**  
der  
**Deutschen Bundesstiftung Umwelt**



Az	<b>33384/01</b>	Referat	<b>23</b>	Fördersumme	<b>251.795 €</b>
<b>Antragstitel</b>	<b>Entwicklung einer umweltschonenden Technologie in der Aquakultur zur Entnahme von Stickstoff und Mikropartikeln in Kreislaufanlagen</b>				
<b>Stichworte</b>	Aquakultur, Fischzucht, Verfahren, Abwasser, Ernährung, Filter, Stickstoff, Tier, Wasser, Membran				
Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)		
<b>12 Monate</b>	<b>01.10.2016</b>	<b>30.06.2019</b>	<b>1</b>		
Zwischenberichte	Juli 2018				
<b>Bewilligungsempfänger</b>	MMF MaxFlow Membran Filtration GmbH Herrn Steffen Richter Boschstr. 5 48369 Saerbeck			Tel	02574-8875-8260
				Fax	02574-8875-8261
				Projektleitung	Steffen Richter
				Bearbeiter	Steffen Richter
<b>Kooperationspartner</b>	Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte und Abfallwirtschaft (ISWA) Zentrum für Infektionsmedizin, Abteilung Fischkrankheiten und Fischhaltung Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (TIHO) Aqua Schwarz GmbH, Aquarien- und Anlagenbau (AS) Fischzucht Rhönforelle GmbH & Co. KG (RF)				

### **Zielsetzung und Anlass des Vorhabens**

Ziel des Vorhabens war die Entwicklung und Realisierung eines einfachen und wirksamen Verfahrens zur Wasseraufbereitung in der Aquakultur mit einer biologischen Hochleistungs-Einheit zur Denitrifikation, gekoppelt mit einer Membraneinheit zur Entfernung von Feststoffen (z.B. Bakterien, Mikropartikel), dem sogenannten „Membran-Deni-Reaktor“ (MDR). Neben einer Erhöhung der Biomassen-Konzentration im Denitrifikationsreaktor, verbunden mit einer Steigerung der Denitrifikationsrate, führt diese Entwicklung nicht nur zu Einsparungen von Wasser und Energie, sondern auch zu einer Verbesserung der Fischgesundheit.

### **Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden**

In diesem Projekt sollten die Erfahrungen und Versuchsergebnisse aus den beiden Vorgängerprojekten (halbtechnische Versuche) umgesetzt werden. Der Praxistest wurde in zwei kommerziellen Aquakultur-Kreislaufanlagen durchgeführt, um die Funktionsfähigkeit unter realen Bedingungen zu prüfen und eine Optimierung des Energieverbrauchs der Anlage zu erkunden. Ein weiteres Aufgabenfeld war die Verbesserung der Steuer- und Regelungsstrategie für die Denitrifikation. Ein Überschuss an Substrat würde dazu führen, dass in den Fischbecken ein starkes Bakterienwachstum auftritt, was zu vermeiden ist. Für eine kontinuierliche Messwert-Erfassung wurden Sensoren eingesetzt (z.B. für Nitrat, Sauerstoff, Transmembrandruck, Volumenstrom, Trübung). Die Online-Messungen wurden durch Laboranalytik ergänzt.

Weiterhin wurde ein "Gesundheits-Monitoring" der Fische durchgeführt, um die Auswirkungen der Wasseraufbereitung auf die Fischgesundheit zu prüfen. Es umfasste die Analyse von Cortisol, als Stress-Parameter im Hälterungswasser und eine klinische Untersuchung der Fische. Diese Untersuchungen werden ergänzt durch: "Monitoring" der Gesamt-Bakterienzahlen im Wasser mittels molekularbiologischer Methoden (quantitative PCR=Polymerase-Kettenreaktion); Ermittlungen der Diversität und Stabilität der bakteriellen Mikroflora, einschließlich der Leitkeime mit molekularbiologischen Methoden; Bestimmungen der quantitativen Entwicklung potentiell fischpathogener Bakterien mit quantitativer PCR. Schlussendlich erfolgte begleitend eine mikrobiologische Untersuchung der eingesetzten Fische.

## **Ergebnisse und Diskussion**

Die Ergebnisse zeigen, dass der MDR sich auch in der Praxis eignet, Nitrat und Mikro-Partikel aus dem Kreislaufwasser zu entfernen und bestätigen damit die Ergebnisse der beiden Vorgänger-Projekte. Die Reinigungswirkung der Trägermaterialien auf die Membran war fast immer zufriedenstellend. Beim ersten Aufstellort (RF) konnte der MDR zwischen 30 % und 50 % der gesamten Nitrat-Fracht der KLA vermindern, bei der zweiten, kleineren Anlage wurden 50 % bis 100 % der gesamten Nitrat-Fracht durch den MDR entfernt. Beim Vergleich der beiden Standorte zeigte sich, dass sich eine Vorreinigung des Zulaufwassers zum MDR mittels Trommelfilter durch geringere organische (Grob)partikel-Frachten positiv auf die Membrandurchlässigkeit auswirkte.

Ein längerfristig unbeaufsichtigter Betrieb des Reaktors war noch nicht möglich, denn der Zulaufstrom, und damit einhergehend die Druckverhältnisse im Reaktor, veränderte sich im Laufe der Zeit und musste jeweils nach einigen Tagen wieder manuell eingestellt werden. Alterungserscheinungen an den eingesetzten Materialien, wie Dichtungen, Kugelhähnen, etc., wirkten sich negativ auf die Druckdichtigkeit des MDR aus. Durch einen neuen Deckel konnte die Druckdichtigkeit wieder verbessert werden.

Durch den Betrieb des MDR wurde die Fischgesundheit und das Tierwohl nicht negativ beeinträchtigt, obwohl insbesondere in den Anlagen am zweiten Standort eine deutlich geringere Wasseraustauschrate benötigt wurde, um die Wasserqualität in einem für die Störe geeigneten Bereich zu halten. Die Cortisolgehalte im Hälterungswasser als Indikator für chronischen Stress der Fische waren an beiden Standorten sehr niedrig und wiesen am zweiten Standort keine Unterschiede zwischen dem Kreislauf mit MDR und dem Kontrollkreislauf ohne MDR auf. Auch die Bakteriengehalte im Wasser sowie auf den Kiemen unterschieden sich zwischen den beiden Kreisläufen nicht.

Die bakterielle Gemeinschaft (ermittelt mit Denaturierender Gradienten-Gel-Elektrophorese) auf den Kiemen der Fische im Kreislauf mit MDR unterschied sich von der Gemeinschaft auf den Kiemen der Fische aus dem Kontrollkreislauf. Die Befunde lassen auf eine stabilisierende Beeinflussung der bakteriellen Gemeinschaft und als Indikator für das Gesamtsystem durch den Betrieb des MDR schließen. Die Ergebnisse zeigen, dass vom Betrieb des MDR keine die Fischgesundheit und das Tierwohl belastende Einflüsse ausgehen. Die bakterielle Gemeinschaft auf den Kiemen der Fische im Kreislauf mit MDR wird stabilisiert, was Infektionen mit fakultativ pathogenen Bakterien erschwert und sich so positiv auf die Fischgesundheit auswirkt.

## **Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation**

Zeitschriften-Artikel:

- Boley, A.; Korshun, G.; Boley, S.; Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Steinhagen, D.; Richter, S. (2017): A new reactor for denitrification and micro-particle removal in recirculated aquaculture systems. In: *Water Sci. Technol.* 75 (5), S. 1204–1210.
- Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Boley, A.; Korshun, A.; Steinhagen, D. (2019): Influence of a membrane-denitrification reactor on the microbial community of an aquaculture recirculation system. *J Fish Dis*, 42 (1), S. 141–146.

Vorträge:

- Boley, A., Weishaupt, K., Müller, W.-R., Richter, S. (2017): Combination of nitrate and particle removal in a Membrane-Denitrification Reactor (MDR) for Recirculating Aquaculture Systems. *Aquac. Eur.* 2017, Dubrovnik.
- Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Boley, A.; Bauer, J.; Teitge, F.; Hack, F.; Steinhagen, D. (2018): Influence of a nanofiltration-Reactor on the bacterial microflora and on *Ichthyophthirius multifiliis* theronts in recirculating aquaculture systems. In: *Am. Fish. Soc. Symp.* (Hrsg.): 8th ISAAC 2018, Charlottetown, PEI, Canada, 02.-06.09.2018, S. 389
- Boley, A., Müller, W.-R. (2019): Evaluation of a Membrane-Denitrification Reactor (MDR) in a Recirculation Aquaculture System under real conditions. *Aquac. Eur.* 2019, Berlin (akzept.).

## **Fazit**

Die Praxistauglichkeit des Konzeptes „Membran-Deni-Reaktor“ (MDR) konnte in zwei kommerziellen Fisch-Kreislaufanlagen nachgewiesen werden. Für einen zukünftigen Betrieb unter realen Bedingungen muss eine Minderung des Wartungsaufwands (Personalkosten) und ein stabiler Betrieb mit konstanten Bedingungen gewährleistet sein, der ein manuelles Eingreifen nur in Ausnahmefällen erforderlich macht.

Die Nutzung von Futter-, Kot und Schlamm-Partikeln als zusätzliche C-Quelle für die Denitrifikation hat sich nicht bewährt. Daher sollte in Zukunft das Zulauf-Wasser für den MDR aus dem Ablauf des Trommelfilters entnommen werden. Insgesamt führte der Betrieb des MDR auch unter den Bedingungen von Praxisbetrieben zu einer spürbaren Verringerung von Mikropartikeln und Nitrat und bewirkte eine Stabilisierung des Gesamtsystems mit positiven Auswirkungen auf die Fischgesundheit.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>3</b>
2.1	<i>Ausgangssituation</i> .....	3
2.2	<i>Zielsetzung</i> .....	4
2.3	<i>Aufgabenstellung</i> .....	4
<b>3</b>	<b>Projektverlauf - Vergleich mit Arbeitsplan</b> .....	<b>5</b>
3.1	<i>Übersicht</i> .....	5
3.2	<i>Planung und Umbau für die Aufstellung bei Rhönforelle (RF)</i> .....	6
3.3	<i>Neubau der Messstrecke</i> .....	6
3.4	<i>Transport Reaktor</i> .....	6
3.5	<i>Integration des MDR in die Aquakulturanlage KLA Marjoß</i> .....	7
3.6	<i>Betrieb des MDR in der KLA Marjoß (RF)</i> .....	7
3.7	<i>Transport und Aufstellung in der KLA Göttingen (AS)</i> .....	7
3.8	<i>Integration des MDR in der KLA Göttingen (AS)</i> .....	7
3.9	<i>Betrieb des MDR in der KLA Göttingen (AS)</i> .....	8
3.10	<i>Verbreitung der Ergebnisse</i> .....	8
<b>4</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>9</b>
4.1	<i>Aquakultur-Kreislaufanlagen</i> .....	9
4.1.1	<i>Aquakultur-Kreislaufanlage (KLA) Marjoß, Rhönforelle (RF)</i> .....	9
4.1.2	<i>Aquakultur-KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS)</i> .....	11
4.1.3	<i>Physiologische Ansprüche der Störe an die Wasserqualität</i> .....	14
4.2	<i>Membran-Deni-Reaktor (MDR) mit Messtrecke</i> .....	14
4.2.1	<i>Übersicht</i> .....	14
4.2.2	<i>Membranmodul</i> .....	16
4.2.3	<i>Membran-Deni-Reaktor (MDR) und offenesporiges Schaumstoff-Trägermaterial</i> .....	17
4.2.4	<i>Dosierung der Kohlenstoffquelle</i> .....	19
4.2.5	<i>Messgeräte und Technik</i> .....	20
4.2.6	<i>Datenerfassung, Steuerung und Regelung</i> .....	20
4.2.7	<i>Labor-Analytik</i> .....	22
4.2.8	<i>Wartung</i> .....	23
4.3	<i>Berechnungen</i> .....	23
4.3.1	<i>Ethanolbedarf für die Denitrifikation</i> .....	23
4.3.2	<i>Denitrifikationsraten</i> .....	24
4.3.3	<i>Wasserstand und Transmembrandruck</i> .....	25
4.3.4	<i>Permeatfluss und Membranpermeabilität</i> .....	25
4.3.5	<i>Stickstoffbilanz</i> .....	26
4.4	<i>Beurteilung von Fischen und Wasser</i> .....	26
4.4.1	<i>Untersuchungen zur Stressbelastung der Störe in den unterschiedlichen Haltungssystemen</i> .....	26
4.4.2	<i>Molekularbiologische Untersuchungen</i> .....	27
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b> .....	<b>31</b>
5.1	<i>Aquakultur-KLA Marjoß, Rhönforelle (RF)</i> .....	31
5.1.1	<i>Nitrat</i> .....	31
5.1.2	<i>Nitrit</i> .....	32
5.1.3	<i>Ammonium</i> .....	32
5.1.4	<i>CSB</i> .....	32
5.1.5	<i>Trübung</i> .....	33
5.1.6	<i>Denitrifikationsraten und Ethanolbedarf</i> .....	33
5.1.7	<i>Sauerstoff, pH und Temperatur</i> .....	35
5.1.8	<i>Funktion der Membranreinigung</i> .....	36
5.1.9	<i>Wasserbedarf</i> .....	37
5.1.10	<i>Stickstoffbilanz</i> .....	38
5.2	<i>Aquakultur-KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS)</i> .....	39
5.2.1	<i>Allgemeines</i> .....	39
5.2.2	<i>Nitrat und Redoxpotenzial</i> .....	39

5.2.3	Nitrit.....	41
5.2.4	Ammonium.....	41
5.2.5	Phosphat.....	43
5.2.6	CSB und Ethanol .....	43
5.2.7	Trübung.....	44
5.2.8	Denitrifikationsraten und Ethanolbedarf.....	45
5.2.9	Sauerstoff, pH und Temperatur .....	46
5.2.10	Härte, Säurekapazität und DIC.....	47
5.2.11	Funktion der Membranreinigung -Transmembrandruck, Permeabilität und Volumenstrom	48
5.2.12	Wasserbedarf und Kühlung .....	50
5.2.13	Fische und Futter .....	52
5.2.14	Stickstoffbilanz .....	54
5.3	<i>Erfahrungen mit dem Reaktor und Erkenntnisse</i> .....	55
5.3.1	Inbetriebnahme des MDR.....	55
5.3.2	Probleme mit dem Wasserstand.....	56
5.3.3	Ausbauen des Membranmoduls nach Ende Versuchsabschnitt 1 .....	57
5.3.4	Volumenstrom Zulauf MDR .....	58
5.3.5	Ammonium im Ablauf MDR .....	58
5.4	<i>Beurteilung von Fischen und Wasser</i> .....	59
5.4.1	Aquakultur-KLA Marjoß, Rhönforelle (RF).....	59
5.4.2	Aquakultur-KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS) .....	64
<b>6</b>	<b>Fazit</b> .....	<b>75</b>
6.1	<i>Vergleich der Ergebnisse mit den ursprünglichen Zielen</i> .....	75
6.2	<i>Weiterführende Fragestellungen</i> .....	76
6.3	<i>Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung</i> .....	77
<b>7</b>	<b>Literatur und Software</b> .....	<b>79</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	KLA Marjoß, oberes Stockwerk mit Fischbecken.....	9
Abb. 2:	Li: Fische vor Beginn der Versuche (-20. d), Re: Fische nach Abschluss der Versuche (43. d).....	9
Abb. 3:	KLA Rhönforelle (RF) Marjoß, unteres Stockwerk - Wasseraufbereitung. ....	10
Abb. 4:	Schema der Wasseraufbereitung KLA Marjoß, Rhönforelle (RF). MDR mit vorgereinigtem Wasser (Ablauf Trommelfilter) beschickt. ....	10
Abb. 5:	Schema der Wasseraufbereitung KLA Göttingen (AS). Li. Konfiguration bei Start, re: Aufrüstung mit jeweils 2. Biofilter und Kühlung.....	12
Abb. 6:	Besatz der Fisch-Becken, hier Becken A ( <i>Acipenser baerii</i> ) 43 d vor Beginn der Versuche .....	12
Abb. 7:	Fisch in Becken B ( <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> ), 89. D.....	13
Abb. 8:	KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS) - Wasseraufbereitung .....	13
Abb. 9:	MDR mit Messstrecke - KLA Marjoß (RF). Die Zulaufpumpe fördert Wasser aus dem Ablauf des Trommelfilters in der Wasseraufbereitungsanlage in den Reaktor (MDR) bzw. in die Messstrecke (s. auch Abb. 4). (Rechtecke mit roter Schrift: Probenahmestellen für die Analytik-Proben. Rechtecke mit schwarzer Schrift: Sensoren bzw. Reaktordeckel) .....	15
Abb. 10:	MDR mit Messstrecke - KLA Göttingen (AS). Die Zulaufpumpe fördert Wasser aus Fischbecken A in den Reaktor (MDR) bzw. in die Messstrecke (s. Abb. 5). Rote Kästen: Probenahmestellen für die Analytikproben. (Rechtecke mit roter Schrift: Probenahmestellen für die Analytik-proben. Rechtecke mit schwarzer Schrift: Sensoren bzw. Reaktordeckel).....	16
Abb. 11:	Membranmodul UX20-002-FischAW-1, hergestellt von MMF.....	16
Abb. 12:	Offenporige Schaumstoff-Trägermaterial (OST), das in den Versuchen eingesetzt wurde. Links: OST1 (KLA Marjoß und KLA Göttingen bis 222. d und ab 301. d, Rechts: OST2 (Göttingen 222. d - 301. d).....	17
Abb. 13:	MDR KLA Marjoß 2 d n. Inbetriebnahme (li), n. 37 d Betrieb (re, Versuchsende). Li. vom MDR die beiden Rezirkulationspumpen. ....	18
Abb. 14:	Reaktordeckel MDR mit Sensor u. Ventilen. ....	19
Abb. 15:	Dosierung von Ethanol .....	19

Abb. 16: Steuerungsoptionen MULTIMESS Software. Li: Druckbegrenzung MDR, Wasserstandsregelung MDR, Ethanol dosierung MDR, Pumpe Ab Messstrecke Re: Einstellungen für flexible Ethanol dosierung n. $\text{NO}_3^-$ -N (Equiv.) Fracht (s. Gl. (4), hier „Nitratfracht“).	21
Abb. 17: Oben: Verlauf Nitratkonzentrationen im Zu- u. Ablauf MDR, Symbole: „Ana“ = Analytik-Werte, Linien = Online-Messwerte (Sensoren). Unten: Redoxpotentiale (ORP) im Ablauf MDR (gemessene Werte, nicht auf Standardwasserstoffelektrode umgerechnet).	31
Abb. 18 Verlauf $\text{NO}_2^-$ -N-Konz. im Zu- u. Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte. Online-Werte sind offensichtlich falsch, daher gestrichelt. „Ana“ = Analytik.	32
Abb. 19 Verlauf $\text{NH}_4^+$ -N-Konz. im Zu- u. Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte.	32
Abb. 20 Verlauf der CSB-Konz. im Zu- (Zu) u. Ablauf (Ab) MDR, Laboranalytik-Werte.	33
Abb. 21 Verlauf Trübung im Zu- u. Ablauf MDR, Online-Werte.	33
Abb. 22: Oben: Verlauf Denitrifikationsraten (DN-Rate) bei pH 7,3...8,1; (24...28) °C. Unten: $\text{NO}_3^-$ -N (Equiv.) Fracht im Zulauf MDR und Ethanol-Dosier-Fracht.	34
Abb. 23: Dosierfaktor = Zudosierte Fracht Ethanol in g/h / Fracht $\text{NO}_3^-$ -N (Equiv.) in g/h. Der stöchiometrische Dosierfaktor wäre 1,37 g Ethanol / g $\text{NO}_3^-$ -N s. Kap. 4.3.1.	34
Abb. 24: Vergleich von pH, $\text{O}_2$ u. Temperatur jeweils Zulauf („Zu“) u. Ablauf („Ab“) MDR.	35
Abb. 25: Verlauf von Permeatfluss (Flux), Permeabilität u. TMP (Trans Membrane Pressure), T= (16 bis 25) °C. Online-Messwerte.	36
Abb. 26: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u. $\Delta p$ (Deckel) mit Wasserstand im MDR u. Permeatfluss (Flux), T= (16 bis 25) °C. Online-Messwerte (Wasserstand soll: 180 cm ... 200 cm).	37
Abb. 27: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u. $\Delta p$ (Deckel) mit Volumenstrom im Zulauf zum MDR, T= (16 bis 25) °C. Online-Messwerte.	37
Abb. 28: Täglicher Wasserbedarf in KLA.	38
Abb. 29: Stickstoff Ein- und Austräge durch Futter, MDR, Frisch- und Abwasser. „Austrag Wasser“ = (Austrag durch Ablauf - Eintrag durch Frischwasser), „A“ = Becken A, „B“ = Becken B. „Austrag Deni“ = Austrag durch Denitrifikation (MDR).	38
Abb. 30 Verlauf $\text{NO}_3^-$ -N-Konz. im Brunnenwasser („Zu“), in Becken A („BeA“) u. Becken B („BeB“), sowie Ablauf MDR („Ab MDR“). Ana = Laboranalytik-Werte. (OST1 u. OST2: s. Tab. 9. S. 17)	39
Abb. 31: Oben: Verlauf Nitratkonzentrationen im Zu- („BeA“) u. Ablauf MDR („Ab MDR“), Symbole = Analytik-Werte („Ana“), Linien = Online-Messwerte („Online“). Unten: Redoxpotentiale im Zu- („Zu“) und Ablauf MDR „Ab MDR“, Online-Werte.	40
Abb. 32 Oben: $\text{NO}_2^-$ -N-Konz. im Brunnenwasser („Zu“), in Becken A („BeA“), u. Becken B („BeB“), sowie Ablauf MDR („Ab MDR“). Ana = Laboranalytik-Werte. Unten: Dosierfaktor als Verhältnis von dosiertem Ethanol (100 %) zu $\text{NO}_3^-$ -N-Fracht Equivalente im Zulauf MDR. Gestrichelte Linie entspricht stöchiometrischer Dosierung.	41
Abb. 33 Oben: Verlauf $\text{NH}_4^+$ -N-Konz. in Becken A u. B, sowie im Zulauf zu Becken (Brunnenwasser) u. Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte. Mitte: Dosierfaktor als Verhältnis von dosiertem Ethanol (100 %) zu $\text{NO}_3^-$ -N-Fracht (Equivalent im Zulauf MDR. Gestrichelte Linie entspricht stöchiometrischer Dosierung. Unten: Redoxpotenziale Zu- und Ablauf MDR	42
Abb. 34 Verlauf $\text{PO}_4^{3-}$ -P-Konz. in Becken A u. B, sowie im Zulauf zu Becken (Brunnenwasser) Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte (s. Abb. 10, S. 16).	43
Abb. 35 Verlauf CSB-Konz. in BeA u. BeB, sowie im Zulauf zu Becken („Zu“, Brunnenwasser) u. Ablauf MDR („Ab MDR“), Laboranalytik-Werte. Oben: Y-Achse Skalierung bis 200 mg/L, unten Skalierung bis 20 mg/L.	44
Abb. 36 Ethanol-Konz. im Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte.	44
Abb. 37 Verlauf Trübung im Zu- u. Ablauf MDR, Online-Werte.	45
Abb. 38: Oben: Verlauf Raumbelastung und Denitrifikationsraten, pH 7,7, (17...26) °C, mit RBN = Raumbelastung Nitrat; DN-Rate(N2): Denitritionsrate; DN-Rate(NO2): Denitrationsrate; ANA = Analytik; Onl. = Online-Daten Unten: $\text{NO}_3^-$ -N (Equiv.) Fracht im Zulauf MDR und Ethanol-Dosier-Fracht	46
Abb. 39: pH, $\text{O}_2$ (oben) u. Temperatur (unten) jeweils Zulauf („Zu“) u. Ablauf („Ab“) MDR.	47
Abb. 40: Schwankungen der Sauerstoff- und Temperatur-Werte im Zulauf zum MDR im Tag-Nacht Rhythmus (Ausschnitt).	47
Abb. 41: Härte (oben), Säurekapazität $\text{K}_{\text{S}4,3}$ (Mitte) u. DIC (unten), jeweils in Becken A (BeA) u. B (BeB), sowie im Zulauf zu den Becken (Zu) u. Ablauf MDR (Ab MDR), Laboranalytik-Werte.	48
Abb. 42: Verlauf von Permeatfluss (Flux), Permeabilität u. TMP (Trans Membrane Pressure), T= (16 bis 25) °C. Online-Messwerte-Mittelwerte. Schwarzer Pfeil: Membran gereinigt, OST2 entfernt.	49

Abb. 43: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u. $\Delta p$ (Deckel) mit Wasserstand im MDR u. Permeatfluss (Flux), T= (18 bis 27) °C. Online-Messwerte (Mittelwerte). .....	50
Abb. 44: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u. $\Delta p$ (Deckel) mit Volumenstrom im Zulauf MDR, T= (16 bis 25) °C. Online-Messwerte. ....	50
Abb. 45: Täglicher Wasserverbrauch in Anlage A (mit MDR) u. B (Referenz). ....	51
Abb. 46: Tägliche Wasserwechselrate Anlage A (mit MDR) u. B (Referenz). ....	51
Abb. 47: Wegen der Hitze bekommen die Fische Eis. Lufttemp. 31 °C Wassertemp. 21 °C .....	52
Abb. 48: Die Kühlaggregate und Wärmetauscher am 107. d .....	52
Abb. 49: Einzelfischmassen in Becken A (Be A) und Becken B (Be B), aufgeschlüsselt nach Arten (Acipenser gueldenstaedtii, bzw. Acipenser baeri). Fehlerindikatoren = Standardabweichungen .....	53
Abb. 50: Gesamte Fischmasse, sowie Zahl der Fische in Becken A (Be A) u. B (Be B).....	53
Abb. 51: Futterzugabe je Tag in Becken (A und B) .....	53
Abb. 52: Stickstoff Ein- und Austräge (Frachten) durch Futter, MDR, Frisch- und Abwasser. „Austrag Wasser“ = (Austrag durch Ablauf - Eintrag durch Frischwasser), „A“ = Becken A, „B“ = Becken B. „Austrag Deni“ = Austrag durch Denitrifikation. Roter Pfeil: s. Text. Berechnung s. Gl. (17), (18), (19), S. 26. ....	54
Abb. 53: MDR in der KLA Göttingen Inbetriebnahme m. OST1: 1: Reaktor nur mit Wasser gefüllt. 2: OST1 1 d nach Einfüllen - Rezirkulation gestartet. 3: Ein paar Sekunden später. 4: Rezirkulation einige Minuten später. ....	55
Abb. 54: Anfahren des MDR am 222. d mit OST2. ....	55
Abb. 55: Durch zu hohen Wasserstand n. Ausfall PC sind Schaumstoffwürfel über Ableitgitter in den Zulaufbereich gelangt (KLA Göttingen). ....	56
Abb. 56: Am 140. d führte ein zu hoher Wasserstand zu Schaumbildung und Schaumstoffwürfel in einer der beiden Rezirkulationspumpen (KLA Göttingen). ....	56
Abb. 57: Am 162. d Ausbau und Verpacken des Membran-Moduls und Entfernung des Schaumstoff-Trägermaterials (OST1). ....	57
Abb. 58: 301. d Links: Schema: Orte der Verstopfungen Mitte: OST2 Schäumchen u. deren Abrieb stecken an dem oberen Absauggitter fest Rechts: Abrieb im Vorfilter der Rezirkulationspumpe.....	57
Abb. 59: Fischmasse und Futtermenge im Betrieb Rhönforelle GmbH und Co. KG im Zeitraum August bis September 2017.....	59
Abb. 60: Cortisolgehalte in ng/100 mL im Haltungswasser der Anlage Rhönforelle GmbH und Co. KG (logarithmische Darstellung). „Vor MDR“: Vor Inbetriebnahme des MDR, „19 d Btr“, „67 d Btr“: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR. ....	60
Abb. 61: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien (Gesamtkeimzahl) im Haltungswasser der Anlage Rhönforelle GmbH und Co. KG (logarithmische Darstellung). „Vor Betrieb“: Vor Inbetriebnahme des MDR, „19 d“, „67 d“: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR („Filter“ = im Biofilter; „UV“ = Becken mit UV-Lampe; „Reaktor“= im MDR; „R-Ablauf“ = MDR-Ablauf).....	61
Abb. 62: Gehalt an für Fische fakultativ pathogenen Bakterienspezies in der bakteriellen Gemeinschaft des Haltungswassers am Standort KLA Marjoß. Oben links: <i>Vibrio</i> spp., oben rechts: <i>Flavobacterium</i> spp., unten: prozentualer Anteil der <i>Flavobacterium</i> spp. an der bakteriellen Gemeinschaft (unten). Dargestellt ist die Anzahl Kopien bakterieller DNA pro mL Haltungswasser. Vor MDR: Vor Inbetriebnahme des MDR, 19 d Btr, 67 d Btr: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR.....	62
Abb. 63: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien auf der Kiemenoberfläche der Störe (Mittelwerte und Standardabweichungen von n=3 Tupferproben je Becken und Zeitpunkt) am Standort KLA Marjoß. Vor MDR: Vor Inbetriebnahme des MDR, 19 d Btr, 67 d Btr: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR. ....	63
Abb. 64: Gehalt molekularbiologisch nachgewiesener, für Fische fakultativ pathogener Bakterienspezies aus den Gattungen <i>Vibrio</i> spp und <i>Flavobacterium</i> spp. (oben links: <i>Vibrio</i> spp., oben rechts: <i>Flavobacterium</i> spp.) bei Stören in verschiedenen Haltebecken je 100 ng DNA aus Kiemenabstrichen (Mittelwerte und Standardabweichungen, n=3 Tupferproben je Becken und Zeitpunkt) und der Anteil an <i>Flavobacterium</i> spp. an Gesamtkeimzahl (unten). Vor MDR: Vor Inbetriebnahme des MDR, 19 d Btr, 67 d Btr: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR.....	63
Abb. 65: Fischmasse und Futtermenge im Betrieb Aqua Schwarz GmbH (Becken A mit MDR ab 23.04.2018, Becken B ohne MDR). Dokumentiert durch Mitarbeiter des Betriebs AS. ....	64
Abb. 66: Wasserparameter zur Beurteilung der Fischgesundheit. Cortisol, Nitrit (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ), und Nitrat (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) im Haltungswasser im Betrieb AS einem (Cortisol) bzw. zwei (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) Versuchsabschnitte (Becken	

- A mit MDR, Becken B ohne MDR. Angegeben sind Tage Betriebsdauer nach erstem Start des MDR) .....65
- Abb. 67: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien im Haltungswasser der Anlage Aqua Schwarz GmbH (logarithmische Darstellung) (Becken A mit MDR, Becken B ohne MDR) in zwei Versuchsabschnitten. „vor MDR“: vor Inbetriebnahme des MDR. ....66
- Abb. 68: Gehalt an für Fische fakultativ pathogenen Bakterienspezies (*Vibrio* spp., *Flavobacterium* spp.) im Wasser aus Becken A (mit MDR) und Becken B (ohne MDR) (molekularbiologischer Nachweis je mL Wasser) und der prozentuale Anteil der *Flavobacterium* spp. an der Gesamtkeimzahl in zwei Versuchsabschnitten. vor MDR: vor Inbetriebnahme des MDR .....66
- Abb. 69: Gesamtkeimzahl der bakteriellen Mikroflora auf den Kiemen von Stören in den Anlagen am Standort AS. Links: Mittelwerte und Standardabweichungen des Gesamtgehaltes molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien auf der Kiemenoberfläche (n=4) von Stören Rechts: Gesamtgehalt nachgewiesener Bakterien auf der Kiemenoberfläche bei Stören aus den beiden Spezies (n=2). Logarithmische Darstellung der Keimzahl. Becken A mit MDR , Becken B ohne MDR. Vor MDR: vor Inbetriebnahme des MDR. ....67
- Abb. 70: Fakultativ pathogene Bakterien der Gattungen *Vibrio* spp. und *Flavobacterium* spp. in der adhärennten Mikroflora der Kiemen von Stören in den Anlagen am Standort AS. Mittelwerte und Standardabweichungen der molekularbiologisch nachgewiesenen *Vibrio* spp. (links oben) und *Flavobacterium* spp. je 100 ng DNA aus Kiemenabstrichen von Stören (oben) und prozentualer Anteil der *Flavobacterium* spp. an der Mikroflora (unten). Becken A mit MDR Becken B ohne MDR; n=4 Proben je Becken und Zeitpunkt. ....68
- Abb. 71: Analyse der bakteriellen Gemeinschaft mittels DGGE- Gelen. Dargestellt ist die Analyse der Kiemenproben von Stören aus dem Becken A (mit MDR, grün, Kieme), und dem Becken B (ohne MDR, blau, KiemeKontrolle) des Betriebes AS. Bezeichnung der Spuren: 1: Negativkontrolle (ohne DNA, gelb), Spuren 2-11: Becken A mit MDR, 2: vor Inbetriebnahme, 3: 9, 4: 39, 5: 66, 6: 74, 7: 88, 8: 95, 9: 110, 10: 124, 11: 139 Tage Betriebsdauer des MDR. Spuren 12-21: Becken B, ohne MDR. 12: vor Inbetriebnahme, 13: 9, 14: 39, 15: 66, 16: 74, 17: 88, 18: 95, 19: 110, 20: 124, 21: 139 Tage Betriebsdauer des MDR .....69
- Abb. 72: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen von Stören am Standort AS. Analysiert wurden Mischproben von DNA aus Kiemenabstrichen von n=4 Individuen beider Störarten aus der Anlage mit MDR (grün, Bezeichnung: KiemeMDR), und der Anlage ohne MDR (blau, Bezeichnung: KiemeKontrolle) Vorab: Probennahme vor Inbetriebnahme des MDR, 2: 9, 3: 39, 4: 66, 5:74, 6: 88, 7:95, 8: 110, 9: 124, 10:138 Tage Betriebsdauer des MDR. (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson).....70
- Abb. 73: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen von Stören am Standort AS. Analysiert wurden jeweils Mischproben von DNA aus Kiemenabstrichen von *Acipenser baeri* (n=2) und *Acipenser güldenstaedtii* (n =2 Individuen) aus der Anlage mit MDR (grün, Bezeichnung: KiemeAbaerii bzw. KiemeAgueldenstaedtii), und der Anlage ohne MDR (blau, Bezeichnung: KiemeKontrolleAbaerii bzw. KiemeKontrolleAgueldenstaedtii) Vorab: Probennahme vor Inbetriebnahme des MDR, 2: 9, 5:74, 7:95, 8: 110, 10:138 Tage Betriebsdauer des MDR. (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson) .....71
- Abb. 74: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser von Stören am Standort AS. Analysiert wurde DNA extrahiert aus 100 mL Haltungswasser aus der Anlage mit MDR (Bezeichnung: WasserMDR), und der Anlage ohne MDR (Bezeichnung: WasserKontrolle) Vorab: Probennahme vor Inbetriebnahme des MDR, 2: 9, 3: 39, 4: 66, 5:74, 6: 88, 7:95, 8: 110, 9: 124, 10:138 Tage Betriebsdauer des MDR. (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson).....71
- Abb. 75: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser von Stören am Standort AS nach Reinigung der Membran des MDR. Analysiert wurde DNA extrahiert aus 100 mL Haltungswasser aus der Anlage mit MDR (Bezeichnung: WasserMDR), und der Anlage ohne MDR (Bezeichnung: WasserKontrolle), 12: Probe vom 221. Tag nach erstem Betriebsstart des MDR (vor Beginn den zweiten Betriebsstarts), 13: 269 Tage nach erstem Betriebsstart, 14: 328 Tage nach erstem Betriebsstart des MDR, (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson).....72

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Im Voraus geplante (grau) u. tatsächliche Zeiträume (blau) für Durchführung der Arbeitspakete .....	5
Tab. 2: Brunnenwasser (Zulauf KLA Marjoß, RF) .....	11
Tab. 3: Kennwerte der Wasseraufbereitung KLA Marjoß (Werte für pH ... Fe: gemessen im Ablauf Trommelfilter).....	11
Tab. 4: Brunnenwasser (Zulauf zur KLA Göttingen) bei Aqua Schwarz (AS), gemessen .....	13
Tab. 5: Kennwerte der KLA Göttingen (Aqua Schwarz) .....	14
Tab. 6: Physiologische Ansprüche verschiedener Fischarten an die Umweltbedingungen (Schreckenbach et al. 1987, 2001) (Schreckenbach 2002) .....	14
Tab. 7: Kennwerte Membranmodul.....	16
Tab. 8: Kennwerte MDR .....	17
Tab. 9: Kennwerte offeneporige Schaumstoff-Trägermaterialien (OST).....	17
Tab. 10: Messgeräte u. Sensoren (RF und AS) .....	20
Tab. 11: Weitere Geräte (RF und AS).....	20
Tab. 12: Übersicht Gleichungen im Programm Multimes (Formelzeichen s. Abb. 9) .....	21
Tab. 13 Sequenz für das Ein- und Ausschalten der Rezirkulationspumpen .....	22
Tab. 14 Analysenwerte mit Küvetten-Testsätzen (Hersteller: HACH) .....	22
Tab. 15: Umrechnungsfaktoren für verschiedene Konzentrations-Einheiten.....	22
Tab. 16: Primer, die in der Endpunkt-PCR für die DGGE eingesetzt wurden. Die GC-Klammer in der Primersequenz DGGE_f_cl ist grau hinterlegt.....	28
Tab. 17: Analyse der Komponenten der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen von Stören in Anlagen am Standort AS. Mittelwerte der Anzahl bakterieller Taxa als Banden auf dem Gel nach DGGE-Analyse von DNA aus Kiementupfer von Stören der Störarten <i>A. gueldenstaedtii</i> und <i>A. baerii</i> in Becken A (MDR) und Becken B (Kontrolle). (Angegeben sind Mittelwerte von jeweils 5 Proben). ..	73
Tab. 18: Analyse der Komponenten der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser von Stören in den Anlagen am Standort AS. Mittelwerte der Anzahl bakterieller Taxa als Banden auf dem Gel nach DGGE-Analyse von DNA aus 100 mL Haltungswasser aus den Becken A (MDR) und Becken B (Kontrolle). (Angegeben sind Mittelwerte von jeweils 10 Proben im Durchgang 1 und von 3 Proben im Durchgang 2).....	73

## Formelzeichen, Abkürzungen und Definitionen

Symbol	Beschreibung	Dim.
A(N)	Verhältnis N (Exkretion) zu N (Futter)	g/g
AS	Aqua Schwarz GmbH, Aquarien- und Anlagenbau, Göttingen	
Anl.	Anlage	
A <sub>m</sub>	Aktive Membranfläche	m <sup>2</sup>
BeA, BeB	Becken Anl. A mit MDR, Becken Anl. B ohne MDR	
Btr	Betriebsdauer	
DGGE	Denaturierende Gradienten Gel Elektrophorese	
DN-Rate(N <sub>2</sub> )	Denitrationsrate Reaktionsschritt NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> → N <sub>2</sub>	mg/(L·h)
DN-Rate(NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Denitrationsrate Reaktionsschritt NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> → NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , auch Denitrifikationsrate	mg/(L·h)
F	Faktor für Berücksichtigung von O <sub>2</sub> bei Ethanol dosierung	-
Fu	Tägliche Futtermenge (RF: Gesamte Anlage; AS: Becken A, bzw. Becken B)	g/d
RF	Fischzucht Rhönforelle GmbH & Co. KG	
g	Erdbeschleunigung	m/s <sup>2</sup>
ges	gesamt	
ggr	geringgradig (Terminologie zur semiquantitativen Bewertung)	
Gl.	Gleichung	
h (M)	(Äußere) Höhe Membranmodul	m
h <sub>1</sub>	Abstand Reaktorboden - Sensor p <sub>1</sub> unten	m
h <sub>2</sub>	Abstand Reaktorboden - Sensor p <sub>2</sub> Permeatleitung	m
h <sub>3</sub>	Abstand Reaktorboden - Sensor p <sub>3</sub> Deckel	m
h <sub>1cm</sub>	Abstand Reaktorboden - Sensor p <sub>1</sub> unten	cm
h <sub>2cm</sub>	Abstand Reaktorboden - Sensor p <sub>2</sub> Permeatleitung	cm
h <sub>3cm</sub>	Abstand Reaktorboden - Sensor p <sub>3</sub> Deckel	cm
hgr	hochgradig (Terminologie zur semiquantitativen Bewertung)	
Li, li	Links	
Jp	Permeatfluss(Flux) Membranmodul	L/(m <sup>2</sup> ·h)
K1	Spez. Ethanolbedarf bei Denitrifikation: mg Ethanol / mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	mg/mg
K2	Anteil Ethanol in wässriger Lösung	g/g
KBE	Kolonie Bildende Einheit, auch KbE	
KLA	Kreislaufanlage	
Konz.	Kurzform für Konzentration	
K <sub>S4,3</sub>	Säurekapazität bis pH 4,3	
ISWA	Universität Stuttgart, Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft, Stuttgart	
Li, li	Links	
Lp	Permeabilität der Membran	L/(m <sup>2</sup> ·h·bar)
$\dot{m}_{(EtOH)}$	Ethanol-Dosier-Fracht	g/h
m(E)	Masse der dosierten Ethanol lösung	g
MBR	Membran-Bio-Reaktor	
MDR	Membran-Denitrifikations-Reaktor	
MMF	MaxFlow Membran Filtration GmbH (Saerbeck)	
n.	Nach	
NO <sub>3</sub> -N (Equiv.) Fracht	Äquivalente NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N -Fracht s. Gl. (4)	g/h
NP	Anteil Protein im Futter	g/g
Onl.	Online	
ORP	Redoxpotential, Ablauf MDR (gemessene Werte, nicht auf Standardwasserstoffelektrode umgerechnet)	mV
OST	Offenporiges Schaumstoff-Trägermaterial	
O <sub>2</sub>	Sauerstoffkonzentration	mg/L
p <sub>1</sub>	Druck MDR unten	Pa
p <sub>1mbar</sub>	Druck MDR unten	mbar
p <sub>2</sub>	Druck MDR Permeatleitung	Pa

<b>Symbol</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Dim.</b>
$p_{2\text{mbar}}$	Druck MDR Permeatleitung	mbar
$p_3$	Druck MDR Deckel	Pa
$p_{3\text{mbar}}$	Druck MDR Deckel	mbar
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)	
pH	pH-Wert	
ppi	Pores per inch	ppi
Pr	Proteinanteil des Futters	g/g
Q(MDR)	Volumenstrom Zulauf MDR	L/h
Q(ges)	Volumenstrom ges. durch Anlage (A, B) (Zulauf Frischwasser)	m <sup>3</sup> /d
$Q_p$	Permeatvolumenstrom	L/h
RBN	Raumbelastung Nitrat NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	mg/(L·h)
Re, re	Rechts	
RF	Rhönforelle, Fisch-Gross (Gersfeld)	
s.	siehe	
T	Temperatur	°C
TiHo	Tierärztliche Hochschule Hannover, Zentrum für Infektionsmedizin, Fachgebiet Fischkrankheiten	
TMP	Transmembrandruck: Druckdiff. zw. Innen- und Außenseite d. Membran	mbar
u.	und	
V(MDR)	Wasservolumen MDR: Membran-Denitrifikations-Reaktor	L
Vol.	Volumen	
$\beta(\text{NH}_3)$	NH <sub>3</sub> Konzentration (als NH <sub>3</sub> )	mg/L
$\beta(\text{NH}_4^+\text{-N})$	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N Konzentration (als N)	mg/L
$\beta(\text{NH}_4^+\text{-N})$ Ges	Summe aus [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N] + [NH <sub>3</sub> -N]	mg/L
$\beta(\text{NO}_3^-\text{-N})_{\text{zu}}$	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N Konzentration im Zulauf MDR	mg/L
$\beta(\text{NO}_3^-\text{-N})_{\text{zu Be}}$	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N Konzentration im Zulauf zu den Becken (Brunnenwasser)	mg/L
$\beta(\text{NO}_3^-\text{-N})_{\text{ab}}$	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N Konzentration im Ablauf MDR	mg/L
$\beta(\text{O}_2)_{\text{zu}}$	Sauerstoff Konz. im Zulauf zum MDR	mg/L
$\Delta\beta(\text{NH}_4^+\text{-N})$	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N Konz. Änderung in einem best. Zeitabschnitt bzw. Konz. Differenz zwischen Zu- und Ablauf MDR	mg/L
$\Delta\beta(\text{NO}_2^-\text{-N})$	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N Konz. Änderung in einem best. Zeitabschnitt bzw. Konz. Differenz zwischen Zu- und Ablauf MDR	mg/L
$\Delta\beta(\text{NO}_3^-\text{-N})$	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N Konz. Differenz zwischen Zu- und Ablauf MDR bzw. Konz. Differenz zwischen Zu- und Ablauf MDR	mg/L
$\rho$	Dichte des Wassers	kg/m <sup>3</sup>
$\Delta t$	Jeweils betrachteter Zeitabschnitt	d bzw. h

# 1 Zusammenfassung

Ziel dieses Vorhabens war die Realisierung eines einfachen und wirksamen Verfahrens zur Wasseraufbereitung in der Aquakultur und zur Verringerung von belastenden Emissionen aus Fischzucht-Anlagen. Dazu dient ein Verfahren zur Denitrifikation, das mit einer Membraneinheit gekoppelt wird, um Feststoffe, z.B. Bakterien, Parasiten und andere Mikropartikel zu eliminieren und die Biomassenkonzentration im Denitrifikationsreaktor zu erhöhen. Trägermaterialien aus offenporigem Polyurethan-Schaumstoff werden als Aufwuchs-Oberflächen für die Bakterien und zusätzlich zur Reinigung der Membranoberflächen verwendet, indem diese Träger an den Oberflächen vorbei bewegt werden. Das Verfahren hatte sich bereits im Labor und im Technikum bewährt und sollte jetzt in der Praxis getestet werden.

Beim ersten Aufstellort, der Kreislaufanlage (KLA) Marjoß konnte der MDR zwischen 30 % und 50 % der gesamten Nitrat-Fracht der Kreislaufanlage vermindern, der Rest wurde mit dem Ablaufwasser ausgetragen. Bei der zweiten, deutlich kleineren Anlage (Göttingen) wurden sogar 50 % bis 100 % der gesamten Nitrat-Fracht durch den MDR gesenkt. Hier waren die Nitrat-Konzentrationen im Kreislauf mit MDR deutlich niedriger als im Kontrollkreislauf ohne MDR. Für die KLA Marjoß war hierzu keine Aussage möglich, da hier kein Kontroll-Kreislauf vorhanden war.

Beim Vergleich der beiden Standorte (KLA Marjoß und KLA Göttingen) zeigte sich deutlich, dass sich eine Vorreinigung des Zulaufwassers zum MDR positiv auf die Membrandurchlässigkeit auswirkte. Am Standort Marjoß war ein Trommelfilter zur Schlammentnahme bauseits im Kreislaufwasser integriert. Daraus wurde der Zulauf zum MDR entnommen, was zu niedrigeren organischen (Grob)partikel-Frachten und -wahrscheinlich infolgedessen - zu einer geringeren Abnahme der Permeabilität der Membran in Verlauf des Versuchs führte.

Am Standort Göttingen bewirkte vermutlich die unzureichende Partikelentnahme nicht nur eine schnellere Abnahme der Membrandurchlässigkeit, sondern auch leicht erhöhte Ammonium-Konzentrationen im Ablauf des MDR. Auch der Vergleich mit der halbtechnischen Labor-Aquakultur-Anlage im Vorgänger-Projekt bestätigt diese Annahme. Durch die Rezirkulation der Schaumstoff-Aufwuchsmaterialien mit den beiden Pumpen konnte die Reinigung der Membran-Oberflächen dennoch über eine Betriebsdauer von bis zu 162 d bzw. 141 d sichergestellt werden. Ein längerfristig unbeaufsichtigter Betrieb des Reaktors war noch nicht möglich, denn der Zulaufstrom, und damit einhergehend die Druckverhältnisse im Reaktor, veränderte sich im Laufe der Zeit und musste jeweils nach einigen Tagen wieder manuell eingestellt werden. Alterungserscheinungen an den eingesetzten Materialien, wie Dichtungen, Kugelhähnen, etc., wirkten sich negativ auf die Druckdichtigkeit des MDR aus. Durch einen neuen Deckel konnte die Druckdichtigkeit wieder verbessert werden.

Um aussagekräftige Versuche durchführen zu können, wurden am Standort Göttingen (AS) die Wasseraustauschraten in beiden Kreislaufsystemen (mit und ohne MDR) gegenüber den dort üblichen erniedrigt. Da die am Standort vorhandenen Nitrifikationsreaktoren („Biofilter“) bei zunehmenden Fischmassen für die damit einhergehenden höheren Belastungen nicht ausgelegt waren, mussten die Wasseraustauschraten auf bis zu (100 bis 150) %/d erhöht werden, um die Wasserqualität in beiden Kreislaufanlagen im Rahmen zu halten.

Die Cortisolgehalte im Haltungswasser als Indikator für chronischen Stress der Fische waren an beiden Standorten sehr niedrig und wiesen am Standort Göttingen (AS), vermutlich bedingt durch die hohen Wasseraustauschraten, keine Unterschiede zwischen dem Kreislauf mit MDR und dem Kontrollkreislauf auf. Auch die Bakteriengehalte im Wasser sowie auf den Kiemen waren zwischen den beiden Kreisläufen nicht unterschiedlich. Bei der Analyse des molekularen Fingerabdrucks der bakteriellen Gemeinschaft auf den Fischkiemen mittels DGGE (Denaturierende Gradienten-Gel-Elektrophorese) wurde deutlich, dass sich die Bakteriengemeinschaften auf den Kiemen der Fische im Kreislauf mit MDR und dem Kontrollkreislauf unterschieden. Die bakterielle Gemeinschaft auf den Kiemen von Fischen aus dem Becken mit MDR wies über einen längeren Zeitraum eine hohe Ähnlichkeit mit der Gemeinschaft vor dem Beginn des Betriebs des Reaktors auf während die Gemeinschaft im Becken ohne MDR bereits starken Veränderung unterworfen war. Die höhere Stabilität

des Systems mit MDR wurde zusätzlich dadurch untermauert, dass die bakterielle Gemeinschaft auf den Kiemen der Fische im Kreislauf mit MDR aus einer größeren Anzahl von Komponenten (Taxa) zusammengesetzt war als bei den Fischen aus dem Kontrollkreislauf. Da instabile Systeme von nur wenigen Organismen mit schnellem Vermehrungspotential dominiert werden, lassen diese Befunde auf eine stabilisierende Beeinflussung der bakteriellen Gemeinschaft durch den Betrieb des MDR schließen. Die Ergebnisse zeigen, dass vom Betrieb des MDR keine die Fischgesundheit und das Tierwohl keine belastenden Einflüsse ausgehen und die bakterielle Gemeinschaft auf den Kiemen stabilisiert wird, was die Vermehrung von Fischpathogenen behindert und sich so positiv auf die Fischgesundheit auswirkt.

Für einen zukünftigen Betrieb unter realen Bedingungen wäre eine Minderung des Wartungsaufwands (Personalkosten) und ein besser kontrollierbarer Betrieb mit konstanten Bedingungen wünschenswert.

## 2 Einleitung

### 2.1 Ausgangssituation

Die intensive Befischung der Meere in den letzten Jahrzehnten führt dazu, dass die natürlichen Fischbestände zurückgehen und viele Arten vom Aussterben bedroht sind. Daher stagnieren die Welt-Fischfangmengen seit den 1990er Jahren, doch ist der Bedarf an hochwertigem tierischem Eiweiß und damit auch von Fisch und anderen Wassertieren durch die wachsende Weltbevölkerung immer weiter gestiegen. Dieser zusätzliche Bedarf wird seitdem im zunehmenden Maße durch die Aquakultur gedeckt. Seit 1991 bis 2016 stieg der Anteil der in Aquakultur produzierten Fische an der global erzeugten Fischmenge (Fang und Aquakultur) von ca. 13 % auf 47 % (FAO 2018), wobei 90 % der in Aquakultur produzierten Fische aus Asien stammen und Europa nur ca. 4 % zur Welt-Produktion beiträgt (FAO 2018).

In diesem Kontext kommt der Erzeugung von Fisch in der Aquakultur eine wichtige Rolle zu, weil sie im Vergleich mit anderen Verfahren zur Erzeugung tierischen Eiweißes die beste Ökobilanz hat und – bei Wahrung der Nachhaltigkeit – weiter erheblich wachsen könnte (NASTAQ 2014). Dabei sind geschlossene Kreislaufanlagen weitgehend von der offenen Natur entkoppelt und ihr Nährstoffausstoß und ihre Auswirkungen auf die Umwelt können in besonderer Weise vermindert werden (Ebert et al. 2017).

Im Gegensatz zur globalen Entwicklung ist die Aquakultur in den Ländern der EU27 kaum gewachsen, so dass die EU gegenwärtig 60 % des Bedarfs an Fisch aus Ländern außerhalb der EU importiert, obwohl die Umweltbilanz von in europäischer Aquakultur erzeugtem Fisch besser ausfällt, als bei Fisch aus vielen Importländern (Westhoek et al., 2011). Zur Situation in Deutschland führt der NASTAG (2014) aus: „Deutschland importiert inzwischen rund 89 % der hierzulande verzehrten Fische und Meeresfrüchte (...). Es ist zunehmend weniger politisch vertretbar, dass Deutschland die Aquakultur trotz aus produktionstechnischer und ökonomischer Sicht geeigneter Standorte kaum zulässt und entwickelt, aber Aquakultur - Produkte aus Herkunftsländern mit oft schlechterem Umwelt- und Sozialmanagement in großer Zahl nachfragt.“ Daher wird eine „Erhöhung der Erzeugung von Fischen und anderen Aquakulturerzeugnissen in nachhaltiger Produktion“ gefordert, um die Importe von derzeit fast 90 % auf ca. 50 % zu senken. Hierzu gehört auch die Entwicklung und Verbesserung von geschlossenen Kreislaufsystemen „auch weil innovative Forschung, Technologieentwicklung und Nachhaltigkeit bei der Produktion die größten Wettbewerbsvorteile gegenüber dem internationalen Markt darstellen“. Kreislaufanlagen ermöglichen zudem im Vergleich zu offenen Systemen (Netzgehegen oder durchflossene Teichwirtschaften) eine deutliche Verminderung des Nährstoffaustrags in Gewässer und damit eine Reduzierung der Eutrophierung und des Biodiversitätsverlustes in aufnehmenden Gewässern.

In den beiden vorherigen Projekten („Entwicklung einer umwelt- und fischgesundheitsfreundlichen Technologie zur Verringerung der Stickstoff- und Mikropartikelfracht in Aquakultur-Kreislaufanlagen“, Phase 1 und 2, DBU, AZ 28092/01 und AZ 28092/02) wurden zunächst die mechanischen Wechselwirkungen verschiedener Trägermaterialien mit Membranoberflächen untersucht, um eine mechanische Beschädigung auszuschließen und geeignete Materialien für die weiteren Versuche auszuwählen. Weitere Untersuchungen dienten der Überprüfung dieser zentralen Projektidee. Es ließ sich eindeutig nachweisen, dass durch im Wasserstrom zirkulierende Kunststoffkörper Biofouling auf den Membranoberflächen weitgehend vermieden werden kann. Schließlich wurde die Kombination von Denitrifikation und Membranreinigung in einem kleinen Membran-Deni-Reaktor (MDR) in Kombination mit einem Aquarium mit Fischen untersucht. Die Nitratkonzentrationen im Aquarium ließen sich massiv senken. Die Trübungswerte im Ablauf des MDR waren niedrig, jedoch die Volumenströme zu gering, um Auswirkungen auf das Aquarium im Vergleich zu einem Referenzbecken nachzuweisen. Im halbertechnischen Maßstab wurden zwei Kreislauf-Anlagen mit gleichem Aufbau und gleicher Masse an Fischen eingesetzt. Eine Anlage wurde erweitert mit dem Membran-Deni-Reaktor (MDR), die andere - ohne Membran- und Denitrifikationsstufe - diente als Referenz. Durch den Vergleich der Messdaten aus den beiden Anlagen ließ sich die Leistungsfähigkeit des MDR demonstrieren.

Zur Beurteilung der Fischgesundheit und des Tierwohls wurde neben den bakteriologischen Untersuchungen der Fische und des Wassers auch ein neues Verfahren zur Beurteilung der Stresssituation für Fische mithilfe der Cortisol-Konzentration als Indikator getestet. Der Einsatz des MDR wirkte sich positiv auf die Mikroflora des aquatischen Systems und damit auf die Fischgesundheit und das Tierwohl aus. Die Gesamtkeimzahl im Wasser blieb auf niedrigem Niveau, bei hoher bakterieller Diversität, was die Etablierung von möglicherweise pathogenen Bakterien erschwert. So waren aus der Anlage mit MDR signifikant weniger potentiell pathogene Keime und Fäkalkeime zu isolieren. Anhand der Messungen von Cortisol im Blut und im Wasser lässt sich schließen, dass Fische in der Anlage mit MDR signifikant geringer gestresst waren als die Fische im Vergleichsbecken ohne MDR. Diese Stressminderung ist vermutlich auf die bessere chemische und mikrobiologische Wasserqualität zurückzuführen. Insgesamt trägt der Einsatz eines MDR zur Verbesserung des Tierwohls und der Gesundheit der Fische in einer Aquakulturanlage bei.

## 2.2 Zielsetzung

Ziel dieses Vorhabens ist die Realisierung eines einfachen und wirksamen Verfahrens zur Wasseraufbereitung in der Aquakultur und zur Verringerung von belastenden Emissionen aus Fischzucht-Anlagen. Ein biologisches Hochleistungs-Verfahren zur Denitrifikation, d.h. die biologische Entfernung von Nitrat wird gekoppelt mit einer Membraneinheit. Zweck ist sowohl die Elimination von Feststoffen, wie z.B. Bakterien, Parasiten und anderen Mikropartikeln als auch eine Steigerung der Biomassenkonzentration im Denitrifikationsreaktor. Dafür werden spezielle Trägermaterialien aus offenporigem Polyurethan als Aufwuchs-Oberflächen für die Bakterien angeboten und in einem Fließbettreaktor mit nitrathaltigem Wasser beaufschlagt. Die fortlaufende Bewegung der Träger führt nicht nur zur Entfernung überschüssiger Biomasse, sondern dient zusätzlich zur Reinigung der Wand- und Membranoberflächen, was optisch leicht erkennbar ist.

Durch Phosphatakkumulation in der Biomasse und anschließender Ausschleusung und Verwertung des Schlammes, z.B. in der Landwirtschaft, ließe sich auch eine merkliche Minderung des P-Eintrags in die Umwelt erreichen. Dies verringert die Nährstoffemissionen und die Gefahr einer Eutrophierung der Vorfluter. Der Rückhalt von Mikropartikeln stabilisiert darüber hinaus die bakterielle Mikroflora in den Fischbecken was zu einer verbesserten Fischgesundheit und einer Steigerung des Tierwohls führt.

## 2.3 Aufgabenstellung

Das hier beschriebene aktuelle Vorhaben dient dazu, die Praxistauglichkeit des Konzeptes zu prüfen und Verbesserungen am Reaktor vorzunehmen. Der „Membran-Deni-Reaktor“ (MDR) wurde dazu in zwei kommerziellen Fisch-Kreislaufanlagen getestet. Labor- und Online-Messungen dienten zur Erkundung der Leistungsfähigkeit des Reaktors unter Praxisbedingungen. Außerdem sollte versucht werden, die Energiekosten des MDR durch strömungstechnische Verbesserungen zu senken.

Zur Prüfung der Auswirkungen dieser fortschrittlichen Wasseraufbereitung auf die Fischgesundheit wurden klinische und mikrobiologische Gesundheits-Untersuchungen der Fische und der bakteriellen Mikroflora in den Fischbecken durchgeführt.

### 3 Projektverlauf - Vergleich mit Arbeitsplan

#### 3.1 Übersicht

Bei der Realisierung des Projektes ergaben sich einige unvorhersehbare Probleme, die dazu führten, dass einzelne Projektabschnitte erst später begonnen werden konnten. Der Zeitplan für die Arbeitspakete hat sich dadurch verschoben (s. Tab. 1). Dazu wurden zwei kostenneutrale Verlängerungen insgesamt bis Ende Juni 2019 beantragt und genehmigt.

**Tab. 1: Im Voraus geplante (grau) u. tatsächliche Zeiträume (blau) für Durchführung der Arbeitspakete**

Arbeitspakete	Partner					Datum →												Datum →																																					
	MMF	AS	RF	ISWA	TIHO	Monat												Monat																																					
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8																		
Modifikation Membran-Deni-Reaktor für Praxistest in Aquakulturanlage	X			X																																																			
Transport + Integration des Reaktors in Aquakultur 1	X	X	X	X																																																			
Integration der Mess- und Regeltechnik.1				X																																																			
Entwickl Methoden z. spez. Nachweis von Fischpathogenen					X																																																		
Betreuung u. Wartung der Anlage (Sensoren, Membran...) 1		X	X	X																																																			
Betrieb + Aufnahme von Messwerten 1				X																																																			
Analytik, insb. Freisetzung DOC u. Nitrit 1				X																																																			
Ermittlung N-Umsatz, Wasserverbrauch, -qualität				X																																																			
Regelungsstrategie Dosierung C-Quelle																																																							
Energiebedarf optimieren	X			X																																																			
Fische: Futterraufnahme, Gewichtszunahme, Kondition, eventuelle Auffälligkeiten 1		X	X	X	X																																																		
Beurteilung Gesundheit Fische 1		X	X		X																																																		
Bestimmung Cortisol in Wasser u. Blut																																																							
Mikrobiol. Beurteilung Wasser + Fische 1					X																																																		
<b>Meilenstein 1: Membran-Denitrifikations-Reaktor in Aquakultur-Anlage 1 untersucht</b>																																																							
Transport+Integration des Reaktors in Aquakultur 2	X	X	X	X																																																			
Integration der Mess- und Regeltechnik 2				X																																																			
Betreuung u. Wartung der Anlage (Sensoren, Membran...) 2		X	X	X																																																			
Betrieb + Aufnahme von Messwerten 2				X																																																			
Analytik, insb. Freisetzung DOC u. Nitrit 2				X																																																			
Ermittlung N-Umsatz, Wasserverbrauch, -qualität 2				X																																																			
Regelungsstrategie Dosierung C-Quelle				X																																																			
Fische: Futterraufnahme, Gewichtszunahme, Kondition, eventuelle Auffälligkeiten 2		X	X	X	X																																																		
Beurteilung Gesundheit Fische 2		X	X		X																																																		
Bestimmung Cortisol in Wasser u. Fischblut 2																																																							
Mikrobiol. Beurteilung Wasser + Fische 2					X																																																		
<b>Meilenstein 2: Membran-Denitrifikations-Reaktor in Aquakultur-Anlage 2 untersucht</b>																																																							
<b>Bericht</b>	X	X	X	X	X																																																		

Der erste Praxistest in der KLA von Rhönforelle (RF) ermöglichte wegen verschiedener Schwierigkeiten (s. Kap. 3.4, 3.5, 3.6) noch keine befriedigende Aussage. Wie vorgesehen wurde der MDR von RF nach Göttingen zu Aqua Schwarz (AS) transferiert und dort erneut in Betrieb genommen. Dieser zweite Praxistest wurde in zwei Teilversuchen durchgeführt, um verlässliche Ergebnisse zu erhalten. Während beider Testläufe wurden umfangreiche Proben zur Analyse der bakteriellen Mikroflora im Kreislaufwasser, den Biofilmen in den Fischbecken und von den Kiemen der Fische genommen. Diese Proben wurden mittels eines molekularen Fingerabdruck-Verfahren (Denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese, DGGE) vergleichend untersucht.

### 3.2 Planung und Umbau für die Aufstellung bei Rhönforelle (RF)

Beim ersten Projekttreffen (28.09.2016) wurde von den Partnern beschlossen, die erste und zweite Versuchsphase in der Reihenfolge zu vertauschen und die Anlage zunächst bei RF zu testen, da Aqua Schwarz (AS) vorab noch einige technische Modifikationen für die Inbetriebnahme der Anlage vornehmen musste. Beispielsweise mussten die Fischbecken installiert, der Aufstellort für den Reaktor bereitgestellt und die elektrische und Netzwerk-Versorgung sichergestellt werden. Bei einem Besuch in Marjoß (RF), erster Aufstellungsort, im Februar 2017 stellte sich heraus, dass der ursprünglich vorgesehene Platz direkt bei der Wasseraufbereitungsanlage der KLA nicht geeignet war. Wir fanden dann einen geeigneten Ort für die Aufstellung im Vorraum der KLA. Dies führte zu einigen Änderungen bei der Planung, weil dieser Standort weiter entfernt von der Wasseraufbereitungsanlage war. So musste das Ablaufwasser des MDR und der Messstrecken zwischengespeichert und zurückgefördert werden. Außerdem musste die Steuerungseinheit der Zulaufpumpe umgebaut und spritzwassergeschützt werden. Auch wurden die Messstrecken neu konzipiert und gebaut sowie neue Sensoren und Messgeräte hierfür beschafft.

### 3.3 Neubau der Messstrecke

Zur Regelung der Dosierung und der Pumpen und zur Dokumentation der Forschungsergebnisse müssen Online-Messwerte erfasst und aufgezeichnet werden. Die hierfür verwendeten Sensoren - insbesondere der Nitratsensor - hatten jedoch in Phase 2 des Vorgänger-Projektes zu einem erheblichen Druckverlust im Ablauf und damit zu einer Erhöhung des Innendruckes des Reaktors geführt, was letztendlich zur Begrenzung des Reaktor-Durchflusses führte. Um diese Probleme zu umgehen, wurden die Sensoren hier im Bypass angeordnet und im Zulauf zur Messstrecke MDR Ablauf eine Pumpe installiert (s. Abb. 9, S. 15).

Da die Messdaten-Erfassung bei dem vorigen Projekt ganz auf die Bedingungen im ISWA (Stuttgart) zugeschnitten waren, musste die Peripherie (Messeinrichtungen und Schutz der Messgeräte) verändert und teilweise neu gebaut werden. Damit waren auch einige Verbesserungen in der Wasserführung zu realisieren. Teilweise wurden neue Geräte beschafft (z.B. Messgerät für Redoxpotential, s. Tab. 10). Ältere Geräte (Durchflussmessgeräte) mussten von der Herstellerfirma umgerüstet werden. Hierfür wurden ursprünglich 3 Monate vorgesehen.

Leider war zu beklagen, dass eine der beiden Nitratsonden funktionsuntüchtig war und daher zur Reparatur zur Herstellerfirma eingeschickt werden musste (Februar 2017). Da dies absehbar eine längere Zeit in Anspruch nehmen würde, haben wir vorübergehend ein Leihgerät eingesetzt. Dabei stellte sich heraus, dass auch der Controller zunächst Probleme bereitete, die sich durch Einbau eines neuen Netzteils beheben ließen.

Die zusätzliche Pumpe in der Messstrecke (Ablauf) wurde neu beschafft, jedoch stellte sie sich als nicht geeignet heraus und musste daher ausgetauscht werden.

### 3.4 Transport Reaktor

Da sich beim Bau des Membran-Deni-Reaktors im Verlauf des vorherigen Projektes („Entwicklung einer umwelt- und fischgesundheitsfreundlichen Technologie zur Verringerung der Stickstoff- und Mikropartikelfracht in Aquakultur-Kreislaufanlagen“, Phase 2, DBU, AZ 28092/02) Probleme mit der Festigkeit des Reaktors gegenüber bereits leicht erhöhten Innendrücken ergaben, lag die Vermutung nahe, dass auch der Transport der Anlage zu Schäden führen könnte. Überdies war zum Zeitpunkt des Reaktorbaus ein Transport noch nicht vorgesehen und somit auch keine entsprechenden Vorrichtungen, wie Transportösen usw. vorhanden. Ein Versand mit einem Transportunternehmen wäre deshalb zu riskant gewesen. Glücklicherweise, und überaus kooperativ und kollegial, hat sich Herr Groß (RF) bereiterklärt, die Beförderung mit einem Fahrzeug seiner Firma zu übernehmen. Die Vorbereitungen für den Transport (Umlegen und Verpacken) wurde im ISWA durchgeführt, die Aufstellung des Reaktors (mit ca. 600 kg) in der KLA der Fischzucht

Rhönforelle (Juli 2017) erforderte mehrere Stunden konzentrierter Arbeit von fünf Personen (RF + ISWA) u.a. mit Einsatz eines Radladers.

### **3.5 Integration des MDR in die Aquakulturanlage KLA Marjoß**

Die KLA der Fischzucht Rhönforelle in Marjoß war im Zeitraum der Versuche funktionstüchtig, die mechanische und biologische Reinigung des Wassers funktionierte gut, da der Betrieb von drei Mitarbeitern von RF nahezu im 24 h Betrieb überwacht wurde. Um den Wasserverbrauch der KLA abschätzen zu können, wurde für das Projekt eine Wasseruhr für die Messung der Frischwasserzufuhr und eine pH-Elektrode eingebaut.

Bei der Inbetriebnahme des MDR stellte sich heraus, dass Druckhaltetests nicht erfolgreich waren, da verschiedene Leckagen zu einem langsamen Druckabfall führten. Für die Funktion des MDR ist jedoch eine ausreichende Gas-Dichtigkeit wichtig, um den für die Membran erforderlichen Transmembrandruck zu gewährleisten. Es wurde daher mit verschiedenen Methoden die Dichtung verbessert. Dennoch gab es, aus verschiedenen Gründen, dabei im Verlauf der Versuche immer wieder Probleme (s. u.).

### **3.6 Betrieb des MDR in der KLA Marjoß (RF)**

Die Dichtigkeit des MDR war von Anfang an problematisch und konnte nur soweit hergestellt werden, dass sich die Versuche durchführen ließen. Ein Betrieb unter konstanten hydraulischen Bedingungen war jedoch nicht durchgehend möglich.

Das zweite Projekttreffen fand in Marjoß bei RF statt (13.09.2017). Nach Besichtigung des MDR durch die Projektpartner wurden verschiedene Vorschläge zur Lösung des Dichtigkeitsproblems gemacht. Einige davon haben wir getestet, jedoch ohne nennenswerten Erfolg.

Im November 2017 sollten die Störe, die für die Dauer des Projektes in der KLA gehalten wurden, nunmehr in die Außenbecken der Fischzucht umgesetzt und das Wasser in der KLA abgelassen werden. Daher wurde der Betrieb dort beendet, das Membranmodul zur Überprüfung und Reinigung zu MMF gebracht, der Reaktor wurde umgelegt und verpackt. Auch hier wurde der Transport des MDR von Marjoß nach Göttingen von RF in bewährter und kompetenter Weise durchgeführt.

### **3.7 Transport und Aufstellung in der KLA Göttingen (AS)**

Nachdem zahlreiche Versuche zur Abdichtung des MDRs erfolglos blieben, fanden wir schlussendlich die Ursache. Der Deckel - vermutlich durch die lange Verweilzeit vor dem Start dieses Projekts im Technikum in Stuttgart - war nicht mehr maßhaltig. Wir mussten einen neuen Deckel herstellen lassen. Um seine Maßhaltigkeit zu sichern, wurde die Konstruktion verändert: Die Dicke wurde auf 30 mm erhöht (zuvor 20 mm). Die Haltevorrichtungen für die Kniehebel-Verschlüsse wurden umkonstruiert und neu gefertigt. Außerdem wurden die Dichtungen neu eingeklebt und der Drucksensor, sowie neue Geräte (Magnetventil, Überdruckventil, Handventil) im Deckel eingebaut und gedichtet. Konstruktion und Bau des neuen Reaktordeckels dauerte von September 2017 bis Februar 2018.

Geplanter Zeitbedarf: 1 Monate. Zusätzlicher Zeitbedarf: 4 Monate

### **3.8 Integration des MDR in der KLA Göttingen (AS)**

Im Gegensatz zur Aquakulturanlage bei RF, steht hier nur eine relativ kleine Kreislauf-Anlage zur Verfügung. Dafür war die Möglichkeit gegeben, eine Referenzanlage ohne MDR zu betreiben, was in der Anlage von RF nicht möglich war. Auch hier wurden Wasseruhren (im Zulauf zu den Becken) nachgerüstet. Nachdem der MDR aufgestellt und angeschlossen war, mussten wir auf den neuen Reaktordeckel warten.

Als der Reaktor endlich betriebsbereit war, waren die Fische bereits seit mehreren Monaten in den Becken.

### 3.9 Betrieb des MDR in der KLA Göttingen (AS)

Nachdem der Reaktor angeschlossen und getestet war, wurden die Versuche gestartet. Alle weiteren Schritte sind im Kap. 4 und 5 beschrieben.

### 3.10 Verbreitung der Ergebnisse

Ergebnisse aus dem Vorgängerprojekt (gefördert von der DBU, AZ 28092/02) wurden in folgenden Zeitschriften publiziert:

- Boley, A.; Korshun, G.; Boley, S.; Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Steinhagen, D.; Richter, S. (2017): A new reactor for denitrification and microparticle removal in recirculated aquaculture systems. In: *Water Sci. Technol.* 75 (5), S. 1204–1210 (Boley et al. 2017a)
- Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Boley, A.; Korshun, A.; Steinhagen, D. (2019): Influence of a membrane-denitrification reactor on the microbial community of an aquaculture recirculation system. *J Fish Dis*, 42 (1), S. 141–146 (Jung-Schroers et al. 2019).

Außerdem wurden (bzw. werden) folgende Vorträge auf internationalen Konferenzen gehalten:

- Boley, A., Weishaupt, K., Müller, W.-R., Richter, S. (2017): Combination of nitrate and particle removal in a Membrane-Denitrification Reactor (MDR) for Recirculating Aquaculture Systems. *Aquac. Eur.* 2017, Dubrovnik (Boley et al. 2017b).
- Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Boley, A.; Bauer, J.; Teitge, F.; Hack, F.; Steinhagen, D. (2018): Influence of a nanofiltration-reactor on the bacterial microflora and on *Ichthyophthirius multifiliis* theronts in recirculating aquaculture systems. In: *Am. Fish. Soc. Symp.* (Hrsg.): 8th ISAAH 2018, Charlottetown, PEI, Canada, 02.-06.09.2018, S. 389 (Jung-Schroers et al. 2018)
- Boley, A., Müller, W.-R. (2019): Evaluation of a Membrane-Denitrification Reactor (MDR) in a Recirculation Aquaculture System under real conditions. *Aquac. Eur.* 2019, Berlin (akzept., 7.-10.10.2017). <https://www.aquaeas.eu/>

Weitere Publikationen sind geplant.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Aquakultur-Kreislaufanlagen

#### 4.1.1 Aquakultur-Kreislaufanlage (KLA) Marjoß, Rhönforelle (RF)

Die KLA in Marjoß dient zur Aufzucht von Stören bis zu einer Größe, die in die Außenteiche eingesetzt werden kann. Die Jungfische werden in quadratischen Becken gehalten (Außenmaße ca. 2 m Länge \* 2 m Breite \* 0,26 m Wasserhöhe (s. Abb. 1).



Abb. 1: KLA Marjoß, oberes Stockwerk mit Fischbecken.

Der Tierbesatz bestand aus Stören der Spezies *Acipenser baerii* (Sibirischer Stör) und *Acipenser gueldenstaedtii* (Russischer Stör, Waxdick, s. Abb. 2).



Abb. 2: Li: Fische vor Beginn der Versuche (-20. d), Re: Fische nach Abschluss der Versuche (43. d)

Während des Versuchs wurden ca. 180 kg Fisch in den Becken gehalten, die anfangs mit ca. 3,9 kg/d Futter (Biomar Inicio Plus, 60 % Protein) gefüttert wurden, entsprechend ca. 0,37 kg/d Stickstoff (s. auch Kap.

5.1.10). Mit zunehmender Größe der Tiere stiegen die Futtermengen entsprechend dem Bedarf der Fische und die Proteingehalte des Futters sanken.

Die Wasseraufbereitung im Stockwerk darunter besteht aus einem Trommelfilter zur Schlammtrennung, einem belüfteten biologischen „Moving Bed“ mit bewegtem Aufwuchsmaterial zur Nitrifikation und aerobem Kohlenstoffabbau, einem Entgaser, einem Absetzbecken mit UV-Lampe und einer Sauerstoff-Überträger-Einheit. Drei Pumpen dienen zur Aufrechterhaltung der Rezirkulation. (s. Abb. 3, Abb. 4).

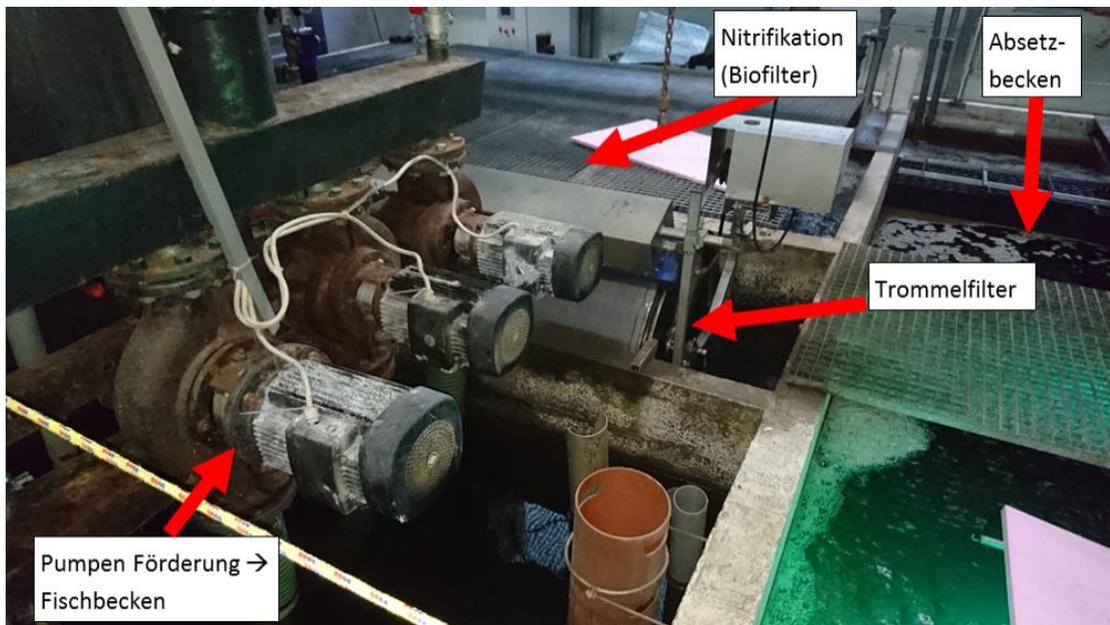


Abb. 3: KLA Rhönforelle (RF) Marjoß, unteres Stockwerk - Wasseraufbereitung.

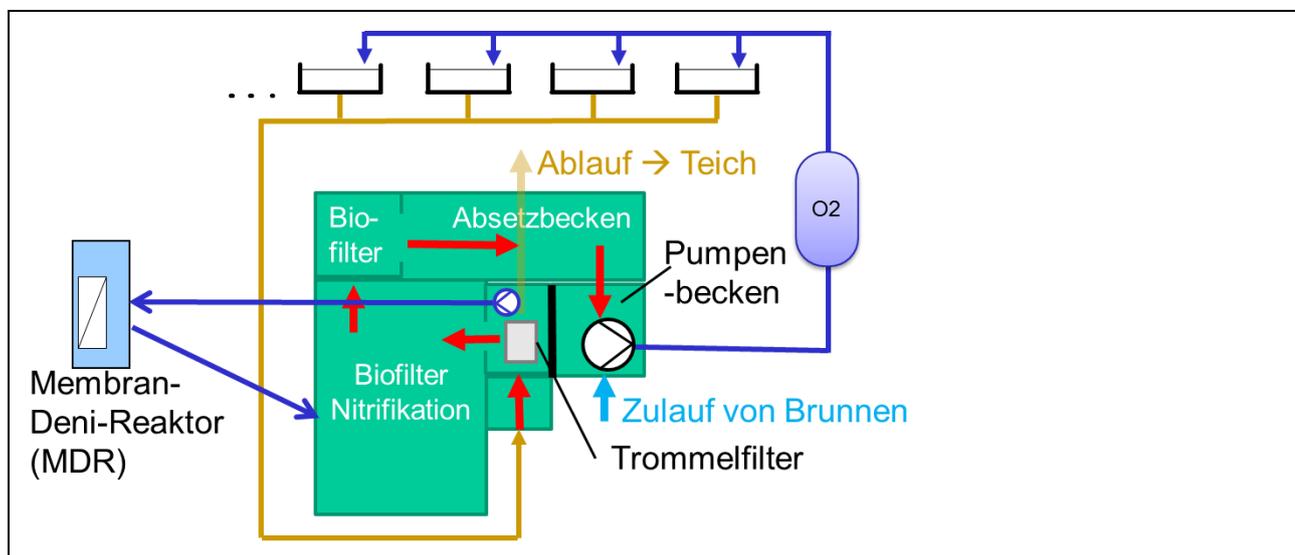


Abb. 4: Schema der Wasseraufbereitung KLA Marjoß, Rhönforelle (RF). MDR mit vorgereinigtem Wasser (Ablauf Trommelfilter) beschickt.

Das Zulaufwasser zur Anlage wird aus einem Brunnen im Bereich der Außenanlage (Fisch-Außenbecken) entnommen. Dabei wird der Zulauf-Volumenstrom über einen Kugelhahn manuell gesteuert, wobei die gleiche Menge Ablauf-Wasser die Anlage über einen Überlauf verlässt. Der Zulauf-Volumenstrom wurde im Verlauf des Projektes mit einer Wasseruhr erfasst.

Analysenwerte zeigen, dass es sich um ein Wasser mit sehr geringer Härte und geringer Säurekapazität ( $K_{S4,3}$ ) handelt (s.

Tab. 2). Die Konzentrationen der anorganischen Stickstoff-Verbindungen und von Phosphat waren nahe der analytischen Nachweisgrenzen.

**Tab. 2: Brunnenwasser (Zulauf KLA Marjoß, RF)**

Datum Uhrzeit der Messung	Einheit	20.07.2017 10:30	09.08.2017 10:00	09.08.2017 17:00
pH		7	7,15	
Temperatur	°C	14,3	14,6	
O <sub>2</sub>	mg/L	8,7	9	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	mg/L	0,019	0	
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	mg/L	0	0,022	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	mg/L	0,53	0,3	
CSB	mg/L	0	0,5	
K <sub>S4,3</sub> (Küvettest / titriert)	mmol/L	1,169		1,19 / 0,95
Härte	mmol/L	0,536	0,574	
Härte	°dH	3,01	3,22	
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P	mg/l	0		
Fe	mg/l		0,054	

Problematisch ist hier die geringe Säurekapazität des Brunnenwassers. Die Nitrifikation in der Wasseraufbereitung führt zu einem Absinken des pH-Wertes, der hier, bedingt durch die geringe Pufferkapazität des Wassers, nicht lange kompensiert werden kann. Dieses Problem wurde durch manuelle Zugabe von technischem Branntkalk (CaO, Düngekalk, Kalkwerke Meister GmbH, Großlüder) nach Bedarf gelöst. Tab. 3 zeigt die Analysenwerte in der KLA (nach Trommelfilter) aus Messungen im Verlauf der Versuche.

**Tab. 3: Kennwerte der Wasseraufbereitung KLA Marjoß (Werte für pH ... Fe: gemessen im Ablauf Trommelfilter)**

Parameter	Einheit	Wert
Wasservolumen der KLA (gesamt)	m <sup>3</sup>	58...60
Frischwasser Zulauf und Abwasser Ablauf	m <sup>3</sup> /d	3,2 ... 4,1
Frischwasserverbrauch je Gesamtwasservolumen	%/d	5...7
pH		5,7...7,0
Temperatur	°C	21,9...22,3
O <sub>2</sub>	mg/L	7,7...8,8
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	mg/L	0,02..0,14
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	mg/L	0,02..0,04
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	mg/L	27...31
CSB	mg/L	9...60
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P	mg/l	3,1
Fe	mg/l	0,01

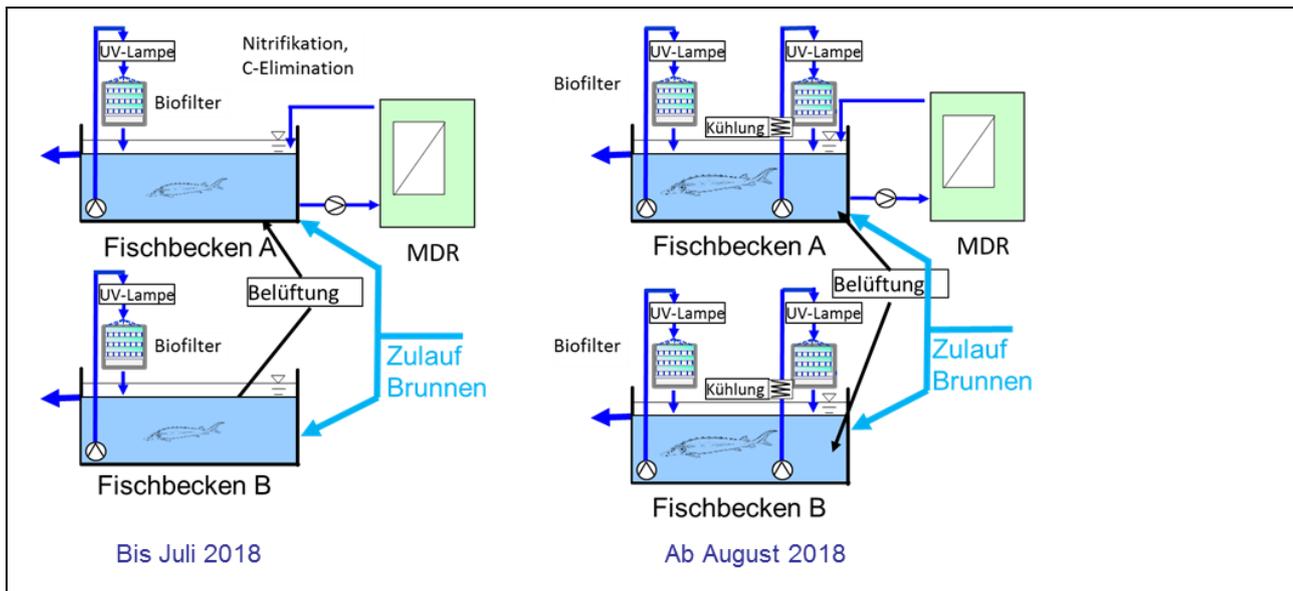
Aus dem Becken, in dem sich das Ablaufwasser des Trommelfilters sammelt, wurde das Wasser mit der Zulaufpumpe zum MDR gefördert. Die gesammelten Abläufe von MDR und den beiden Messstrecken (s. Abb. 9) wurden in den Biofilter-Bereich der Wasseraufbereitung zurückgepumpt (s. Abb. 4).

#### 4.1.2 Aquakultur-KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS)

Die Fischbecken bei Aqua Schwarz in Göttingen dienen normalerweise der Aufzucht von verschiedenen Fischen bis zum Verkauf an den Großhandel. Für die Durchführung der Versuche dieses Projektes wurden zwei Becken (Becken A und Becken B) mit je 6 m<sup>3</sup> Wasservolumen verwendet und mit Stören aus der Anlage KLA Marjoß (105 *Acipenser baerii* und 96 *Acipenser gueldenstaedtii*) besetzt. (Abb. 5, Abb. 6). In Anlage A wurden zunächst nur Fische der Art *Acipenser baerii*, in Anlage B nur die Art *Acipenser gueldenstaedtii*

gehalten. Nach der zweiten Wägung am 61. d wurden die beiden Arten gleichmäßig auf die beiden Becken verteilt, um die Vergleichbarkeit der beiden Anlagen zu gewährleisten.

Zunächst waren jeweils ein Biofilter für Nitrifikation und C-Elimination vorhanden, ab August 2018 wurden zusätzliche Biofilter, sowie Kühlgeräte installiert, da die Fische inzwischen sehr stark gewachsen waren und die Wassertemperaturen aufgrund der Wetterbedingungen auf bedenkliche Werte angestiegen waren (s. Abb. 8). UV-Lampen waren im Zulauf zum Biofilter installiert, um die Keimbelastung im Becken zu verringern. Ein separater Anlagenteil zur Feststoff-Entnahme war nicht vorhanden. Das Wasser wurde durch Belüftungsschläuche mit Sauerstoff angereichert. Um den Wasserverbrauch der Anlage abschätzen zu können, wurden im Zulauf zu den Becken Wasserzähler installiert.



**Abb. 5:** Schema der Wasseraufbereitung KLA Göttingen (AS). Li. Konfiguration bei Start, re: Ausrüstung mit jeweils 2. Biofilter und Kühlung



**Abb. 6:** Besatz der Fisch-Becken, hier Becken A (*Acipenser baerii*) 43 d vor Beginn der Versuche

Abb. 7 zeigt einen Stör in Becken B (*Acipenser gueldenstaedtii*)



Abb. 7: Fisch in Becken B (*Acipenser gouldenstaedtii*), 89. D

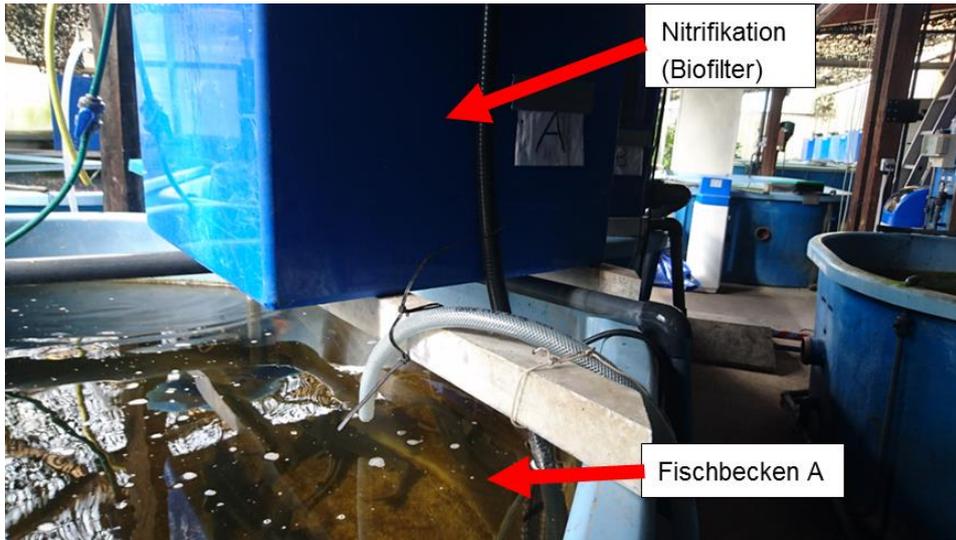


Abb. 8: KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS) - Wasseraufbereitung.

Im Gegensatz zu der Anlage in Marjoß stand hier Brunnenwasser mit hoher Härte zur Verfügung (s. Tab. 4). Auch die Säurekapazität ( $K_{S4.3}$ ) und damit die pH-Pufferkapazität des Wassers war hoch, was zu relativ konstanten pH-Werten in den Becken führte. Eine Zugabe von Chemikalien war daher nicht erforderlich.

Tab. 4: Brunnenwasser (Zulauf zur KLA Göttingen) bei Aqua Schwarz (AS), gemessen

Parameter	Einheit	Wert
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	mg/L	$\leq 0,016$
$\text{NO}_2^-\text{-N}$	mg/L	$< 0,015 \dots 0,08$
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	mg/L	7,5...11,8
CSB	mg/L	$< 5 \dots 6,6$
DIC	mmol/L	5,7...6,4
$K_{S4.3}$	mmol/L	6...6,5
Härte ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ )	mmol/L	4,9...5,1
	°dH	27,5...28,7
$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$	mg/l	0...0,4
$\text{SO}_4^{2-}$	mg/L	~ 80
	mmol/L	~ 0,85
$\text{Cl}^-$	mg/L	130...150
	mmol/L	3,6...4,2
Fe	mg/l	0...0,1
pH		7,3...7,4

Tab. 5 zeigt die Kennwerte und die gemessenen Werte in den Becken während der Versuche. Der Frischwasserverbrauch wurde über Kugelhähne eingestellt und über Wasseruhren gemessen

**Tab. 5: Kennwerte der KLA Göttingen (Aqua Schwarz)**

Parameter	Einheit	Wert	
Wasservolumen Anlage A, ges.	m <sup>3</sup>	6,63	
Wasservolumen Anlage B, ges.	m <sup>3</sup>	6	
Frischwasser Zulauf u. Abwasser Ablauf je Becken	m <sup>3</sup> /d	0,4 ... 18	
Frischwasserverbrauch je Gesamtwasservolumen	%/d	80 ... 300	
pH		7,1...8,0	
Temperatur	°C	14,4...20,0	
O <sub>2</sub>	mg/L	5...8,6	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	mg/L	0,1...0,7	
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	mg/L	0,01...0,4	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	mg/L	5...13	
CSB	mg/L	5...15	
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P	mg/l	0,1...0,8	
Fe	mg/l	0,11	

### 4.1.3 Physiologische Ansprüche der Störe an die Wasserqualität

Fische sind in besonderem Maße den Einflüssen ihrer aquatischen Umgebung ausgesetzt. Tab. 6 zeigt Grenzwerte für bestimmte Parameter, die bei Gruppen verschiedener Fischarten kritisch, optimal bzw. eingeschränkt akzeptabel sind (Schreckenbach 2002). Der optimale Temperaturbereich für Störe liegt bei 18 °C - 22 °C (Steinbach 2018).

**Tab. 6: Physiologische Ansprüche verschiedener Fischarten an die Umweltbedingungen (Schreckenbach et al. 1987, 2001) (Schreckenbach 2002)**

Umweltparameter	ME	kritischer unterer Bereich	eingeschränkter unterer Bereich	optimaler Bereich	eingeschränkter oberer Bereich	kritischer oberer Bereich
<b>1. Forellen- und Barschartige</b>						
Sauerstoff (O <sub>2</sub> )	mg/l	bis 4,0	6,0...6,9	7,0...30	31...35	bis 40
pH-Wert		bis 5,0	5,5...6,4	6,5...8,0	8,1...8,8	bis 9,0
Kohlendioxid (CO <sub>2</sub> )	mg/l	bis 0,5	1...4	5...8	9...12	bis 20 <sup>3)</sup>
Stickstoff (N <sub>2</sub> )	% Sätt.	-	-	< 100	100...103	bis 105
Ammoniak (NH <sub>3</sub> )	mg/l	-	-	< 0,01	0,01...0,07	bis 0,1 <sup>1)</sup>
Salpetrige Säure (HNO <sub>2</sub> )	mg/l	-	-	< 0,0002	0,0002...0,0005	bis 0,002 <sup>2)</sup>
Nitrit (NO <sub>2</sub> )	mg/l	-	-	< 1,0	1,0...2,0	bis 3,0 <sup>2)</sup>
Nitrat (NO <sub>3</sub> )	mg/l	-	-	< 200	200...300	bis 400
<b>2. Karpfen-, Stör-, Aal- und Welsartige</b>						
Sauerstoff (O <sub>2</sub> )	mg/l	bis 3,0 <sup>K,W</sup>	4,0...4,9	5,0...30	31...35	bis 40
pH-Wert		bis 5,5	6,0...6,9	7,0...8,3	8,4...10	bis 10,5
Kohlendioxid (CO <sub>2</sub> )	mg/l	bis 0,5	1...6	7...18	19...20	bis 25 <sup>3)</sup>
Stickstoff (N <sub>2</sub> )	% Sätt.	-	-	< 100	100...103	bis 105
Ammoniak (NH <sub>3</sub> )	mg/l	-	-	< 0,02	0,02...0,1	bis 0,2 <sup>1)</sup>
Salpetrige Säure (HNO <sub>2</sub> )	mg/l	-	-	< 0,0004	0,0004...0,001	bis 0,004 <sup>2)</sup>
Nitrit (NO <sub>2</sub> )	mg/l	-	-	< 1,0	1,0...3,0	bis 5,0 <sup>2)</sup>
Nitrat (NO <sub>3</sub> )	mg/l	-	-	< 200	200...300	bis 800 <sup>S,A</sup>

1) = abhängig vom Eiweißgehalt und Energie/Protein-Verhältnis des Futters

2) = bei Cl<sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N-Verhältnissen > 8 (2) bis >17 (1) werden auch höhere HNO<sub>2</sub> und NO<sub>2</sub>-Konzentrationen toleriert (Antagonisten: NaCl-, CaCl<sub>2</sub>-Bäder)

3) = bei hohen SBV und Sauerstoffkonzentrationen werden auch höhere CO<sub>2</sub>-Gehalte toleriert

K = Karpfenartige bis 2,0 mg/l Sauerstoff

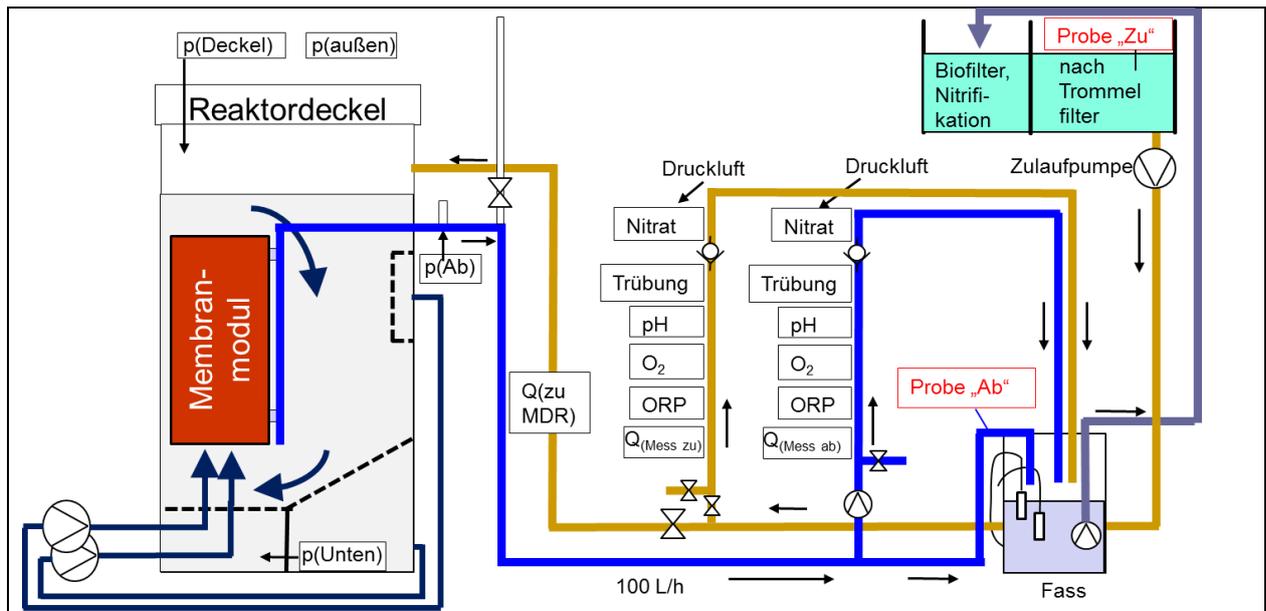
W = Afrikanische Welse bis 0 mg/l Sauerstoff bei ausreichendem O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Gehalt der Atemluft

S, A = Störe und Aale nur bis 400 mg/l Nitrat

## 4.2 Membran-Deni-Reaktor (MDR) mit Messtrecke

### 4.2.1 Übersicht

Aufgrund der unterschiedlichen baulichen und technischen Gegebenheiten an den beiden Standorten, wurde das Wasser für den MDR an individuellen Stellen im Kreislauf mit einer Exzenter-Schneckenpumpe heraus gefördert (s. Abb. 9, Abb. 10).



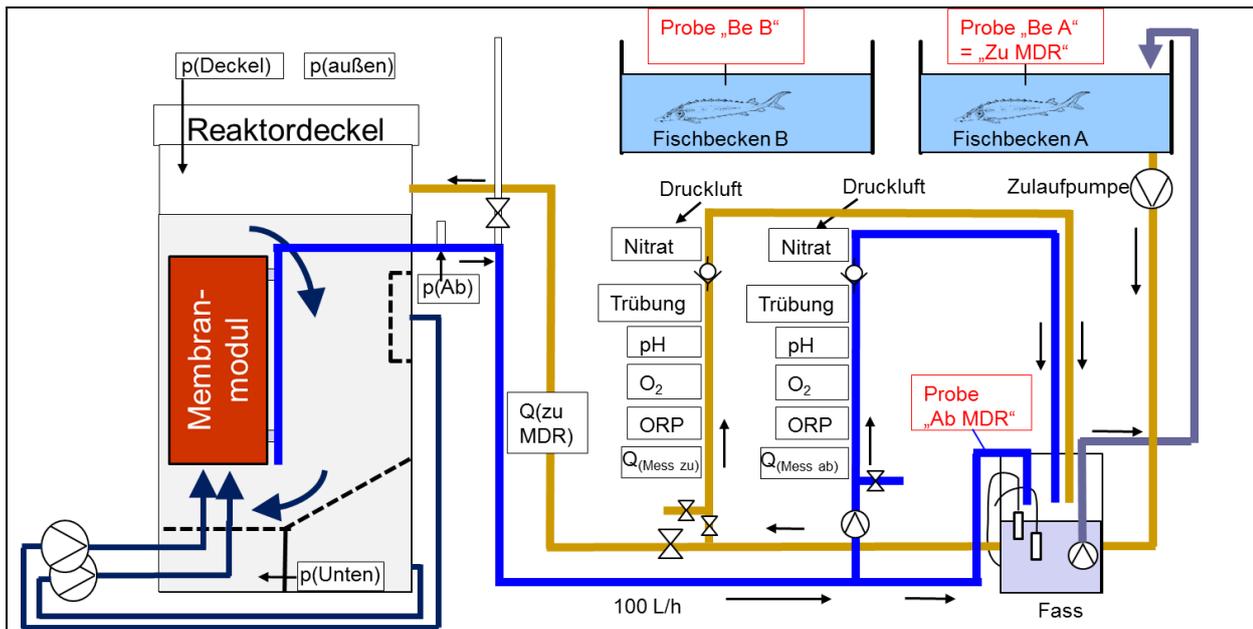
**Abb. 9: MDR mit Messstrecke - KLA Marjoß (RF). Die Zulaufpumpe fördert Wasser aus dem Ablauf des Trommelfilters in der Wasseraufbereitungsanlage in den Reaktor (MDR) bzw. in die Messstrecke (s. auch Abb. 4). (Rechtecke mit roter Schrift: Probenahmestellen für die Analytik-Proben. Rechtecke mit schwarzer Schrift: Sensoren bzw. Reaktordeckel)**

In der KLA Marjoß war der Entnahmepunkt im Ablauf des Trommelfilters, in der KLA Göttingen im Fischbecken A. Der Volumenstrom wurde aufgeteilt in einen Teilstrom, der durch die Messstrecke (Zulauf) fließt und einen Teilstrom, der in den MDR gefördert wird. Hieraus kann das Wasser nur durch die Membran entweichen. Von dem ablaufenden Wasser wird ein Teil mit einer kleinen Pumpe in die Messstrecke gefördert, der andere Teil fließt direkt in das Fass. Aus dem Fass wird das Wasser, über einen Niveauschalter geregelt, mit einer Tauchpumpe in das Fischbecken zurück gefördert.

Der Rücklauf aus dem MDR sollte aus Sicherheitsgründen in die Nitrifikationsanlage zurückgeführt werden, um einer möglicherweise auftretenden Nitrit-Produktion bei der Denitrifikation entgegen zu wirken. Dies war jedoch nur in der KLA Marjoß möglich (s. Abb. 9). In der KLA Göttingen musste das Wasser direkt in das Fischbecken zurück geleitet werden (s. Abb. 10). Abgesehen davon war die eigentliche MDR-Anlage mit den beiden Messstrecken in beiden KLA gleich aufgebaut.

Nachdem der Reaktor angeschlossen und getestet war, wurde die Ethanol-Dosierung gestartet, was bei beiden Standorten gleichzeitig als Start der Versuche definiert wurde.

Die Probenahme für die Labor-Analytik erfolgte an den in Abb. 9 und Abb. 10 bezeichneten Stellen (rote Schrift). Die Proben wurden direkt zur Analytik verwendet (nicht filtriert).



**Abb. 10: MDR mit Messstrecke - KLA Göttingen (AS). Die Zulaufpumpe fördert Wasser aus Fischbecken A in den Reaktor (MDR) bzw. in die Messstrecke (s. Abb. 5). Rote Kästen: Probenahmestellen für die Analytikproben. (Rechtecke mit roter Schrift: Probenahmestellen für die Analytikproben. Rechtecke mit schwarzer Schrift: Sensoren bzw. Reaktordeckel)**

### 4.2.2 Membranmodul

Für das aktuelle Projekt wurde ein neues Membranmodul (UX20-002-FischAW-1, MMF) gefertigt. Die Entwicklung dieses Moduls ist im Abschlussbericht zum Projekt „Entwicklung einer umwelt- und fischgesundheitsfreundlichen Technologie zur Verringerung der Stickstoff- und Mikropartikelfracht in Aquakultur-Kreislaufanlagen (Phase 2)“ (DBU, AZ 28092/02) beschrieben.

Bei den verwendeten Membranen handelte es sich um eine Ultrafiltrationsmembran aus PES (Polyethersulfon) mit der Porenweite 0,03 µm...0,1 µm bzw. 150 kDa (s. Abb. 11, Tab. 7).

Die Erst-Inbetriebnahme erfolgte zu Beginn der Versuche in der KLA Marjoß. Vor Beginn der Versuche bei Aqua Schwarz (AS) in Göttingen, sowie vor Start des 2. Teilversuchs bei AS, wurde das Modul einer Prüfung und Reinigung unterzogen. Außerdem wurden hin und wieder das OST (offenporiges Schaumstoff-Trägermaterial) zwischen den Membranplatten entfernt.



**Tab. 7: Kennwerte Membranmodul**

Parameter	Einheit	Wert
Aktive Membranfläche	m <sup>2</sup>	11,5
Netto-Membranmodul-Volumen <sup>1</sup>	L	64
Länge Membranmodul	m	0,46
Breite Membranmodul	m	0,385
Höhe Membranmodul	m	1,058
Permeatfluss Membranmodul <sup>2</sup>	L/(m <sup>2</sup> ·h)	15...30
Porenweite	µm	0,03...0,1

**Abb. 11: Membranmodul UX20-002-FischAW-1, hergestellt von MMF**

<sup>1</sup> Verdrängtes Wasservolumen des Membranmoduls

<sup>2</sup> Erfahrungswerte von MMF in kommunalem Abwasser im klassischen MBR-Betrieb

### 4.2.3 Membran-Deni-Reaktor (MDR) und offenporiges Schaumstoff-Trägermaterial

Die Entwicklung des Reaktors wurde bereits im Abschlussbericht zum Projekt „Entwicklung einer umwelt- und fischgesundheitsfreundlichen Technologie zur Verringerung der Stickstoff- und Mikropartikelfracht in Aquakultur-Kreislaufanlagen (Phase 2)“ (Boley et al. 2014) beschrieben. Tab. 8 zeigt die Maße des MDR.

**Tab. 8: Kennwerte MDR**

Parameter	Einheit	Wert
Länge außen   innen	m	1,068   0,968
Breite außen   innen	m	0,498   0,398
Höhe außen   innen	m	2,460   2,455
Wasservolumen (je nach Wasserstand)	L	565...650

Nachfolgend wird die Funktionsweise des MDR zusammengefasst.

Im MDR (s. Abb. 9, Abb. 13) erfolgt die Denitrifikation, wobei Nitrat zu gasförmigem Stickstoff reduziert wird. Als Kohlenstoff-Quelle diente Ethanol, das mit deionisiertem Wasser auf eine Konzentration von 0,1 g/g Ethanol/Wasser verdünnt wurde. Das Wasser wurde dann über die Membranflächen filtriert und zum Ablauf des Reaktors geleitet. Als Abrasionskörper zur Reinigung der Membran und gleichzeitig als Trägermaterialien für Bakterien wurde offenporiges Schaumstoff-Trägermaterial (OST1) in Würfelform aus Polyurethan eingesetzt (s. Tab. 9). Beim 2. Teilversuch bei AS wurden die Schaumstoffwürfel zeitweise ersetzt durch blaue zylinderförmige offenporige Schaumstoffteile (OST2, s. Tab. 9, Abb. 12).

**Tab. 9: Kennwerte offenporige Schaumstoff-Trägermaterialien (OST)**

Parameter	OST1	OST2
Hersteller	EMW, Diez	EMW, Diez
Typ, Bezeichnung	Poret Polyether Schaum PPI 45 lila“	Poret Polyether Schaum PPI 20
Form	Würfel	Zylinder
Maße Einzelträger	10 mm; 10 mm; 10 mm (B; T; H)	15 mm; 10 mm (D; H)
Schüttvolumen	40 L	40 L

B= Breite, T=Tiefe, H=Höhe, D=Durchmesser



**Abb. 12: Offenporige Schaumstoff-Trägermaterial (OST), das in den Versuchen eingesetzt wurde. Links: OST1 (KLA Marjöß und KLA Göttingen bis 222. d und ab 301. d, Rechts: OST2 (Göttingen 222. d - 301. d)**

Bei dem transparenten Reaktor ließ sich die Rezirkulation der Schaumstoffwürfel im Wasser gut beobachten (s. Abb. 13).



**Abb. 13: MDR KLA Marjöß 2 d n. Inbetriebnahme (li), n. 37 d Betrieb (re, Versuchsende). Li. vom MDR die beiden Rezirkulationspumpen.**

Es war optisch gut zu erkennen, dass sich die Biomasse zu Beginn der Betriebszeit im Wesentlichen auf den Schaumstoffwürfeln ansiedelte, während am Ende (bei hoher Nitratfracht) auch viele, z. T. sehr kleine Schlammflöckchen im Wasser vorhanden waren, die eine höhere Trübung bewirkten (s. Abb. 13).

Die Reinigungswirkung der Schaumstoff-Würfel auf die Membranoberflächen ist abhängig von der Strömung entlang der Membran-Oberflächen. Dazu wurden zwei Kreiselpumpen („Aqua Plus 8“, Aquatechnix) eingesetzt und zwei interne Kreisläufe erzeugt (s. Abb. 9). Es stellte sich heraus, dass ein Pausenintervall bei der Umwälzung nachteilig war, denn die Schaumstoff-Würfel schwammen auf und ließen sich nur mit Schwierigkeiten wieder in Umlauf bringen. Um das zu verhindern und gleichzeitig eine Deckschichtbildung auf den Absauggittern zu vermeiden, wurden beide Pumpen im Wechsel in folgendem Intervall betrieben: 15 min Pumpe 1, 15 min Pumpe 2, 15 min beide Pumpen. Die Betriebszeiten der Pumpen wurden vom Leitrechner mit der Software MULTIMESS gesteuert.

Auf dem Reaktordeckel ist ein mechanisches Überdruckventil zur Notentlastung bei einem Innendruck von  $> 200$  mbar (Überdruck) montiert (s. Abb. 14). Weiterhin ist der Drucksensor für die Messung des Innendrucks (absoluter Druck) und ein manuelles Ventil zur manuellen Druck-Entlastung installiert. Das Magnetventil für die computergesteuerte Entgasung dient dazu, den Wasserstand im Reaktor konstant zu halten. Sinkt der Wasserstand infolge der Gas-Produktion durch die Denitrifikation, wird das Magnetventil kurz geöffnet. Dadurch sinken der Transmembrandruck und der Volumenstrom durch die Membran vorübergehend ab und der Reaktor wird durch die Zulauf-Pumpe weiter aufgefüllt.

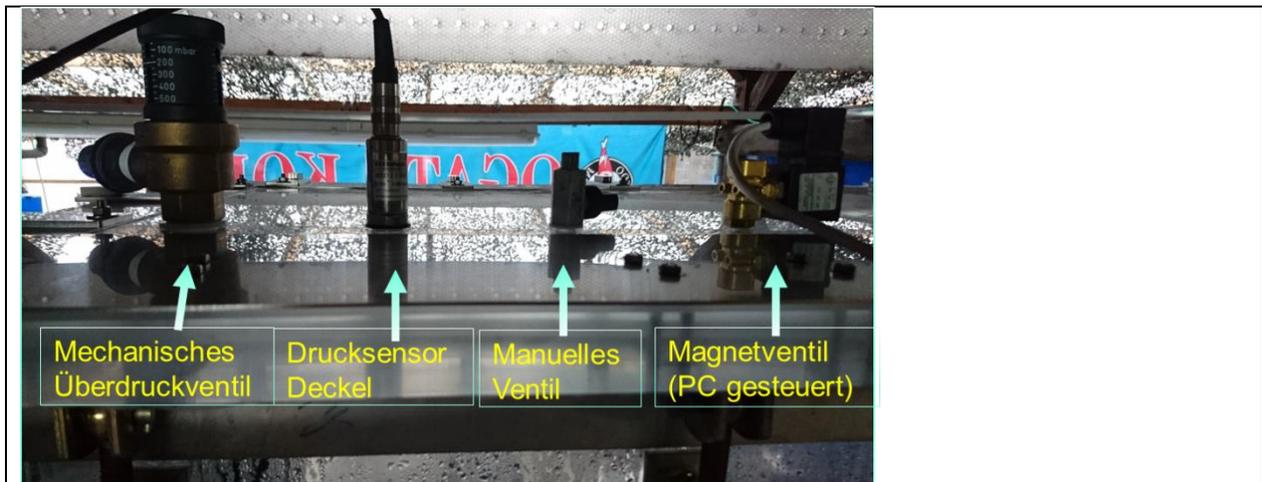


Abb. 14: Reaktordeckel MDR mit Sensor u. Ventilen.

#### 4.2.4 Dosierung der Kohlenstoffquelle

Als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation wurde eine wässrige Ethanol-Lösung (0,1 g/g) verwendet. Die Flasche mit der Ethanol-Lösung stand auf einer Waage mit der die Masse dieser Lösung alle 5 min im Rechner gespeichert werden konnte (s. Abb. 15). Die Dosierung erfolgte intervallweise mit Hilfe einer Membran-Dosierpumpe mit Magnetventil. Die dosierte Menge an Ethanol-Lösung wurde über das Dosierintervall gesteuert, abhängig von der aktuellen Nitratkonzentration und dem Sauerstoffgehalt im Reaktorzufluss. Die Steuerung der Pumpe und damit der dosierten Menge erfolgte mit der Software MULTIMESS, die zwei Relaischaltboxen (mit je 4 Relais) ansteuerte (s. Kap. 4.2.6).

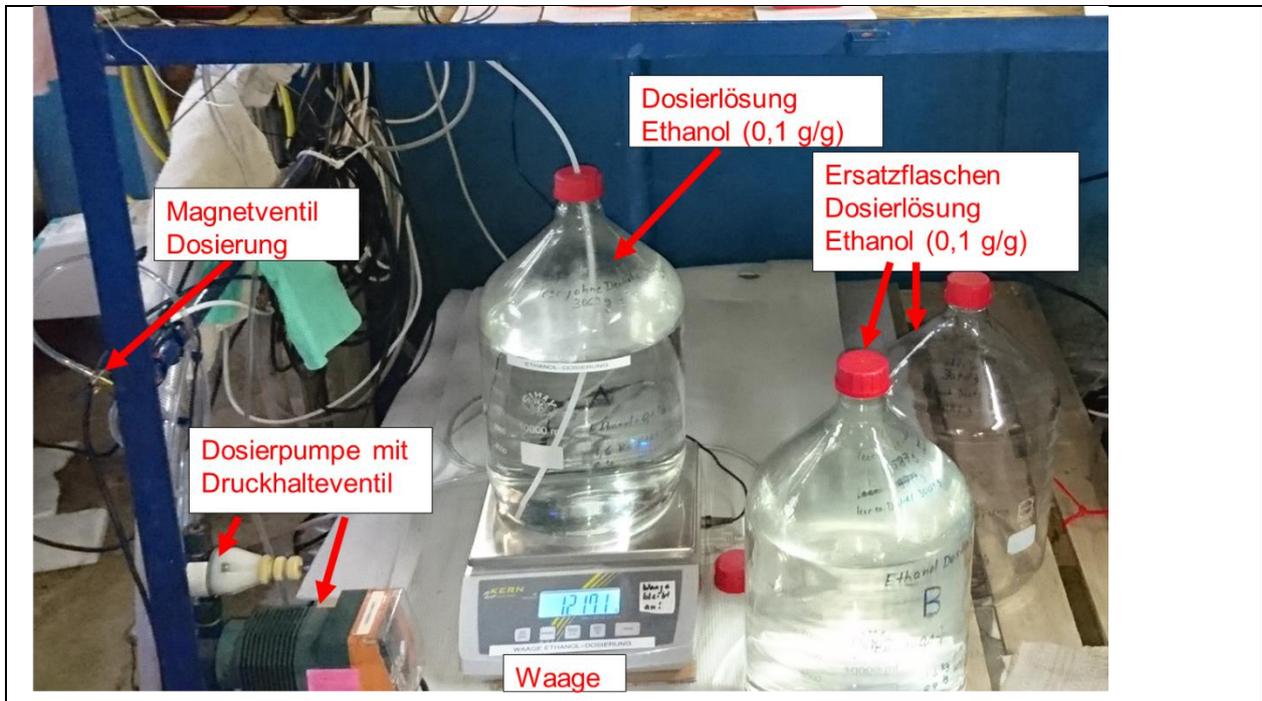


Abb. 15: Dosierung von Ethanol

#### 4.2.5 Messgeräte und Technik

Die beim Betrieb der Anlage eingesetzten Geräte sind in Tab. 10 und Tab. 11 aufgeführt.

**Tab. 10: Messgeräte u. Sensoren (RF und AS)**

Parameter	Bezeichnung in Abb. 9	Messgerät
Volumenstrom (Magnetisch-Induktiver-Durchflussmesser)	Q (MDR)	MAG 5000 MID (Siemens, Denmark) + VC820 (Conrad Electronic SE, Hirschau)
Druck	p1	GMH 3156 (Greisinger, Regenstauf) + MSD 2,5 BAE
Trübung	Trübung	SC 100, SC 200 + Ultraturb (HACH LANGE GmbH, Düsseldorf)
Sauerstoff / Temperatur	O <sub>2</sub> , T	Multiline P4 + Cellox ® 325, SenTix® 41, jeweils mit Temp.Sensor (WTW, Weilheim)
pH-Wert / Temperatur	pH, T	
Nitrat	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	Spectrolyser (S::CAN, Wien)
Masse Ethanollösung (Waage)	m(E)	Kern FCB 24 K 1 (Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern)
Redoxpotential	ORP	GMH 3530 (Greisinger, Regenstauf) mit Sensor GE 105 BNC. Referenzelektrode: Ag/AgCl KCl 3 mol/L; Standardspannung (20 °C, pH 7) = 211 mV.
Füllstand Schlauch Ablauf MDR		Kapazitiver Füllstandssensor, KQ6, ifm electronic, Essen

**Tab. 11: Weitere Geräte (RF und AS)**

Gerät Type	Hersteller	Kennwerte
Kreiselpumpen „Aqua Plus 8“	Aquatechnix, Neunkirchen	11 m <sup>3</sup> /h; 0,6 kW
Membranpumpe Gamma Gala	ProMinent, Heidelberg	17 W; max. 7,1 L/h; 7 bar
Exzenter-Schneckenpumpe „NEMO“	Netzsch, Waldkraiburg	0,37 kW,
Magnetventil MV1315	Riegler, Bad Urach	8 W; DN 2,5 mm; 14 bar
Niveauregler ALSCHU 485	Greisinger, Regenstauf	1 W

Die Zulaufpumpe zum MDR, die Membranpumpe in der Messstrecke des Permeats (Good pump, Fa. zology, Findtech, Shenzhen, China) und die Pumpe im Fass (Eheim Universal, EHEIM, Deizisau, s. Abb. 9) wurden von Niveaureglern ein- bzw. ausgeschaltet, um ein Trockenlauf zu verhindern.

Redoxpotentiale wurden als „ORP“ (Oxidation Reduction Potential) im Ablauf MDR, teilweise auch im Zulauf zum MDR gemessen. Diese Messung gibt Auskunft über das Oxidations- oder Reduktionsvermögen der Lösung, lässt jedoch keinen Rückschluss auf einzelne Bestandteile einer Lösung zu. Die ORP-Werte wurden nicht nach DIN 38404 Teil 6 auf die Standardwasserstoffelektrode (Nullpunkt der Spannungsreihe) als Bezugslektrode umgerechnet, denn auch die nach DIN 38404 Teil 6 berechneten Redox-Spannungen wären nicht vergleichbar, da sich die Redox-Spannung mit Temperatur, Druck und pH-Wert ändert.

#### 4.2.6 Datenerfassung, Steuerung und Regelung

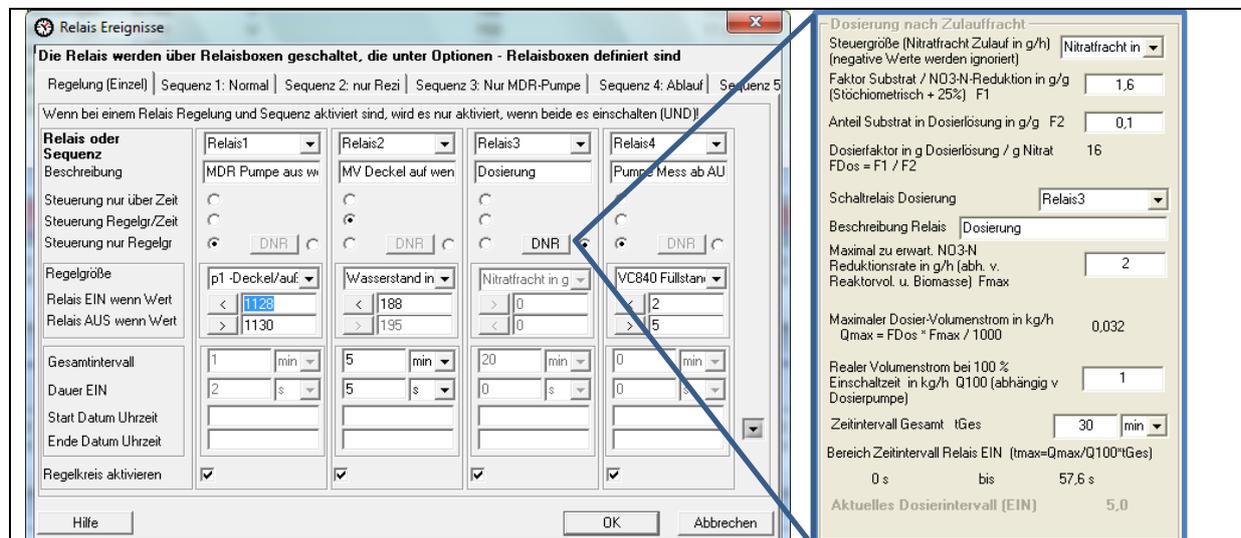
Um die Wasserqualität zu erfassen und manuell kontrollieren zu können, wurden die Daten der Sensoren mit Hilfe der Software MULTIMESS (Boley, Boley 2000-2019, Eigenentwicklung) im Zeitintervall von 5 min erfasst und an einen PC übertragen. Gleichzeitig wurden die Messwerte in einer Textdatei gespeichert.

Weiterhin können bestimmte Werte vom Programm über Gleichungen berechnet, in der Tabelle eingetragen, und auch für die Regelung verwendet werden. In diesem Projekt wurden die folgenden Gleichungen verwendet (s. Tab. 12).

**Tab. 12: Übersicht Gleichungen im Programm Multimes (Formelzeichen s. Abb. 9)**

Formel	Gleichung Definition	Erläuterung
1	$\text{TMP in mbar} = p(\text{unten}) - p(\text{ab}) - 169$	p(unten): Druck Reaktor unten in mbar; p(ab): Druck im Ablauf MDR, „169“: Druck-Differenz in mbar aus Höhendifferenz zwischen Drucksensor unten und Ablauf Membranmodul = 169 mbar.
2	$\text{Flux in L/(m}^2\cdot\text{h)} = Q\_MDR/11.5$	Q_MDR: Zulauf-Volumenstrom zum MDR; „11.5“: Membranfläche in $\text{m}^2 = 11,5 \text{ m}^2$
3	$\text{Permeabilität in L/(m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{bar)} = 1000\cdot Q\_MDR/(11.5\cdot \text{TMP})$	„1000“: Faktor mbar $\rightarrow$ bar; „11.5“: Membranfläche in $\text{m}^2 = 11,5 \text{ m}^2$
4	$\text{Wasserstand in cm} = 6.5 + (p(\text{Unten}) - p(\text{Deckel}))/0.978$	6.5: Höhe des Drucksensors unten im MDR in cm = 6,5 cm; p(Unten): Druck Reaktor unten in mbar, p(Deckel): Druck im Kopfraum des MDR; 0.978: Faktor $\rho * g * 10^{-4}$ vgl. Gl. (11)
5	$\text{Nitrat+O}_2\text{-Fracht in g/h} = Q\_MDR \cdot (\text{NO}_3\text{-N-Zu} + 0.46 \cdot \text{O}_2\text{-Zu})/1000$	Nitrat+O <sub>2</sub> -Fracht in g/h = NO <sub>3</sub> -N (Equiv.) Fracht (vgl. Gl. (4))

Mit der gleichen Software wurden Pumpen und Magnetventile gesteuert und damit die Kontrolle über das System mit definierten Schaltpunkten ermöglicht (s. Abb. 16).



**Abb. 16: Steuerungsoptionen MULTIMESS Software. Li: Druckbegrenzung MDR, Wasserstandsregelung MDR, Ethanoldosierung MDR, Pumpe Ab Messstrecke Re: Einstellungen für flexible Ethanoldosierung n. NO<sub>3</sub>-N (Equiv.) Fracht (s. Gl. (4), hier „Nitratfracht“.**

Um Schäden an der Membran zu vermeiden, wurde der Wasserstand im MDR ständig überwacht, um ein teilweises Austrocknen der Membran zu verhindern. Beim Unterschreiten eines bestimmten Wasserstandes (unterschiedlich je nach Versuchsabschnitt) wurde das Magnetventil am Deckel kurz geöffnet, damit der Reaktor entgast und der Wasserstand auf den Sollwert ansteigt. Der minimale Soll-Wasserstand entsprach dabei 2 cm über der Höhe der Oberkante des Membranmoduls (ca. 180 cm).

Um eine Beschädigung des Reaktors zu vermeiden, wurde die Zulaufpumpe zum MDR nur eingeschaltet, wenn der Druck p(Deckel) < 1130 mbar (absolut) war. Eine zusätzliche Bedingung für das Einschalten der Pumpe bei den Versuchen in der KLA Göttingen (AS) war ein Wasserstand unter 200 cm (maximaler Wasserstand), da ein Überschreiten dieser Wasserhöhe zu unerwünschten Verlagerungen der OST hinter das Ableitgitter führten. Bei den Versuchen in der KLA Marjoß wurde das Ableitgitter anders befestigt, so dass ein Wasserstand bis zu 210 cm ermöglicht wurde.

Damit die Pumpe, die das Wasser aus dem Ablauf des MDR in die Messstrecke „Ab“ fördert, nicht trocken läuft, wurde ein Füllstandssensor am Schlauch im Ansaugbereich der Messstrecke Ablauf angebracht, der anzeigte, ob der Schlauch mit Wasser gefüllt war. Nur in diesem Fall wurde diese Pumpe eingeschaltet.

Weiterhin wurde die Ethanol-Dosierpumpe nach einem flexiblen Rhythmus (Dosierintervall) ein/ausgeschaltet entsprechend einem vorgegebenen Dosiervolumenstrom, der sich auf Basis der gemessenen Nitrat- und Sauerstoffkonzentrationen an den Bedarf anpasst (Nitrat+O<sub>2</sub>-Fracht in g/h als Steuergröße, s. Abb. 16). Eine Begrenzung der dosierten Menge durch die maximal zu erwartende Nitrat-Reduktionsrate war eine Sicherungsmaßnahme.

Die beiden Rezirkulationspumpen wurden nach festen Zeit-Sequenzen ein- und ausgeschaltet, wie z.B. in Tab. 13 gezeigt.

**Tab. 13 Sequenz für das Ein- und Ausschalten der Rezirkulationspumpen**

Zeitdauer	Dim.	Rez Pumpe 1 oben	Rez Pumpe 2 unten
15	min	EIN	AUS
15	min	AUS	EIN
30	min	EIN	EIN

Die Programm-Parameter wurden während der Versuche von Zeit zu Zeit an die veränderten Bedingungen angepasst.

## 4.2.7 Labor-Analytik

### 4.2.7.1 Küvettentests

Die Online-Werte wurden durch regelmäßige Analysen im Labor ergänzt und überprüft. Die in der Routineanalytik verwendeten Küvetten-Testsätze (s. Tab. 14) wurden von HACH (Düsseldorf) bezogen.

**Tab. 14 Analysenwerte mit Küvetten-Testsätzen (Hersteller: HACH)**

Parameter	Küvettentests / Schnelltests	Messbereich
Alkohol = Ethanol	LCK300	(0,01...0,12) g/L Ethanol
Ammonium	LCK304	(0,015...2) mg/L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N
Eisen	LCW021	(0,005...0,250) mg /L Fe bzw. (0,05...2,00) mg /L Fe
Chlorid	LCK311	(1...70) mg/L Cl <sup>-</sup>
CSB	LCK1414	(5...60) mg/L O <sub>2</sub>
Säurekapazität = K <sub>s4,3</sub>	LCK362	(0,5...8,0) mmol/L
Carbonat gesamt (→DIC)	LCK388	(55-550) mg/L CO <sub>2</sub>
Nitrat	LCK339	(0,23...13,5) mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N
	LCK340	(5...35) mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N
Nitrit	LCK341	(0,015...0,6) mg/L NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N
	LCK342	(0,6...6,0) mg/L NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N
Phosphat	LCK349	(0,05...1,5) mg/L PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P
	LCK348	(0,5...5,0) mg/L PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P
Härte („Wasserhärte“)	LCK327	(1...20) °dH

Die Bestimmung der Analysenwerte erfolgte nach Bedarf. Ammonium wurde als Gesamt-Ammonium-Stickstoff ( $\beta(\text{NH}_4^+\text{-N})_{\text{Ges}}$ , s. Gl. (1)), Nitrit als NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, Nitrat als NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, Phosphat als PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P gemessen.

$$\beta(\text{NH}_4^+\text{-N})_{\text{Ges}} = \beta(\text{NH}_4^+\text{-N}) + \beta(\text{NH}_3\text{-N}) \quad (1)$$

Zur Umrechnung können die folgenden Faktoren verwendet werden (Tab. 15).

**Tab. 15: Umrechnungsfaktoren für verschiedene Konzentrations-Einheiten**

Ammonium	1 mg/L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	= 1,29 mg/L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
Nitrat	1 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	= 4,43 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Nitrit	1 mg/L NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	= 3,28 mg/L NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Phosphat	1 mg/L PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P	= 3,07 mg/L PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>

Die Küvettentests wurden entsprechend der Arbeitsvorschriften des Herstellers durchgeführt und fotometrisch ausgewertet (Mobiles Photometer: DR 1900, HACH). Für den Aufschluss bei den CSB-Tests wurde das Hochtemperatur-Gerät HT 200S von HACH (Düsseldorf) eingesetzt.

Die Härte, als Summe der Stoffmengenkonzentration der Erdalkali-Ionen (hier  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ ) wird nach (DIN 38409 Teil 6) in mmol/L angegeben und ggf. mit folgender Berechnungsmethode umgerechnet, s. Gl. (2)

$$\text{Härte in mmol/L} = 0,1786 * \text{Härte in } ^\circ\text{dH} \quad (2)$$

Die Säurekapazität bis zum pH-Wert 4,3 ist die auf das Wasservolumen bezogene Menge an Wasserstoff-Ionen, die erforderlich ist, um einen pH von 4,3 zu erreichen. Sie wird als  $K_{s4.3}$  bezeichnet und dient dazu die Pufferungskapazität eines Wassers gegenüber Säuren zu bewerten (DIN 38409 Teil 7). Der Küvettentest LCK362 ist ein Schnelltest, bei dem Carbonat und andere puffernde Substanzen mit dem Reagenz in der Küvette unter Verschiebung des pH-Wertes reagieren. Die Änderung der Färbung eines pH-Indikators wird dann photometrisch bestimmt (HACH 2001).

Die Säurekapazität wird auch oft als „Karbonathärte“ bezeichnet, jedoch ist diese Bezeichnung nicht korrekt und sollte daher nach DIN 38409 Teil 6 nicht mehr verwendet werden.

Die Bestimmung des DIC (=Dissolved Inorganic Carbon) erfolgte über den Küvettentest LCK388 (HACH). Die Ausgabe des Analysenwerts erfolgt als  $\beta(\text{CO}_2)$  in mg/L, der mit Gl. (3) als DIC in mmol/L umgerechnet werden kann.

$$\text{DIC in mmol/L} = 0,023 * \beta(\text{CO}_2) \text{ in mg/L} \quad (3)$$

#### 4.2.7.2 Bestimmung von pH, O<sub>2</sub>, Temperatur in Fischbecken, Brunnenwasser und Ablauf MDR

Die Bestimmung der physikalisch-chemischen Parameter pH, O<sub>2</sub> und Temperatur erfolgte mit dem tragbaren Mehrparameter-Gerät Multi 350i (WTW, Weilheim, „Handgerät“) und dazu passenden Sauerstoffelektroden (CellOx® 325) und pH-Elektroden (SenTix® 41), jeweils mit Temperatursensoren.

#### 4.2.8 Wartung

Um einen zuverlässigen und störungsfreien Betrieb der Anlage zu gewährleisten, wurden die O<sub>2</sub>- und pH-Elektroden in der Messstrecke und am Handgerät alle 14 d gereinigt und kalibriert. Nitratsonden und Trübungsmessgeräte wurden ebenfalls ca. alle 14 d gereinigt. Eine Kalibration ist hier normalerweise nicht erforderlich.

### 4.3 Berechnungen

#### 4.3.1 Ethanolbedarf für die Denitrifikation

Der stöchiometrische Ethanolbedarf berechnet sich aus der Reaktionsgleichung der Denitrifikation zu 1,37 g Ethanol / g  $\text{NO}_3^-$ -N, wenn die Biomasseproduktion außer Acht gelassen wird. Unter Berücksichtigung der Biomassenproduktion erhöht sich der Ethanolbedarf auf bis zu 2 g Ethanol / g  $\text{NO}_3^-$ -N (Rheinheimer et al. 1988, Hamon, Fustec 1991, Roennefahrt 1992/Roennefahrt 1992). Die tatsächlich dosierten Ethanol-Mengen wurden niedriger eingestellt und nach Bedarf gesteigert, um eine Überdosierung mit der Gefahr von anaeroben Bedingungen und einer Belastung des Wassers in den Fischbecken sicher zu vermeiden. Ein zusätzlicher Ethanolbedarf von 0,48 g Ethanol / g O<sub>2</sub> (stöchiometrisch) entsteht durch die Zehrung des mit dem Wasser eingetragenen Sauerstoffs. Nach Roennefahrt 1992, ist der spezifische Ethanolbedarf mit Biomassebildung für die Sauerstoffzehrung mit ca. 0,58 g Ethanol / g O<sub>2</sub> anzusetzen. Dieser zusätzliche Bedarf wurde mit der Gleichung (4) ebenfalls berücksichtigt und daraus die äquivalente  $\text{NO}_3^-$ -N-Fracht ( $\text{NO}_3^-$ -N (Equiv.) Fracht in Gl. (4)) berechnet. Mit den im Programm einstellbaren Faktoren K1 und K2 wird daraus die jeweilige Dosiermenge berechnet (s. Gl. (5)) und so die Dosierung dem Bedarf angepasst.

Die Ethanol-Dosierung wurde gemäß Gleichung (4) und (5) gesteuert:

$\text{NO}_3\text{-N (Equiv.) Fracht} = \frac{(\beta(\text{NO}_3\text{-N})_{\text{zu}} + F \cdot \beta(\text{O}_2)_{\text{zu}}) \cdot Q(\text{MDR})}{1000} \quad \text{in g/h NO}_3\text{-N}$	<b>(4)</b>
$m_{(\text{EtOH})} = \frac{K1}{K2} \cdot \text{NO}_3\text{-N (Equiv.) Fracht} \quad \text{in g/h Ethanol}$	<b>(5)</b>

mit:

$m_{(\text{EtOH})}$	= Ethanol-Dosier-Fracht in g/h
$\beta(\text{NO}_3\text{-N})_{\text{zu}}$	= Konz. $\text{NO}_3\text{-N}$ im Zulauf des MDR in mg/L
$Q(\text{MDR})$	= Volumenstrom MDR in L/h
$K1$	= Spezifischer Ethanolbedarf = 1,0 ... 2,2 g Ethanol / g $\text{NO}_3\text{-N}$
$K2$	= Anteil Rein-Ethanol in Lösung, hier: $K2 = 0,1$ g Ethanol / g Lösung
$\beta(\text{O}_2)_{\text{zu}}$	= Sauerstoffkonz. im Zulauf zum MDR in mg/L $\text{O}_2$
$F$	= Faktor für Berücksichtigung von $\text{O}_2 = 0,46$ g/g (theor. 0,48 g/g)

### 4.3.2 Denitrifikationsraten

Bei der Berechnung der auf das Reaktorvolumen bezogenen Denitrifikationsraten wird die Reaktionsfolge  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$  vereinfacht zu  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$  angenommen.

Zur Bestimmung der Denitrifikationsrate für den Reaktionsschritt  $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$ , Bezeichnung DN-Rate( $\text{N}_2$ ), werden außer den Nitrat- auch die Nitritkonzentrationen im Zu- und Ablauf des MDR in die Berechnung einbezogen s. Gl. (6). Dies war allerdings nur mit den Laboranalytik-Werten (ANA) möglich, da die online-Messung der Nitrit-Werte in hohem Maße fehlerhaft ist und keine zuverlässigen Nitritwerte lieferte.

$$\text{DN-Rate}(\text{N}_2) = \frac{\Delta\beta(\text{NO}_3\text{-N}) + \Delta\beta(\text{NO}_2\text{-N})}{V(\text{MDR})} \cdot Q(\text{MDR}) \quad \text{in mg/(L}\cdot\text{h)} \quad (6)$$

Mit: $\Delta\beta(\text{NO}_3\text{-N})$	= $\text{NO}_3\text{-N}$ Differenz zw. MDR Zu- und Ablauf in mg/L
$\Delta\beta(\text{NO}_2\text{-N})$	= $\text{NO}_2\text{-N}$ Differenz zw. MDR Zu- und Ablauf in mg/L
$V(\text{MDR})$	= Wasservolumen MDR in L
$Q(\text{MDR})$	= Volumenstrom MDR in L/h

Die Denitrifikationsrate DN-Rate( $\text{NO}_2^-$ ) für die Reaktionsfolge  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$  berechnet sich entsprechend nach Gl. (7). Sie kann bei vergleichsweise niedrigen Nitritkonzentrationen in etwa der Denitrifikationsrate gleichgesetzt werden und wird im Folgenden als „**Denitrifikationsrate**“ bezeichnet:

$$\text{DN-Rate}(\text{NO}_2^-) = \frac{\Delta\beta(\text{NO}_3\text{-N})}{V(\text{MDR})} \cdot Q(\text{MDR}) \quad \text{in mg/(L}\cdot\text{h)} \quad (7)$$

Mit:  $\Delta\beta(\text{NO}_3\text{-N}) = \text{NO}_3\text{-N Konz.-Differenz zwischen MDR Zu- und Ablauf in mg/L, On-Line Messwerte (Mittelwerte)}$ . Anmerkung: Vereinfacht kann hier eine Reaktion 0. Ordnung angenommen werden.

Bei einer Denitrifikationsrate höher als die Denitrifikationsrate, ist die Denitrifikation nicht vollständig und es entsteht Nitrit.

Da die Denitrifikationsraten auch durch die Nitratfracht im Zulauf des MDRs begrenzt werden, wird hier der Begriff „Raumbelastung Nitrat“ (RBN) verwendet, um die Nitratfracht im Zulauf zum Reaktor bezogen auf das Reaktorvolumen analog zur Denitrifikationsrate zu beschreiben.

$$\text{RBN} = \frac{\beta(\text{NO}_3\text{-N Zu})}{V(\text{MDR})} \cdot Q(\text{MDR}) \quad \text{in mg/(L}\cdot\text{h)} \quad (8)$$

Mit:  $\beta(\text{NO}_3\text{-N Zu}) = \text{NO}_3\text{-N im Zulauf zum MDR in mg/L}$

### 4.3.3 Wasserstand und Transmembrandruck

Die Druck-Messwerte der Drucksensoren  $p_1$  ( $=p(\text{unten})$ ),  $p_2$  ( $=p(\text{Ab})$ ) und  $p_3$  ( $=p(\text{Deckel})$ ) (s. Abb. 9, S. 15 und Abb. 10, S. 16), werden von der Software MULTIMESS für die Berechnung des Wasserstandes und des TMP (Transmembrandruck) verwendet.

#### Wasserstand im Reaktor

Der auf den unteren Drucksensor wirkende Druck (s. Gl. (9)):

$$p_1 = p_3 + \rho \cdot g \cdot (h_3 - h_1) \text{ in Pa} \quad (9)$$

$$p_{1\text{mbar}} = p_{3\text{mbar}} + 0,978 \cdot (h_{3\text{cm}} - h_{1\text{cm}}) \text{ in mbar} \quad (10)$$

Durch Umstellung der Gl. (9) ergibt sich die Wasserstandhöhe  $h_3$  (s. Gl. (11))

$$h_3 = \frac{(p_1 - p_3)}{\rho \cdot g} + h_1 \text{ in m} \quad (11)$$

$$h_{3\text{cm}} = \frac{(p_{1\text{mbar}} - p_{3\text{mbar}})}{0,978} + h_{1\text{cm}} \text{ in cm} \quad (12)$$

$\rho$  = Dichte des Wassers (998,2 kg/ m<sup>3</sup> bei 20 °C)

$g$  = Erdbeschleunigung (9,81 m/s<sup>2</sup>)

$h_1$  = Höhe Sensor  $p_1$  = Abstand Reaktorboden - Sensor  $p_1$  ( $p(\text{unten})$ ) in m;  $h_{1\text{cm}}$  = Höhe Sensor  $p_1$  in cm

$h_3$  = Wasserstandhöhe in m;  $h_{3\text{cm}}$  = Wasserstandhöhe in cm

$p_1, p_3$  = gemessener Druck (s. Abb. 9) in Pa = kg/(m·s<sup>2</sup>)

$p_{1\text{mbar}}, p_{3\text{mbar}}$  = gemessener Druck (s. Abb. 9) in mbar

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

#### Transmembrandruck (TMP)

Der TMP ist die „treibende Kraft“ des Filtrationsvorgangs und wird hier durch Überdruck auf der Seite des Retentates erzeugt. Er berechnet sich aus der Druckdifferenz zwischen der äußeren und inneren Seite der Membran (s. Gl. (13))

$$\text{TMP} = [p_1 - p_2 + \rho \cdot g \cdot (h_1 - h_2)] \cdot \frac{1 \text{ mbar}}{100 \text{ Pa}} \text{ in mbar} \quad (13)$$

$$\text{TMP} = [p_{1\text{mbar}} - p_{2\text{mbar}} + 0,978 \cdot (h_{1\text{cm}} - h_{2\text{cm}})] \text{ in mbar} \quad (14)$$

Mit:  $h_1$  = Abstand Sensor  $p_1$  vom Reaktorboden in m

$h_2$  = Abstand Sensor  $p_2$  vom Reaktorboden in m

$h_{1\text{cm}}$  = Abstand Sensor  $p_1$  vom Reaktorboden in cm

$h_{2\text{cm}}$  = Abstand Sensor  $p_2$  vom Reaktorboden in cm

$p_1, p_2$  = gemessener Druck (s. Abb. 9) in Pa = kg/(m·s<sup>2</sup>)

$p_{1\text{mbar}}, p_{2\text{mbar}}$  = gemessener Druck (s. Abb. 9) in mbar

### 4.3.4 Permeatfluss und Membranpermeabilität

Eine maßgebliche Größe zur Beschreibung der hydraulischen Leistungsfähigkeit der Membran ist der Permeatfluss  $J_p$ , das Verhältnis von Permeatvolumenstrom  $Q_p$  (L/h) zur Membranfläche  $A_m$  (m<sup>2</sup>) (s. Gl. (15)):

$$J_p = \frac{Q_p}{A_m} \quad \text{in} \quad \frac{\text{L}}{\text{m}^2 \cdot \text{h}} \quad (15)$$

Die Permeabilität ( $L_p$ ) kennzeichnet die Durchlässigkeit der Membrane und gibt u.a. einen Hinweis darauf, ob die Durchlässigkeit der Membran durch Biofilme vermindert wird (s. Gl. (16)).

$$L_p = 1000 \cdot \frac{J_p}{\text{TMP}} \quad \text{in} \quad \frac{\text{L}}{\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{bar}} \quad (16)$$

### 4.3.5 Stickstoffbilanz

Um abzuschätzen, welcher Anteil des von den Fischen via Nitrifikation produzierten Nitrat-Stickstoffs (Fracht Eintrag Futter) durch Denitrifikation (Fracht Austrag Deni) entfernt wird, bzw. welcher Anteil durch das Abwasser ausgetragen wird (Fracht Austrag Wasser), wurden die folgenden Gleichungen verwendet.

$$\text{Fracht Eintrag Futter} = F_u \cdot P_r \cdot N_P / 24 \quad \text{in g/h} \quad (17)$$

$$\text{Fracht Austrag Deni} = [\beta(\text{NO}_3^- \text{-N})_{\text{zu}} - \beta(\text{NO}_3^- \text{-N})_{\text{ab}}] / 1000 \cdot Q(\text{MDR}) \quad \text{in g/h} \quad (18)$$

$$\text{Fracht Austrag Wasser} = [\beta(\text{NO}_3^- \text{-N})_{\text{zu}} - \beta(\text{NO}_3^- \text{-N})_{\text{zu Be}}] \cdot Q(\text{ges}) / 24 \quad \text{in g/h} \quad (19)$$

Mit:  $F_u$  = tägliche Futtermenge in g/d (RF: Gesamte Anlage; AS: Becken A, bzw. Becken B)

$P_r$  = Proteinanteil des Futters in g/g

$N_P$  = Anteil Protein im Futter in g/g (ca. 0,16 g/g)

$\beta(\text{NO}_3^- \text{-N})_{\text{zu}}$  =  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  Konzentration im Zulauf MDR in mg/L

$\beta(\text{NO}_3^- \text{-N})_{\text{ab}}$  =  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  Konzentration im Ablauf MDR in mg/L

$\beta(\text{NO}_3^- \text{-N})_{\text{zu Be}}$  =  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  Konzentration im Zulauf zu den Becken (Brunnenwasser) in mg/L

$Q(\text{ges})$  = Volumenstrom ges. durch Anlage (A, B) (Zulauf Frischwasser) in m<sup>3</sup>/d

$Q(\text{MDR})$  = Volumenstrom Zulauf MDR in L/h

## 4.4 Beurteilung von Fischen und Wasser

### 4.4.1 Untersuchungen zur Stressbelastung der Störe in den unterschiedlichen Haltungssystemen

Um den Gesundheitszustand und eine mögliche Stressbelastung der Störe in dem Haltungssystem mit angeschlossenem Denitrifikationsreaktor (MDR) und im Kontrollhaltungssystem ohne MDR beurteilen zu können, wurden Proben von Fischen und Wasserproben untersucht. Insbesondere der Gehalt an Cortisol kann aufgrund von akuten als auch chronischen Stresseinwirkungen erhöht sein. Klassischerweise wird der Cortisolspiegel im Blut bestimmt. Bei Fischen kann alternativ auch die Cortisol Konzentration im Haltungswasser bestimmt werden. In diesem Fall wird die Menge an Cortisol gemessen, die von den Fischen über die Kiemen in das Wasser abgegeben wurde. Da sich diese Methode in der vorherigen Phase dieses Projektes als sehr geeignet zur Beurteilung des Stressniveaus in Kreisläufen mit und ohne Membran-Bioreaktor herausgestellt hat und der Fokus in der gegenwärtigen Studie auf nicht-invasive Methoden zur Beurteilung des Tierwohls gelegt werden sollte, wurde die Bestimmung des Cortisol-Wertes aus dem Haltungswasser als Parameter herangezogen. Die dafür notwendigen Wasserproben wurden wie folgt beschrieben gesammelt und untersucht.

#### 4.4.1.1 Entnahme von Wasserproben

Probenzeitpunkte: Wasserproben wurden im Betrieb **Fischzucht Rhönforelle GmbH und Co. KG (RF)** am 18.04. 2017 (vor Inbetriebnahme des MDR) sowie am 27.07. (Tag 19) und am 13.09. 2017 (Tag 67) während des Betriebs des MDR genommen. Da in der Fischzucht Röhnforelle alle Becken an einen Wasserkreislauf angeschlossen waren, konnte an diesem Standort während der Betriebszeit des MDR kein Vergleichskreislauf ohne MDR beprobt werden. Die Becken des Kreislaufs waren mit Stören der Spezies *Acipenser gueldenstaedtii* und *Acipenser baerii* besetzt.

Im Betrieb **Aqua Schwarz GmbH (AS)** wurden zwei Kreislaufsysteme beprobt, die ebenfalls mit *A. baerii* und *A. gueldenstaedtii* besetzt waren. Hier wurden Proben am 09.04.2018, (vor Start des MDR), am 23.04. (Tag 9), 23.05. (Tag 39), 05.06. (Tag 53), 19.06. (Tag 66), 27.06. (Tag 74), 11.07. (Tag 88), 18.07. (Tag 95), 02.08. (Tag 110), 16.08. (Tag 124) und 31.08.2018 (Tag 139) nach dem Start des MDR genommen. Des Weiteren wurden nach Reinigung der Membran und erneuter Inbetriebnahme des Reaktors Proben am 21.11. 2018 (Tag 221), am 08.01.2019 (Tag 269) und am 08.03. (Tag 328) genommen.

Zu den genannten Zeitpunkten wurden Wasserproben zu je 500 ml in Glasflaschen gesammelt. Im Betrieb Rhönforelle GmbH und Co. KG wurden die Proben jeweils aus 8 Haltungsbecken, dem Sedimentationsbecken und dem UV-Becken der Filtereinheit entnommen. Im Betrieb Aqua Schwarz GmbH wurden sie aus den beiden Haltungssystemen, Becken A mit MDR und Becken B ohne MDR entnommen. Das Wasser wurde sofort gekühlt und im Labor der Abteilung Fischkrankheiten der TiHo bis zur weiteren Bearbeitung gefroren bei -20 °C gelagert.

#### **4.4.1.2 Bearbeitung der Wasserproben und Bestimmung des Cortisol Gehaltes im Wasser**

Die Wasserproben wurden aufgetaut, gut durchmischt und über einen Papierfilter filtriert. Das in einer definierten Wassermenge von 100 mL enthaltene Cortisol wurde über eine Festphasenextraktionseinheit (Oasis HLB Extraction Cartridge) angereichert. Dazu wurden die Cartridges zunächst mit 5 mL Methanol und mit 5 mL destilliertem Wasser konditioniert und anschließend mit 100 mL der Wasserprobe beschickt.

Nachdem 100 mL Wasser aus den Wasserproben durch die Cartridges gelaufen waren, wurden die Cartridges mit 5 mL destilliertem Wasser gewaschen und nachfolgend gebundene Steroide mit 5 mL Methanol eluiert. Das Methanol wurde im Anschluss unter N<sub>2</sub>-Bedampfung eingedampft, die Steroide wurden in 200 µl phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) rekonstituiert und bis zur Analyse bei -20 °C gelagert. Die Messung der Cortisol Konzentration erfolgte mittels eines kommerziell erhältlichen ELISA Testsystems für Cortisol in Saliva (RE52611, IBL International, Germany) im endokrinologischen Labor der Rinderklinik der TiHo. Alle Wasserproben wurden im Doppelansatz untersucht.

#### **4.4.1.3 Analyse der Mikroflora im Haltungswasser und auf den Kiemen der Fische**

Fische sind in ihrer Umwelt ständig der Einwirkung von Bakterien ausgesetzt. Diese Bakterien kommen frei im Wasser vor, besiedeln alle mit Wasser in Kontakt stehenden Gegenstände und Oberflächen in Form von Biofilmen und siedeln ebenfalls auf der Haut und den Kiemen der Fische. Bis zu 10<sup>6</sup> koloniebildende Einheiten (KBE) je g Kiemenmaterial kommen auf der Kiemenschleimhaut der Fische vor, auf der Haut 10<sup>2</sup>-10<sup>4</sup> KBE je cm<sup>2</sup> und im Darm etwa 10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> KBE je g Darmgewicht. In der Regel spiegelt sich die Bakterienflora des Wassers auf der Schleimhaut der Fische wider. Im Rahmen dieses Projektes wurde im Betrieb Rhönforelle die Gesamtkeimzahl und die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser der Haltungsbecken und der Filterbecken zu den oben genannten Zeitpunkten bestimmt. Im Betrieb Aqua Schwarz wurden diese Parameter in den Becken der beiden Testkreisläufe zu den oben genannten Zeitpunkten bestimmt. Die Gesamtkeimzahl wurde mittels molekularbiologischer Methoden bestimmt und zusätzlich wurde der Anteil an *Vibrio* spp. und *Flavobacterium* spp. als fakultativ fischpathogene Bakterien an der Gesamtpopulation bestimmt, um den Einfluss des Denitrifikationsreaktors (MDR) auf die Mikroflora zu ermitteln. Zudem wurden Tupferproben von Kiemen der Fische auf Bakteriengehalt und -Zusammensetzung untersucht, um den Einfluss des MDR auf die Mikroflora des Gesamtsystems und insbesondere auch auf die Fischgesundheit beurteilen zu können.

### **4.4.2 Molekularbiologische Untersuchungen**

#### **4.4.2.1 Extraktion von DNA aus Wasserproben und Kiementupfern**

Für die Analyse der bakteriellen Gemeinschaft wurden die oben beschriebenen Wasserproben verwendet. Für eine DNA-Extraktion mussten zunächst die Bakterien aus den Wasserproben angereichert werden. Dafür wurden 100 mL der Wasserproben in einem ersten Schritt über einen Membranfilter (Teflon, 5 µm) filtriert, um größere Partikel zu entfernen. In einem zweiten Schritt wurden die Wasserproben über einen sterilen bakteriendichten Filter (0,45 µm) filtriert, auf dem die Bakterien anschließend als Rückstand vorlagen.

Tupferproben von den Kiemen der Fische wurden in den jeweiligen Betrieben im Rahmen der tierärztlichen Bestandsbetreuung entnommen, in RNA-later überführt und bei -20 °C bis zur Untersuchung gelagert. Die Probenentnahme erfolgte im Betrieb Röhnforelle unter Anleitung von Frau Dr. Agnes Flamm, Landesbetrieb Hessisches Landeslabor Gießen und im Betrieb Aqua Schwarz durch die Tierärztliche Hochschule Hannover.

Die bakterielle DNA wurde von den Filtern der Wasserproben und aus den Tupferproben der Fische mittels Standardmethoden (QIAamp DNA Mini-Kit, Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers extrahiert. Die erzielte DNA-Menge und Reinheit wurde photometrisch bestimmt (Nano Drop, Peq-Lab, Deutschland) und bei -80 °C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert.

#### 4.4.2.2 Quantifizierung der Gesamtkeimzahl und spezifischer Bakterienspezies mittels quantitativer Real Time PCR

Anhand von 16S rRNA codierende Nucleotid-Sequenzen, die einer Datenbank entnommen wurden, wurden spezifische Primer entworfen, mit denen Fragmente dieses Gens von allen Bakterien bzw. spezifisch von fakultativ fischpathogenen Vibrionen oder Flavobakterien amplifiziert werden können (Adamek et al. 2013). Diese Primer wurden in einer Real Time PCR eingesetzt. Die Reaktionen wurden mit einem Maxima SYBR Green 2x Mastermix (Fermentas) in einem ABI Prism 7000 Sequence Detection System (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) durchgeführt. Der RT-q-PCR Mastermix bestand aus 1x Maxima SYBR Green, 2 x Mastermix (mit 10 nmol/L ROX), 200 nmol/L jedes Primers, 5 µL bakterieller DNA aus den Proben sowie nukleasefreiem Wasser. Das Endvolumen jedes Ansatzes betrug 25 µL. Zunächst erfolgte eine Denaturierung für 10 min bei 95 °C, gefolgt von 40 Zyklen von je 30 s bei 95 °C, 30 s bei 60 °C und 30 s bei 72 °C. Nach jedem Durchgang wurde die entsprechende Dissoziationskurve des Amplikons aufgezeichnet. Die Fluoreszenzdaten dieser Untersuchungen wurden mit Hilfe des Sequence Detection Systems erhoben.

#### 4.4.2.3 Denaturierende Gradienten Gel Elektrophorese (DGGE)

Mittels der denaturierenden Gradienten Gel Elektrophorese ist es möglich, Änderungen in der Spezies-Zusammensetzung einer Bakterien-Population zwischen verschiedenen Untersuchungsgruppen und verschiedenen Zeitpunkten zu untersuchen. Die Untersuchungen erfolgen durch Amplifikation eines Fragmentes der Nucleotidsequenz des 16S rRNA codierenden Gens in der bakteriellen DNA. Dabei wird DNA sowohl von kultivierbaren als auch von nicht kultivierbaren Bakterien amplifiziert und somit werden neben kultivierbaren Bakterien auch nicht kultivierbare Bakterien bei der Analyse berücksichtigt. Da bei unterschiedlichen Bakterienspezies die amplifizierte Nucleotidsequenz differiert verfügen amplifizierte Nucleotidsequenzen auch über unterschiedliche Gehalte der Basenpaaren Guanin/ Cytosin und Adenin/ Thymidin. Anschließend werden abhängig vom G/C und A/T Gehalt ihrer Sequenz die amplifizierten Nucleotidsequenzen der verschiedenen Bakterien-Spezies in einer Probe in einem Polyacryl-Amid-Gel mit einem Harnstoffgradienten aufgetrennt und es entsteht ein für die einzelne Probe spezifisches Bandenmuster, wobei die einzelnen Banden jeweils unterschiedliche Bakterientaxa repräsentieren. Eine Identifizierung der einzelnen Spezies der Population ist auf diesem Weg allerdings nicht möglich, es können jedoch Aussagen über die Ähnlichkeiten und Unterschiede verschiedener Proben sowie über die Anzahl der Banden über die Diversität der Bakterien-Population in der Probe getroffen werden.

Für diese Untersuchung wurde aus Wasserproben und Kiementupfern extrahierte DNA in einer PCR eingesetzt, in der ein Fragment des 16S rRNA codierenden Gens amplifiziert wurde. Die verwendeten Primer sind in Tab. 16 aufgeführt.

**Tab. 16: Primer, die in der Endpunkt-PCR für die DGGE eingesetzt wurden. Die GC-Klammer in der Primersequenz DGGE\_f\_cl ist grau hinterlegt.**

Primer Sequenz Referenz	Sequenz	Referenz
DGGE_f_cl	CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGG GCACGGGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG	Muyzer et al. 1993
DGGE677R	ATMACTACGCATTTACCGCTAC	Steinum et al. 2009

Für die Reaktion wurden 0,2 Einheiten hot-start KAPA 2G robuste Polymerase (DNA Polymerase von PeqLab), 1x KAPA Puffer, 200 nmol/L jedes Primers, 200 µmol/L jedes Nucleotids und je 5 µl der DNA

verwendet. Die Ansätze wurden mittels nukleasefreien Wassers auf ein Gesamtvolumen von 25  $\mu\text{l}$  gebracht. Die PCR wurde in einem Thermocycler (Eppendorf Mastercycler) durchgeführt und beinhaltete einen Denaturierungsschritt bei 95 °C für 5 min, 5 Zyklen von je 30 s bei 95 °C, 30 s bei 63 °C...58 °C und 60 s bei 72 °C. Daran schlossen sich 35 Zyklen von 30 s bei 95 °C, 30 s bei 57 °C und 60 s bei 72 °C an. Der letzte Schritt bestand in einem abschließenden Elongationsschritt für 7 min bei 72 °C.

Für die DGGE-Analyse wurde ein Gel gegossen, Massenanteil Polyacrylamid  $\omega = 8 \%$  mit einem Harnstoffgradienten von 40 %...60 %. Nach dem Beladen des Gels mit den mittels eines Färbepuffers versetzten DNA Proben, lief die Elektrophorese bei einer Temperatur von 60 °C für 15 h. Das Gel wurde anschließend mittels einer Silbernitratfärbung gefärbt, um die Banden sichtbar zu machen und mittels Digitalkamera fotografiert. Nach dem Import eines Fotos des Gels in das Computerprogramm ImageJ (Rasband 1997-2015, Schindelin et al. 2015) konnte aufgrund der An- und Abwesenheit spezifischer Banden für jede Probe ein Bandenprofil erarbeitet werden, welches binär codiert in Tabellenform übertragen wurde. Mittels des Computerprogramms DendroUPGMA (Garcia-Vallvé, Puigbo 2002; Garcia-Vallvé et al. 1999) wurde ein Dendrogramm erstellt.

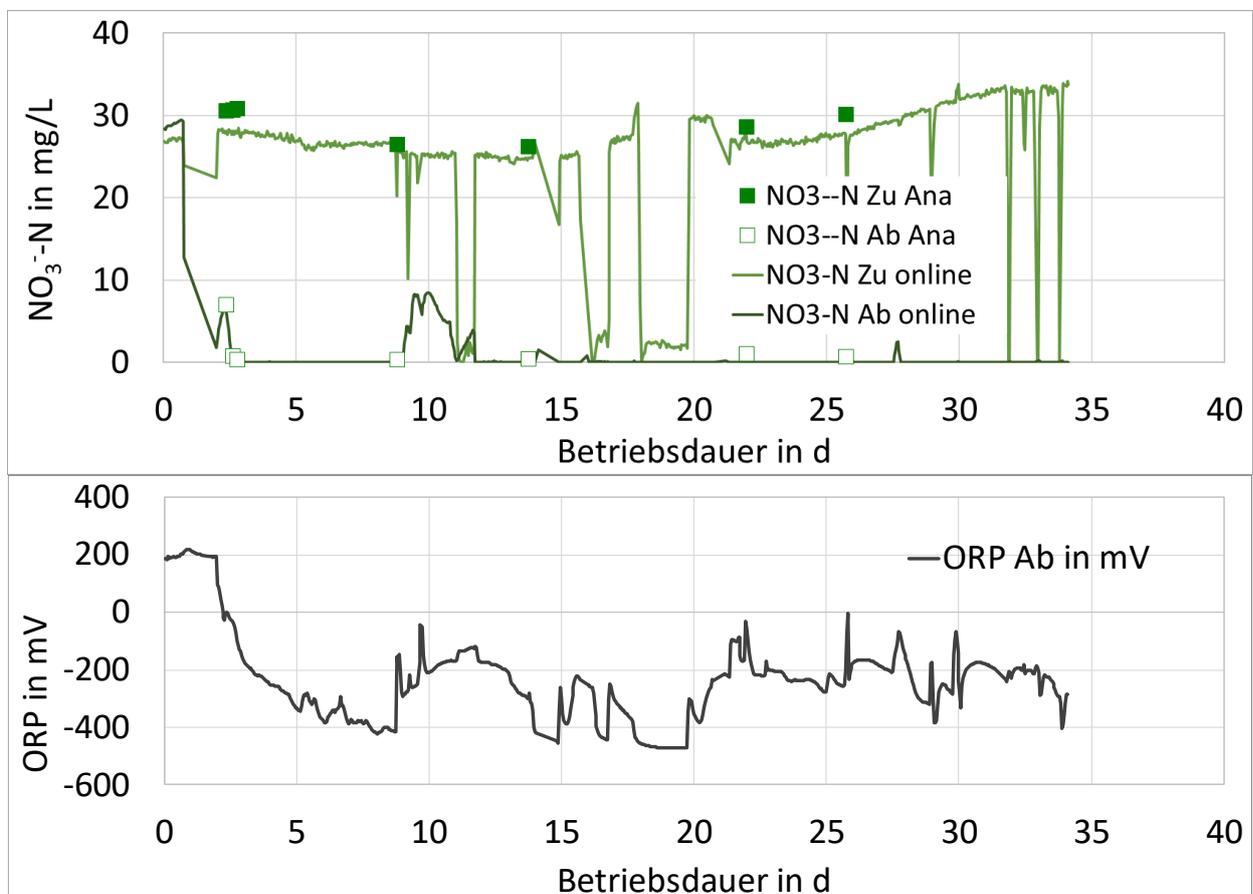


## 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Aquakultur-KLA Marjoß, Rhönforelle (RF)

#### 5.1.1 Nitrat

Zum Einfahren des MDR wurde mit zusätzlicher manueller Ethanol dosierung im Batchbetrieb die Vermehrung und Adaptation der Mikroorganismen im Reaktor forciert. Danach wurde auf die automatische Nitrat-gesteuerte Dosierung umgeschaltet (s. Kap. 4.2.4). Der Denitrifikationsprozess kam sehr schnell in Gang, so dass sich bereits am 3. d eine  $\text{NO}_3^-$ -N Konzentration von unter 1 mg/L im Ablauf des MDR einstellte (s. Abb. 17, oben). Die Online-Werte der Nitratsonde zeigten eine gute Übereinstimmung mit den analytisch gemessenen Daten.



**Abb. 17:** Oben: Verlauf Nitratkonzentrationen im Zu- u. Ablauf MDR, Symbole: „Ana“ = Analytik-Werte, Linien = Online-Messwerte (Sensoren). Unten: Redoxpotentiale (ORP) im Ablauf MDR (gemessene Werte, nicht auf Standardwasserstoffelektrode umgerechnet).

Die Redoxpotentiale im Ablauf des MDR in Abb. 17 unten variierten sehr. Wenn die Redoxpotentiale bei unter -400 mV lagen, war auch die  $\text{NO}_3^-$ -N Konzentration meist sehr niedrig. Umgekehrt lässt sich aber nicht sagen, dass die Redoxpotentiale auch immer niedrig waren, wenn die Nitratkonzentrationen bei nahezu 0 mg/L lagen. Vermutlich stellen sich niedrige Redoxpotentiale (anaerobe Bedingungen) nur ein, wenn noch weitere Bedingungen erfüllt sind.

### 5.1.2 Nitrit

Leider stimmten die Online-Werte der Nitratsonde nicht mit den analytisch gemessenen Werten überein (s. Abb. 18). Dies galt sowohl für die Zulauf- als auch für die Ablaufwerte, wobei in Abb. 18 nur die Zulaufwerte gezeigt werden.

Am 3. d sowie vom 22. bis 26. d waren erhöhte Nitrit-Konzentrationen im Ablauf des Reaktors nachweisbar, während die Nitrit-Konzentrationen sonst unter 1 mg/L lagen. Die höheren Nitritkonzentrationen traten jeweils nach einer starken Erhöhung des Volumenstroms durch den MDR auf.

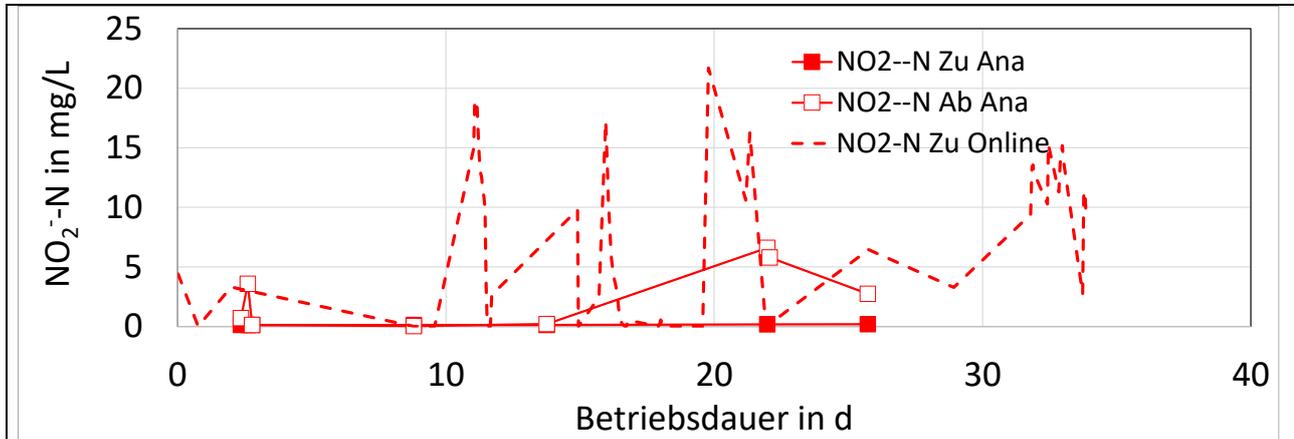


Abb. 18 Verlauf NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N-Konz. im Zu- u. Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte. Online-Werte sind offensichtlich falsch, daher gestrichelt. „Ana“ = Analytik.

### 5.1.3 Ammonium

Die Ammonium-Konzentrationen waren im Ablauf des MDR immer geringer als im Zulauf (s. Abb. 19). Somit waren vermutlich keine anaeroben Bedingungen zum Zeitpunkt der Messungen gegeben.

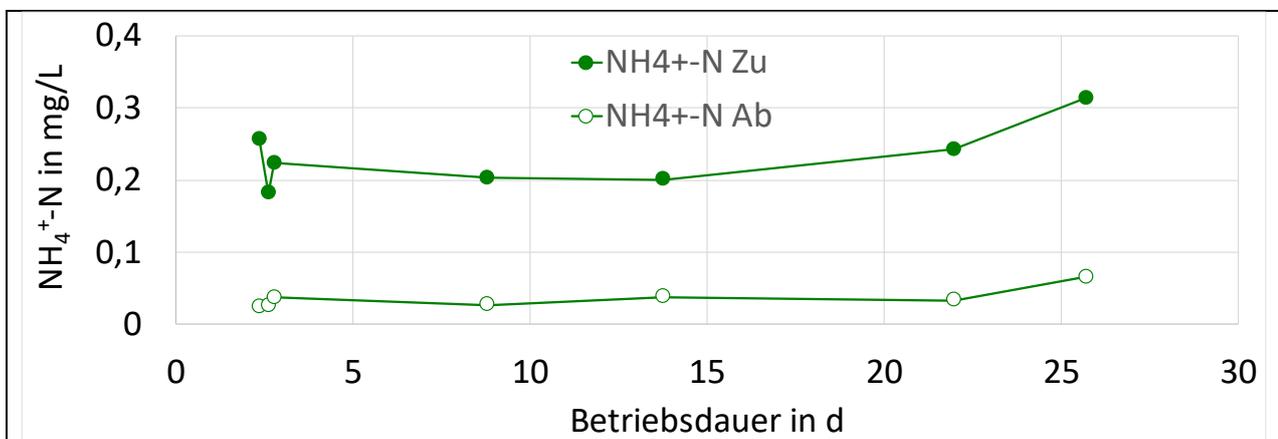


Abb. 19 Verlauf NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N-Konz. im Zu- u. Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte.

### 5.1.4 CSB

Der CSB, als Summen-Parameter für die organische Belastung des Wassers, kann u.a. dazu dienen einen Überschuss an dosiertem Ethanol zu detektieren. Hier waren die CSB-Konzentrationen im Ablauf immer niedriger als im Zulauf, so dass eine Überdosierung ausgeschlossen werden kann (s. Abb. 20), zumindest zum Zeitpunkt der Probenahmen. Eine direkte Bestimmung von Ethanol wurde nicht durchgeführt.

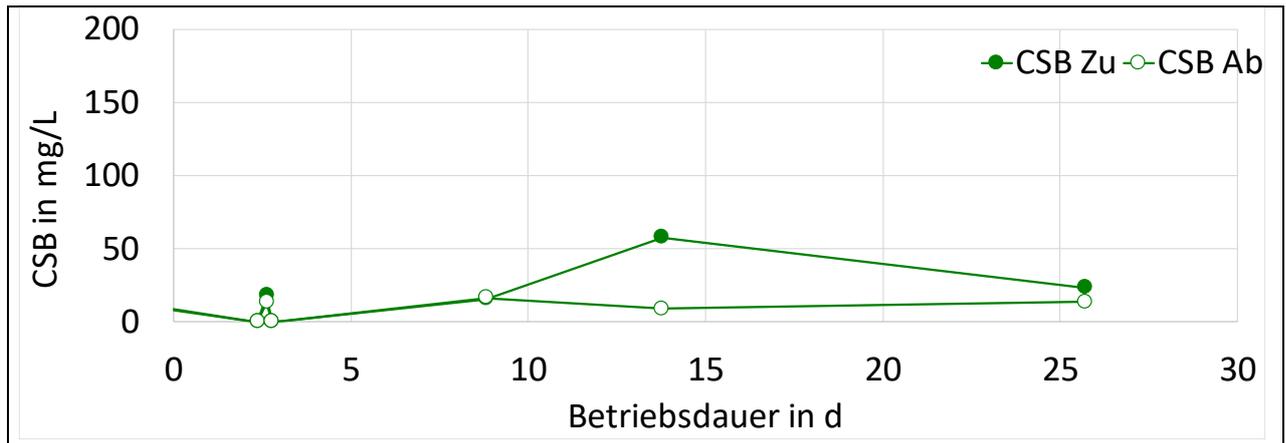


Abb. 20 Verlauf der CSB-Konz. im Zu- (Zu) u. Ablauf (Ab) MDR, Laboranalytik-Werte.

### 5.1.5 Trübung

Die Trübungsmessgeräte wurden regelmäßig gewartet, da bereits ein dünner Belag auf den Messfenstern zu höheren Messwerten führt. Einige der Peaks in Abb. 21 deuten auf solche Wartungsereignisse hin. Andere Peaks (im Zulauf) könnten durch Luftblasen im Probenstrom entstanden sein. Normalerweise waren die Trübungswerte im Ablauf niedriger als im Zulauf. Jedoch waren auch im Zulauf relativ geringe Trübungen zu beobachten, da das Wasser aus dem Ablauf vom Trommelfilter entnommen wird.

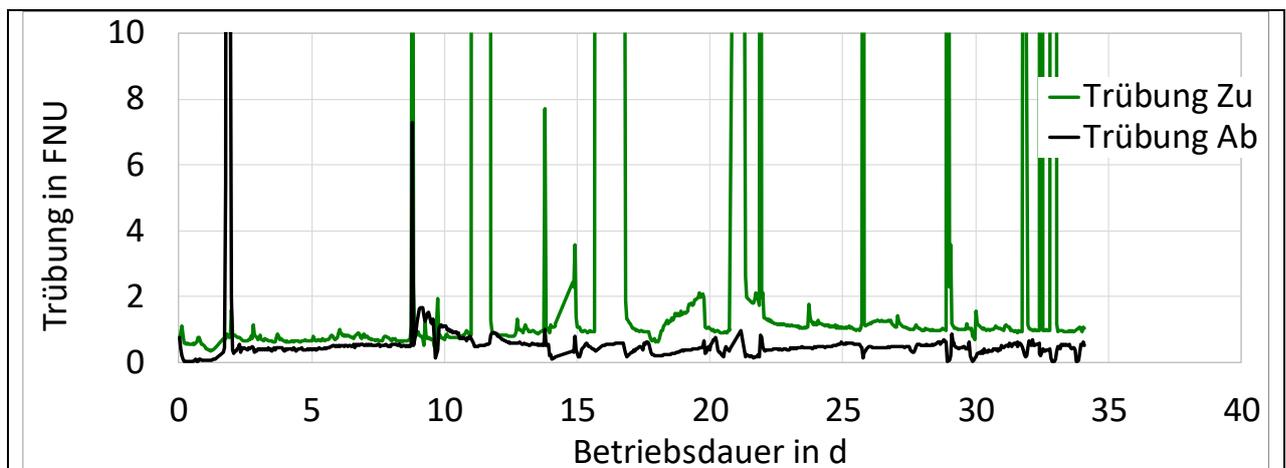


Abb. 21 Verlauf Trübung im Zu- u. Ablauf MDR, Online-Werte.

### 5.1.6 Denitrifikationsraten und Ethanolbedarf

Für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit des MDR wurden die Denitrifikationsraten aus den Online-Daten für Zulauf und Ablauf des MDR bestimmt (s. Abb. 22 oben). Die dosierte Menge an Ethanollösung wurde zur Berechnung der Dosierfrachten (s. Abb. 22 unten) und des Dosierfaktors (Relation Ethanol/Nitrat-N, s. Abb. 23) verwendet.

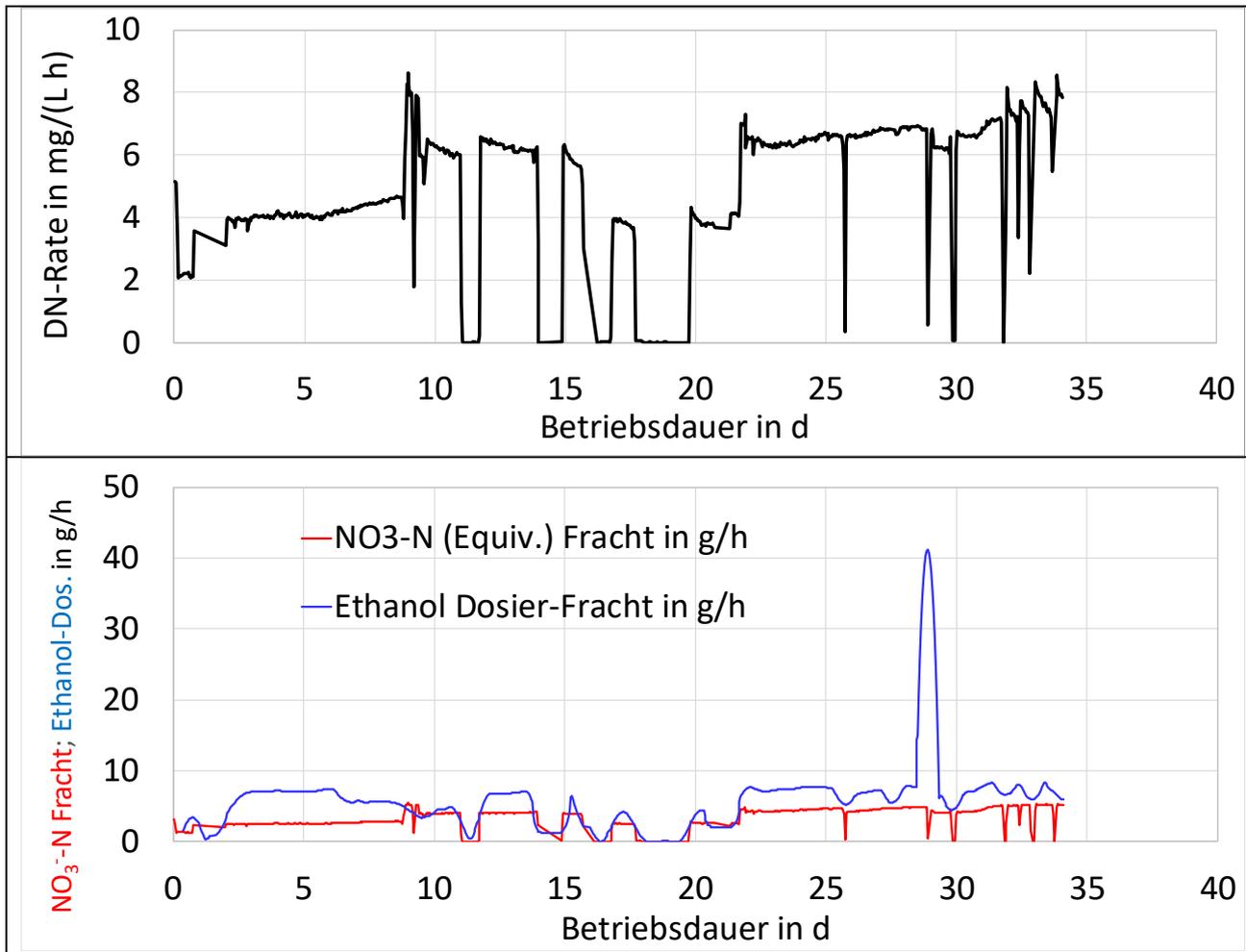


Abb. 22: Oben: Verlauf Denitrifikationsraten (DN-Rate) bei pH 7,3...8,1; (24...28) °C. Unten: NO<sub>3</sub>-N (Equiv.) Fracht im Zulauf MDR und Ethanol-Dosier-Fracht.

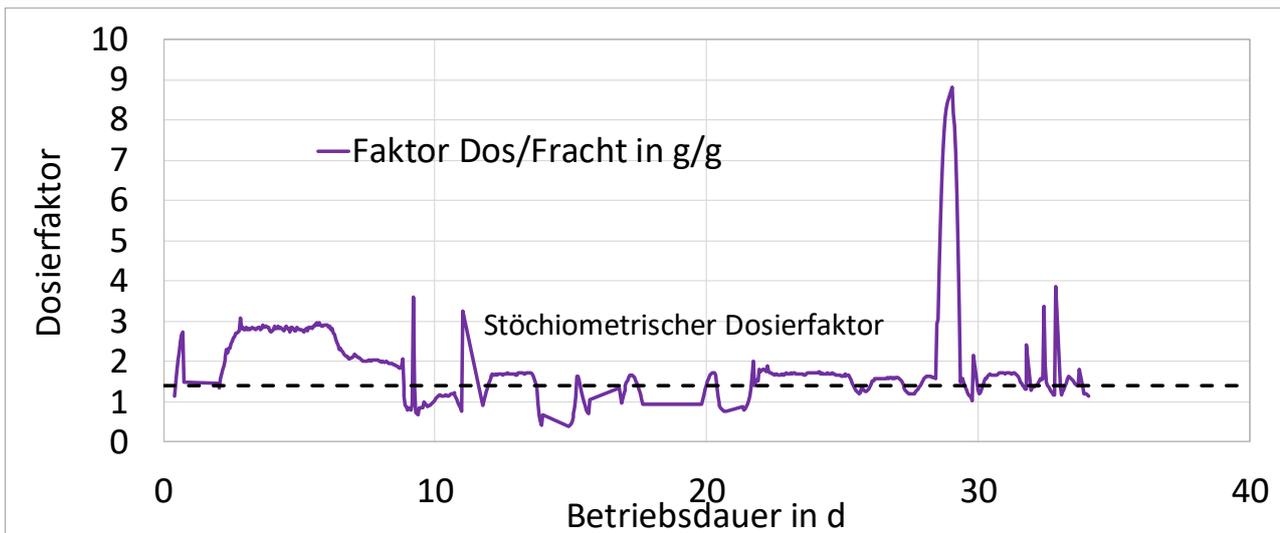


Abb. 23: Dosierfaktor = Zudosierte Fracht Ethanol in g/h / Fracht NO<sub>3</sub>-N (Equiv.) in g/h. Der stöchiometrische Dosierfaktor wäre 1,37 g Ethanol / g NO<sub>3</sub>-N s. Kap. 4.3.1.

Wie aus Abb. 22 ersichtlich ist, stiegen die Denitrifikationsraten nach Beginn der Dosierung schnell auf ca. 4 mg/(L\*h) NO<sub>3</sub>-N an. Danach wurde versucht, höhere Volumenströme und damit höhere Denitrifikationsraten zu erzielen. Da der MDR nicht ausreichend dicht war, führte dies zu steigenden Wasserständen, somit

instabilen Bedingungen. Der MDR musste daher jeweils nach ein paar Tagen wieder entleert werden (DN-Rate abrupt auf 0 mg/(L\*h)).

Die Dosierung von Ethanol erfolgte automatisch. Dabei wurde der Dosierfaktor über den Faktor K1 im Programm eingestellt (s. Kap. 4.3.1, Gl. (4), S. 24). Abb. 23 zeigt die tatsächlich dosierten Mengen in Relation zur Nitratfracht. Die Dosierung erfolgte teilweise weit über, teils unter der stöchiometrischen, also der theoretisch mindestens erforderlichen Menge (s. Abb. 23). Zwischen den Denitrifikationsraten und Dosierfaktoren kann jedoch keine Abhängigkeit beobachtet werden. Die Ursache hierfür dürfte wahrscheinlich darin zu suchen sein, dass die Denitrifikationsraten vor allem durch einen zu niedrigen Volumenstrom, jedoch nicht durch die Ethanoldosierung begrenzt wurden.

### 5.1.7 Sauerstoff, pH und Temperatur

Die gemessenen Sauerstoff-Konzentrationen im Zulauf zum MDR schwankten etwas (4,6 bis 6,7) mg/L (Abb. 24 oben). Wenn die Messstrecken nicht durchflossen werden, messen die Sauerstoffsensoren 0 mg/L (abrupte Ausschläge nach unten). Die O<sub>2</sub>-Werte im Zulauf zum MDR gaben nicht die Bedingungen in der Wasseraufbereitung wieder, da auf dem Weg des Wassers zum Reaktor bereits ein Teil des Sauerstoffs gezehrt wurde und die Sonden unvermeidbare Biofilm-Beläge hatten und dann zu niedrige Konzentrationen anzeigten.

Im Ablauf des MDR waren die Sauerstoffkonzentrationen - abgesehen von der Einfahrphase in den ersten Tagen - immer nahezu bei 0 mg/L.

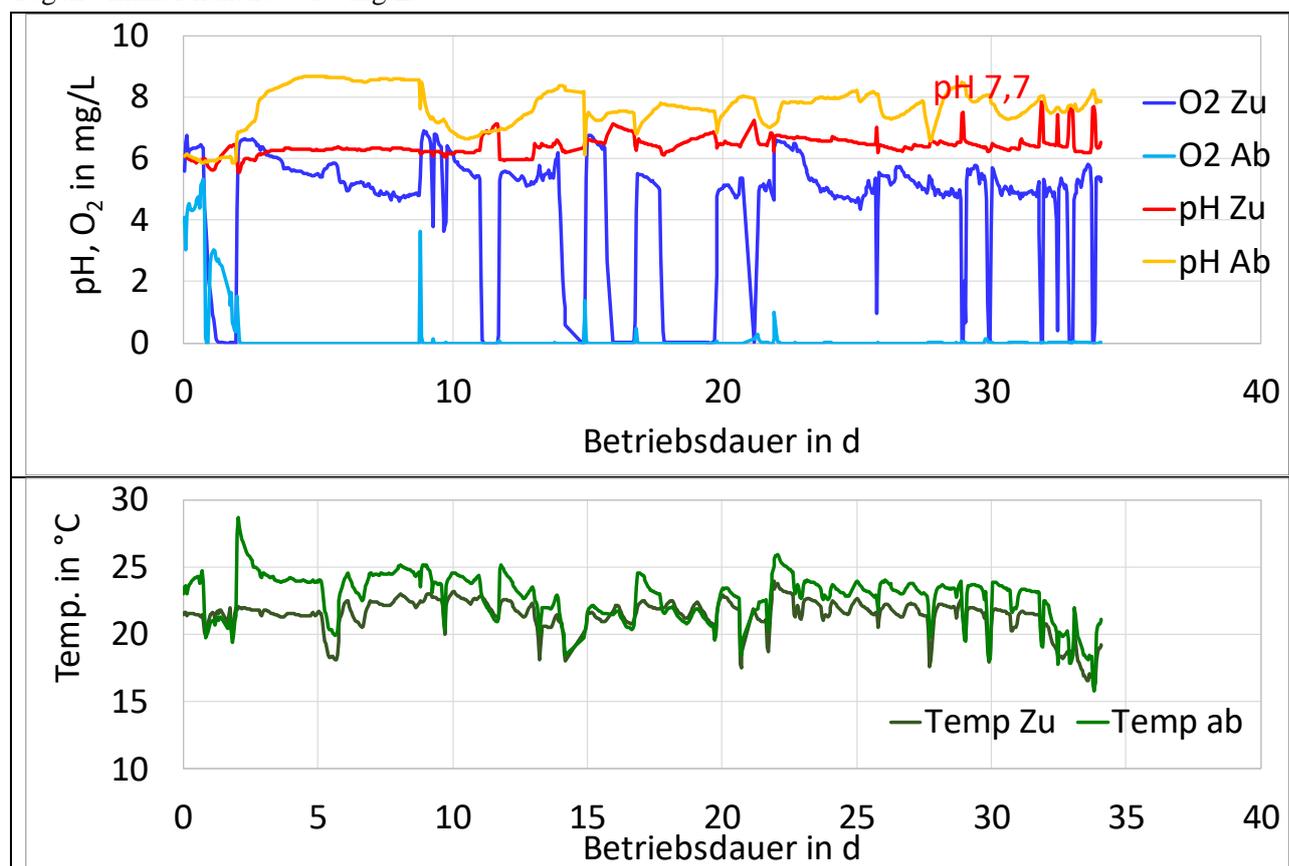


Abb. 24: Vergleich von pH, O<sub>2</sub> u. Temperatur jeweils Zulauf („Zu“-) u. Ablauf („Ab“ MDR.

Im Zulauf zum MDR wurde ein annähernd konstanter pH-Wert zwischen 6,0 und 6,5 mit einigen Ausschlägen nach oben und unten gemessen. Diese Veränderungen wurden zum Teil durch eine Betriebsunterbrechung des MDR verursacht, zum Teil auch durch die Maßnahmen zur Erhöhung des pH-Wertes in der Anlage durch Zugabe von CaO. Im Ablauf waren die pH-Werte aufgrund der Denitrifikationsaktivität fast ausnahmslos höher als im Zulauf.

Durch den Energieeintrag der Rezirkulationspumpen wurde die Temperatur im MDR im Mittel um 3 °C erhöht (Abb. 24 unten).

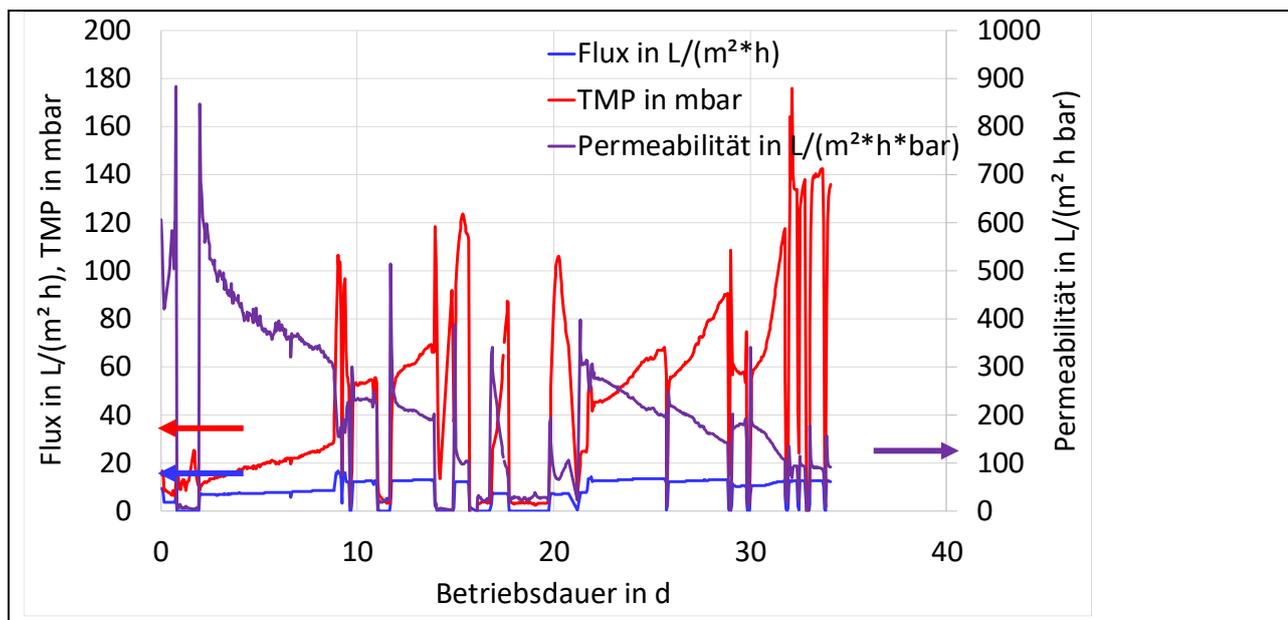
### 5.1.8 Funktion der Membranreinigung

#### Transmembrandruck, Permeabilität und Volumenstrom

Abb. 25 zeigt eine langsame Abnahme der Permeabilität des neuen Membranmoduls in den ersten 14 d Betrieb. Gleichzeitig stieg der Transmembrandruck an. Dieses Verhalten war bei einer fabrikneuen Membran zu erwarten.

Da die Ablaufkonstruktion des Membranmoduls und die Wasserführung des Ablaufs verbessert wurden, gelang es das Problem der Gasblasenbildung im Ablaufschlauch zu umgehen. Dadurch konnte sich kein zusätzlicher Gegendruck aufbauen, was sich im Vorgängerprojekt (s. o.) als limitierend für den Flux herausgestellt hatte, da der Reaktor nur begrenzt auf Druck belastbar ist.

Dennoch ließ sich der Flux nur bis maximal ca. 13,5 L/(m<sup>2</sup> \* h) erhöhen, entsprechend einem Volumenstrom von 155 L/h, (s. Abb. 27). Auch dieser Wert konnte nicht dauerhaft gehalten werden, da die Dichtigkeit des Reaktors nicht vollständig zu erreichen war und der Wasserstand (s. Abb. 26) daher immer wieder anstieg. In diesem Fall musste die Pumpe abgeschaltet und ein Teil des Wassers im Reaktor manuell abgelassen werden. So kam es zu einem intermittierenden Betrieb.



**Abb. 25: Verlauf von Permeatfluss (Flux), Permeabilität u. TMP (Trans Membrane Pressure), T= (16 bis 25) °C. Online-Messwerte.**

Durch einen hohen Wasserstand von 210 cm (s. Abb. 26, s. Kap. 4.2.6) konnte zwar ein höherer Transmembrandruck erreicht werden, aber dafür war die Rezirkulationsströmung im MDR nicht optimal, d.h. die Schaumstoffwürfel (OST1) sammelten sich in Totzonen und waren dadurch für die Reinigung nicht mehr verfügbar. Dadurch verminderte sich die Permeabilität. Dies wiederum führte dazu, dass der MDR gelegentlich abgelassen werden musste. Während der Betriebsdauer wurde das Membranmodul nicht „chemisch“ gereinigt.

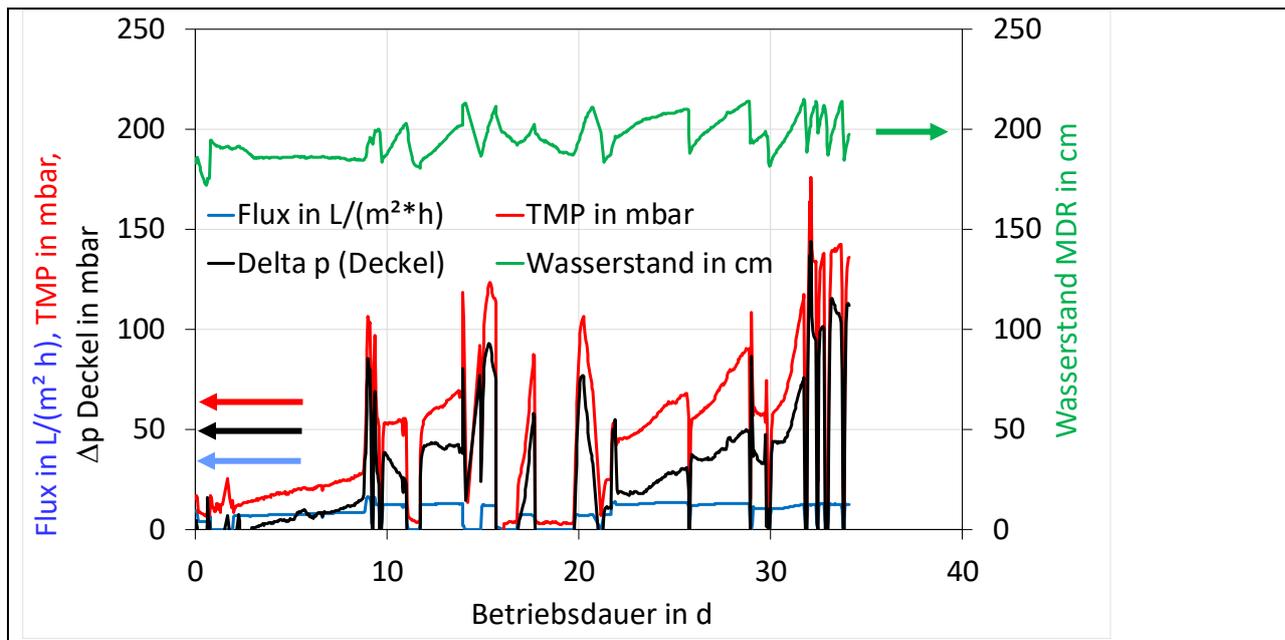


Abb. 26: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u.  $\Delta p$ (Deckel) mit Wasserstand im MDR u. Permeatfluss (Flux),  $T = (16 \text{ bis } 25) \text{ } ^\circ\text{C}$ . Online-Messwerte (Wasserstand soll: 180 cm ... 200 cm).

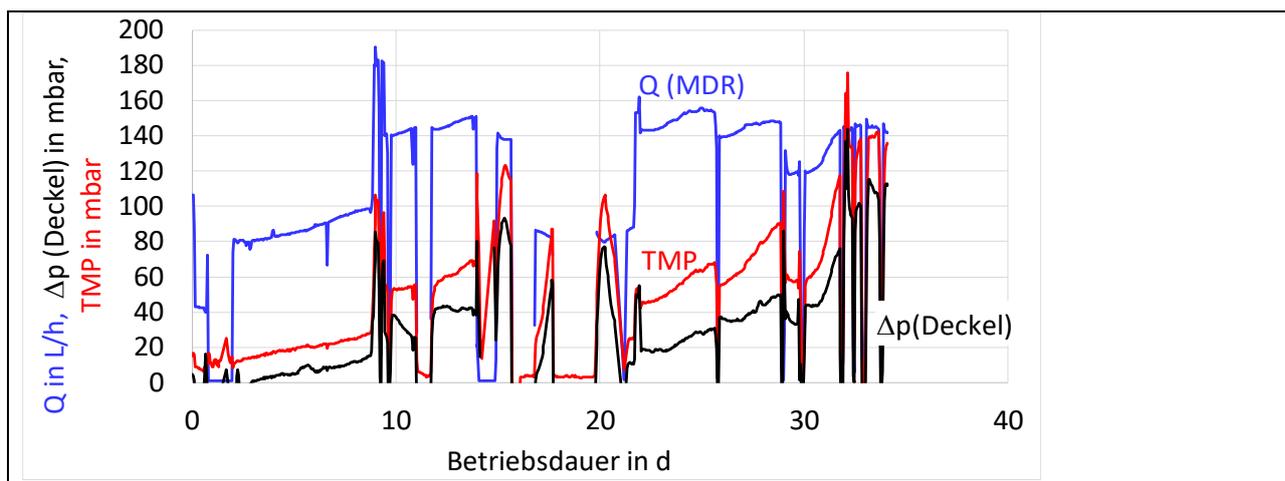


Abb. 27: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u.  $\Delta p$ (Deckel) mit Volumenstrom im Zu-  
lauf zum MDR,  $T = (16 \text{ bis } 25) \text{ } ^\circ\text{C}$ . Online-Messwerte.

### 5.1.9 Wasserbedarf

Der tägliche Wasserverbrauch der Kreislauf-Anlage (Abb. 28) ist für eine Anlage ohne Denitrifikation relativ gering und liegt bei ca.  $4 \text{ m}^3/\text{d}$ . Dies entspricht einer Wasserwechselrate von ca. 5 % bis 7 % des gesamten Wasservolumens der Anlage je Tag. Erfahrungswerte für Kreislauf-Anlagen ohne Denitrifikation liegen bei ca. 3 % bis 15 % Wasserverbrauch bez. auf das Gesamt-Wasser-Volumen (LAWA 2003).

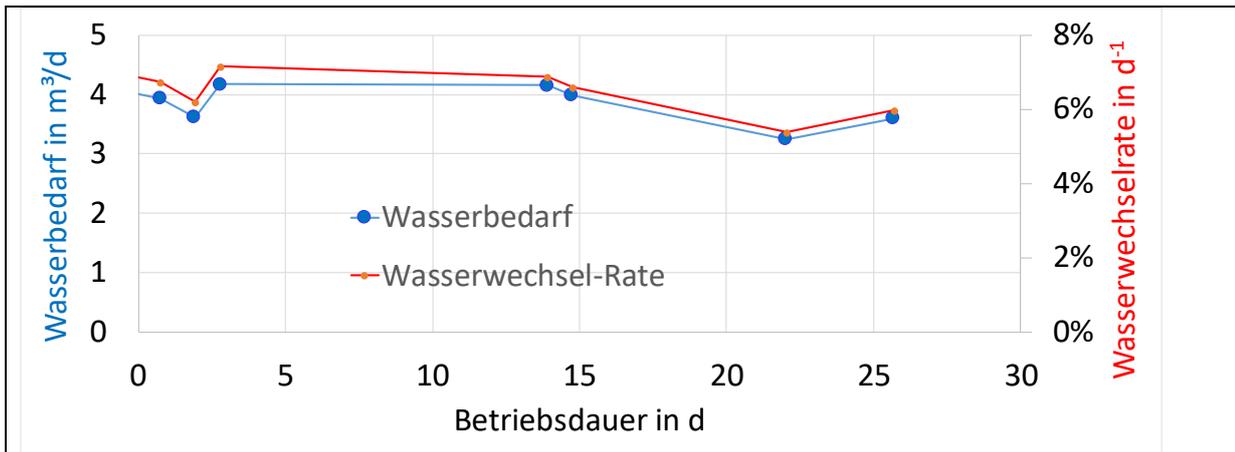


Abb. 28: Täglicher Wasserbedarf in KLA.

5.1.10 Stickstoffbilanz

Der Stickstoffeintrag aus dem Futter wurde hier mit einem mittleren Proteingehalt des Futters von 54 % und der Futtermenge (aus Nachfüllmengen der Futterautomaten) geschätzt, wobei die Futterautomaten nur einmal je Woche befüllt wurden. Welcher Anteil sich davon - via Fische und Nitrifikation - als Nitrat im Wasser wiederfindet, kann hier nicht bestimmt werden, da kein Referenzbecken vorhanden war. Dieser Anteil hängt u.a. von der Art, dem Alter und der Masse der Fische, sowie vom nicht gefressenen Futter ab.

Ein Vergleich des N-Austrags durch Denitrifikation mit dem Austrag durch das Ablaufwasser (s. Gl. (17), (18), (19)), das durch nahezu Nitrat-freies Frischwasser ersetzt wird, zeigt, dass der MDR bis zu ca. 30 % bis 50 % der gesamten N-Fracht der KLA vermindern konnte (s. Abb. 29).

Weiterhin kann aus der N-Bilanz geschätzt werden, dass ca. 44 %... 62 % des im Futter enthaltenden Stickstoffs in das Fischhaltungs-Wasser gelangen, was nach eigenen Erfahrungen plausible Werte sind.

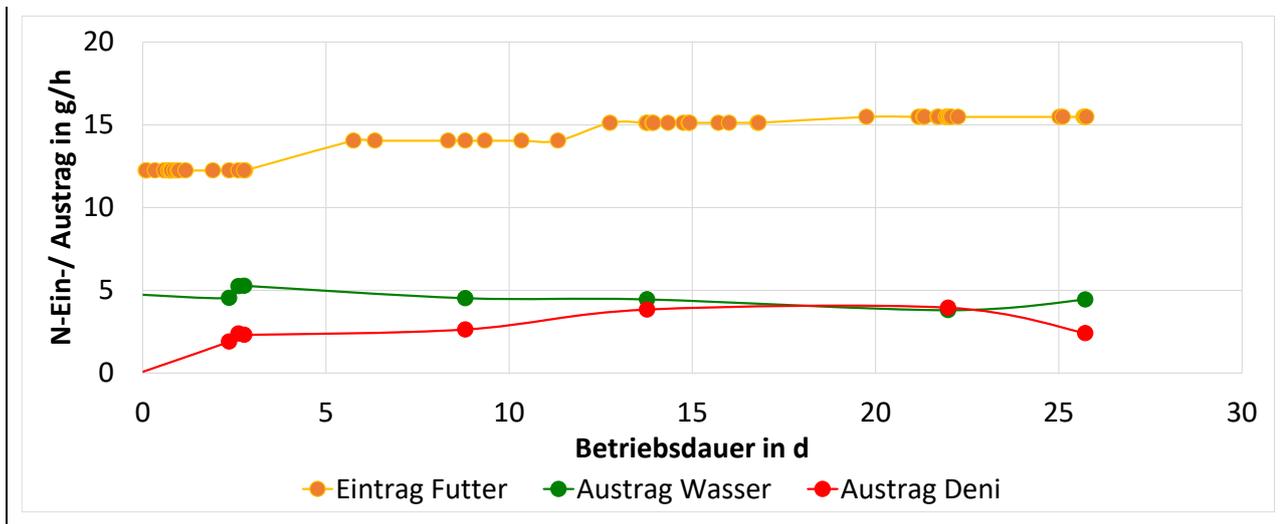


Abb. 29: Stickstoff Ein- und Austräge durch Futter, MDR, Frisch- und Abwasser. „Austrag Wasser“ = (Austrag durch Ablauf - Eintrag durch Frischwasser), „A“ = Becken A, „B“ = Becken B. „Austrag Deni“ = Austrag durch Denitrifikation (MDR).

## 5.2 Aquakultur-KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS)

### 5.2.1 Allgemeines

Der Versuchs-Betrieb bei der Firma Aqua Schwarz (AS) wurde in zwei Versuchsabschnitten durchgeführt (s. Abb. 30), um zu untersuchen, ob sich die Parameter im zweiten Abschnitt ähnlich entwickeln, wie im ersten Abschnitt. Abb. 30 zeigt sowohl die Nitratkonzentrationen, als auch einige wichtige Ereignisse im Verlauf der Versuche. So wurde zwischen Versuchsabschnitt 1 und 2 das Membran-Modul von Partner MMF gereinigt und die Integrität geprüft und sicher gestellt. Diese Ereignisse werden in den folgenden Diagrammen wegen der besseren Übersichtlichkeit nicht noch zusätzlich aufgeführt.

### 5.2.2 Nitrat und Redoxpotenzial

Die Nitrat-Konzentrationen im Brunnenwasser (Zulauf zur KLA, BeA und BeB, „Zu Ana“) blieben zunächst relativ konstant (ca. 8 mg/L  $\text{NO}_3^-$ -N) und stiegen dann im Verlauf der Versuche langsam bis auf ca. 10 mg/L  $\text{NO}_3^-$ -N an. Nachdem der MDR an das Becken A angeschlossen und die Dosierung in Betrieb genommen wurde (Start des Versuchs = Tag 0 in den folgenden Diagrammen), startete der Denitrifikationsprozess recht schnell. Bereits am nächsten Tag begannen die Nitratkonzentrationen im Ablauf MDR („Ab MDR Ana“) zu sinken und blieben im weiteren Verlauf bei nahezu 0 mg/L  $\text{NO}_3^-$ -N (s. Abb. 30). Danach sanken die  $\text{NO}_3^-$ -N-Konzentrationen auch im Becken A („BeA Ana“) langsam ab und erreichten nach 50 d bis 60 d ein Minimum von ca. 5 mg/L  $\text{NO}_3^-$ -N im Becken A. Währenddessen stiegen die Konzentrationen im Becken B an. Die Ursache dafür waren die steigenden Futtermengen und die verminderten Frischwasser-Mengen, die reduziert wurden, um der Situation in einer großen KLA näher zu kommen.

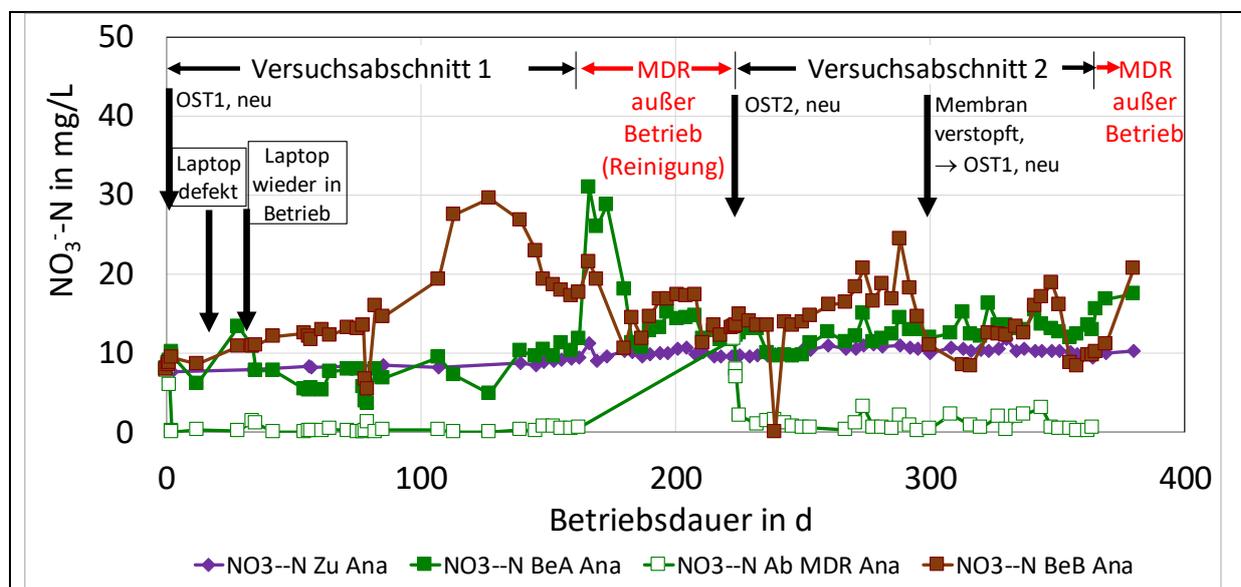
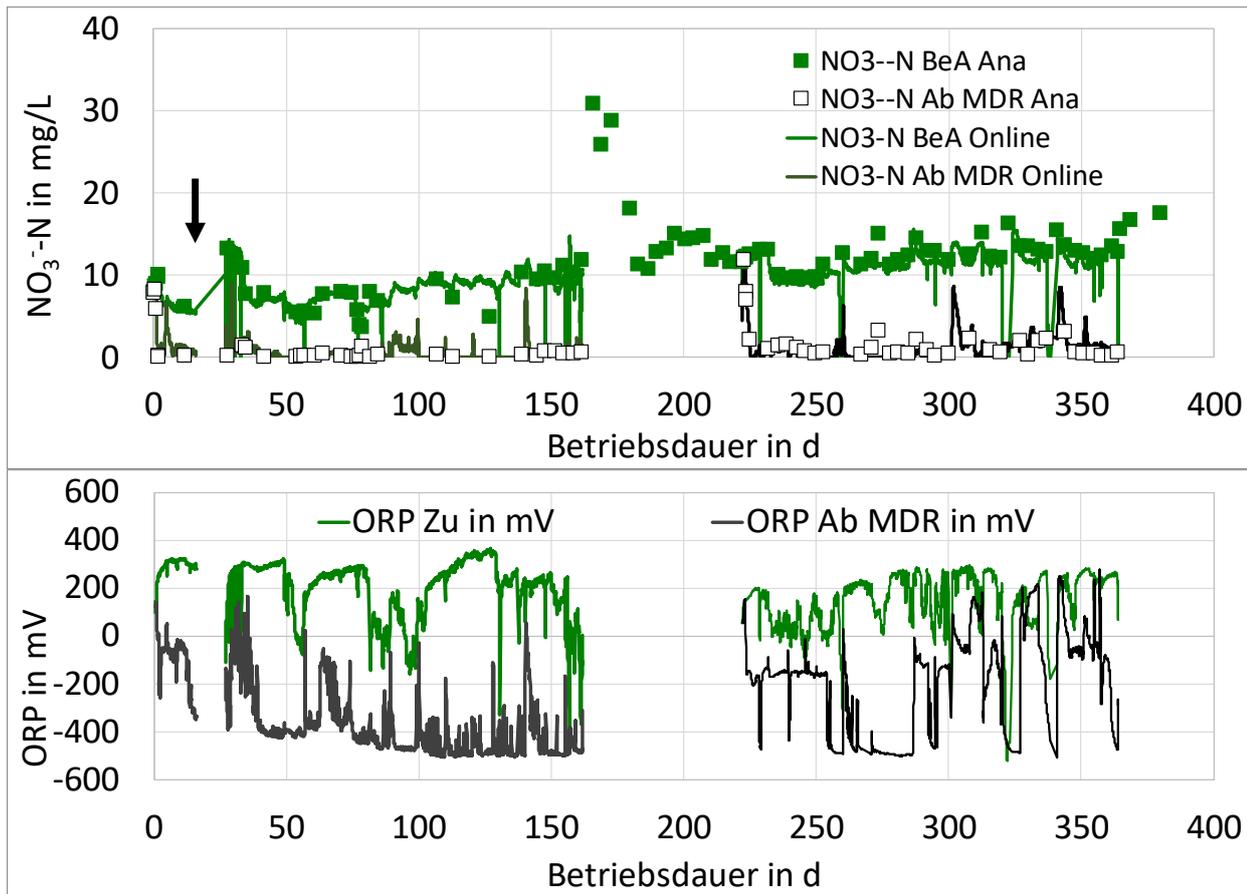


Abb. 30 Verlauf  $\text{NO}_3^-$ -N-Konz. im Brunnenwasser („Zu“), in Becken A („BeA“) u. Becken B („BeB“), sowie Ablauf MDR („Ab MDR“). Ana = Laboranalytik-Werte. (OST1 u. OST2: s. Tab. 9. S. 17)

Wie auch in der KLA Marjoß zeigte auch hier der Vergleich der analytisch bestimmten Werte mit den Online-Daten eine zufriedenstellende Übereinstimmung (s. Abb. 31, oben).



**Abb. 31: Oben: Verlauf Nitratkonzentrationen im Zu- („BeA“) u. Ablauf MDR („Ab MDR“), Symbole = Analytik-Werte („Ana“), Linien = Online-Messwerte („Online“). Unten: Redoxpotentiale im Zu- („Zu“) und Ablauf MDR „Ab MDR“, Online-Werte.**

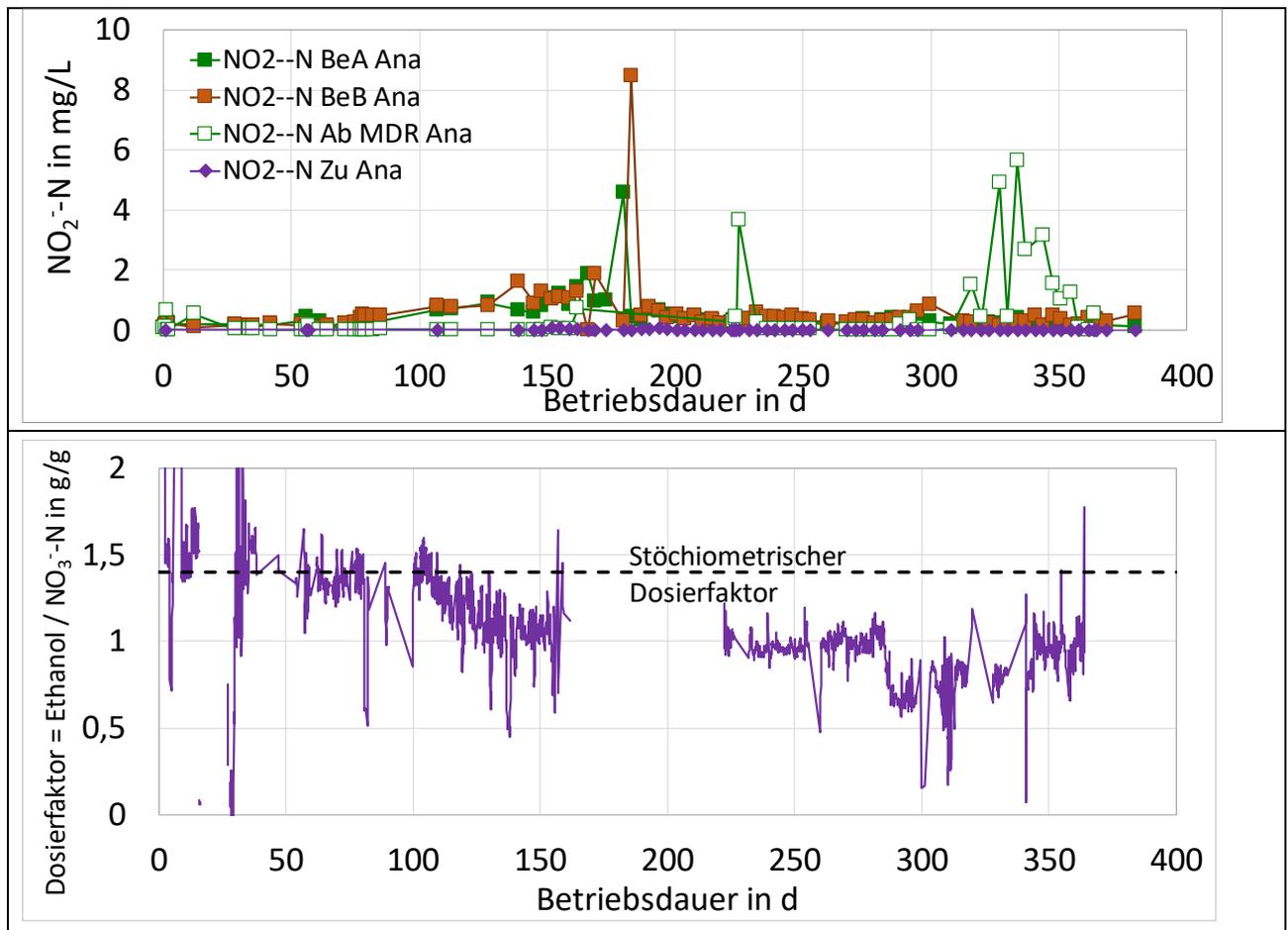
Zwischen dem 16. und 27. d musste die Anlage stillgelegt werden, da der PC aufgrund eines Hardware-Defektes ausfiel (Pfeil in Abb. 31, oben). Nach dem Wiederanfahren mit neuem PC wurde der Ablauf des MDR zunächst zur Sicherheit nicht in die Fischbecken, sondern in das Abwasser eingeleitet. Die erhöhten Nitratkonzentrationen in diesem Zeitraum demonstrieren die Wirkung des MDR auf die Nitratkonzentrationen im Fisch-Becken A.

Nach Ende des Versuchsabschnitts 1 am 162. d wurde das Membranmodul ausgebaut, gereinigt und kontrolliert, sowie der MDR komplett entleert und gereinigt. Auch die Zu- und Ablaufschläuche, sowie die Messstrecke wurden gereinigt. Nach dem Wiedereinbau des Membranmoduls (222. d) wurde der zweite Versuchsabschnitt begonnen. In der Pause zwischen Versuchsabschnitt 1 und 2 zeigte sich zunächst eine Erhöhung der Nitratkonzentrationen im Becken A. Da die Fische im Verlauf der Versuche wuchsen und immer größere Futtermengen benötigten und andererseits die Nitrifikationsfilter nicht für solche hohen Belastungen ausgelegt waren, wurde die Wasserqualität (Ammonium- und Nitrit-Konzentrationen) schlechter. Ab dem 180. d wurden deshalb die Frischwasser-Zulauf-Raten wieder erhöht. Infolgedessen sanken die Ammonium-, Nitrit- und auch die Nitratkonzentrationen.

Der Vergleich der Nitratkonzentrationen mit den Redoxpotentialen (s. Abb. 31, unten) zeigt, dass die Tendenz zwar in einigen Fällen in die gleiche Richtung weist, jedoch in vielen Bereichen auch gegensätzliche Aussagen ermöglicht. Eventuell lässt sich eine Vorhersage von anaeroben Bedingungen erreichen. Die in der Literatur oft empfohlene Dosierung der C-Quelle mit dem Redoxpotential (ORP) als Regelgröße (Lee et al. 2000) kann vor diesem Hintergrund als problematisch angesehen werden.

### 5.2.3 Nitrit

Zu Beginn des Versuchsabschnitts 1 (s. Kap. 5.2.1, Abb. 30) lagen die Nitrit-Konzentrationen in beiden Fischbecken überwiegend bei Konzentrationen unter 0,3 mg/L  $\text{NO}_2^-$ -N (s. Abb. 32). Im Ablauf des MDR waren die Nitrit-Konzentrationen - bis auf zwei Ausnahmen - niedriger als im Becken A, so dass man davon ausgehen kann, dass sich durch den MDR die Konzentrationen eher verringerten. Kurz nach dem Betriebsstart mussten die denitrifizierenden Mikroorganismen erst aufwachsen, was zu einem kleinen Nitrit-Peak im Ablauf MDR (0,6 mg/L  $\text{NO}_2^-$ -N) nach 1 d führte. In Versuchsabschnitt 2 wurde die Dosierung von Ethanol gezielt stufenweise verringert um den erhöhten Ammonium-Konzentrationen zu begegnen (s. Abb. 33 oben), was ab dem 316. d teilweise zu erhöhten Nitrit-Konzentrationen im Ablauf des MDR führte. Leider stimmten auch hier, trotz des Versuchs einer neuen Kalibrierung der Nitratsonden die Online-Nitrit-Konzentrationen nicht mit den analytisch gemessenen Werten überein. Dies galt sowohl für die Zulauf- als auch für die Ablaufwerte.



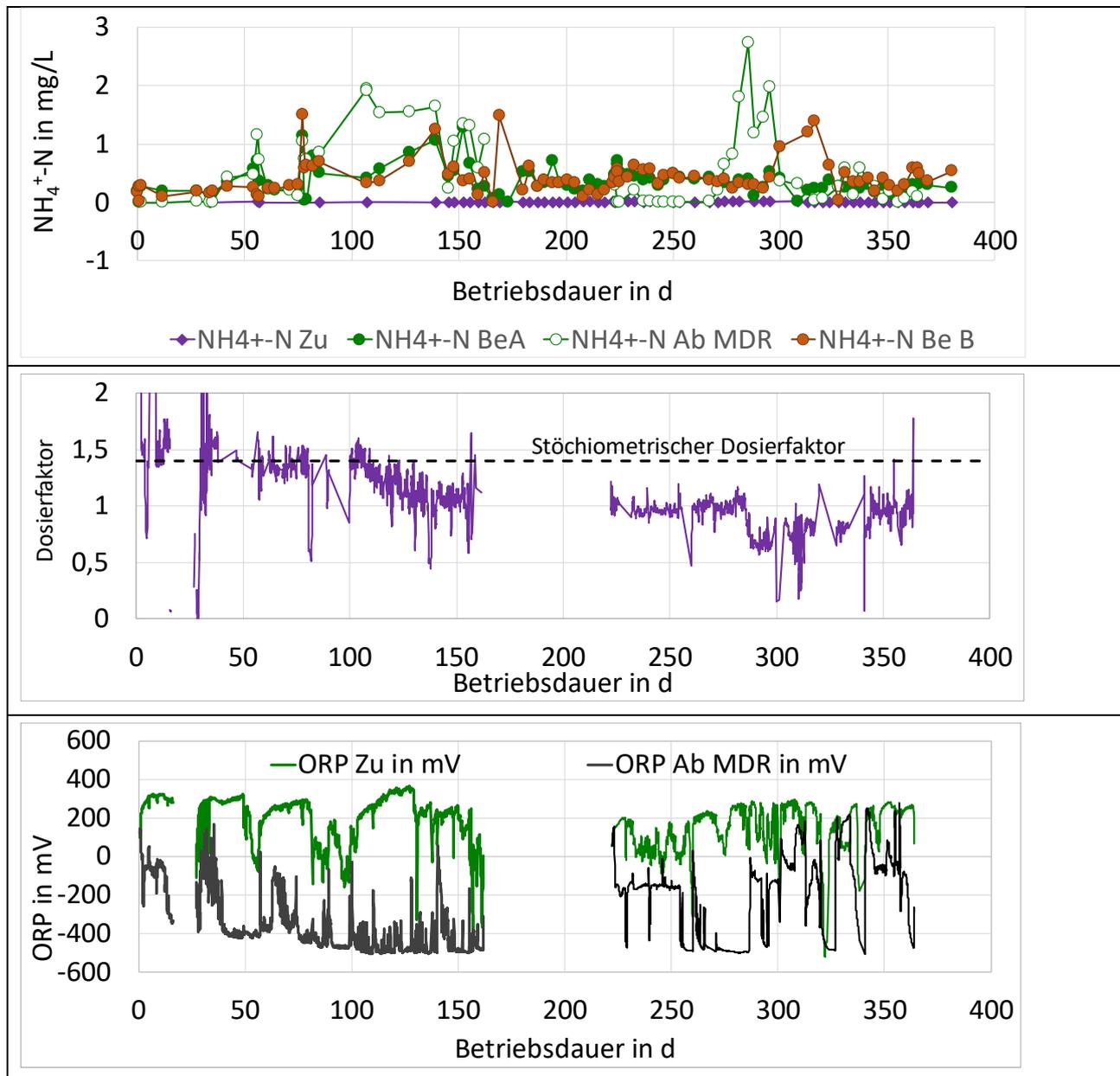
**Abb. 32 Oben:**  $\text{NO}_2^-$ -N-Konz. im Brunnenwasser („Zu“), in Becken A („BeA“), u. Becken B („BeB“), sowie Ablauf MDR („Ab MDR“). Ana = Laboranalytik-Werte.

**Unten:** Dosierfaktor als Verhältnis von dosiertem Ethanol (100 %) zu  $\text{NO}_3^-$ -N-Fracht Equivalente im Zulauf MDR. Gestrichelte Linie entspricht stöchiometrischer Dosierung.

### 5.2.4 Ammonium

Die Ammonium-Konzentrationen waren im Ablauf vom MDR in den ersten 40 d immer niedriger als im Zulauf (s. Abb. 33, oben). Vom 54. d bis zum 56. d wurde der Dosierfaktor (Ethanol Fracht je  $\text{NO}_3^-$ -N-Fracht in g/g) von  $F1 = 1,8$  auf 1,9 (s. Gl. (5), Kap. 4.3.1, S. 23) erhöht und danach wieder auf 1,7 erniedrigt. In diesem Zeitraum waren die  $\text{NH}_4^+$ -N-Konzentrationen im Ablauf des MDR höher als im Zulauf. Auch vom 85. d bis zum 162. d und vom 274. d bis zum 308. d waren die Ammoniumkonzentrationen im Ablauf des MDR höher als im Zulauf. Dies deutet auf anaerobe Bedingungen im Reaktor hin. Am 56. d konnte auch eine Sulfid-

Konzentration von 0,3 mg/L nachgewiesen werden, außerdem war ein leichter Geruch nach  $H_2S$  festzustellen. Allerdings waren weder nachweisbare Ethanol-Konzentrationen, noch erhöhte CSB-Werte (s. Abb. 35) in diesem Zeitraum festzustellen. Auch die Redoxpotentiale änderten sich nicht im Vergleich zum Zeitraum davor.



**Abb. 33 Oben:** Verlauf  $NH_4^+-N$ -Konz. in Becken A u. B, sowie im Zulauf zu Becken (Brunnenwasser) u. Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte.

**Mitte:** Dosierfaktor als Verhältnis von dosiertem Ethanol (100 %) zu  $NO_3^-$ -N-Fracht (Equivalent im Zulauf MDR). Gestrichelte Linie entspricht stöchiometrischer Dosierung.

**Unten:** Redoxpotenziale Zu- und Ablauf MDR

In Versuchsabschnitt 2 wurde die Dosierung von Ethanol gezielt stufenweise verringert, um den erhöhten Ammonium-Konzentrationen zu begegnen (s. Abb. 33, Mitte), was bei Absenkung des Dosierfaktors auf unter ca. 0,8 (ab 300. d) erfolgreich war, bei ca. 0,6 jedoch zu erhöhten Nitrit-Konzentrationen im Ablauf des MDR führte.

Niedrige Redoxpotenziale korrespondierten meistens mit höheren Ammonium-Konzentrationen im Ablauf des MDR (s. Abb. 33, unten), was für anaerobe Bedingungen spricht.

### 5.2.5 Phosphat

Im Brunnenwasser wurden immer sehr niedrige Phosphatkonzentrationen gemessen (s. Abb. 34). Die Phosphatkonzentrationen in Becken A und B wurden im Wesentlichen beeinflusst von den Futtermengen und den Zulauf-Volumenströmen und damit dem Verdünnungseffekt des Frischwassers (s. Abb. 45). Die Konzentrationen in Zu- und Ablauf des MDR unterschieden sich nur geringfügig (s. Abb. 34). Da hier während der Versuchsabschnitte eine nur gelegentliche, geringe Schlammabnahme erfolgte, deutet das darauf hin, dass die Biomasse im Reaktor in einem stationären Zustand war und daher kein Phosphat mehr aufnehmen konnte.

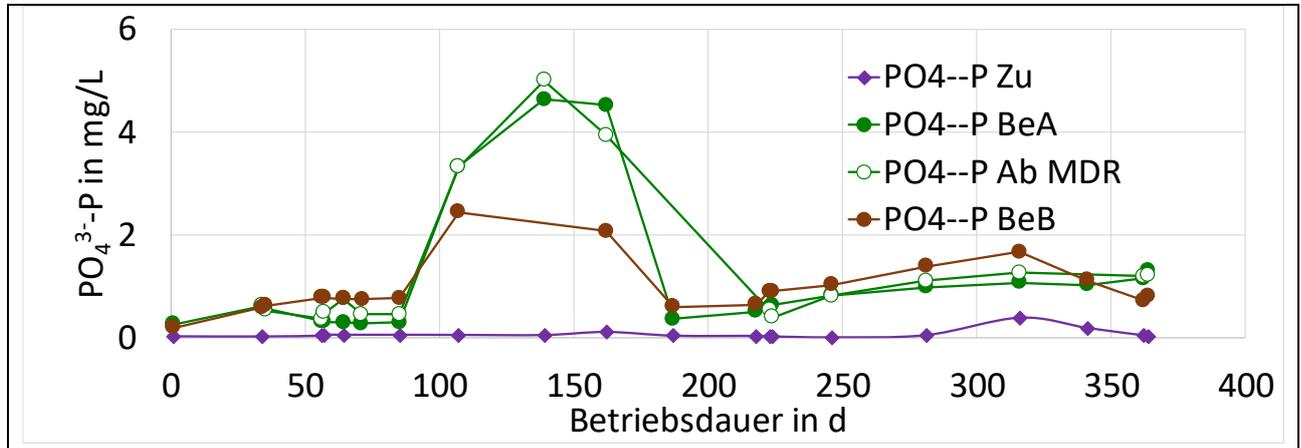


Abb. 34 Verlauf  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ -Konz. in Becken A u. B, sowie im Zulauf zu Becken (Brunnenwasser) Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte (s. Abb. 10, S. 16).

### 5.2.6 CSB und Ethanol

Im Vergleich zur KLA in Marjoß waren die CSB-Konzentrationen normalerweise sehr niedrig, was auf eine geringe organische Belastung hindeutet (s. Abb. 35). Nur am 28. d war im Ablauf vom MDR eine extrem hohe CSB-Konzentration nachzuweisen. Der Grund hierfür war eine Fehldosierung von Ethanol über Nacht durch eine falsche Programmeinstellung. Kurz davor wurde der MDR nach einem längeren Stillstand durch den Ausfall des PCs wieder angefahren (s. Abb. 30, S. 39).

Es zeigte sich, dass die CSB-Konzentrationen im Ablauf des MDR in allen anderen Fällen unter den Konzentrationen im Zulauf zum Reaktor lagen. Auch die Ethanol Konzentrationen im Ablauf des MDR lagen, bis auf das oben erwähnte Ereignis am 28. d, unter der (relativ hohen) Nachweisgrenze von 0,01 g/L Ethanol (s. Abb. 36). Daraus kann man schließen, dass das zu dosierte Ethanol im Reaktor vollständig für die Denitrifikation verbraucht wurde. Die CSB-Konzentrationen im Zulauf zur Anlage („CSB zu“ in Abb. 35) lagen fast immer unterhalb der Bestimmungsgrenze des CSB-Küvettestests, wurden hier jedoch dennoch zum Vergleich mit aufgetragen.

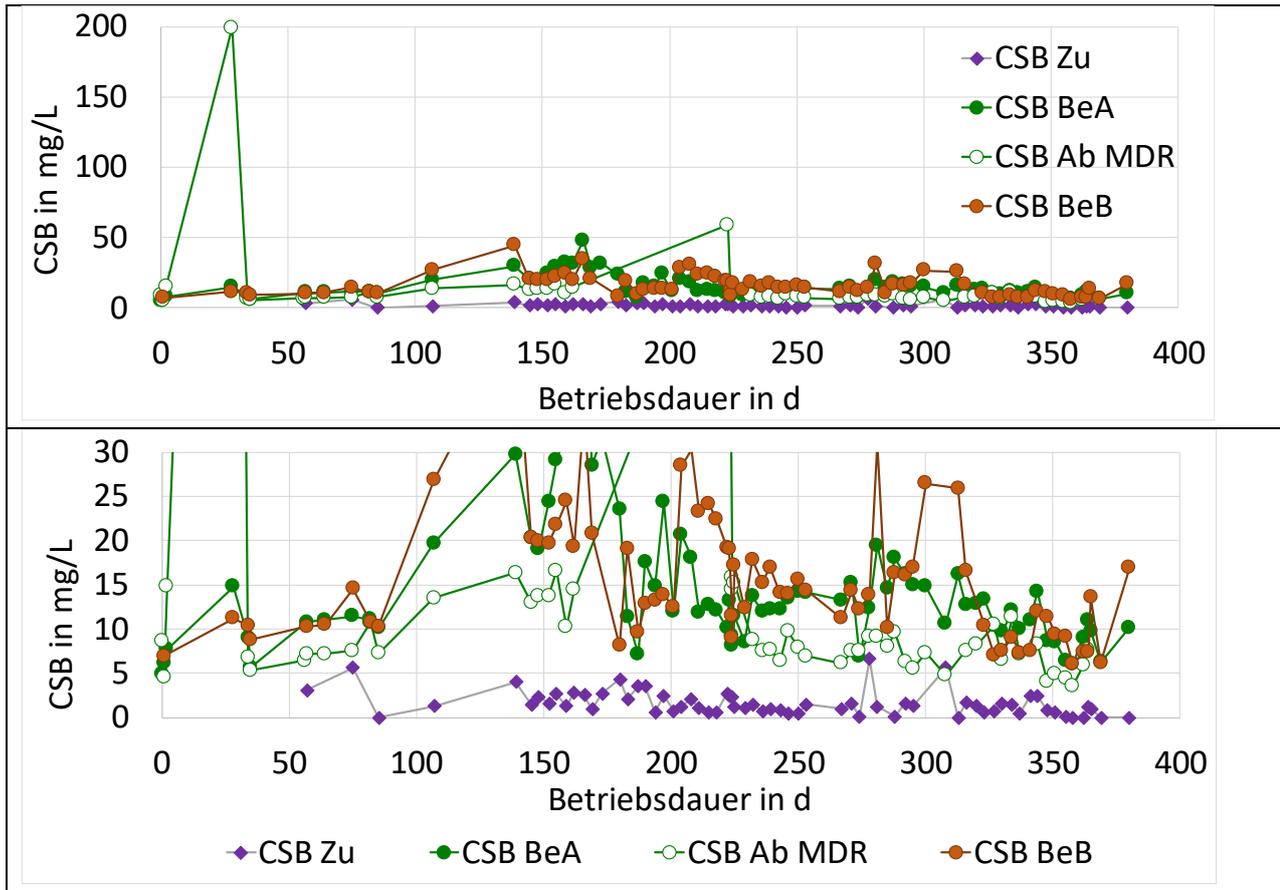


Abb. 35 Verlauf CSB-Konz. in BeA u. BeB, sowie im Zulauf zu Becken („Zu“, Brunnenwasser) u. Ablauf MDR („Ab MDR“), Laboranalytik-Werte. Oben: Y-Achse Skalierung bis 200 mg/L, unten Skalierung bis 20 mg/L.

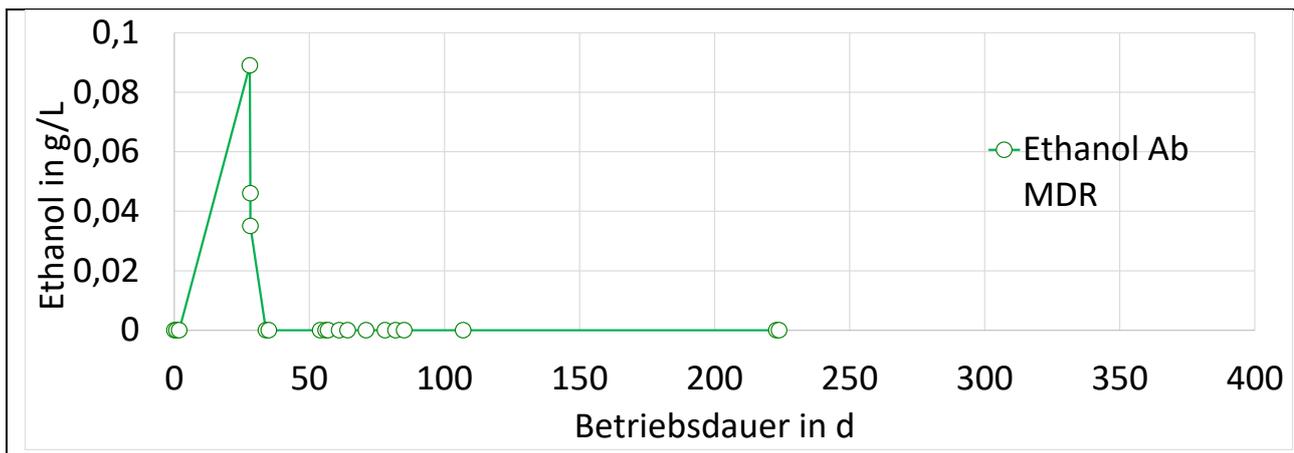
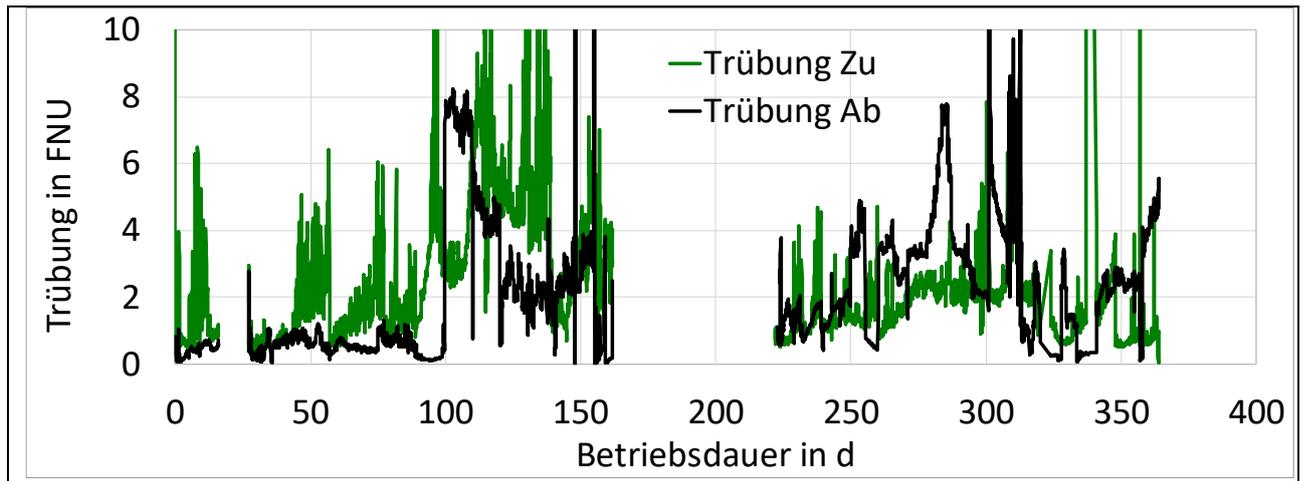


Abb. 36 Ethanol-Konz. im Ablauf MDR, Laboranalytik-Werte.

### 5.2.7 Trübung

Auch hier ließen sich zunächst deutliche Unterschiede bei den Trübungsmesswerten von Zu- und Ablauf des Reaktors feststellen. Im Becken A sind regelmäßige, starke Schwankung bei den Trübungswerten zu beobachten, wobei das Maximum in etwa mit dem Beginn der Fütterung morgens zwischen 9:00 Uhr und 10:00 Uhr zusammenfällt. Es wäre denkbar, dass durch die verstärkte Aktivität der Fische mehr Schlamm aufgewirbelt wird, der damit in die Anlage und die Messstrecke gelangt.



**Abb. 37 Verlauf Trübung im Zu- u. Ablauf MDR, Online-Werte.**

Nach dem 100. d waren die Trübungswerte im Ablauf teilweise höher als im Zulauf. Da die Membran nach Ende des Versuchsabschnitts 1 als optisch einwandfrei begutachtet wurde, könnte ein Fehler bei der Messung die Ursache sein. In der Pause zwischen Versuchsabschnitt 1 und 2 wurden die Trübungsmessgeräte umfangreich gewartet und kalibriert, so dass eine Fehlfunktion unwahrscheinlich ist, jedoch nicht ausgeschlossen werden kann, da es sich um ältere Geräte handelt. Weitere mögliche Ursache könnten aufgewirbelte Ablagerungen in den Schläuchen sein, die in die Messstrecke eingetragen werden und Trübungen verursachen.

### 5.2.8 Denitrifikationsraten und Ethanolbedarf

Für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit des MDR wurden die Denitrifikationsraten (=Denitrationsrate, DN-Rate( $\text{NO}_2^-$ ), s. Gl. (7), S. 24) aus den Online-Daten für die Nitratkonzentrationen aus Zulauf (Becken A) und Ablauf des MDR und den entsprechenden Online-Daten für den Volumenstrom aus dem Reaktor und dem jeweils aktuellen Wasservolumen im Reaktor bestimmt (s. Abb. 38 oben). Aus den analytisch gewonnenen Daten können auch die Denitrifikationsraten (DN-Rate( $\text{N}_2$ ); s. Gl. (6), S. 24) berechnet werden.

Die Online-Daten der Waage mit der Nitrat-Lösung dienen zur Berechnung der Ethanol-Dosierung (Ethanol Dosier-Fracht in g/h, s. Abb. 38 unten). Dabei kann man erkennen, dass die Denitrifikationsraten vor allem durch die geringen Raumbelastungen RBN, also den Nitrat-Frachten im Zulauf zum MDR, limitiert wurden (s. Abb. 38, oben). Das liegt daran, dass der Druck im MDR, und damit die Volumenströme durch den Reaktor begrenzt werden mussten. Der Peak der Denitrifikationsraten an d 28 wurde durch die oben erwähnte Fehldosierung von Ethanol bewirkt, die Sprünge nach unten sind meist bei Wartungsarbeiten am Reaktor entstanden (wegen Abschaltung der Zulaufpumpe und/oder Öffnen des Reaktors).

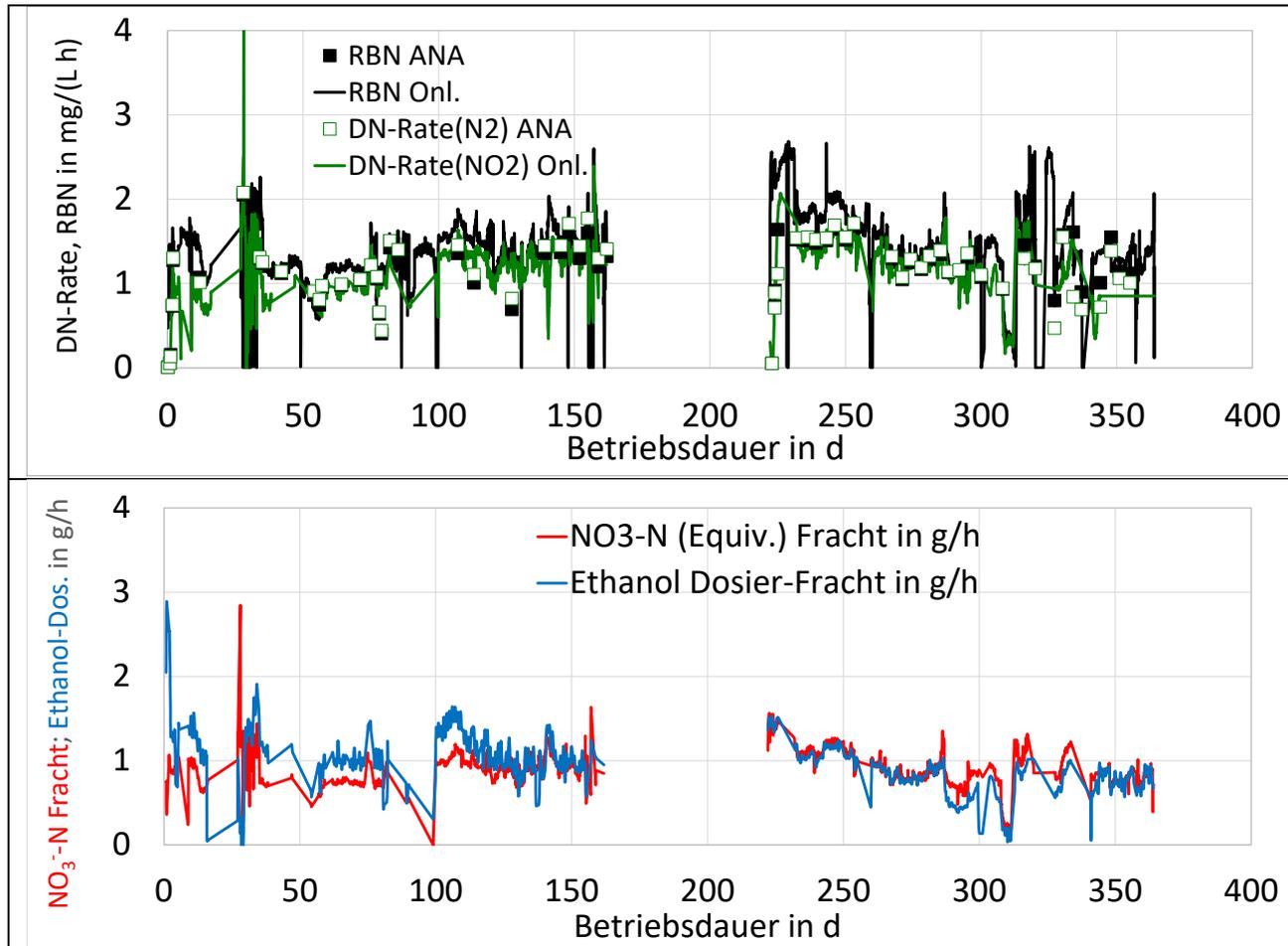


Abb. 38: Oben: Verlauf Raumbelastung und Denitrifikationsraten, pH 7,7, (17...26) °C, mit RBN = Raumbelastung Nitrat; DN-Rate(N<sub>2</sub>): Denitrifikationsrate; DN-Rate(NO<sub>2</sub>): Denitrifikationsrate; ANA = Analytik; Onl. = Online-Daten

Unten: NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N (Equiv.) Fracht im Zulauf MDR und Ethanol-Dosier-Fracht

### 5.2.9 Sauerstoff, pH und Temperatur

Abb. 39 (oben) zeigt einen Vergleich zwischen Zu- und Ablauf des MDR bezüglich pH, O<sub>2</sub> und Temperatur. Im Gegensatz zur KLA Marjoß (s. Abb. 24) waren hier die Unterschiede der pH-Werte zwischen Zu- und Ablauf des MDR sehr gering. Die Ursache dafür ist vor allem die weitaus höhere Säurekapazität des Brunnenwassers am Standort Göttingen. Leider ist die pH-Elektrode im Ablauf zeitweise ausgefallen. Die Werte der Sauerstoffkonzentration im Zulauf spiegeln vermutlich nicht die Zustände im Fischbecken (Becken A) wider, da zum einen die Zulauf-Schläuche unvermeidbare Biofilme aufwiesen, zum anderen die Messstrecke (Zulauf) immer wieder so sehr mit Schlamm verunreinigt war, dass die Sonde trotz wöchentlicher Reinigung zu niedrige Werte anzeigte. Aufgrund der Tatsache, dass die Löslichkeit von Sauerstoff in Wasser mit steigender Temperatur sinkt, schwankten die Sauerstoffkonzentrationen entgegengesetzt zu den Temperaturen im gleichen Tag-Nacht Rhythmus, jedoch etwas verschoben (s. Abb. 40).

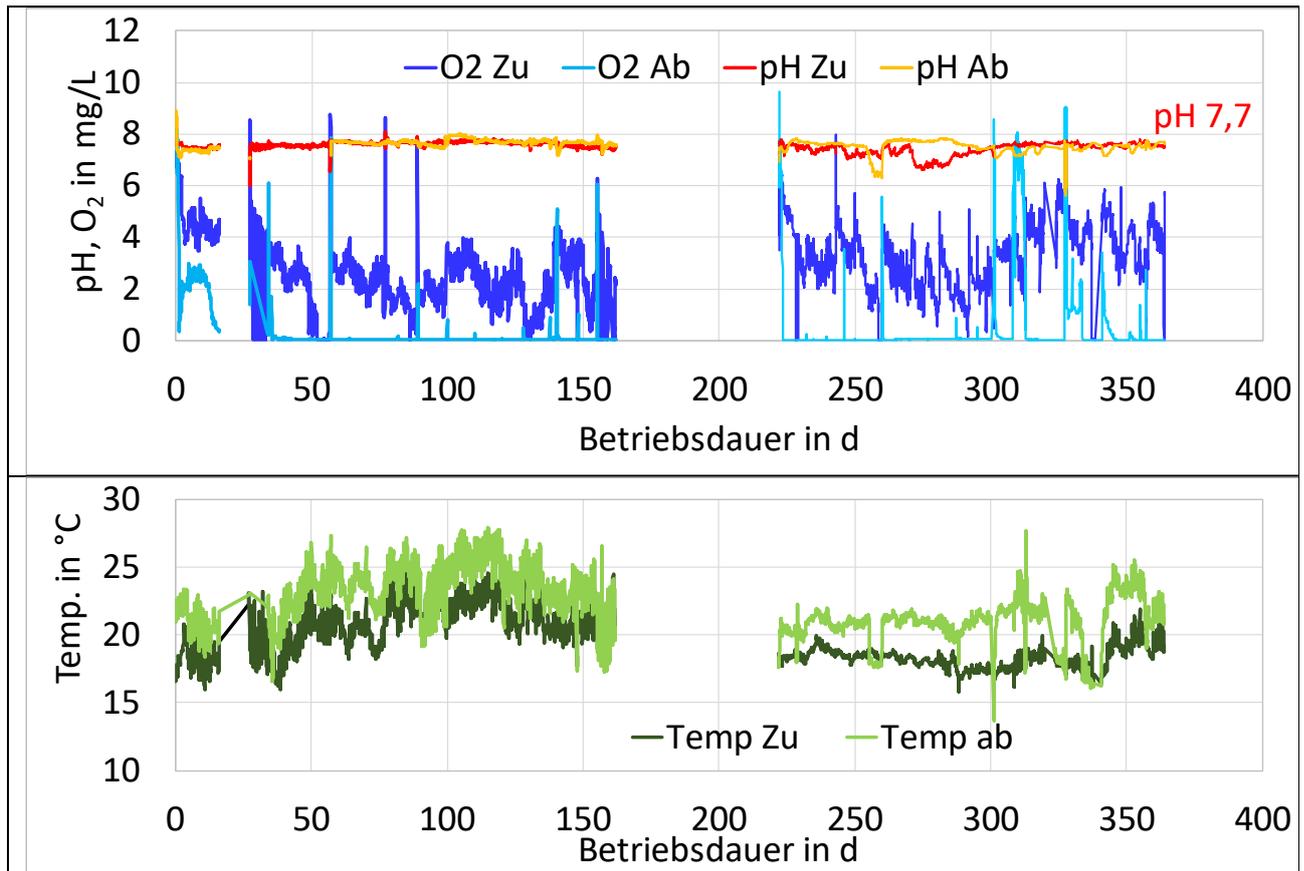


Abb. 39: pH, O<sub>2</sub> (oben) u. Temperatur (unten) jeweils Zulauf („Zu“) u. Ablauf („Ab“) MDR.

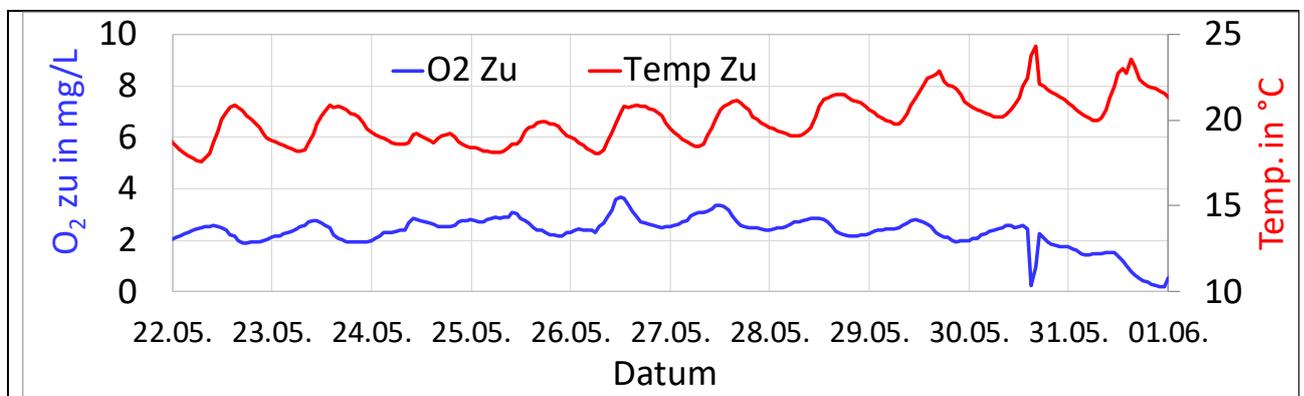


Abb. 40: Schwankungen der Sauerstoff- und Temperatur-Werte im Zulauf zum MDR im Tag-Nacht Rhythmus (Ausschnitt).

### 5.2.10 Härte, Säurekapazität und DIC

Wie bereits erwähnt, hat das Brunnenwasser am Standort Göttingen eine hohe Härte (ca. Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup>) und auch eine hohe Säurekapazität  $K_{s4,3}$ , als Maß für das pH-Puffer-Vermögen des Wassers. Dies mindert die Gefahr von „Säurestürzen“ und bewirkt einen relativ konstanten pH-Wert. Durch die Nitrifikation wird die Säurekapazität vermindert, durch Denitrifikation wird sie wieder erhöht. Daher war die Säurekapazität  $K_{s4,3}$  im Ablauf des MDR meistens höher als im Zulauf (s. Abb. 41, Mitte).

Da in einem natürlichen (Grund-)Wasser die Säurekapazität und Pufferwirkung hauptsächlich auf der HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Konzentration beruht, ist es nicht überraschend, dass die gemessenen DIC-Konzentrationen (Dissolved Inorganic Carbon), den Werten für die Säurekapazität sehr ähnlich sind (s. Abb. 41 unten).

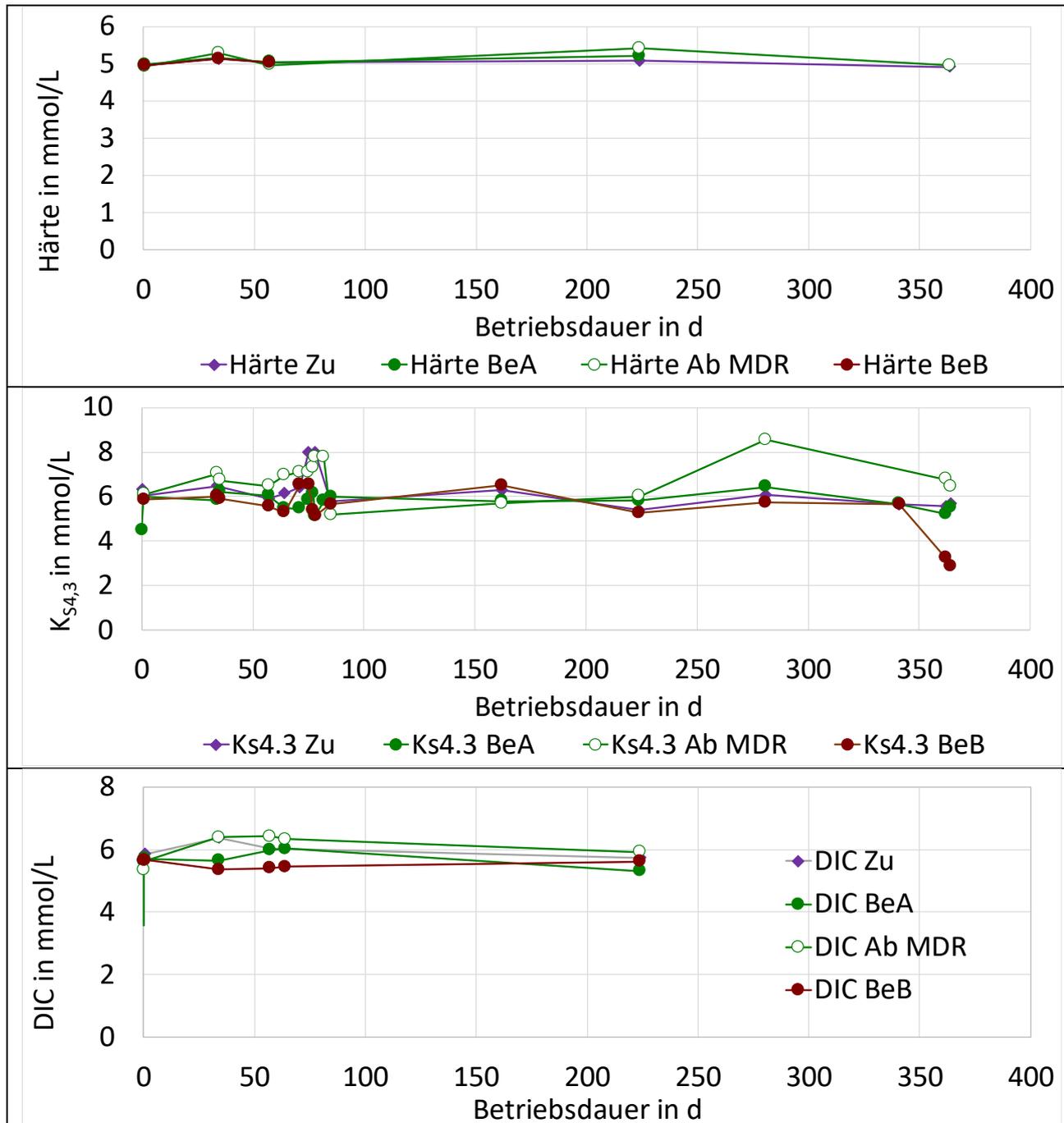


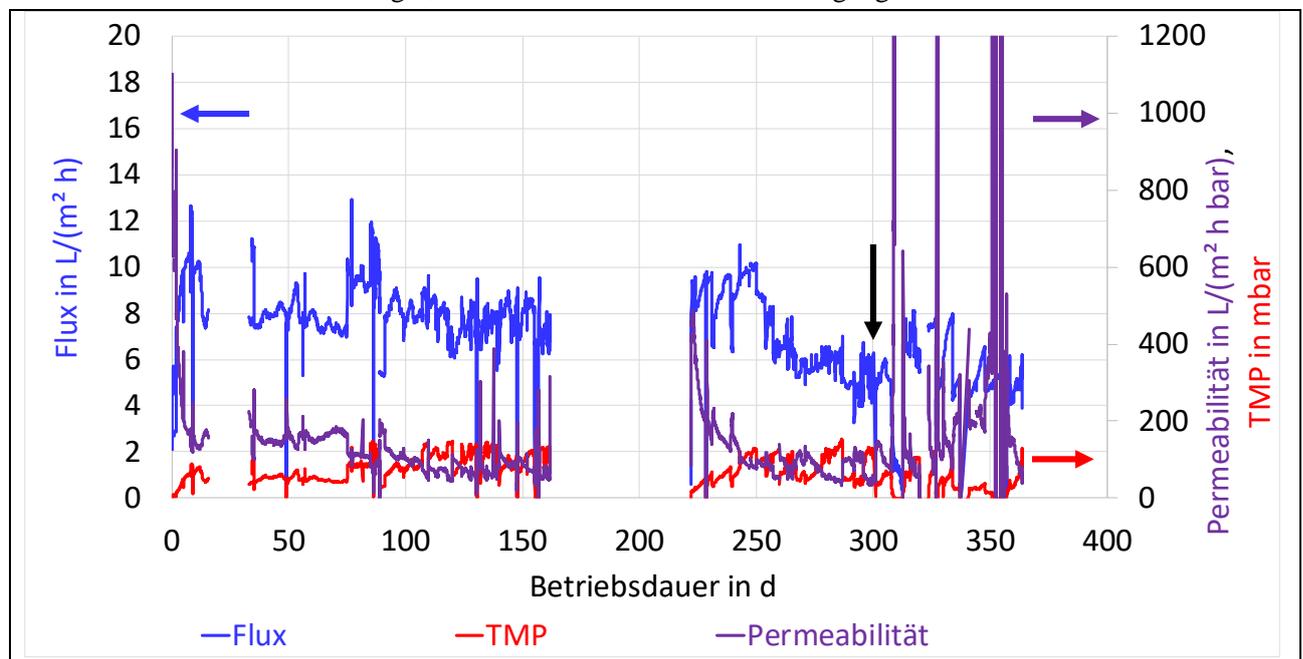
Abb. 41: Härte (oben), Säurekapazität  $K_{S4,3}$  (Mitte) u. DIC (unten), jeweils in Becken A (BeA) u. B (BeB), sowie im Zulauf zu den Becken (Zu) u. Ablauf MDR (Ab MDR), Laboranalytik-Werte.

### 5.2.11 Funktion der Membranreinigung - Transmembrandruck, Permeabilität und Volumenstrom

Abb. 42 zeigt eine schnelle Abnahme der Permeabilität (s. Gl. (16)) des Membranmoduls in den ersten 7 Betriebstagen. Gleichzeitig stieg der Transmembrandruck an. Das liegt daran, dass die Membran vor der Inbetriebnahme in der KLA Göttingen intensiv gereinigt wurde, und so ein ähnliches Verhalten wie eine fabrikneue Membran zeigte. Nach der zweiten Reinigung nach Versuchsabschnitt 1 verminderte sich die Permeabilität ebenfalls sehr schnell und war bereits nach ca. 40 d wieder auf einem ähnlichen Niveau wie vor der Reinigung. Nachdem die neuen Schaumstoffträgermaterialien (OST2) zu Verstopfungen an den Ablaufgittern und zwischen den Membranen geführt hatten, wurde das Modul gespült, um die OST2 zu entfernen, was nicht vollständig gelang. Daraufhin wurden die restlichen OST2 entfernt und neues Material

(OST1) eingefüllt (Schwarzer Pfeil in Abb. 42). Die starken Schwankungen der Permeabilität in Abb. 42 ergaben sich durch die Schwankungen des Zulauf-Volumenstroms, denn wenn der Wasserstand im Reaktor zu hoch war, wurde die Zulaufpumpe abgeschaltet und der MDR geöffnet, um das überschüssige Wasser abzulassen und Ansammlungen von OST1 im Zulaufbereich zu beseitigen.

Der Flux konnte nur anfangs auf dem angestrebten Niveau von  $10 \text{ L}/(\text{m}^2 \text{ h})$  gehalten werden. Im Verlauf der Versuche wurde der TMP größer und führte dazu, dass der Druck im Reaktordeckel den zulässigen Überdruck von 130 mbar überschritt. Im Steuer-Programm wurde daraufhin jeweils die Pumpe abgeschaltet, so dass der Zulaufvolumenstrom und damit der Flux im Mittel niedrig gehalten wurden (s. Abb. 42). Der Volumenstrom konnte bei der Zulaufpumpe (Exzenter-Schneckenpumpe) relativ konstant eingestellt werden. Dennoch war der Zulaufvolumenstrom zum MDR nicht konstant, weil ein Teil des Wassers für die Messstrecke abgezweigt wurde (s. Abb. 10, S. 16). Der Widerstand in der Messstrecke stieg oft innerhalb einiger Tage durch Biofilm-Bewuchs deutlich an. Dadurch verringerte sich der Volumenstrom durch die Messstrecke und der Volumenstrom durch den MDR wurde erhöht. Nach dem Reinigen der Messstrecke war der Volumenstrom durch den Reaktor wieder niedriger, dann wiederholte sich dieser Vorgang.



**Abb. 42: Verlauf von Permeatfluss (Flux), Permeabilität u. TMP (Trans Membrane Pressure),  $T = (16 \text{ bis } 25) \text{ }^\circ\text{C}$ . Online-Messwerte-Mittelwerte. Schwarzer Pfeil: Membran gereinigt, OST2 entfernt.**

Im Programm wird die Regelung des Wasserstands über die kurzzeitige Öffnung des Magnetventils im Deckel vorgenommen, wenn ein bestimmter Wasserstand unterschritten wird. In Versuchsabschnitt 1 wurde dieser Grenzwert des Wasserstands auf 188 cm eingestellt, was vom 30. - 100. d auch in etwa den gemessenen Werten entsprach (s. Abb. 43). In Versuchsabschnitt 2 (ab 222. d) wurde der Grenzwert auf 180 cm eingestellt, was nur abschnittsweise an den gemessenen Werten erkennbar ist.

Da ein höherer Wasserstand auch einen höheren TMP bedingt, lag der TMP in Versuchsabschnitt 1 immer etwas über der Druckdifferenz zwischen dem MDR-Innenraum und außen ( $\Delta p(\text{Deckel})$ ), s. Abb. 43), während in Versuchsabschnitt 2 diese beiden Werte annähernd gleich waren. Bei den Versuchen in der KLA Marjoß konnten die Transmembrandrücke deutlich höher steigen, weil der Wasserstand bei ca. 200 cm - 210 cm eingestellt war. Im weiteren Verlauf der Versuche stieg der TMP jeweils weiter an, da sich die Durchlässigkeit der Membran durch Fouling verringerte.

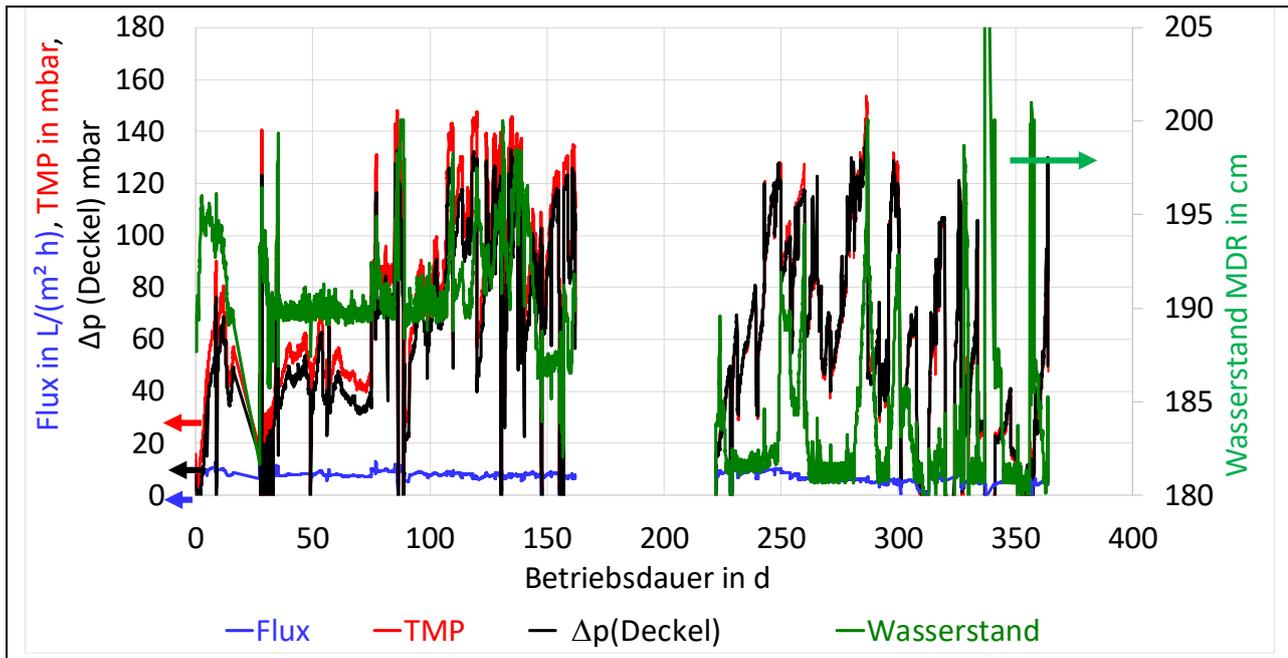


Abb. 43: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u. Δp(Deckel) mit Wasserstand im MDR u. Permeatfluss (Flux), T= (18 bis 27) °C. Online-Messwerte (Mittelwerte).

Ein wichtiger Einflussfaktor auf den TMP ist auch der Zulauf-Volumenstrom. Jedoch zeigt der Vergleich, dass sich der TMP im Verlauf des Versuchs tendenziell immer weiter erhöht, während der Zulauf-Volumenstrom eher sinkt (s. Abb. 44). Dies ist vermutlich durch eine zunehmende Verunreinigung der Membran bedingt.

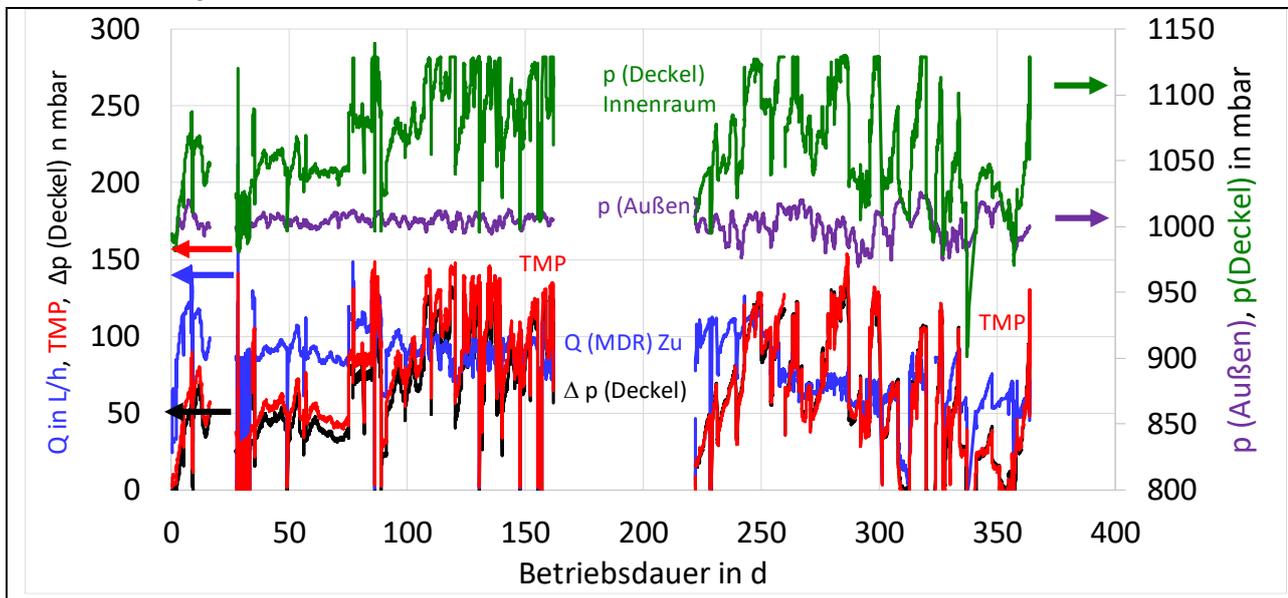
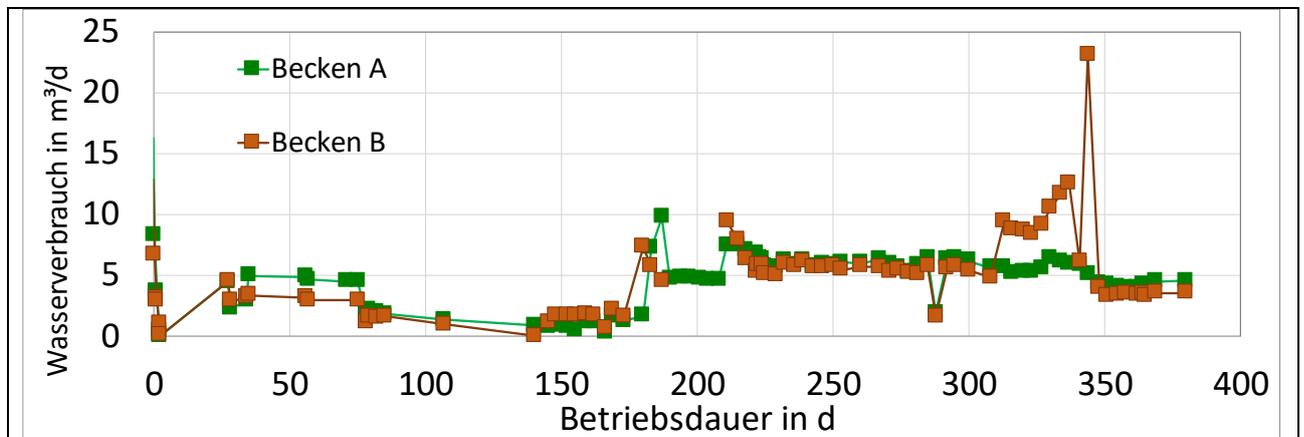


Abb. 44: Vergleich von TMP (Trans Membrane Pressure) u. Δp(Deckel) mit Volumenstrom im Zulauf MDR, T= (16 bis 25) °C. Online-Messwerte.

5.2.12 Wasserbedarf und Kühlung

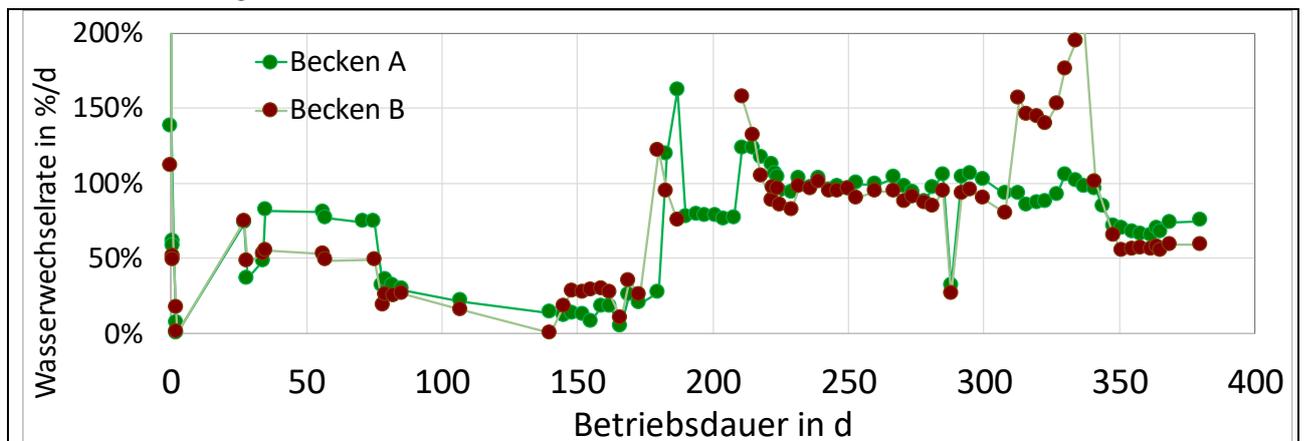
Der tägliche Frischwasser-Verbrauch war bei beiden Becken relativ hoch im Vergleich zur Anlage RF in der KLA Marjoß (s. Abb. 45). Teilweise war der Verbrauch in Becken A und B auch unterschiedlich da sich der Zulauf-Volumenstrom mit den verbauten Kugelhähnen nur schlecht einstellen ließ. Da die Futtermengen im Verlauf der Versuche immer weiter stiegen, wurde auch die Wasserqualität in Bezug auf Ammonium und

Nitrit immer problematischer, da die Kapazität der Nitrifikationsreaktoren („Biofilter“) nicht mehr ausreichte. Deshalb wurden die Zulauf-Volumenströme im Verlauf des Versuchs erhöht. Beim Becken B sprach die Wasseruhr bei kleinen Zulauf-Volumenströmen nicht an, so dass hier bei sehr niedrigen Wasserverbrauchswerten keine zuverlässigen Werte vorliegen.



**Abb. 45: Täglicher Wasserverbrauch in Anlage A (mit MDR) u. B (Referenz).**

Ein Wert, der in der Praxis eine Rolle spielt, ist die Wasserwechselrate, die das benötigte Frischwasser je d bezogen auf das Anlagen-Volumen wieder gibt (s. Abb. 46). Normalerweise sollte eine KLA nicht mehr als 10 %/d verbrauchen. Aus den oben genannten Gründen mussten die Wasserwechselraten in beiden Becken aber erheblich höher eingestellt werden.



**Abb. 46: Tägliche Wasserwechselrate Anlage A (mit MDR) u. B (Referenz).**

Ein weiterer Grund waren die hohen Temperaturen im Sommer, so dass das Wasser sich über den für Fische zuträglichen Bereich hinaus aufheizen konnte. Deshalb wurde das kühlere Frischwasser auch für die Temperatureinstellung genutzt. In der Hitze-Periode im Juli 2018 wurde das Wasser sogar zusätzlich mit Eisbeuteln gekühlt (s. Abb. 47). Erst nach längerer Wartezeit wurden die bestellten Kühlaggregate vor Beginn des Versuchsabschnitts 2 endlich geliefert (s. Abb. 48).



Abb. 47: Wegen der Hitze bekommen die Fische Eis. Lufttemp. 31 °C Wassertemp. 21 °C

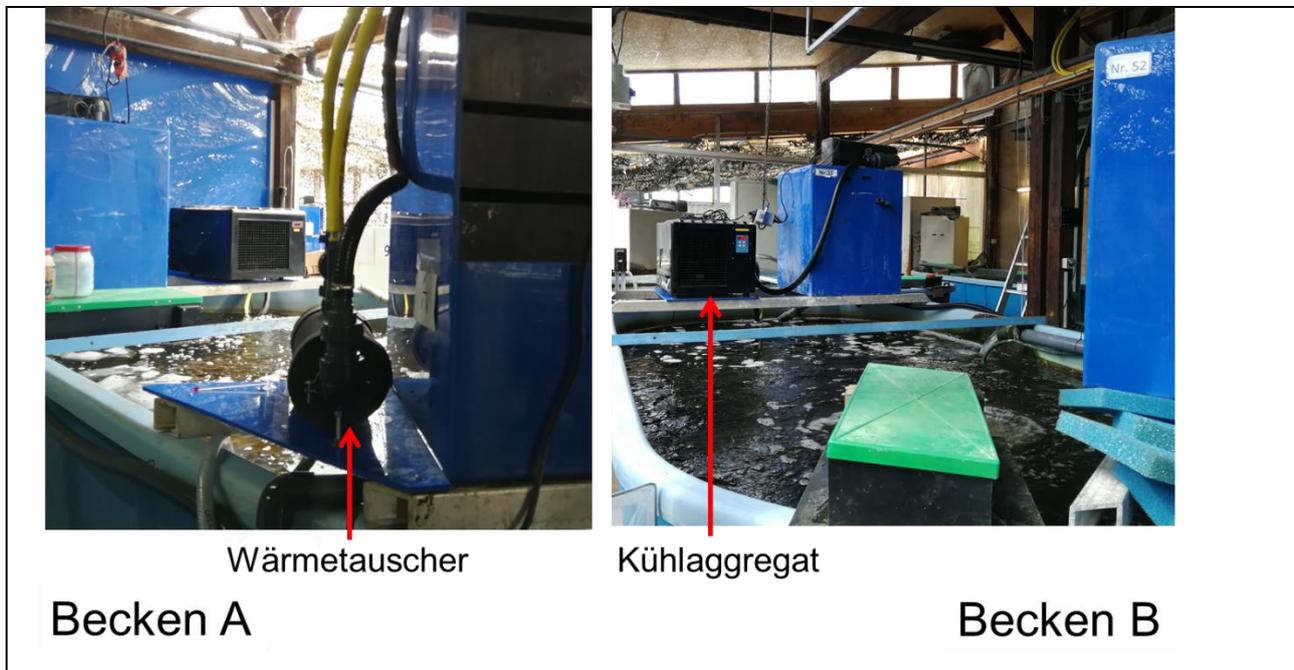
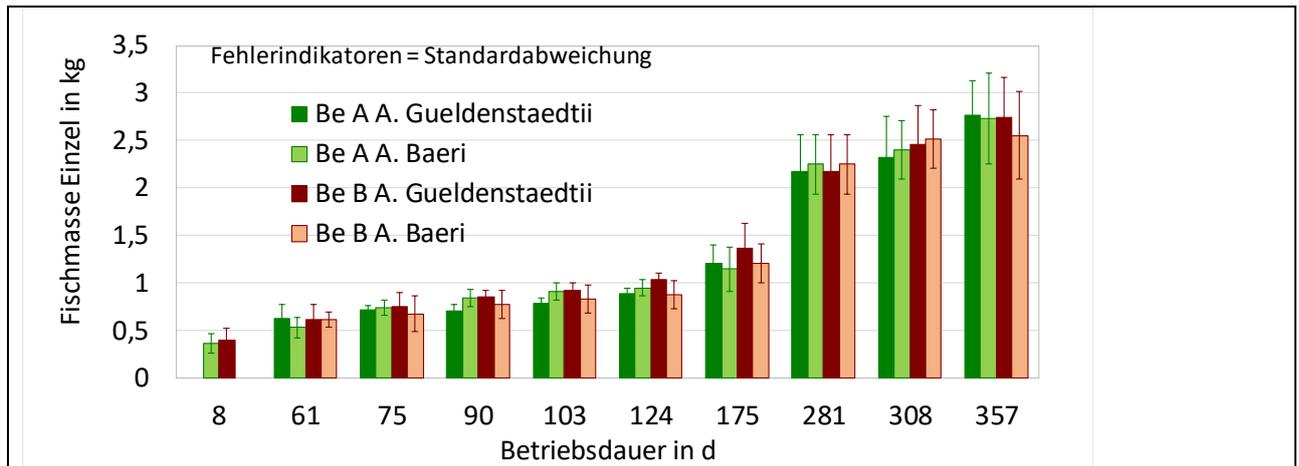


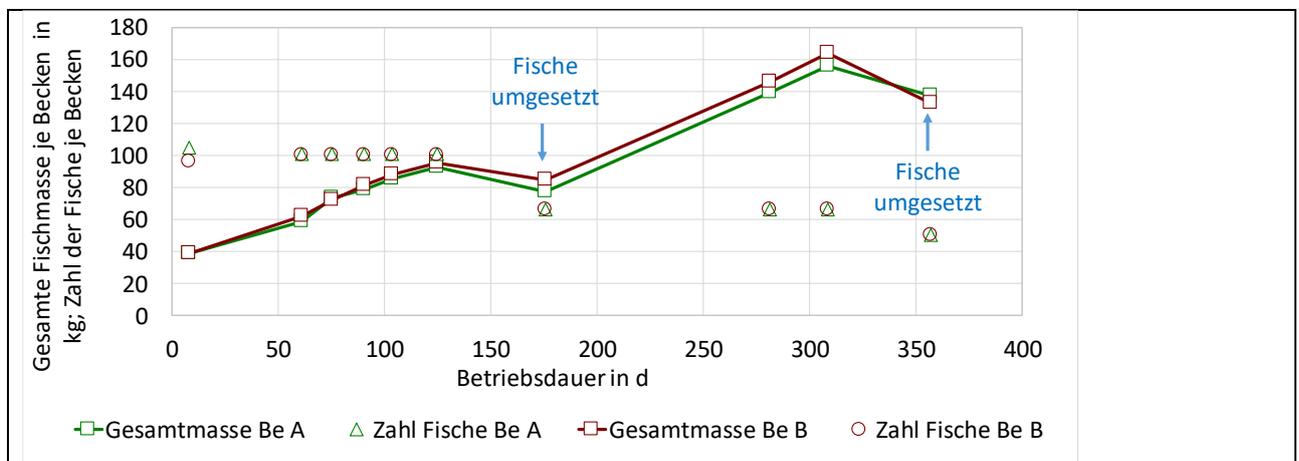
Abb. 48: Die Kühlaggregate und Wärmetauscher am 107. d

### 5.2.13 Fische und Futter

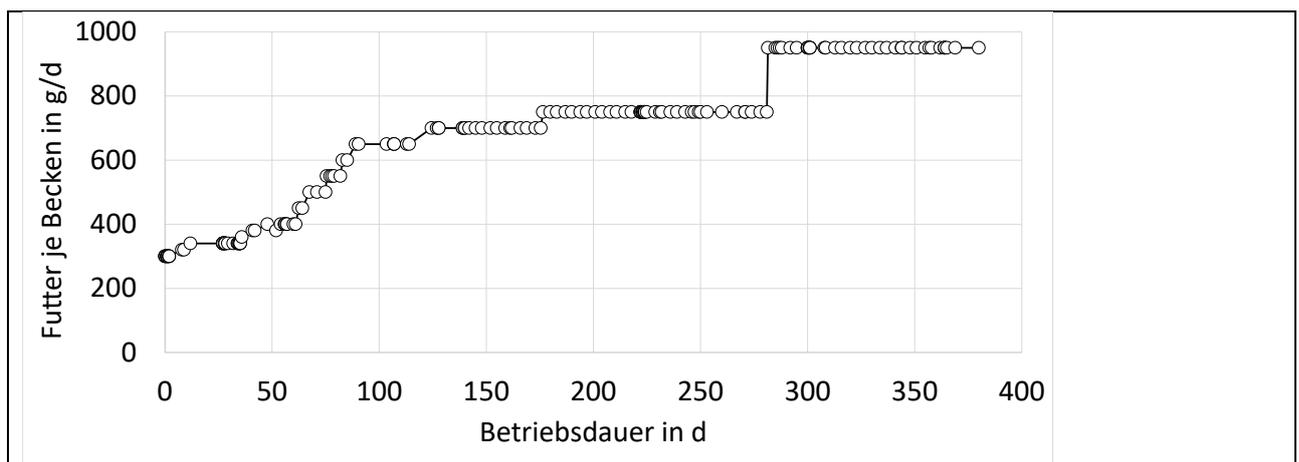
Die eingesetzten Fische wuchsen im Verlauf der Versuche (ca. 1 Jahr) jeweils von ca. 400 g (Einzelfisch) auf ca. 2,7 kg (s. Abb. 49) und benötigten daher kontinuierlich mehr Futter und Raum. Um die Wasserqualität im Rahmen zu halten (physiologische Ansprüche von Stören an die Wasserqualität, s. Tab. 6, S. 14), wurden nach dem ersten Versuchsabschnitt (s. Kap. 5.2.1, Abb. 30, S. 39) aus Becken A und B ein Teil der Tiere in ein anderes Becken umgesetzt, wobei die Gesamtzahl und das Verhältnis der beiden Arten in beiden Becken angeglichen wurden.



**Abb. 49: Einzelfischnmassen in Becken A (Be A) und Becken B (Be B), aufgeschlüsselt nach Arten (*Acipenser gueldenstaedtii*, bzw. *Acipenser baeri*). Fehlerindikatoren = Standardabweichungen**



**Abb. 50: Gesamte Fischmasse, sowie Zahl der Fische in Becken A (Be A) u. B (Be B).**



**Abb. 51: Futterzugabe je Tag in Becken (A und B)**

Durch die Umsetzungen wurde die Gesamt-Fischmasse in den beiden Becken erniedrigt (s. Abb. 50). Die Futtermengen wurden den Fischmassen angepasst, konnten jedoch nicht immer die optimalen Mengen erreichen, um die Wasserqualität nicht zu gefährden (s. Abb. 51).

### 5.2.14 Stickstoffbilanz

Aus den Futtermengen, den Nitratfrachten im Zu- und Ablauf der Fischbecken, und den Nitratfrachten in Zu- und Ablauf des MDR könnte eine N-Bilanz erstellt werden, wenn der Anteil des von den Fischen ausgeschiedenen Stickstoffs bekannt wäre. Dieser Anteil kann hier nicht bestimmt werden, da die Wasseruhr in Becken B bei kleinen Volumenströmen nicht ansprach und andererseits auch der N-Austrag durch das Ablaufwasser in Becken B zu stark schwankte (s. Abb. 52).

Abb. 52 oben zeigt zumindest, dass der Einfluss des MDR auf die Nitratbilanz und damit die Nitratkonzentrationen im Becken A deutlich war, denn die Stickstoff-Austrags-Frachten durch Denitrifikation („Austrag Deni“) waren in Versuchsabschnitt 1 durchweg höher als die Austrags-Frachten über das Ablaufwasser („Austrag Wasser A“). In Versuchsabschnitt 2 waren sie immerhin noch in einer ähnlichen Größenordnung (Versuchsabschnitte: s. Abb. 30, S. 39). Die negativen Werte für den Austrag durch das Ablaufwasser kamen dadurch zustande, dass das Wasser in Becken A, bedingt durch den MDR, zeitweise niedrigere Nitratkonzentrationen als das Zulaufwasser aufwies.



**Abb. 52: Stickstoff Ein- und Austräge (Frachten) durch Futter, MDR, Frisch- und Abwasser. „Austrag Wasser“ = (Austrag durch Ablauf - Eintrag durch Frischwasser), „A“ = Becken A, „B“ = Becken B. „Austrag Deni“ = Austrag durch Denitrifikation. Roter Pfeil: s. Text. Berechnung s. Gl. (17), (18), (19), S. 26.**

Am d 313 wurde das Becken B kurz vorher abgelassen und neu befüllt, daher waren kurzzeitig im Becken B niedrigere Nitratkonzentrationen als im Zulauf (roter Pfeil in Abb. 52 unten).

### 5.3 Erfahrungen mit dem Reaktor und Erkenntnisse

#### 5.3.1 Inbetriebnahme des MDR

Kurz nach der Inbetriebnahme war jedes Mal festzustellen, dass sich zunächst alle Schaumstoffwürfel im oberen Bereich des MDR sammelten. Die anhaftende Luft führte zum Aufschwimmen der Aufwuchskörper (s. Abb. 53). Durch wiederholtes Ausdrücken per Hand konnte die Zeit verkürzt werden bis sich das PUR-Kunststoffmaterial mit Wasser füllte und sich gut rezirkulieren ließ. Der Anfahr-Vorgang der Rezirkulation der Schaumstoffwürfel (OST1) bei der ersten Inbetriebnahme des MDR in der KLA Göttingen (Abb. 53) und auch der Anfahrvorgang mit neuem Material (OST2, S. Abb. 54) zeigen ein recht ähnliches Verhalten.

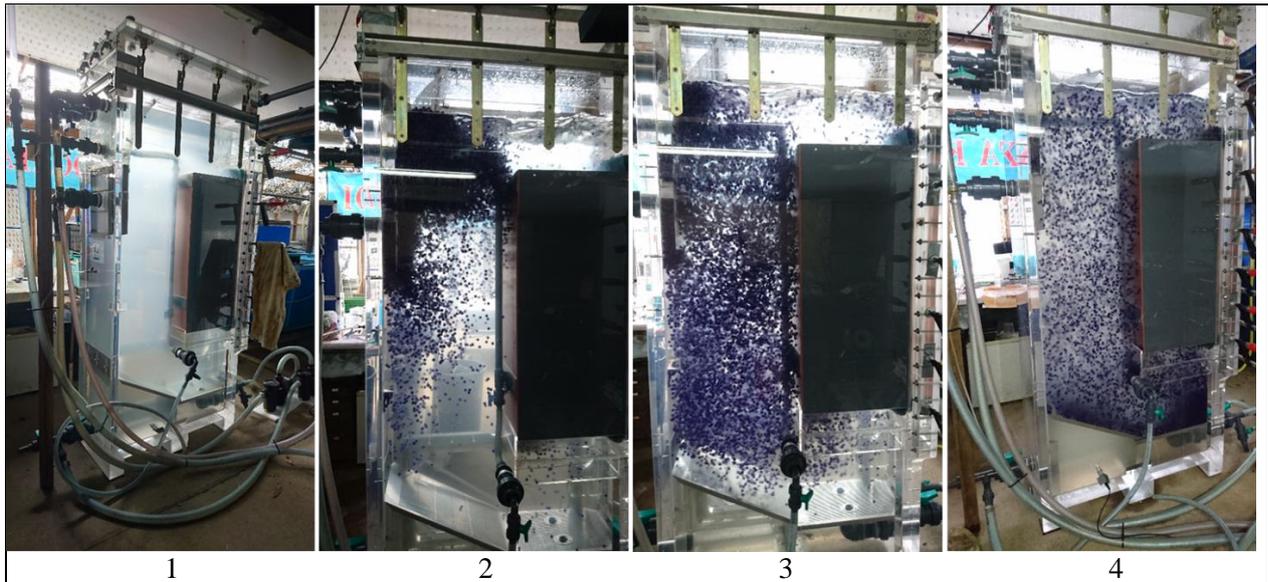


Abb. 53: MDR in der KLA Göttingen Inbetriebnahme m. OST1: 1: Reaktor nur mit Wasser gefüllt. 2: OST1 1 d nach Einfüllen - Rezirkulation gestartet. 3: Ein paar Sekunden später. 4: Rezirkulation einige Minuten später.

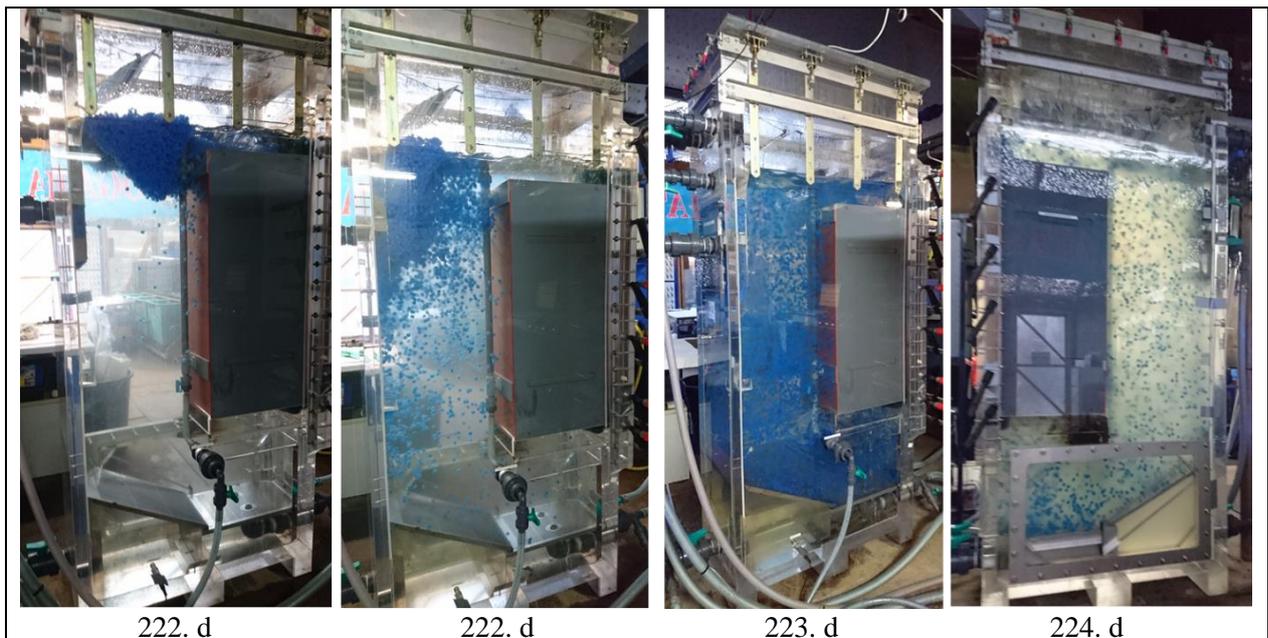


Abb. 54: Anfahren des MDR am 222. d mit OST2.

Das Aufschwimmen der Aufwuchskörper ließe sich vermutlich durch eine Vorkonditionierung des Materials durch „Einweichen“ in Wasser verhindern, indem die OST durch ein Gitter unter Wasser gedrückt werden. Dies könnte auch direkt im Reaktor durchgeführt werden.

### 5.3.2 Probleme mit dem Wasserstand

Wenn der Wasserstand im Reaktor so hoch war, dass das Ableitgitter überschwemmt wurde, gerieten Schaumstoffwürfel über das Ableitgitter in den Zulaufbereich zum MDR und standen dann nicht mehr im Hauptstrom zur Verfügung stehen (s. Abb. 55). Wenn dieser Zustand länger anhielt, wurde - aus unbekanntem Gründen - auch Schaumbildung beobachtet (s. Abb. 56).

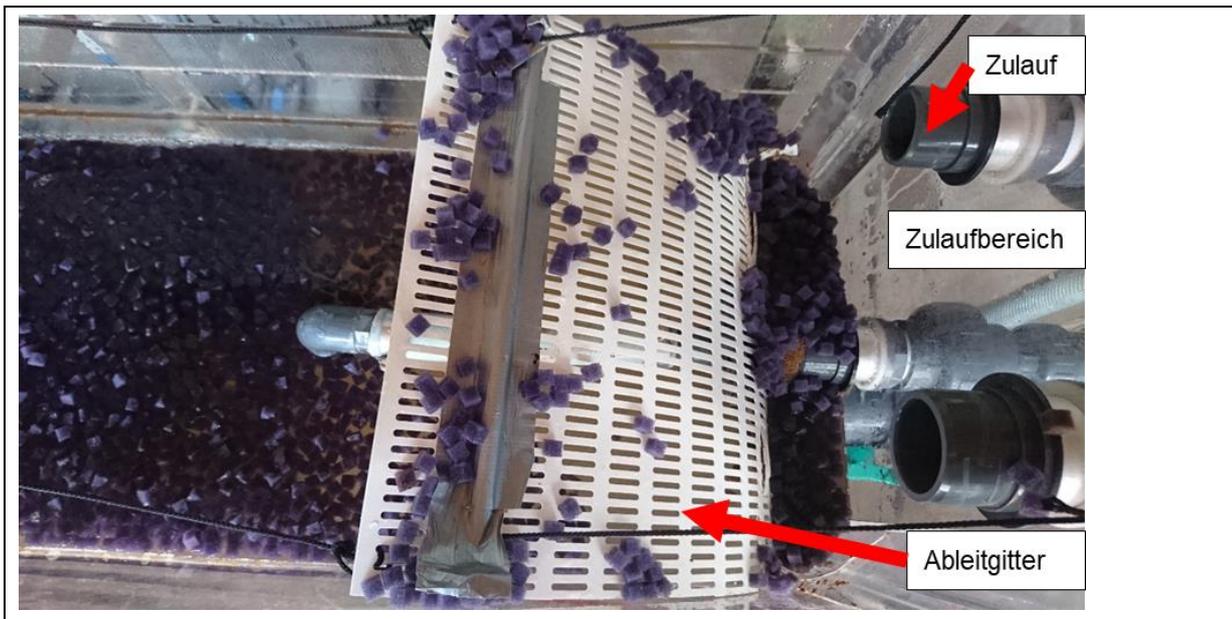


Abb. 55: Durch zu hohen Wasserstand n. Ausfall PC sind Schaumstoffwürfel über Ableitgitter in den Zulaufbereich gelangt (KLA Göttingen).

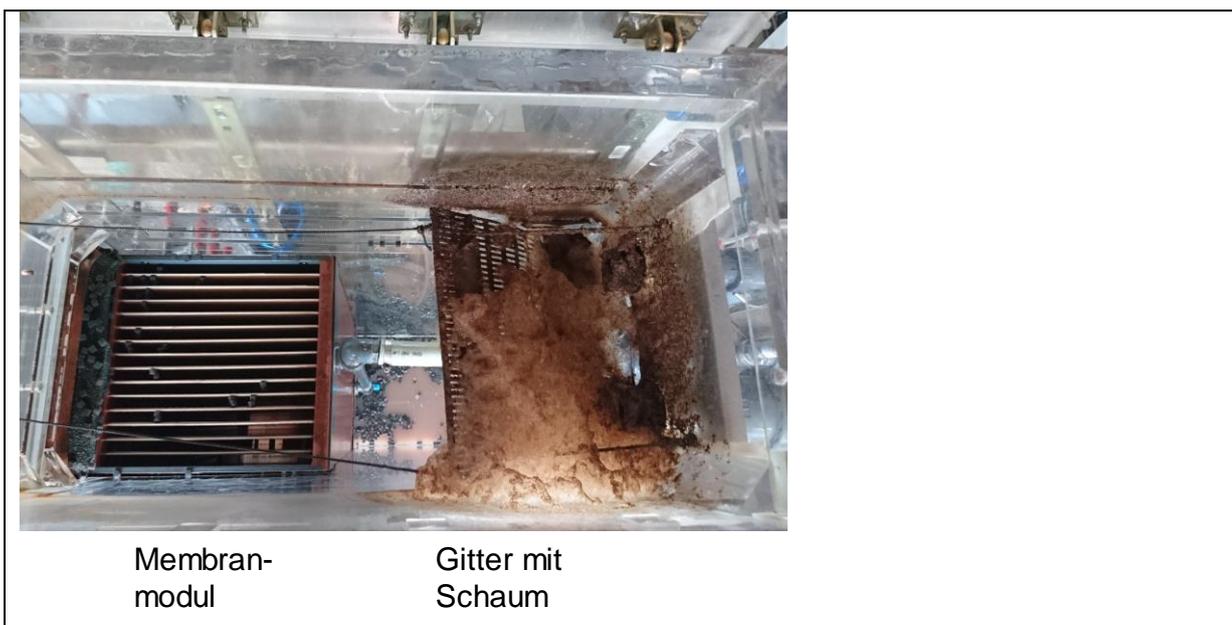


Abb. 56: Am 140. d führte ein zu hoher Wasserstand zu Schaumbildung und Schaumstoffwürfel in einer der beiden Rezirkulationspumpen (KLA Göttingen).

### 5.3.3 Ausbauen des Membranmoduls nach Ende Versuchsabschnitt 1

Da die Reinigung des Membranmoduls nicht direkt im Reaktor erfolgen konnte und außerdem Partner MMF die Kompetenz und Erfahrung mit Wartung und Kontrolle der Module hat, sollte das Membranmodul aus dem Reaktor ausgebaut und mit einer Spedition verschickt werden. Dabei zeigte sich, dass es trotz intensiver Vermischung des Reaktor-Inhalts durch Rezirkulation zu einzelnen Totzonen kam (s. Abb. 57).



Abb. 57: Am 16. d Ausbau und Verpacken des Membran-Moduls und Entfernung des Schaumstoff-Trägermaterials (OST1).

Unerwünschte Ansammlungen auf Gittern oder in Totzonen sollten erkannt und beseitigt werden.

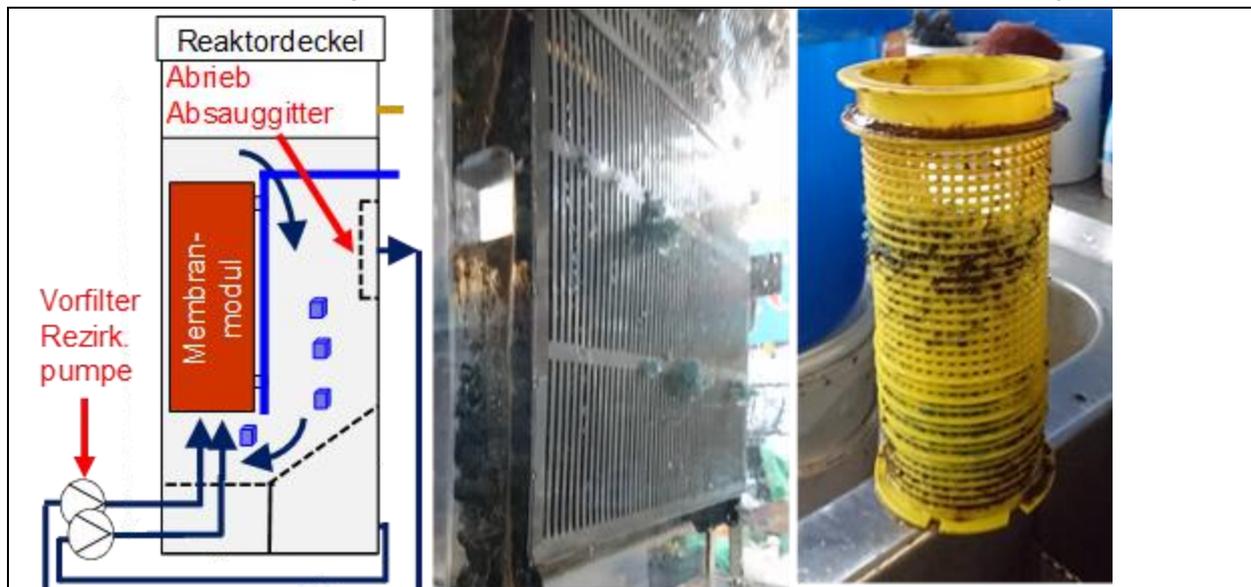


Abb. 58: 301. d Links: Schema: Orte der Verstopfungen Mitte: OST2 Schäumchen u. deren Abrieb stecken an dem oberen Absauggitter fest Rechts: Abrieb im Vorfilter der Rezirkulationspumpe

### **5.3.4 Volumenstrom Zulauf MDR**

Der Zulaufvolumenstrom vom Fischbecken zur Anlage blieb mithilfe der Exzenter-Schneckenpumpe konstant, jedoch ging der Anteil des Wasserstroms, der durch die Messstrecke geleitet wurde, durch Biofilm-Wachstum in Verlauf von wenigen Tagen so weit zurück, dass der Volumenstrom zum MDR entsprechend deutlich zunahm.

### **5.3.5 Ammonium im Ablauf MDR**

Da die Dosierung der Kohlenstoff-Quelle weit unter den stöchiometrisch für die Denitrifikation erforderlichen Ethanolmengen lag, müssen noch weitere C-Quellen vorhanden gewesen sein, denn sonst hätte die Denitrifikation nicht vollständig stattfinden können, d.h. die Nitrat- und Nitritkonzentrationen im Ablauf des MDR wären nicht so niedrig gewesen. Mehrere Punkte sprechen dafür, dass organische Partikel aus den Fischbecken als zusätzliche C-Quelle dienten, die in den Reaktor gefördert wurden. Die Partikel werden von den Membranen zurückgehalten und daher von der CSB-Bestimmung im Ablauf des Reaktors nicht erfasst. Diese Kot- und Futterpartikel enthalten Proteine und setzen daher beim Abbau durch Bakterien Ammonium frei. Dieser Vorgang könnte die zeitweise erhöhten Ammonium-Konzentrationen im MDR erklären. Die niedrigen Redoxpotentiale im Ablauf des MDR sprechen zudem für eine Überversorgung mit organischem Material und dadurch die Erzeugung von anaeroben Bedingungen, trotz der niedrigen Ethanoldosierung.

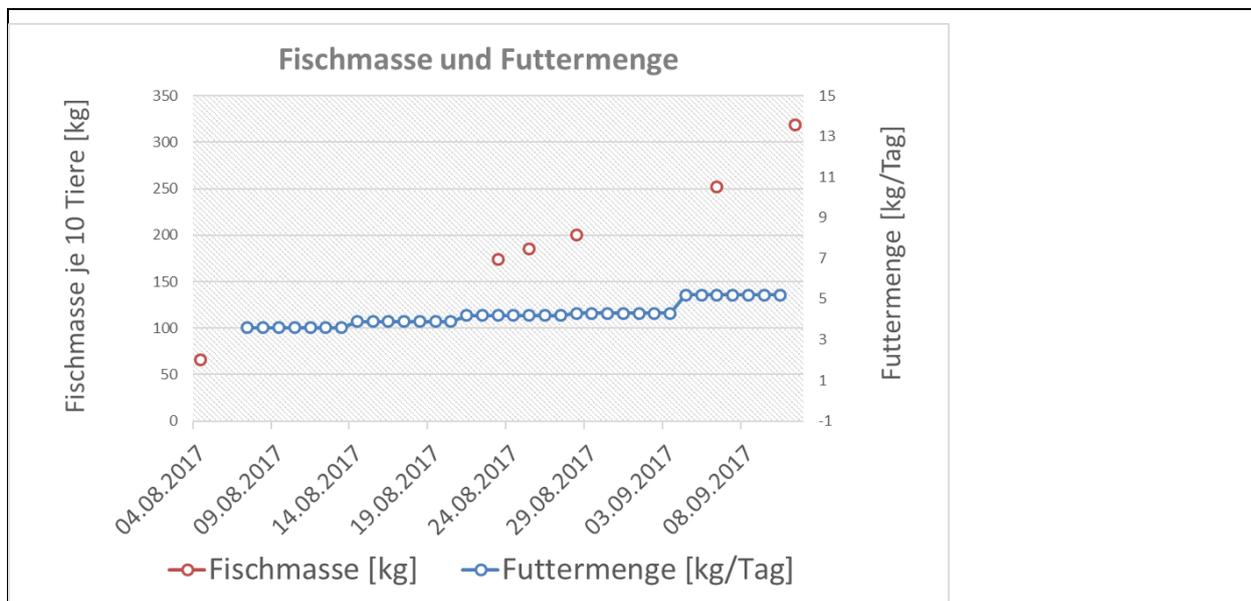
## 5.4 Beurteilung von Fischen und Wasser

### 5.4.1 Aquakultur-KLA Marjoß, Rhönforelle (RF)

Im Betrieb **Fischzucht Rhönforelle GmbH und Co. KG** wurden von April 2017 bis September 2017 Proben aus der KLA zur Aufzucht der Jungfische genommen. Hierbei wurden an drei Probenahme- Terminen Proben (je 8 Becken, Sedimentations- und UV-Becken) vom Wasser und in Zusammenarbeit mit der tierärztlichen Bestandsbetreuung des Betriebes (Landesbetrieb Hessisches Landeslabor, Fischgesundheitsdienst, Dr. Agnes Flamm) Tupferproben der Kiemen genommen. Alle Becken waren an den MDR angeschlossen, da in diesem Betrieb nur ein Kreislauf für den Versuch zur Verfügung stand. Der Tierbesatz bestand am ersten Probenahmetermin (18. April 2017 vor Betrieb des MDR) aus Tieren im Größenbereich 3 - 12 cm. Beim zweiten Probenahmetermin (27. Juli 2017, nach 19 Tagen Betrieb) waren die Tiere bereits 12 - 20 cm groß und am dritten Termin (13. September 2017, nach 67 Tagen Betriebsdauer des MDR) ca. 20 - 25 cm groß. Die Anzahl der besetzten Becken variierte zwischen 16 und 20.

#### 5.4.1.1 Untersuchungen zur Fischgesundheit und Stressbelastung im Betrieb RF

Der Gesundheitszustand der Fische wurde anhand des Verhaltens der Tiere, Haut und Flossenschäden durch Adspektion (optische Überprüfung) an den Zeitpunkten der Probenahme beurteilt. Die Futtermenge und die Fischmasse wurden vom Tierhalter selbst dokumentiert. Da sich jedoch ein Handling von sehr kleinen Tieren auf deren Gesundheitszustand auswirken würde, wurde die Fischmasse erst ab dem Zeitpunkt erfasst, ab dem die Tiere umgesetzt wurden. Die Zunahme von Fischmasse und der Anstieg der verabreichten Futtermenge sind für den Zeitraum von August und September 2017 in Abb. 59 dargestellt.



**Abb. 59: Fischmasse und Futtermenge im Betrieb Rhönforelle GmbH und Co. KG im Zeitraum August bis September 2017**

Die Fischgesundheit stellte sich an allen Probenahmezeitpunkten in den meisten Becken als sehr gut dar. Die Störe wiesen arttypisches Verhalten auf, es waren keine Verletzungen oder Flossenschäden zu erkennen. An den Probenahmezeitpunkten 1 (vor Betrieb des MDR) und 2 (nach 19 Tagen Betriebsdauer) wurden jedoch in Becken 17 Individuen mit blasser Hautfärbung, einige auch mit Dunkelfärbung und hochgradiger zentralnervöser Symptomatik beobachtet und es kam zu einem hochgradigen Verlustgeschehen. Die Untersuchungen der bestandsbetreuenden Tierärztin Frau Dr. Flamm (Landesbetrieb Hessisches Landeslabor) ergaben das Vorliegen einer Erkrankung, die nicht im Zusammenhang mit der Wasseraufbereitung stand.

Die Cortisolwerte im Wasser schwankten um 1 ng Cortisol/ 100 mL Wasser in allen Becken und zu allen Untersuchungszeitpunkten. Ein Einfluss des MDR auf die Cortisolgehalte im Wasser war nicht festzustellen. Lediglich im Becken 17 mit den erkrankten Stören wurde am ersten Probezeitpunkt ein höherer Cortisolspiegel gemessen. Am dritten Probezeitpunkt war der Cortisolspiegel auf das Niveau der anderen Fischbecken abgesunken (Abb. 60). Beim Probenahmezeitpunkt 3 (nach 67 Tagen Betriebsdauer des MDR) lagen die Werte etwas niedriger als zuvor. In Filter- und UV Becken blieben die Cortisol-Werte konstant um 1 ng/ 100 mL.



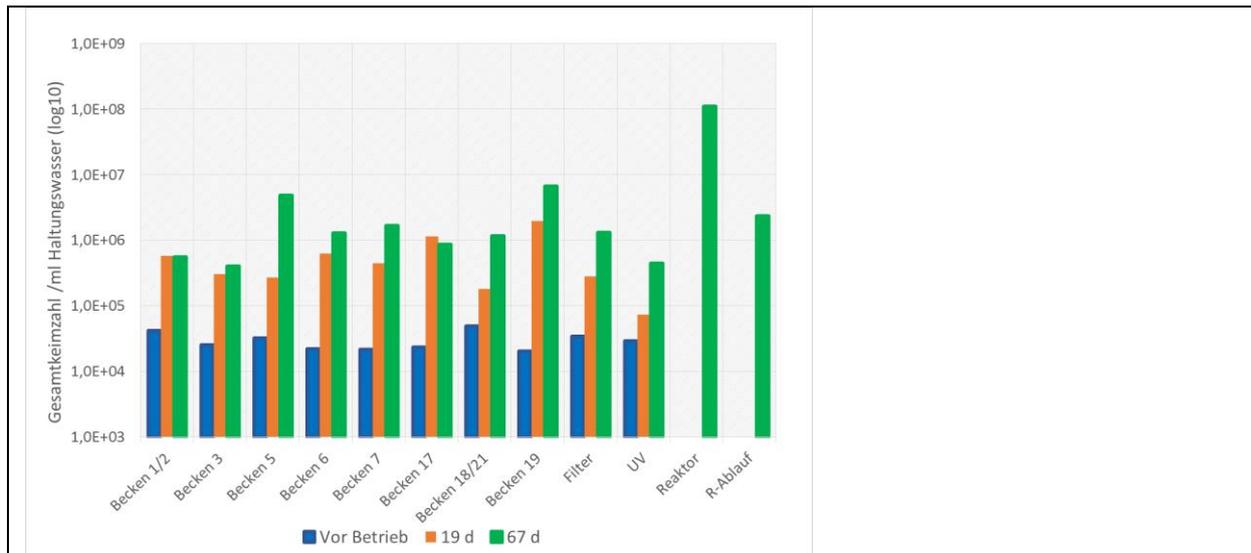
**Abb. 60: Cortisolgehalte in ng/100 mL im Haltungswasser der Anlage Rhönforelle GmbH und Co. KG (logarithmische Darstellung). „Vor MDR“: Vor Inbetriebnahme des MDR, „19 d Btr“, „67 d Btr“: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR.**

#### 5.4.1.2 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft im Betrieb RF

Die Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft konzentrierten sich auf die Analyse von Wasserproben und Kiementupfer. Die Analysen umfassten eine molekularbiologische Bestimmung der Gesamtkeimzahl im Haltungswasser und auf dem Kiemengewebe mittels Real Time PCR, sowie die Bestimmung des Anteils von für Fische fakultativ pathogenen Bakteriengruppen (*Vibrio* spp., *Flavobacterium* spp.) an der Gesamtkeimzahl.

##### 5.4.1.2.1 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in Wasserproben

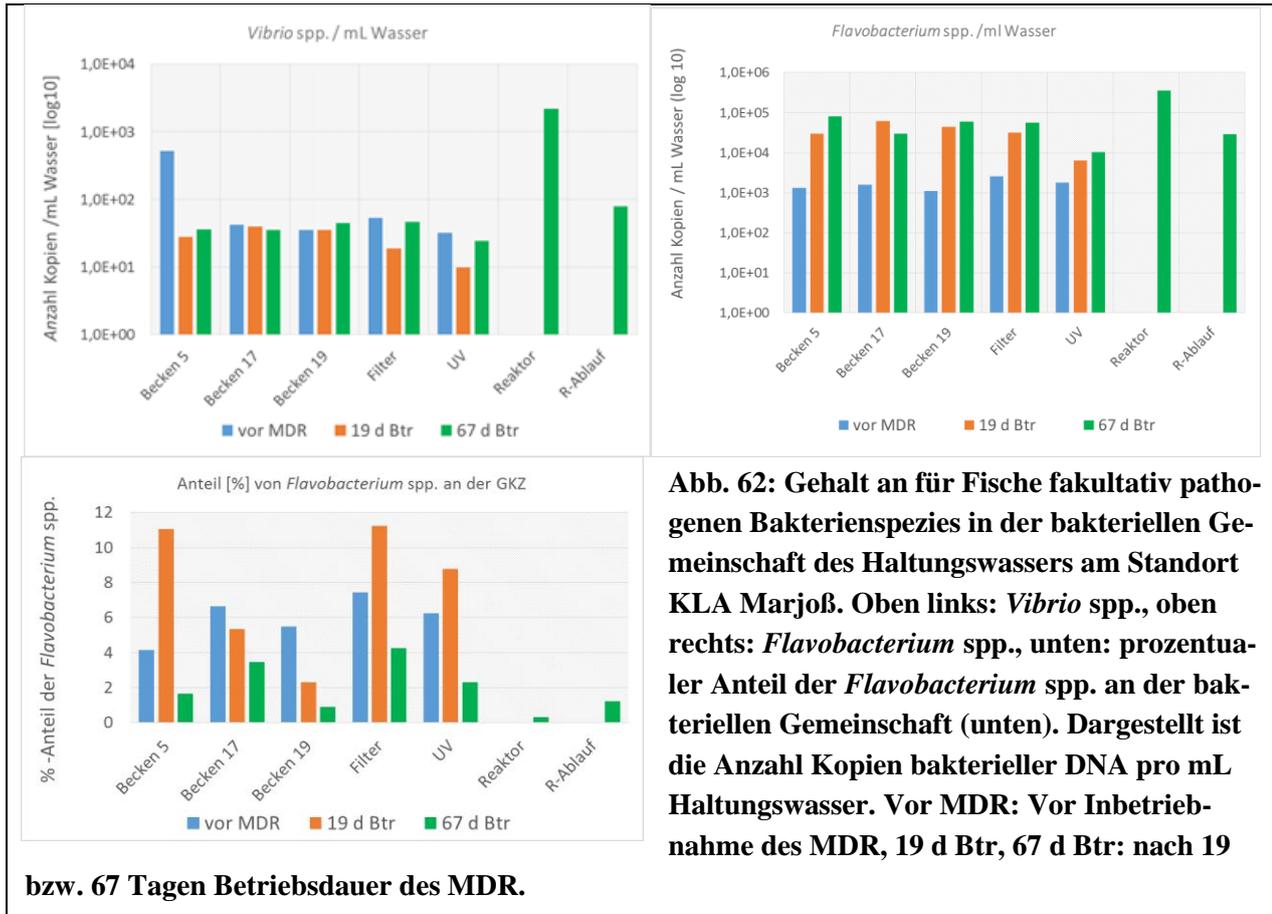
Die Analysen der Wasserproben ergaben einen deutlichen Anstieg der Gesamtkeimzahl im Wasser der Haltungsbecken von Probenahmezeitpunkt 1 (vor MDR) zu 3 (67 Tagen Betriebsdauer). Zu Beginn der Untersuchung, vor dem Betrieb des MDR, wurden in den Haltungsbecken und in den Filterbecken Bakteriengehalte von 10<sup>4</sup> bis 5 x 10<sup>4</sup> Kopien bakterieller DNA pro mL Haltungswasser bestimmt, in den Wasserproben nach 19 Tagen und 67 Tagen Betriebsdauer wurden dann Gehalte von 2 x 10<sup>5</sup> bis 1 x 10<sup>6</sup> Kopien bakterieller DNA gemessen. Die Gesamtkeimzahl war nach 67 Tagen Betriebsdauer besonders im Becken 5 und 19 erhöht. Insgesamt war in den Haltungsbecken und im Filter eine Korrelation zwischen der mit dem Wachstum der Tiere steigenden Fütterungsmenge und einer ansteigenden Gesamtkeimzahl im Wasser feststellbar (Abb. 61). Nach 67 Tagen Betriebsdauer wurde zudem die Gesamtkeimzahl im Wasser des MDR sowie im Ablaufwasser bestimmt. Im MDR kam es zu einer Anreicherung von Bakterien, während nach der Passage des MDR im Ablaufwasser eine Reduzierung der Bakterienzahl um nahezu 2 Zehnerpotenzen zu beobachten war (Abb. 61). Eine weitergehende Abreicherung der Bakterienzahl wurde nicht beobachtet. Dieses kann darauf beruhen, dass nach längerer Betriebsdauer die Leitungen aus dem Reaktorablauf bereits mit einem Biofilm besiedelt waren, der Bakterien in das Ablaufwasser abgibt, es könnte allerdings auch auf nicht erkannte weitere Eintragsquellen (Leckagen) beruhen.



**Abb. 61: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien (Gesamtkeimzahl) im Haltungswasser der Anlage Rhönforelle GmbH und Co. KG (logarithmische Darstellung). „Vor Betrieb“: Vor Inbetriebnahme des MDR, „19 d“, „67 d“: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR („Filter“ = im Biofilter; „UV“ = Becken mit UV-Lampe; „Reaktor“ = im MDR; „R-Ablauf“ = MDR-Ablauf)**

Neben dem Gesamtgehalt an Bakterien wurde der Gehalt an Bakterien aus den als fakultativ fischpathogen angesehenen Bakteriengattungen *Vibrio* und *Flavobacterium* im Wasser der Fischbecken und der Filterbecken mittels quantitativer PCR bestimmt. Dargestellt sind die Ergebnisse für die Haltungsbecken 5, 17 und 19, sowie für Filterbecken und den Wasserproben aus dem Reaktor. Bakterien der Gattung *Vibrio* spp. waren in den Haltungs- und Filterbecken an allen Probenzeitpunkten nur in geringer Kopienzahl von weniger als 47 Genomkopien feststellbar (Abb. 62). Einzig an der Probenahme vor Betrieb des MDR wurde in Becken 5 ein 10-fach höherer Wert von 520 Kopien ermittelt. Am dritten Probenahmezeitpunkt (nach 67 Tagen Betriebsdauer) wurden zusätzlich der MDR und dessen Auslauf beprobt. Wie bei der Gesamtkeimzahl beobachtet war im MDR selbst mit 2188 Genomkopien eine 50 bis 100-fach höhere Anzahl an *Vibrio* spp. feststellbar als in den Haltungsbecken. Dieser erhöhte Nachweis entsprach jedoch der höheren Gesamtkeimzahl, die im Reaktor ebenso 50 bis 100-fach höher lag als in den Haltungsbecken. Wie für die Gesamtkeimzahl beschrieben wurden im Ablauf des MDR eine um etwa eine Zehnerpotenz geringere Kopienzahl von Bakterien aus der Gattung *Vibrio* gefunden als im Wasser des MDR. Der Anteil der Bakterien aus der Gattung *Vibrio* spp. an der Gesamtkeimzahl lag in den meisten Proben unter 1% und in einigen Proben (z.B. Becken 5, 17 und 19 nach 67 Tagen Betrieb des MDR) sogar deutlich niedriger, bei unter 0,001%. Einzig in der Probe aus Becken 5 im April lag zum Zeitpunkt des erhöhten Nachweises von Vibrionen, der Anteil bei 1,62%. Die Tiere in diesem Becken zeigten jedoch keinerlei Krankheitsanzeichen.

DNA von Bakterien aus der Gattung *Flavobacterium* wurde vor Betrieb des MDR, als die Fischbecken mit Stören der Körpergröße 3-12 cm besetzt waren, in einer Konzentration von etwa 10<sup>3</sup> Kopien je mL im Wasser der Fischbecken und der Filterbecken gefunden, in den Proben nach 19 und 67 Tagen Betrieb des MDR wurden parallel mit dem Wachstum der Störe Gehalte an *Flavobacterium*-spezifischer DNA in Höhe von 10<sup>4</sup> bis 10<sup>5</sup> Kopien ermittelt (Abb. 62). Der Anteil an Bakterien aus der Gattung *Flavobacterium* spp. an der Gesamtkeimzahl lag zwischen 0,32 und 11,22 % in den untersuchten Wasserproben. Der höchste prozentuale Anteil wurde in Becken 5 nach 19 Tagen Betriebsdauer ermittelt, auch hier zeigten die Tiere keinerlei Krankheitsanzeichen. Im Becken 17, in dem zu den Probenzeitpunkten vor Betrieb des MDR und nach 19 Tagen Betriebsdauer ein Verlustgeschehen zu beobachten war, betrug der Anteil der Flavobakterien am Gesamtgehalt der Bakterien 6,6 bzw. 5,4% und lag damit nicht wesentlich über den Gehalten in den anderen Fischhaltungsbecken (Abb. 62)

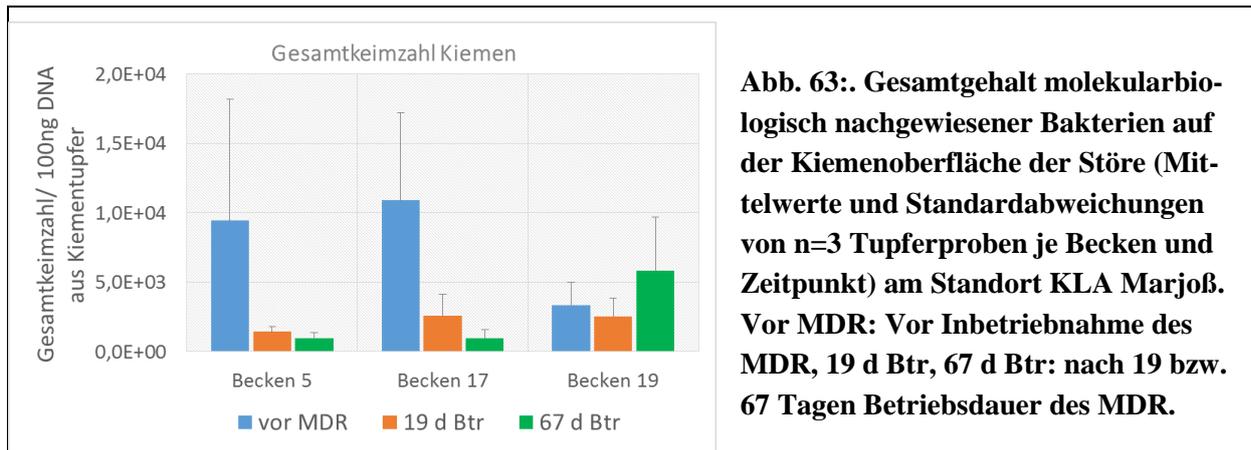


**Abb. 62: Gehalt an für Fische fakultativ pathogenen Bakterienspezies in der bakteriellen Gemeinschaft des Haltungswassers am Standort KLA Marjoß. Oben links: *Vibrio* spp., oben rechts: *Flavobacterium* spp., unten: prozentualer Anteil der *Flavobacterium* spp. an der bakteriellen Gemeinschaft (unten). Dargestellt ist die Anzahl Kopien bakterieller DNA pro mL Haltungswasser. Vor MDR: Vor Inbetriebnahme des MDR, 19 d Btr, 67 d Btr: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR.**

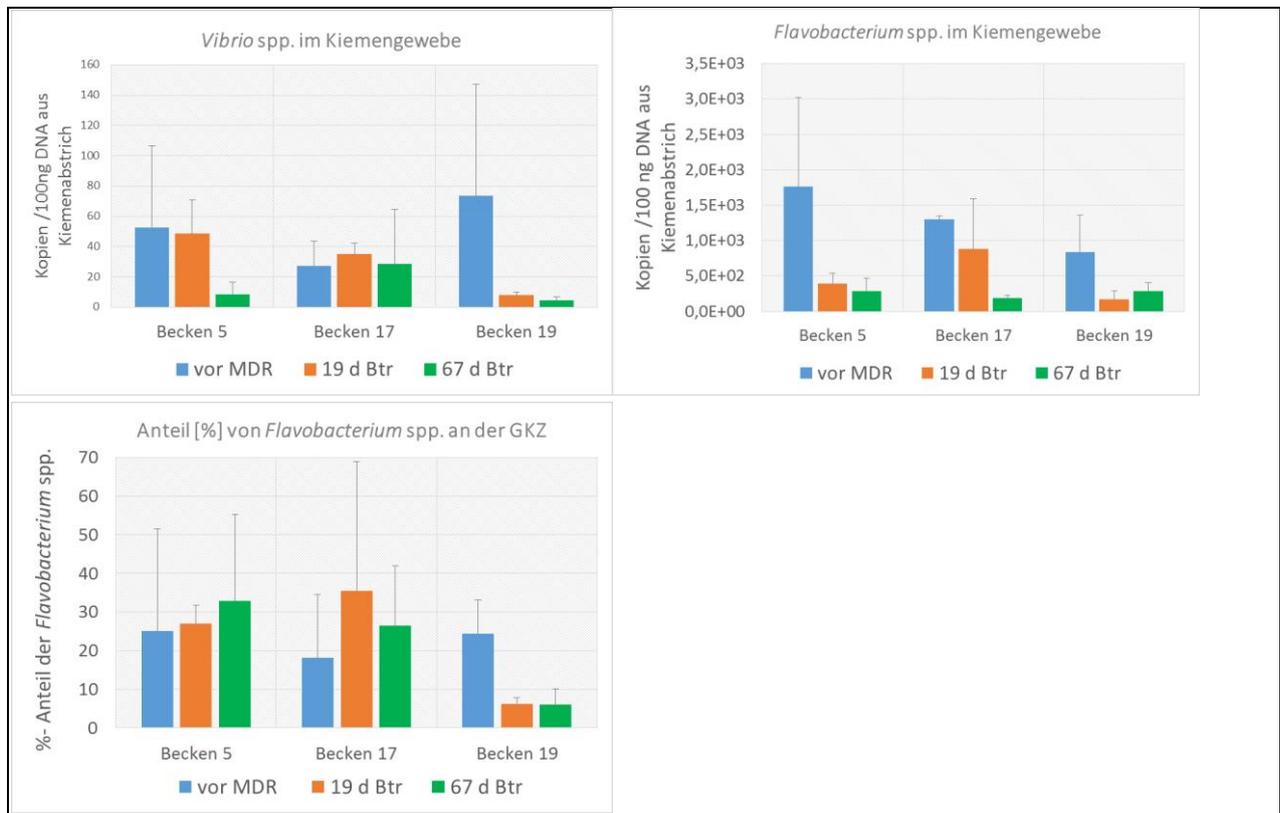
#### 5.4.1.2.2 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft auf der Kiemenoberfläche

Die Untersuchung der in Kooperation mit der tierärztlichen Bestandsbetreuung des Betriebes (Landesbetrieb Hessisches Landeslabor, Fischgesundheitsdienst, Dr. Agnes Flamm) genommenen Kiementupfer zeigt einen konstanten bis absinkenden Keimgehalt auf dem Kiemengewebe. Hierbei wurde die Anzahl an bakterieller DNA-Kopien pro 100ng DNA aus Kiemengewebe bestimmt, um das Verhältnis von Probenmaterial auf dem Tupfer zur Fischgröße miteinzubeziehen, da die Tiere im Verlauf des Versuches von ca. 3 bis ca. 25 cm gewachsen waren.

Die Analyse der Gesamtkeimzahlen im Kiemengewebe mittels Real Time PCR ergab ein Absinken der Bakteriengehalte über den Probenahmezeitraum (Abb. 63). Insbesondere bei Stören in Becken 5 und 17 wurden vor dem Betrieb des MDR Bakteriengehalte von ca.  $10^4$  Kopien/ 100 ng DNA gemessen. In Becken 17 waren zu diesem Zeitpunkt bereits Störe mit Krankheitssymptomen feststellbar, in Becken 5 hingegen nicht. In den Proben nach 19 und 67 Tagen Betriebsdauer wurden auf den Kiemen der Störe aus diesen Becken lediglich  $1,4 \times 10^3$  bzw.  $9,7 \times 10^2$  Kopien gefunden. Bei Stören aus dem Becken 19 stiegen die Keimzahlen nach 67 Tagen Betriebsdauer leicht an.



Der Gehalt an *Vibrio* spp. war auf der Kiemenoberfläche sehr niedrig (s. Abb. 64). Die ermittelten Werte lagen zwischen 0,71 und 158,15 Kopien je 100 ng DNA. Die höheren Werte wurden bei Einzeltieren aus Becken 5 und 19 am ersten Probenahmezeitpunkt vor Inbetriebnahme des MDR ermittelt, wobei die Tiere in diesen Becken keinerlei Krankheitsanzeichen zeigten.



**Abb. 64:** Gehalt molekularbiologisch nachgewiesener, für Fische fakultativ pathogener Bakterien-spezies aus den Gattungen *Vibrio* spp und *Flavobacterium* spp. (oben links: *Vibrio* spp., oben rechts: *Flavobacterium* spp.) bei Stören in verschiedenen Haltung Becken je 100 ng DNA aus Kiemenabstrichen (Mittelwerte und Standardabweichungen, n=3 Tupferproben je Becken und Zeitpunkt) und der Anteil an *Flavobacterium* spp. an Gesamtkeimzahl (unten). Vor MDR: Vor Inbetriebnahme des MDR, 19 d Btr, 67 d Btr: nach 19 bzw. 67 Tagen Betriebsdauer des MDR.

Für Flavobakterien spezifische DNA wurde auf den Kiemen der Störe in deutlich höherer Kopienzahl von  $10^2$  bis  $10^3$  Kopien pro 100 ng DNA gefunden. Der Anteil der *Flavobacterium* spp. an der Gesamtkeimzahl war somit sehr hoch. Der niedrigste Anteil konnte in Becken 19 in den Proben nach 19 und 67 Tagen Betriebsdauer des MDR festgestellt werden (6,04% bzw. 6,25% im Mittelwert). Der höchste prozentuale

Anteil wurde in Becken 17 in der Probe nach 19 Tagen Betriebsdauer (35,52%) festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt waren die Tiere in diesem Becken stark erkrankt. Die Erkrankung stand nach Auskunft der betreuenden Tierärztin nicht im Zusammenhang mit der Wasseraufbereitung (siehe Kap. 5.4.1.1, S. 59).

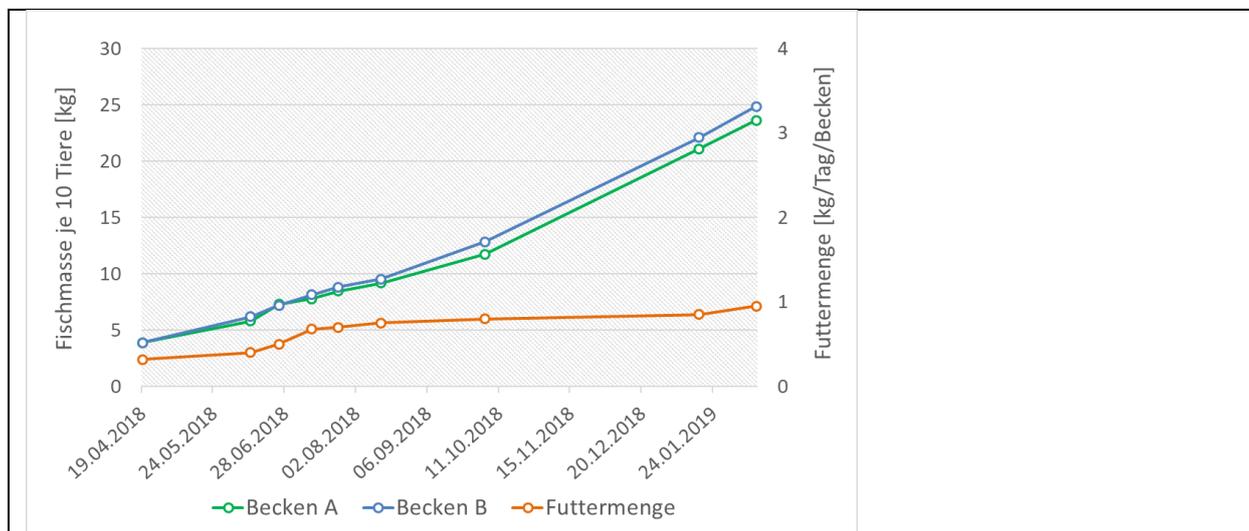
## 5.4.2 Aquakultur-KLA Göttingen, Aqua Schwarz (AS)

### 5.4.2.1 Untersuchungen zur Fischgesundheit im Betrieb AS

Zur Beurteilung der Fischgesundheit wurden Parameter zur Wasserqualität erfasst und zusätzlich von Mitarbeitern der Aqua Schwarz GmbH die Zuwachsraten der Störe und der Futteraufwand dokumentiert.

Zur Beurteilung der Wasserqualität wurden die Wasserparameter pH, Nitrat und Nitrit, Ammonium sowie der CSB als Indikator zur organischen Belastung des Haltungswassers bestimmt. Die Tiergesundheit wurde anhand des Verhaltens der Tiere und anderen Auffälligkeiten (Haut-, Kiemen-, Flossenschäden) beurteilt.

Insgesamt stellte sich die Fischgesundheit als gut dar. Die Tiere zeigten ein ungestörtes Schwimmverhalten, gute Zuwachsraten (s. Abb. 49, Abb. 50, Abb. 51, Abb. 65) und wiesen keine Hautläsionen oder Flossenschäden auf. Einzeltiere, die bereits zu Versuchsbeginn kleiner waren als die anderen Tiere der Gruppe, waren jedoch auffällig.



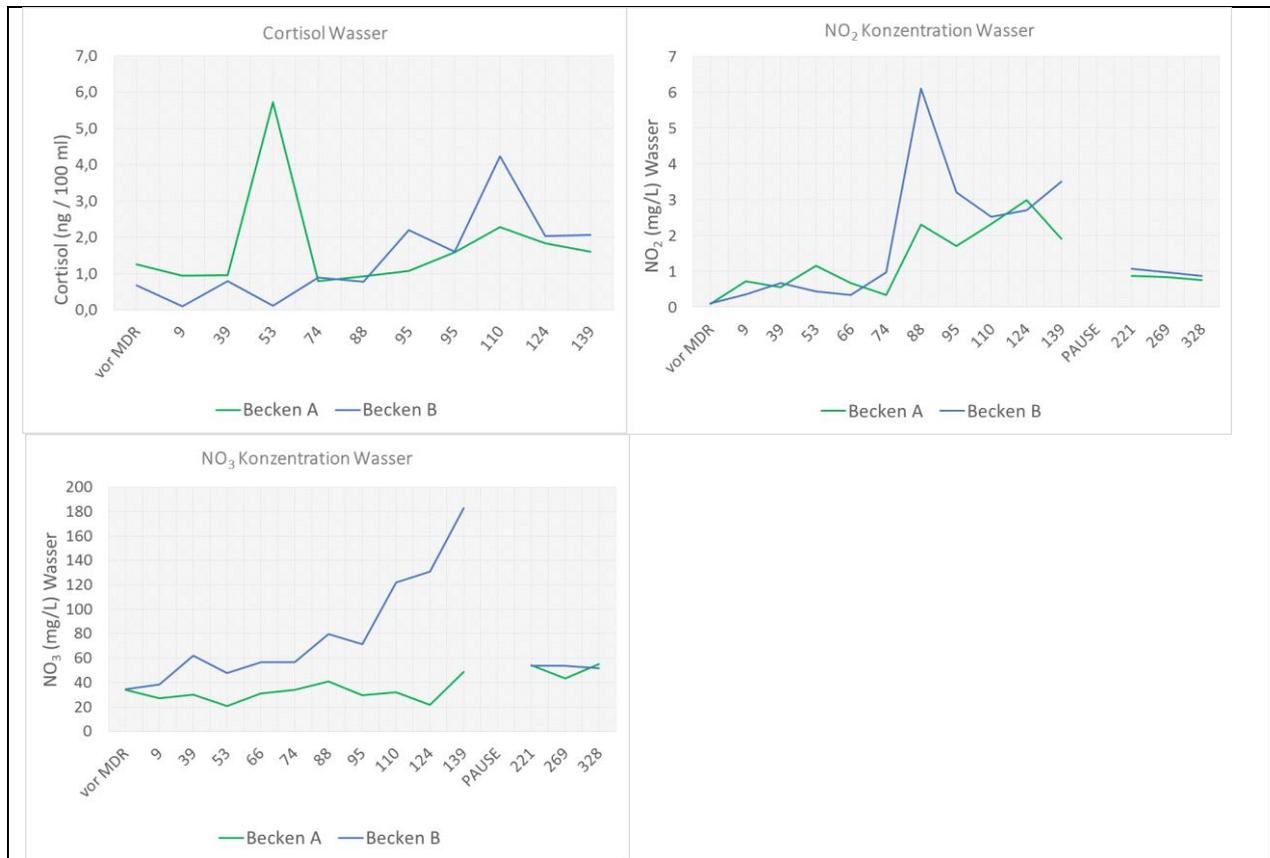
**Abb. 65: Fischmasse und Futtermenge im Betrieb Aqua Schwarz GmbH (Becken A mit MDR ab 23.04.2018, Becken B ohne MDR). Dokumentiert durch Mitarbeiter des Betriebs AS.**

Nach 88 Tagen Betriebsdauer des MDR wurden v.a. bei den Stören in Becken B (Kontrollbecken) eine verstärkte Atmung und geringgradig geschwollene Kiemen festgestellt, was durch erhöhte Nitritgehalte im Haltungswasser ab diesem Zeitpunkt erklärt werden kann (Abb. 66). In beiden Becken wurde anschließend jeweils ein zusätzlicher Biofilter (Nitrifikationsreaktor) installiert, um die Wasserqualität zu verbessern. Aufgrund der erhöhten Nitritwerte wurden die Störe ab diesem Zeitpunkt genauer beobachtet und die Anzahl der Störe zum Versuchsabschnitt 2 (ab 21.11.2018, 221 Tage nach erstem Betriebsstart des MDR) reduziert, um eine gute Wasserqualität zu gewährleisten.

Im gesamten Beobachtungszeitraum stiegen die Nitratwerte wie erwartet in Becken B (Kontrollbecken) an, wohingegen sie im MDR-Becken niedrig blieben (Abb. 66). Jedoch lagen die Nitratwerte zu keinem Zeitpunkt in einem für die Störe toxischen Bereich.

Ein weiterer Parameter mit dem das Tierwohl in den Kreisläufen beurteilt wurde, ist die Analyse der Cortisolgehalte im Haltungswasser. Diese waren insgesamt sehr niedrig mit Werten zwischen 0,1 und 5,7 ng Cortisol/100 mL Wasser, jedoch muss bedacht werden, dass zur Aufrechterhaltung einer guten Wasserqualität permanent eine geringe Wasseraustauschrate über die Versuchsdauer aufrechterhalten werden musste (Abb.

46). Der höhere Cortisol-Gehalt in der Probe nach 53 Tagen Betriebsdauer des MDR in Becken A war eventuell darauf zurück zu führen, dass die Sauerstoffkonzentration im Haltungswasser, bedingt durch eine nicht ausreichende Belüftung, mit 2,8 mg/L (entsprechend 30 % Sättigung) zu niedrig war. Das Problem wurde am nächsten Tag erkannt und daraufhin sofort behoben.



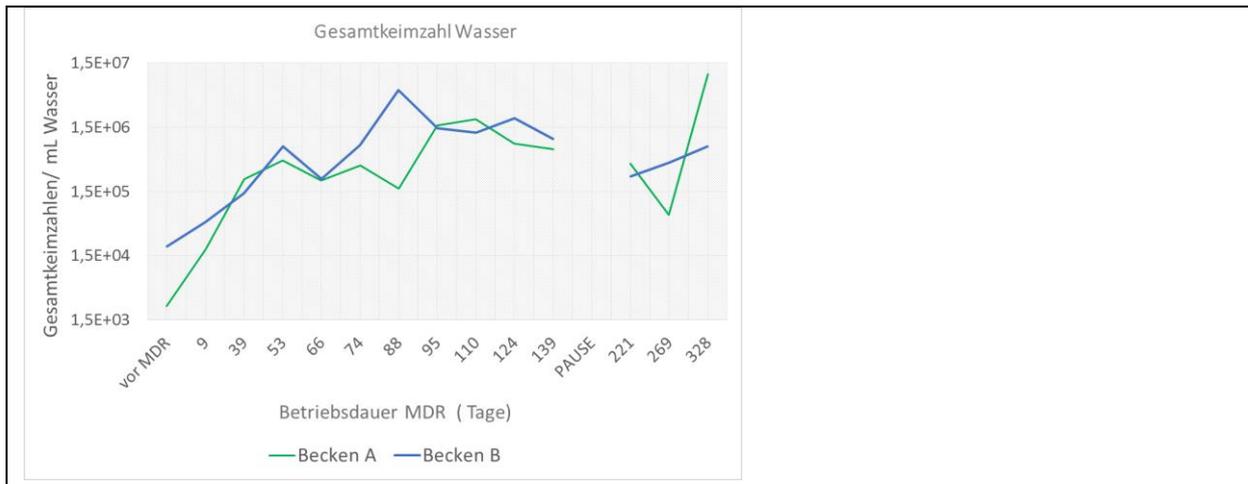
**Abb. 66: Wasserparameter zur Beurteilung der Fischgesundheit. Cortisol, Nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), und Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) im Haltungswasser im Betrieb AS einem (Cortisol) bzw. zwei (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) Versuchsabschnitte (Becken A mit MDR, Becken B ohne MDR. Angegeben sind Tage Betriebsdauer nach erstem Start des MDR)**

#### 5.4.2.2 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft im Betrieb AS

Die Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft konzentrierte sich auch in diesem Betrieb v.a. auf die Analyse der Wasserproben und Kiementupfer. Da die Biofilm-Proben aufgrund von Unterschieden in der Beckenhygiene (Auflagerungen von Algen) und unterschiedlichem Reinigungsmanagement der Haltungsbekken nur schwer zu vergleichen waren, wurden die Ergebnisse der Biofilmproben der Becken nicht dargestellt. Die Analysen umfassten die molekularbiologische Bestimmung der Gesamtkeimzahl mittels Real Time PCR in den Proben von Haltungswasser und des Kiemengewebes, sowie die Bestimmung des Anteils der für Fische fakultativ pathogenen Bakterien aus den Bakteriengruppen (*Vibrio* spp., *Flavobacterium* spp.) an der Gesamtkeimzahl.

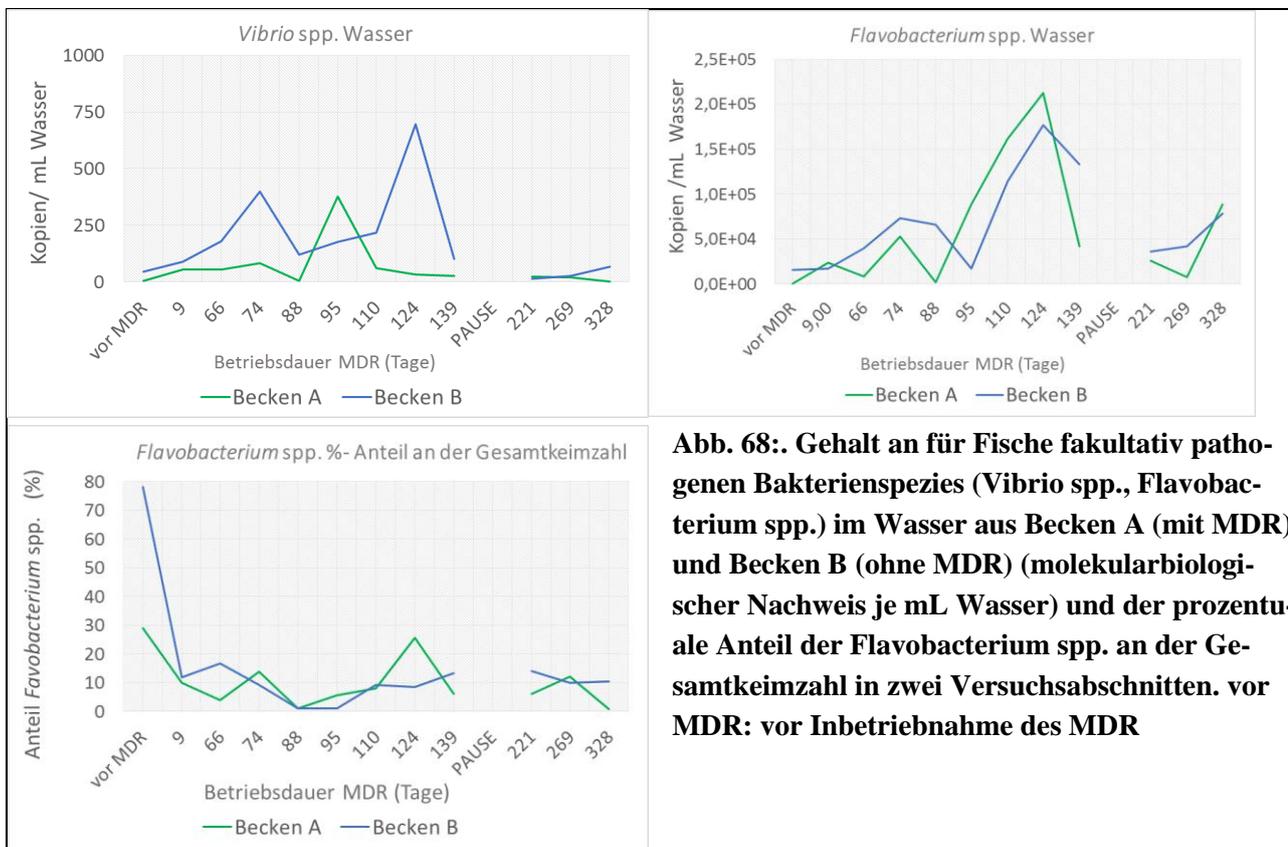
##### 5.4.2.2.1 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft in Haltungswasser

Die Analyse des Haltungswassers ergab einen Anstieg der Gesamtkeimzahl in beiden Becken zu Beginn des Versuches bis zu den Probenahmen nach 88 Tagen bzw. 110 Tagen nach Betriebsstart des MDR. Danach stabilisieren sich die Werte und sanken sogar zum Ende des ersten Versuchsabschnitts ab. Auch im zweiten Versuchsabschnitt ab 21.11.2018 sieht man einen Anstieg der Gesamtkeimzahl (Abb. 67).



**Abb. 67: Gesamtgehalt molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien im Haltungswasser der Anlage Aqua Schwarz GmbH (logarithmische Darstellung) (Becken A mit MDR, Becken B ohne MDR) in zwei Versuchsabschnitten. „vor MDR“: vor Inbetriebnahme des MDR.**

DNA von fakultativ fischpathogenen Bakterien der Gattung *Vibrio* war in den Wasserproben nur in geringer Kopienzahl zu finden. Im Kontrollbecken (Becken B) war die Kopienzahl geringgradig höher und schwankte stärker als im Becken A (mit MDR, s. Abb. 68). Die DNA –Kopienzahl von Flavobakterien war deutlich höher, v.a. gegen Ende des ersten Versuchsabschnitts stiegen die Gehalte deutlich an. Jedoch korrelierte dies mit den ermittelten Gesamtkeimzahlen, sodass der prozentuale Anteil an Flavobakterien an der Gesamtkeimzahl zwischen 0,9 und 28% lagen (Abb. 67).

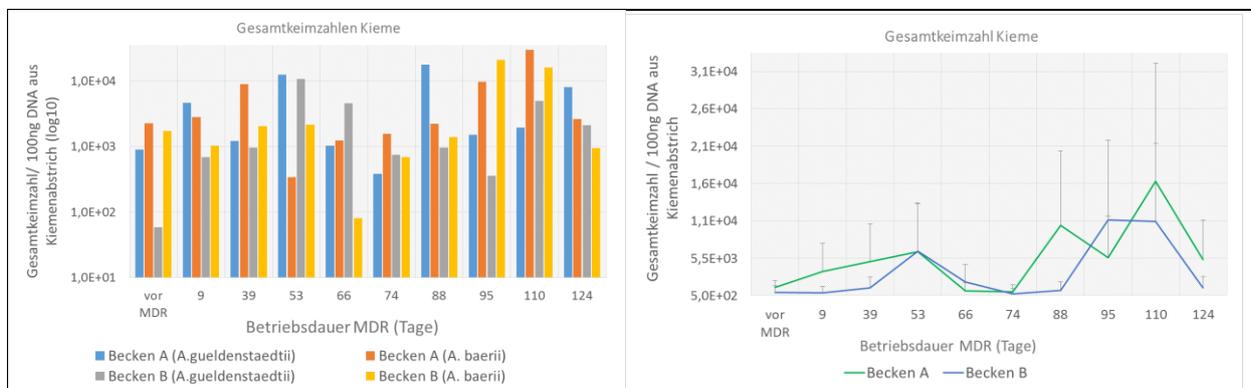


**Abb. 68: Gehalt an für Fische fakultativ pathogenen Bakterienspezies (*Vibrio* spp., *Flavobacterium* spp.) im Wasser aus Becken A (mit MDR) und Becken B (ohne MDR) (molekularbiologischer Nachweis je mL Wasser) und der prozentuale Anteil der *Flavobacterium* spp. an der Gesamtkeimzahl in zwei Versuchsabschnitten. vor MDR: vor Inbetriebnahme des MDR**

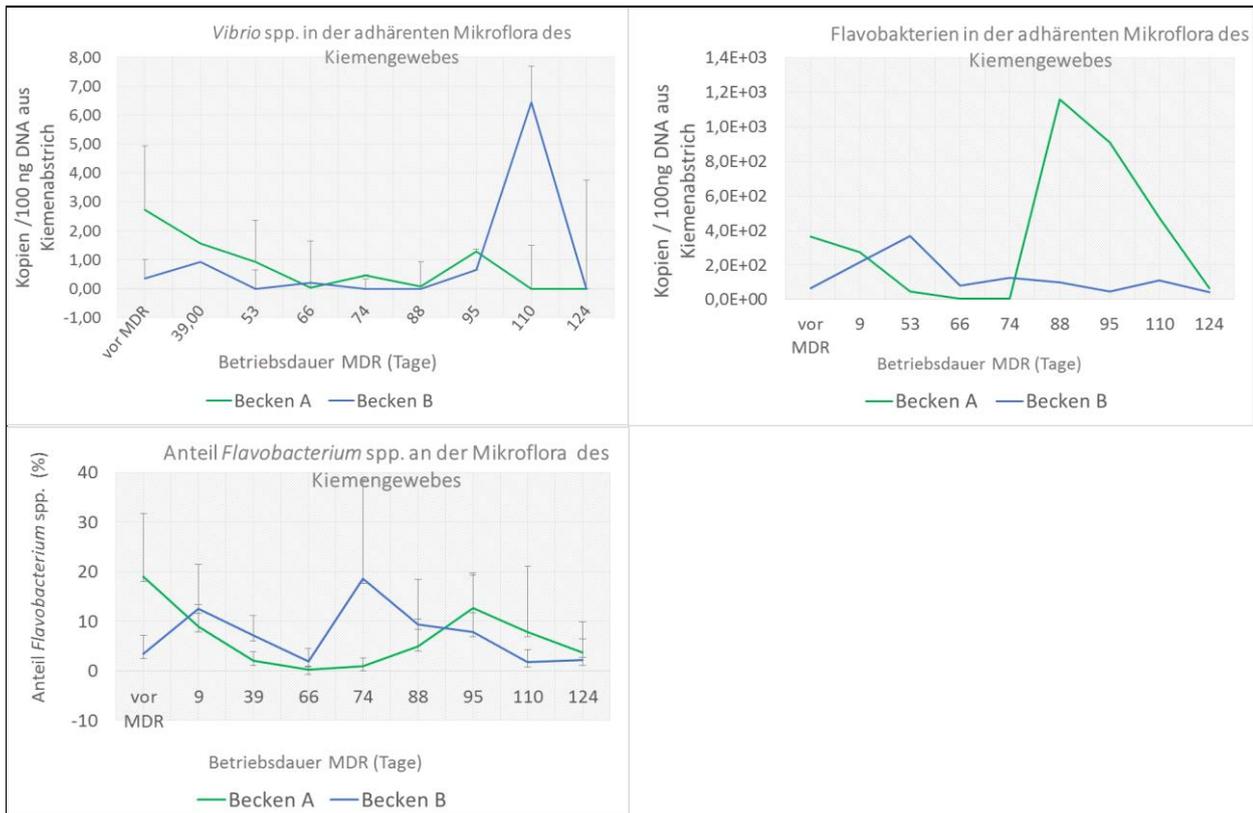
#### 5.4.2.2 Untersuchungen zur mikrobiellen Gemeinschaft auf der Kiemenoberfläche

Die Gesamtkeimzahl auf dem Kiemengewebe der Störe zeigte insgesamt einen Anstieg über den Versuchsabschnitt 1. Sie stieg von etwa  $5 \times 10^2$  Kopien bakterieller DNA pro 100 ng DNA im Kiemenabstrich vor Inbetriebnahme des MDR auf (1,1 bis 1,6)  $\times 10^4$  Kopien in der Probe nach 110 Tagen Betriebsdauer des MDR an. Im Zeitraum vom 66. Tag Betriebsdauer bis zum 88. Tag Betriebsdauer sanken die Werte von  $5,5 \times 10^3$  Kopien auf  $5 \times 10^2$  Kopien ab und gegen Ende des Versuches stiegen sie auf (1,1 bis 1,6)  $\times 10^4$  Kopien wieder an. Insgesamt war kein signifikanter Unterschied zwischen Becken A (mit MDR) und Becken B (ohne MDR) festzustellen (Abb. 69, links). Betrachtet man die verschiedenen Störarten separat (*Acipenser gueldenstaedtii* und *Acipenser baerii*) sieht man ebenfalls keine deutlichen Unterschiede. Einzeltiere hingegen unterscheiden sich deutlich im Keimgehalt der adhärennten Mikroflora auf den Kiemen, jedoch ohne einen Bezug zu Störart oder Becken mit oder ohne MDR erkennen zu lassen (Abb. 69, rechts).

Betrachtet man das Vorkommen der fakultativ pathogenen Bakterien aus den Gattungen *Vibrio* spp. und *Flavobacterium* spp., so konnten wiederum nur sehr geringe Kopienzahlen von *Vibrio* spp. ermittelt werden, wohingegen der Anteil an *Flavobacterium* spp. an der Gesamtkeimzahl bei Einzeltieren sogar bis 35 % betrug, insgesamt jedoch im Mittelwert zwischen Null und 20 % schwankte (Abb. 70).



**Abb. 69: Gesamtkeimzahl der bakteriellen Mikroflora auf den Kiemen von Stören in den Anlagen am Standort AS. Links: Mittelwerte und Standardabweichungen des Gesamtgehaltes molekularbiologisch nachgewiesener Bakterien auf der Kiemenoberfläche (n=4) von Stören**  
**Rechts: Gesamtgehalt nachgewiesener Bakterien auf der Kiemenoberfläche bei Stören aus den beiden Spezies (n=2). Logarithmische Darstellung der Keimzahl. Becken A mit MDR , Becken B ohne MDR. Vor MDR: vor Inbetriebnahme des MDR.**



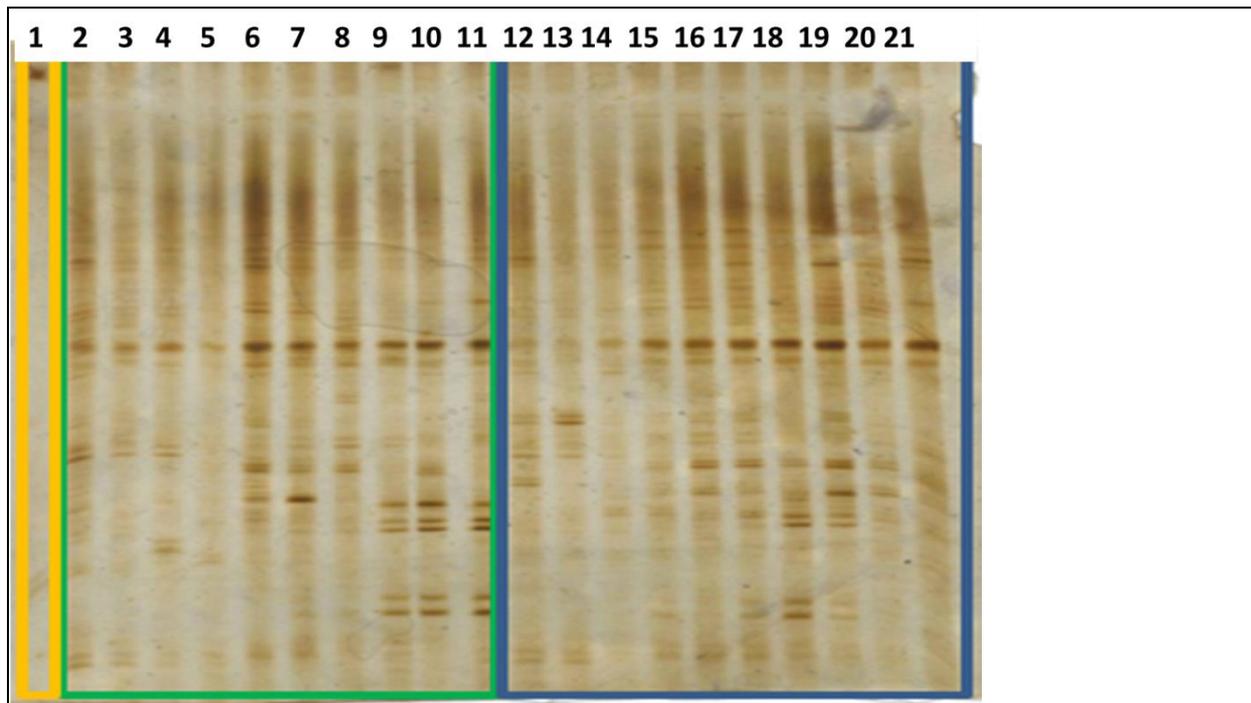
**Abb. 70: Fakultativ pathogene Bakterien der Gattungen *Vibrio* spp. und *Flavobacterium* spp. in der adhärenenten Mikroflora der Kiemen von Stören in den Anlagen am Standort AS. Mittelwerte und Standardabweichungen der molekularbiologisch nachgewiesenen *Vibrio* spp. (links oben) und *Flavobacterium* spp. je 100 ng DNA aus Kiemenabstrichen von Stören (oben) und prozentualer Anteil der *Flavobacterium* spp. an der Mikroflora (unten). Becken A mit MDR Becken B ohne MDR; n=4 Proben je Becken und Zeitpunkt.**

#### 5.4.2.3 DGGE- Analysen der bakteriellen Gemeinschaft im Betrieb AS

In der vorliegenden Studie wurde die bakterielle Gemeinschaft anhand ihres molekularen Fingerabdrucks analysiert.

Dazu wurde ein Fragment der Nukleotidsequenz des 16S rRNA codierenden Gens in der bakteriellen DNA, die aus den untersuchten Wasser und Kiemenproben extrahiert worden war, in einer Endpunkt-PCR amplifiziert. Da in den Proben DNA aus unterschiedlichen Bakterien enthalten war, enthielt die amplifizierte DNA Oligonucleotide mit der gleichen Anzahl Basenpaaren, aber mit unterschiedlicher Nucleotidsequenz. Aufgrund der Unterschiede in ihrer Sequenz unterschieden sich die Oligonucleotide im Gehalt der Basenpaare Guanin/ Cytosin und Adenin / Thymidin. Die komplementären Stränge der DNA werden über Wasserstoffbrücken zwischen Adenin (A) / Thymidin (T) (2 Wasserstoffbrücken) und Guanin (G) / Cytosin (C) (3 Wasserstoffbrücken) gepaart. Eine Denaturierung der DNA und ein Auseinanderweichen der komplementären Stränge erfolgt abhängig von der Anzahl G/C und A/T Paarungen bei unterschiedlich hoher Temperatur, oder im Fall der hier angewendeten Denaturierung mittels Harnstoff, bei unterschiedlich hoher Harnstoffkonzentration. In der denaturierenden Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE) wird die amplifizierte DNA auf ein Trägermaterial (Polyacrylamid-Gel) gegeben, in dem bei der DGGE Harnstoff in ansteigender Konzentration (in Richtung des positiven Pols) zugesetzt ist. An das Gel wird ein elektrisches Feld angelegt, in dem die Oligonucleotide entsprechend ihrer Molekülgröße vom negativen zum positiven Pol wandern. Da sie alle die gleiche Molekülgröße haben, erfolgt die Wanderung mit gleicher Geschwindigkeit. Allerdings erfolgt, abhängig von den Sequenzunterschieden zwischen den Oligonucleotiden, insbesondere abhängig von Unterschieden im A/T und G/C Gehalt, eine Denaturierung der DNA Doppelstränge im Gel bei einer

spezifischen Harnstoffkonzentration. Dabei verharren alle Nucleotide mit gleicher Sequenz an der Position im Gel, an der die Denaturierung erfolgt und die Oligonucleotide können dort als Bande sichtbar gemacht werden. Da die Banden von Oligonucleotiden mit gleicher Nucleotidsequenz gebildet werden, kann angenommen werden, dass die nach Elektrophorese sichtbaren Banden im DGGE-Gel von Bakterien einer Spezies oder eines Taxons gebildet werden. Anhand des Bandenmusters im DGGE-Gel lässt sich auf die Zusammensetzung der Gemeinschaft schließen. Die Anzahl der Banden kann als repräsentativ für die Anzahl unterschiedlicher Bakterientaxa in der Probe angesehen werden. Somit lässt sich auch die Diversität der Mikroflora in den untersuchten Proben anhand der Bandenanzahl auf den DGGE-Gelen beurteilen.

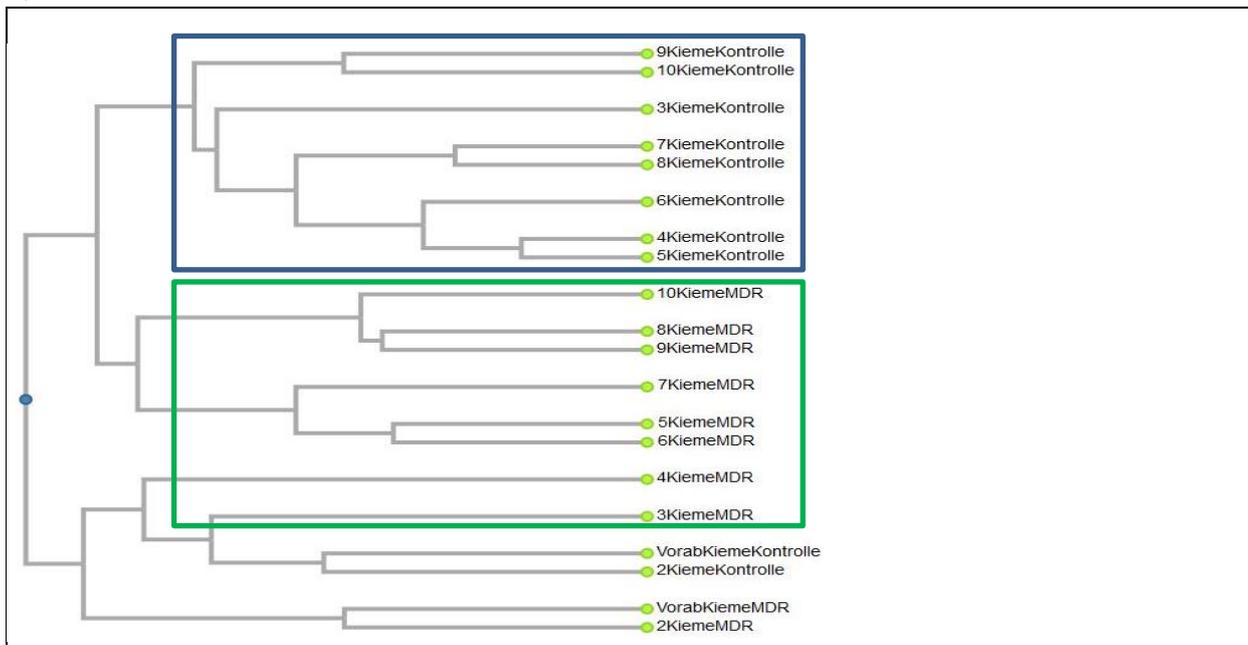


**Abb. 71: Analyse der bakteriellen Gemeinschaft mittels DGGE- Gelen. Dargestellt ist die Analyse der Kiemenproben von Stören aus dem Becken A (mit MDR, grün, Kieme), und dem Becken B (ohne MDR, blau, KiemeKontrolle) des Betriebes AS. Bezeichnung der Spuren: 1: Negativkontrolle (ohne DNA, gelb), Spuren 2-11: Becken A mit MDR, 2: vor Inbetriebnahme, 3: 9, 4: 39, 5: 66, 6: 74, 7: 88, 8: 95, 9: 110, 10: 124, 11: 139 Tage Betriebsdauer des MDR. Spuren 12-21: Becken B, ohne MDR. 12: vor Inbetriebnahme, 13: 9, 14: 39, 15: 66, 16: 74, 17: 88, 18: 95, 19: 110, 20: 124, 21: 139 Tage Betriebsdauer des MDR**

Um Veränderungen in der mikrobiellen Gemeinschaft im Laufe der Zeit oder durch den Betrieb des MDR festzustellen, werden nach Auftrennung der DNA im DGGE-Gel die für die jeweiligen Proben erhaltenen Bandenmuster mit dem Computerprogramm DendroUPGMA verglichen und es wird ein Dendrogramm erstellt. Dabei werden Proben mit einem vergleichbaren Bandenmuster in ein Cluster gruppiert, während Proben mit unterschiedlichem Bandenmuster in getrennten Clustern dargestellt werden.

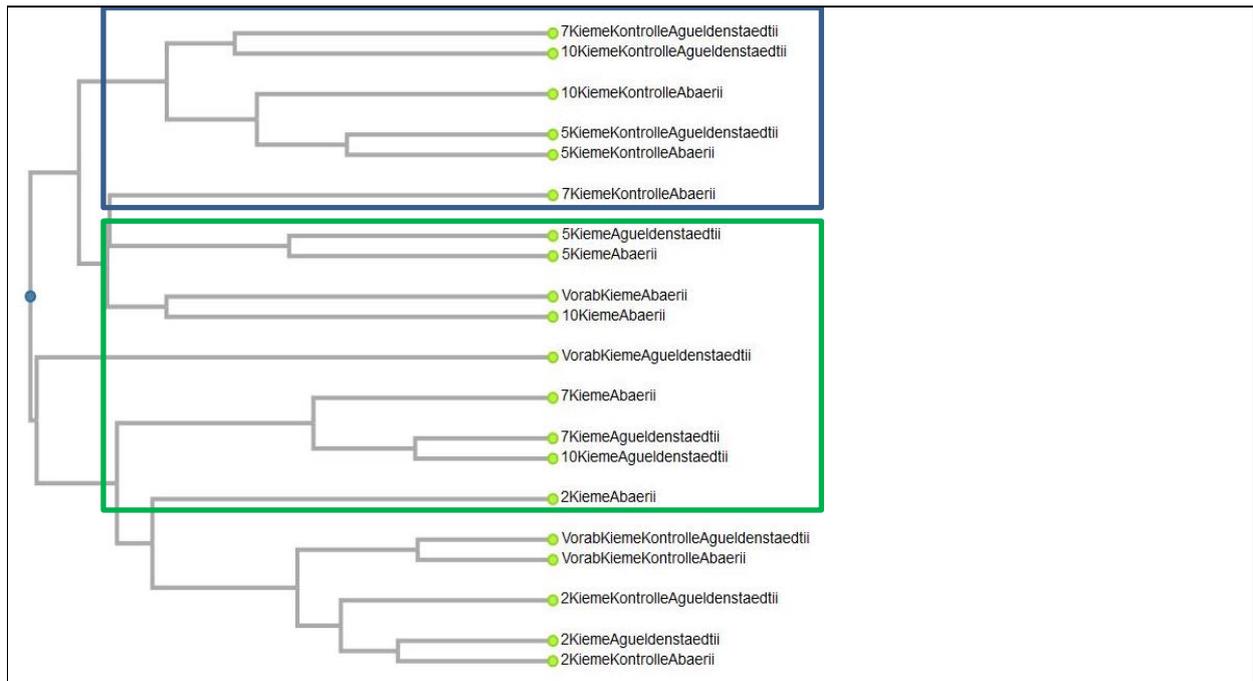
Die Untersuchung der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft mittels DGGE ergab deutliche Anpassungen der Mikroflora im Kiemengewebe der Tiere im Betrieb Aqua Schwarz GmbH (s. Abb. 71, Abb. 72). Wie in Abb. 72 ersichtlich, war vor Inbetriebnahme des MDR und nach 9 Tagen Betriebsdauer die Mikroflora des Kiemengewebes von Stören in beiden Kreisläufen sehr ähnlich. Das Bandenmuster der Proben auf den DGGE-Gelen war vergleichbar und somit bildeten die bakteriellen Gemeinschaften in der Clusteranalyse zwei im Dendrogramm benachbart angeordnete Zweige (Cluster). Dies lässt darauf schließen, dass die bakterielle Gemeinschaft an diesen Zeitpunkten auf den Kiemen der Fische aus beiden Anlagen aus vergleichbaren Komponenten gebildet wurde.

Ab Probenahme 3 am 39. Tag Betriebsdauer des MDR veränderte sich die Mikroflora auf dem Kiemengewebe und die bakteriellen Gemeinschaften von Stören aus Becken B (Kontrollbecken) und Becken A (MDR-Becken) wurden in der Clusteranalyse in getrennten Clustern gruppiert (Abb. 72). Dabei wies die bakterielle Gemeinschaft aus den Kiemenproben von Stören aus dem Kontrollkreislauf ein im Vergleich zu vor dem Reaktorstart deutlich stärker verändertes Bandenmuster auf als die Gemeinschaft aus dem Becken mit MDR. Die stärkere Veränderung der Gemeinschaft erfolgte in allen Proben aus Becken B in gleicher Weise, so dass die Proben aus dem Kontrollkreislauf (Becken B) einen eigenen Zweig im Dendrogramm bildeten. Die Clusteranalyse zeigte weiterhin, dass sich auch im Kreislauf mit MDR (Becken A) die bakterielle Gemeinschaft im Laufe der Betriebsdauer änderte. Nach 39 d und nach 66 d Betriebsdauer wiesen sie noch eine hohe Ähnlichkeit zur Zusammensetzung zu Beginn der Untersuchung auf, was dadurch deutlich wurde, dass sie im Dendrogramm auf dem gleichen Zweig mit den Kontrollproben gruppiert waren (Abb. 72). Zu den späteren Probenzeitpunkten hatte sich die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen der Fische aus dem Becken mit MDR stärker verändert, sie unterschied sich jedoch deutlich von der Gemeinschaft aus dem Kontrollkreislauf (Becken B). Daher wurden die Proben aus dem Kreislauf mit MDR (Becken A) auf einem separaten Zweig des Dendrogramms gruppiert. Diese Befunde lassen sich so interpretieren, dass im Becken mit MDR Veränderungen der bakteriellen Gemeinschaft langsamer erfolgten und weniger ausgeprägt waren, als im Becken ohne MDR. Dieses deutet auf eine generell höhere Stabilität des Systems mit MDR hin.

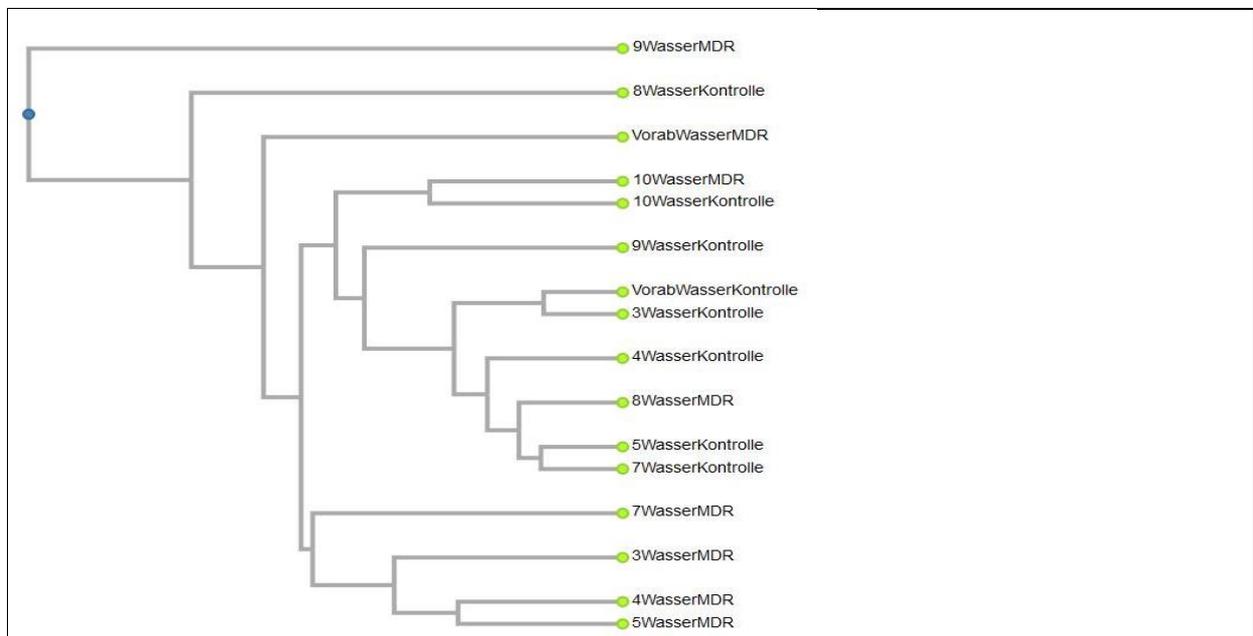


**Abb. 72: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen von Stören am Standort AS. Analysiert wurden Mischproben von DNA aus Kiemenabstrichen von n=4 Individuen beider Störarten aus der Anlage mit MDR (grün, Bezeichnung: KiemeMDR), und der Anlage ohne MDR (blau, Bezeichnung: KiemeKontrolle) Vorab: Probennahme vor Inbetriebnahme des MDR, 2: 9, 3: 39, 4: 66, 5:74, 6: 88, 7:95, 8: 110, 9: 124, 10:138 Tage Betriebsdauer des MDR. (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson)**

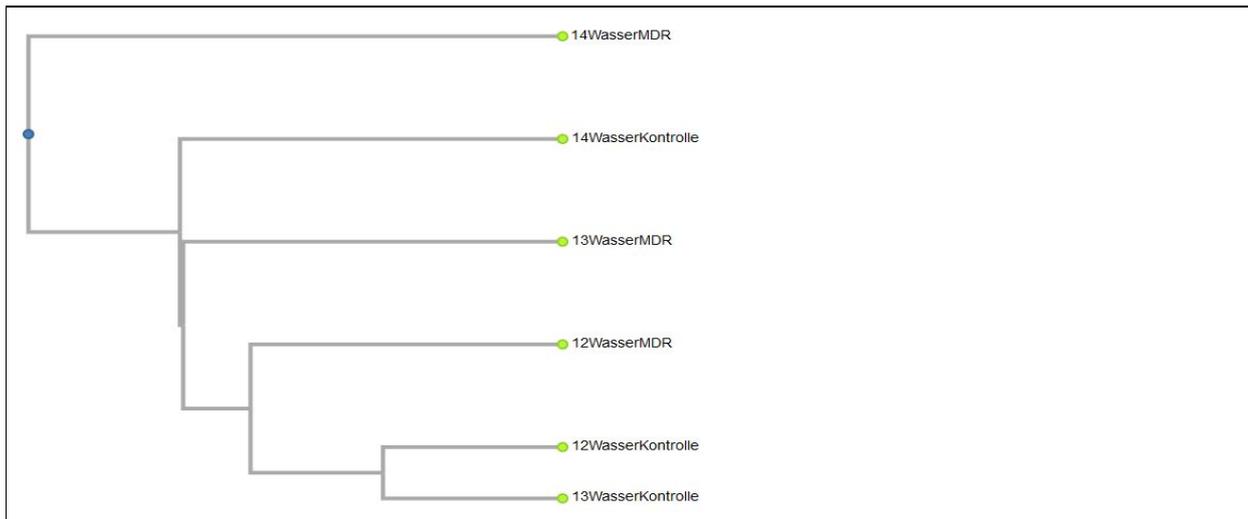
Auch wenn in der Analyse die Proben von den beiden Störarten getrennt untersucht werden (Abb. 73), kann diese Beobachtung gemacht werden. Auch dann bilden die bakteriellen Gemeinschaften auf den Kiemen der Störe aus beiden Spezies aus dem Kontrollbecken ohne MDR einen gemeinsamen Cluster im Dendrogramm. Dabei sind die bakteriellen Gemeinschaften von Stören aus der Anlage mit MDR in einem gemeinsamen Cluster sowie im Cluster mit der bakteriellen Gemeinschaft auf der Kieme von Stören vor Inbetriebnahme des MDR in benachbarten Clustern gruppiert. Die mikrobielle Gemeinschaft auf den Kiemen der beiden Störarten wies dagegen keine artspezifischen Unterschiede auf (Abb. 69).



**Abb. 73: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen von Stören am Standort AS.** Analysiert wurden jeweils Mischproben von DNA aus Kiemenabstrichen von *Acipenser baeri* (n=2) und *Acipenser güldenstaedtii* (n=2 Individuen) aus der Anlage mit MDR (grün, Bezeichnung: KiemeAbaerii bzw. KiemeAgueldenstaedtii), und der Anlage ohne MDR (blau, Bezeichnung: KiemeKontrolleAbaerii bzw. KiemeKontrolleAgueldenstaedtii) Vorab: Probennahme vor Inbetriebnahme des MDR, 2: 9, 5:74, 7:95, 8: 110, 10:138 Tage Betriebsdauer des MDR. (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson)



**Abb. 74: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser von Stören am Standort AS.** Analysiert wurde DNA extrahiert aus 100 mL Haltungswasser aus der Anlage mit MDR (Bezeichnung: WasserMDR), und der Anlage ohne MDR (Bezeichnung: WasserKontrolle) Vorab: Probennahme vor Inbetriebnahme des MDR, 2: 9, 3: 39, 4: 66, 5:74, 6: 88, 7:95, 8: 110, 9: 124, 10:138 Tage Betriebsdauer des MDR. (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson)



**Abb. 75: Cluster-Analyse der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser von Stören am Standort AS nach Reinigung der Membran des MDR. Analysiert wurde DNA extrahiert aus 100 mL Haltungswasser aus der Anlage mit MDR (Bezeichnung: WasserMDR), und der Anlage ohne MDR (Bezeichnung: WasserKontrolle), 12: Probe vom 221. Tag nach erstem Betriebsstart des MDR (vor Beginn den zweiten Betriebsstarts), 13: 269 Tage nach erstem Betriebsstart, 14: 328 Tage nach erstem Betriebsstart des MDR, (Analyse des Bandenmusters der DGGE-Gele mittels DendroUPGMA, Korrelationskoeffizient nach Pearson)**

Auch die Analysen der Wasserproben zeigten ein anderes Bild. Hier gab es wenige Unterschiede zwischen den mikrobiellen Gemeinschaften in den Becken mit und ohne MDR, sodass sich im Dendrogramm keine Auftrennung der Gemeinschaften nach Anlagen mit oder ohne MDR ergaben (**Abb. 74**). Auch im zweiten Versuchsabschnitt mit drei Probenahmen sind keine Unterschiede zwischen den Becken erkennbar (**Abb. 75**).

#### **Diversität der bakteriellen Gemeinschaft**

Wie oben beschrieben kann Anzahl der Banden nach Auftrennung der DNA einer Bakterienprobe mittels DGGE als repräsentativ für die Anzahl der unterschiedlichen Bakterientaxa in der Probe angesehen werden. Somit lässt sich auch die Diversität der Mikroflora in den untersuchten Proben anhand der Bandenanzahl auf den DGGE-Gelen beurteilen.

Hierbei ergaben sich bei der Analyse der bakteriellen Gemeinschaft auf dem Kiemengewebe deutliche Unterschiede zwischen den zwei Störarten in den jeweils untersuchten Becken und zwischen den Becken mit und ohne MDR. Wurden hingegen für die Analyse Kiementupfer von beiden Störarten aus einem Becken zusammengeführt, ergab sich für Becken A mit MDR eine Bandenanzahl von im Mittel 17,8 und für Becken B ohne MDR von im Mittel 20,9. Wurde für die Analyse DNA aus Kiementupfern (ab Probenahme 2, 9 Tage nach Reaktorstart) aller untersuchten Störe je Becken (jeweils 4 Störe) gemischt, stellte sich das Mischen von mehr als 2 Proben als problematisch heraus, da einige der Proben nur wenige Banden auf dem Gel aufwiesen. Betrachtet man die Störarten getrennt voneinander (somit nur 2 Tiere je Mischprobe) erhält man für *A. gueldenstaedtii* in Becken A (mit MDR) im Mittel 25,8 Banden (Taxa), in Becken B (Kontrolle ohne MDR) im Mittel 19,3 Banden. Für *A. baerii* ergab sich in Becken A ein Wert von 22,3 Banden und in Becken B von 20,8 Banden im Mittelwert (Tab. 17).

**Tab. 17: Analyse der Komponenten der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen von Stören in Anlagen am Standort AS. Mittelwerte der Anzahl bakterieller Taxa als Banden auf dem Gel nach DGGE-Analyse von DNA aus Kiementupfer von Stören der Störarten *A. gueldenstaedtii* und *A. baerii* in Becken A (MDR) und Becken B (Kontrolle). (Angabe sind Mittelwerte von jeweils 5 Proben).**

	<b>Störart</b>	<b>Banden</b>
Becken A	<i>A. gueldenstaedtii</i>	25,8
	<i>A. baerii</i>	22,3
Becken B	<i>A. gueldenstaedtii</i>	19,3
	<i>A. baerii</i>	20,8

Bei der Analyse der bakteriellen Gemeinschaft in den Wasserproben, die im Zeitraum von 9 Tagen bis 138 Tagen Betriebsdauer des MDR genommen wurden, ergaben sich nur geringe Unterschiede zwischen den Becken mit MDR (Becken A) und ohne MDR (Becken B, Tab. 18).

**Tab. 18: Analyse der Komponenten der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser von Stören in den Anlagen am Standort AS. Mittelwerte der Anzahl bakterieller Taxa als Banden auf dem Gel nach DGGE-Analyse von DNA aus 100 mL Haltungswasser aus den Becken A (MDR) und Becken B (Kontrolle). (Angabe sind Mittelwerte von jeweils 10 Proben im Durchgang 1 und von 3 Proben im Durchgang 2)**

	<b>Banden Durchgang 1</b>	<b>Banden Durchgang 2</b>
Becken A	19,1	21
Becken B	18,6	20,5

In Becken A (mit MDR- Reaktor) war die Anzahl Taxa der bakteriellen Gemeinschaft (Bandenanzahl) und somit die Diversität der bakteriellen Gemeinschaft sowohl in den Kiemenproben als auch in den Wasserproben in beiden Durchgängen etwas höher. Diese Befunde zeigen, dass die bakterielle Gemeinschaft im Haltungswasser und auf den Kiemen der Störe durch den Betrieb des MDR beeinflusst wird. Eine höhere Anzahl Taxa im Becken mit MDR zeigt an, dass die bakterielle Gemeinschaft in diesen Becken weniger Schwankungen von Umweltparametern und der Nährstoffversorgung ausgesetzt ist als im Becken ohne MDR und sich stabiler entwickeln konnte. Gemeinschaften, die häufigen Schwankungen ausgesetzt sind, werden hingegen von wenigen Taxa dominiert, die über ein hohes Vermehrungspotential verfügen. In solchen Gemeinschaften können sich leichter pathogene Organismen durchsetzen.

Die Unterschiede zwischen den Becken sind relativ gering, was vermutlich auf den regelmäßigen Wasser- austausch in beiden Anlagen zurückzuführen ist. Bei einem stabilen Betrieb des Beckens mit MDR sollten sich die bakteriellen Gemeinschaften in den beiden Becken mit und ohne MDR deutlicher unterscheiden und die stabilisierende Wirkung des MDR deutlicher hervortreten.



## 6 Fazit

### 6.1 Vergleich der Ergebnisse mit den ursprünglichen Zielen

Das wichtigste Ziel dieses Projektes war es, die Praxistauglichkeit des Konzeptes zu prüfen. Dazu sollte der „Membran-Deni-Reaktor“ (MDR) in zwei kommerziellen Fisch-Kreislaufanlagen getestet werden.

Die Ergebnisse dieser ausführlichen Tests zeigen, dass dieses Ziel erreicht wurde. Der MDR ist prinzipiell auch in der Praxis dazu geeignet, Nitrat und Mikro-Partikel aus dem Kreislaufwasser zu entfernen.

Die Erkundung der Leistungsfähigkeit des Reaktors unter Praxisbedingungen wurde mit Labor- und Online-Messungen durchgeführt. Im Wesentlichen bestätigten sich die Ergebnisse der Versuche in der Labor-Aquakulturanlage in Phase 2. Die Rezirkulation der offenporigen Schaumstoff Trägermaterialien (OST) funktionierte fast immer zufriedenstellend. Die Dosierung der Kohlenstoffquelle ließ sich gut einstellen.

Ein weiteres Ziel war es, mit wachsender Erfahrung technische Verbesserungen am Reaktor vorzunehmen. Während der Projektlaufzeit zeigten sich Alterungs-/Abnutzungserscheinungen an den eingesetzten Materialien, wie Dichtungen, Kugelhähnen, etc., die negative Auswirkungen auf die Druckdichtigkeit hatten. So wurde z.B. durch einen neuen Deckel die Druckdichtigkeit verbessert und gewährleistet. Solche Bauteile sollten in der Praxis durch beständigere Teile ersetzt oder, falls erforderlich, mit festen Wartungs-Intervallen vorsorglich ausgetauscht werden.

Als zusätzliche Aufgabe sollte in diesem Versuchsabschnitt versucht werden, die Energiekosten des MDR durch strömungstechnische Verbesserungen und zeitweises Abschalten der Rezirkulationspumpen zu senken. Als Problem stellte sich die schneller abnehmende Durchlässigkeit der Membranen im Vergleich zu den Versuchen im Vorgänger-Projekt heraus, vermutlich, weil mehr organisches Material aus den Becken in den Reaktor gelangte und so das Biofilmwachstum erhöhte. Die Ursache hierfür war wahrscheinlich der zunehmende Futterumsatz aufgrund steigender Größe der Versuchstiere. Aus diesen Erkenntnissen heraus ist bei einem Folgeprojekt eine regelmäßige Wartung und Reinigung der Biofilter zu gewährleisten. Die Reinigungsintervalle der Biofilter müssen mit fortschreitender Projektlaufzeit verkürzt werden um dem steigenden Anfall von organischem Material gerecht zu werden. Aus den genannten Gründen mussten die Rezirkulationspumpen daher teilweise dauerhaft laufen. Eine dem MDR vorgeschaltete Entnahme der Grobpartikel kann hier Abhilfe schaffen und damit die Stromkosten senken. In einem Folgeprojekt können diese Erkenntnisse berücksichtigt werden und in die Versuchsaufbau-Planung einfließen.

Der Frischwasserbedarf konnte durch den Einsatz des MDR, im Gegensatz zu den Vorversuchen, hier nicht gesenkt werden. In der Anlage in Marjoß war der Einfluss des Reaktors im Vergleich zur Gesamt-Wassermenge zu gering, denn es konnte hier nur max. ca. 0,25 % des gesamten Wasservolumens je Stunde behandelt werden. In der KLA Göttingen führte die unzureichende Kapazität der dort vorhandenen Nitrifikations-Reaktoren sowie die fehlende Feststoffentnahme zu einem erhöhten Frischwasserbedarf bei beiden Anlagen. Durch die Berücksichtigung der vorgenannten gewonnenen Erkenntnisse soll dies in einem Folgeprojekt weiter untersucht und optimiert werden. Eine Senkung des Frischwasserbedarfs durch den Einsatz eines MDR kann durch Optimierungen im Versuchsaufbau realisiert werden, wie bereits in den Vorprojekten gezeigt.

Zur Prüfung der Auswirkungen des neuen Reaktors auf die Fischgesundheit waren klinische und mikrobiologische Untersuchungen der Fische und des Haltungswassers vorgesehen und wurden entsprechend durchgeführt. Die klinischen Untersuchungen der Fische zeigten, dass durch den Betrieb des Reaktors keine Beeinträchtigung der Fischgesundheit verursacht wurde. Als Folge eines nur geringen Wasseraustausches in Kreislaufanlagen wird oftmals befürchtet, dass es zu einer Anreicherung von für Fische schädlichen Wasserinhaltsstoffen und von fischpathogenen Bakterien kommen kann, wodurch das Tierwohl und die Gesundheit der Fische in den Anlagen beeinträchtigt werden (Schreier et al. 2010).

Neben dem Erfassen der Cortisol-Konzentrationen im Wasser als Stressindikator wurden an beiden Standorten insbesondere mögliche Veränderungen der bakteriellen Gemeinschaft durch geringere Wasseraustausch-raten, die durch den Betrieb des MDR notwendig wurden, untersucht. Am Standort Marjoß stand leider keine Referenzanlage ohne MDR zur Verfügung und der Einfluss des Reaktors auf den insgesamt sehr großen Wasserkörper im Kreislauf war zu gering, um hier einen Effekt auf die bakterielle Gemeinschaft im Wasser und auf den Kiemen der Störe erkennen zu können.

Am Standort Göttingen musste aufgrund der begrenzten Kapazität der dort bereits vorhandenen Nitrifi-kations-Reaktoren, als essentielle Bestandteile der Wasseraufbereitungsanlage, auch im Becken mit MDR konti-nuierlich Wasser ausgetauscht werden. Allerdings zeigte sich z. B. an der niedrigeren Nitratkonzentration im Wasser des Beckens mit MDR ein stabilisierender Effekt des Reaktors. Dieser Effekt war auch in der bakte-riellen Gemeinschaft erkennbar: sie bestand im Becken mit MDR aus einer höheren Anzahl von Kompo-nenten, sowohl im Wasser als auch auf den Kiemen der Störe. Dieser Effekt war in der bakteriellen Gemeinschaft auf den Kiemen deutlicher erkennbar als im Wasser. Gemeinschaften, die aus einer höheren Anzahl von Kompo-nenten bestehen, werden als stabiler angesehen. Es kommt in solchen Gemeinschaften seltener zu einer Ver-mehrung von für Fische pathogenen Bakterien. Als mögliche Fischpathogene wurde an beiden Standorten die Abundanz von Bakterien aus den Gattungen *Vibrio* und *Flavobacterium* untersucht. Hierbei konnten keine Unterschiede zwischen den Becken mit und ohne MDR beobachtet werden. Dieses Ergebnis zeigt, dass es in den Becken mit MDR nicht zu einer Anreicherung von möglichen Fischpathogenen kam, die eine Gefahr für die Fischgesundheit darstellen könnten. Somit kann anhand der vorliegenden Daten geschlossen werden, dass durch den Betrieb des MDR die Fischgesundheit und das Fischwohl nicht beeinträchtigt wird. Aufgrund der oben genannten Limitierungen (zu geringes Volumen des MDR am Standort Marjoß, zu geringe Kapazität des Nitrifizierungsreaktors am Standort Göttingen) lässt sich diesmal nicht darstellen, ob die Effekte des Reaktors auf die bakterielle Gemeinschaft einen positiven Effekt auf die Fischgesundheit und das Fischwohl ausübten, ein negativer Effekt liegt nicht vor.

## 6.2 Weiterführende Fragestellungen

Wichtige Aufgaben bei der technischen Umsetzung des Verfahrens werden sein:

- Die Konstruktion des Reaktors sollte verbessert werden, um die Abhängigkeit der Funktion von der Druckdichtigkeit des Reaktors zu vermindern. Hierzu müsste auch ein geeignetes Reaktormaterial ge-funden werden, das die Anforderungen an die Stabilität erfüllt und die Beobachtung der Strömungen im Reaktor zulässt. Eventuell kann das mit weiteren Verstärkungen erreicht werden.
- Durch Veränderungen an der Geometrie des MDR kann die Strömungsdynamik im Reaktor im Zusammenspiel mit den Schaumstoffwürfeln bzw. Trägermaterialien optimiert werden, um Wirbel und Totzonen zu vermeiden.
- Eine Umgestaltung der Messstrecken sollte die Problematik der schwankenden Zulaufströme durch Verstopfungen der Messstrecken lösen.
- Angestrebtes Ziel dabei ist, dass dauerhaft ein möglichst unbeaufsichtigter Betrieb möglich ist. Dazu sollte die Komplexität des Verfahrens verringert werden.
- Um die Funktionstüchtigkeit der Komponenten des MDR zu bewahren, sollten Handbuch und Kurzanleitung mit Wartungs- und Prüf-Intervall-Planung erstellt werden. Dies soll dem Anwender das Verständnis der Anlage erleichtern und ihm Möglichkeiten zum Eingreifen an die Hand zu geben.
- Dadurch, dass organische Partikel aus den Fischbecken als zusätzliche C-Quelle dienen können, muss das Konzept der Dosierung der C-Quelle überarbeitet werden, um anaerobe Bedingungen im Reaktor zu vermeiden. Hierbei könnte auch die Messung des Redoxpotenzials eine Rolle spielen.
- Eine aerobe Nachreinigungsstufe (z.B. ein Belüftungsbecken) für den Ablauf des MDR erscheint nicht nur aus diesem Grund wichtig, sondern sollte auch generell im Anschluss an eine Denitrifikationsein-heit aus Sicherheitsgründen immer angebracht werden. Anaerobe Bedingungen können immer dann

auftreten, wenn z.B. eine Zulaufpumpe außer Betrieb genommen wurde oder defekt ist, oder wenn eine unbeabsichtigte Überdosierung der C-Quelle auftritt.

- Erarbeitung eines vereinfachten, schnellen Summenparameters zur Beurteilung des Tierwohls und der Fischgesundheit in der Praxis. Dabei sollten in der Fischzucht leicht zu erhebende Parameter, wie Futteraufnahme und Schwimmverhalten, Flossenbild, Auftreten von Hautschäden von mit im Labor zu analysierenden Parametern, wie Cortisol und ausgewählte mikrobiologische und wasserchemische Parameter in einem gewichteten Modell verrechnet werden.

### **6.3 Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung**

Die Ergebnisse der Versuche zeigen, dass die Projektidee technisch umsetzbar ist und sehr vielversprechende Ansätze bietet. Allerdings bleiben noch einige Fragen offen, wie in Kap. 6.2 beschrieben. Hierzu besteht weiterer Forschungsbedarf.

Ein großer Bedarf für eine solche Denitrifikationseinheit besteht auch in der Meerwasser-Aquakultur. Hier könnten sich neue Anwendungsfelder ergeben.

Für einen zukünftigen Betrieb unter realen Bedingungen muss eine Reduzierung des Wartungsaufwands (Personalkosten) und ein stabiler Betrieb mit konstanten Bedingungen gewährleistet werden, der ein manuelles Eingreifen nur selten erforderlich macht.

Für die Beurteilung des Tierwohls sollte eine Kombination von einfach zu erhebenden „operationellen Tierwohl-Indikatoren (OTI)“ mit Parametern, deren Erhebung Laboruntersuchungen erfordern, entwickelt werden. Als OTIs könnten in der Fischzucht Parameter, wie Mortalität, Futterumsetzung, Verhalten sowie Haut- und Flossenschäden erhoben werden, die dann - mit Messwerten von Wasseranalysen, Cortisolspiegel und mikrobiologischen Parametern ergänzt - in einem gewichteten Modell verrechnet werden könnten.



## 7 Literatur und Software

- Adamek, Mikołaj; Syakuri, Hamdan; Harris, Sarah; Rakus, Krzysztof Ł.; Brogden, Graham; Matras, Marek et al. (2013): Cyprinid herpesvirus 3 infection disrupts the skin barrier of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Veterinary microbiology*, 162 2-4, S. 456–470.
- Boley, A.; Boley, G. (2000-2019): MultimesSoftware zur Datenerfassung und Regelung.
- Boley, A.; Jung-Schroers, V.; Richter, S.; Steinhagen, D.; Adamek, M.; Korshun, G. (2014): Entwicklung einer umwelt- und fischgesundheitsfreundlichen Technologie zur Verringerung der Stickstoff- und Mikropartikelfracht in Aquakultur-Kreislaufanlagen – Phase 2 –Abschlussbericht AZ 28092. Herausgegeben von DBU.
- Boley, A.; Korshun, G.; Boley, S.; Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Steinhagen, D.; Richter, S. (2017a): A new reactor for denitrification and micro-particle removal in recirculated aquaculture systems. *Water Science & Technology*, 75 (5), S. 1204–1210.
- Boley, A.; Weishaupt, K.; Müller, W.-R.; Richter, S. (2017b): Combination of nitrate and particle removal in a Membrane-Denitrification Reactor (MDR) for Recirculating Aquaculture Systems. In: *Aquaculture Europe 17. International Conference & Exposition*, S. 389.
- DIN 38404 Teil 6 1984 Bestimmung der Redox-Spannung (C6).
- DIN 38409 Teil 6 1986 Härte eines Wassers (H 6).
- DIN 38409 Teil 7 2005 Bestimmung der Säure- und Basekapazität (H 7).
- Ebert, V.; Kosiolek, E.; Behr, M. (2017): Perspektiven für die deutsche Aquakultur im internationalen Wettbewerb Abschlussbericht. Online verfügbar unter [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwjgnvv5p-TjAhUD3aQKHZ2GAmYQFjAAegQIABAC&url=https%3A%2F%2Fwww.ble.de%2FSharedDocs%2FDownloads%2FDE%2FProjektfoerderung%2FInnovationen%2FPerspektivstudieAquakultur-lang.pdf%3F\\_\\_blob%3DpublicationFile%26v%3D2&usg=AOvVaw12Xm6y8NSMQiXabwXMuLtQ](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwjgnvv5p-TjAhUD3aQKHZ2GAmYQFjAAegQIABAC&url=https%3A%2F%2Fwww.ble.de%2FSharedDocs%2FDownloads%2FDE%2FProjektfoerderung%2FInnovationen%2FPerspektivstudieAquakultur-lang.pdf%3F__blob%3DpublicationFile%26v%3D2&usg=AOvVaw12Xm6y8NSMQiXabwXMuLtQ), zuletzt geprüft am 02.08.2019.
- FAO (2018): The State of World Fisheries and Aquaculture. Online verfügbar unter [www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture](http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture), zuletzt geprüft am 02.08.2019.
- Garcia-Vallvé, S.; Palau, J.; Romeu, A. (1999): Horizontal gene transfer in glycosyl hydrolases inferred from codon usage in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Molecular biology and evolution*, 16 (9), S. 1125–1134.
- Garcia-Vallvé, S.; Puigbo, P. (2002): DendroUPGMAA dendrogram construction utility. Universitat Rovira i Virgili (URV). Tarragona, Spain. Online verfügbar unter <http://genomes.urv.cat/UPGMA/>.
- HACH (2001): Working procedure LCK362 Acid capacity KS 4.3 / Calcium carbonate CaCO<sub>3</sub> AD\_362. Online verfügbar unter <https://de.hach.com/saurekapazitat-ks-sub-4-3-sub-kuvetten-test-0-5-8-0-mmol-l/product-downloads?id=26370284961>, zuletzt geprüft am 18.06.2019.
- Hamon, Michel; Fustec, Elaine (1991): Laboratory and field study of an in situ groundwater denitrification reactor. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, S. 942–949.
- Jung-Schroers, V.; Adamek, M.; Boley, A.; Bauer, J.; Teitge, F.; Hack, F.; Steinhagen, D. (2018): Influence of a nanofiltration-Reactor on the bacterial microflora and on *Ichthyophthirius multifiliis* the-ronts in recirculating aquaculture systems. In: *American Fisheries Society (Hg.): 8th International Symposium on Aquatic Animal Health (ISA AH 2018)*, S. 389. Online verfügbar unter <https://isaah2018.com/final-program-abstracts/>, zuletzt geprüft am 02.08.2019.
- Jung-Schroers, Verena; Adamek, Mikołaj; Boley, Angela; Korshun, Anna; Steinhagen, Dieter (2019): Influence of a membrane-denitrification reactor on the microbial community of an aquaculture recirculation system. *Journal of fish diseases*, 42 (1), S. 141–146.
- LAWA (2003): Hinweise zur Verringerung der Belastung der Gewässer durch die Fischhaltung Beschlossen auf der 61. ACK am 19./20. November 2003 unter TOP 17.
- Lee, P.G; Lea, R.N; Dohmann, E.; Prebilsky, W.; Turk, P.E; Ying, H.; Whitson, J.L (2000): Denitrification in aquaculture systems: an example of a fuzzy logic control problem. *Aquacultural Engineering*, 23 1-3, S. 37–59.
- Muyzer, Gerard; De Waal, Ellen C; Uitterlinden, Andre G. (1993): Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and environmental microbiology*, 59 (3), S. 695–700.
- NASTAQ (2014): Nationaler Strategieplan Aquakultur für Deutschland. Online verfügbar unter <https://www.portal-fischerei.de/bund/aquakultur/strategieplan-aquakultur/>, zuletzt geprüft am 21.05.2019.

- Rasband, W. (1997-2015): ImageJ -Java image processing program, public domain. Online verfügbar unter <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- Rheinheimer, G.; Hegemann, W.; Raff, J.; Sekoulov, I. (1988): Stickstoffkreislauf im Wasser. In: Rheinheimer, Gerhard (Hg.): Stickstoffkreislauf im Wasser: Stickstoffumsetzungen in natürlichen Gewässern, in der Abwasserreinigung und Wasserversorgung: Oldenbourg .
- Roenefahrt, Klausdieter W., (1992/1992): Nitratentfernung aus dem Trinkwasser: expert verlag.
- Schindelin, Johannes; Rueden, Curtis T.; Hiner, Mark C.; Eliceiri, Kevin W. (2015): The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular reproduction and development*, 82 7-8, S. 518–529.
- Schreckenbach, Kurt (2002): Einfluss von Umwelt und Ernährung bei der Aufzucht und beim Besatz von Fischen. *VDSF-Schriftenreihe Fischerei & Naturschutz*, 4, S. 55–73.
- Schreier, Harold J.; Mirzoyan, Natella; Saito, Keiko (2010): Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems. *Current opinion in biotechnology*, 21 (3), S. 318–325.
- Steinbach, Peter, (2018/2018): Die Fischproduktion in Kreislaufanlagen Erfahrungen und Empfehlungen. Kitzbühel, Österreich: AquaTech Publications.
- Steinum, Terje; Sjøstad, Knut; Falk, Knut; Kvellestad, Agnar; Colquhoun, D. J. (2009): An RT-PCR-DGGE survey of gill-associated bacteria in Norwegian seawater-reared Atlantic salmon suffering proliferative gill inflammation. *Aquaculture*, 293 3-4, S. 172–179.