

1

Mikrobiologische Grundzüge in der Bioverfahrenstechnik

Eine Einführung in die Bioverfahrenstechnik ohne Bezugnahme zur Mikrobiologie und zur Biochemie ist undenkbar. Obwohl die biologische Verfahrenstechnik auf den Prinzipien der allgemeinen Verfahrenstechnik und gleichzeitig auf der damit verbundenen Tradition der Siedlungswasserwirtschaft, d. h. auf deren ungeheuren Mengen an empirischem Datenmaterial und Beobachtungen aufbaut, sind es doch gerade die aus dem Verständnis für die Mikrobiologie sowie aus dem Zusammenwirken von Biologie und Verfahrenstechnik abgeleiteten Besonderheiten, die das Gebiet der Bioverfahrenstechnik so anspruchsvoll, aber auch so interessant machen. Um biologische Verfahrenstechnik betreiben zu können, ist ein grundlegendes Verständnis der spezifischen mikrobiologischen und biochemischen Faktoren und Anforderungen notwendig, welches diesen neu entstandenen Zweig „Bioverfahrenstechnik“ prägt und ihn von der chemischen oder mechanischen Verfahrenstechnik unterscheidet. Es wäre an dieser Stelle verfehlt, all diese Aspekte umfassend zu behandeln. Dafür gibt es Monographien aus berufener Feder, wie u. a. [3–5]. Vielmehr werden hier zweckgerichtet jene mikrobiologischen Aspekte angesprochen, die für die später behandelten verfahrenstechnischen Zusammenhänge relevant sind. Der Biochemiker oder der Mikrobiologe möge diesen Abschnitt überspringen; der angehende Siedlungswasserbauer oder Verfahrenstechniker sowie auch der Entwicklungsingenieur und der Apparatebauer, welcher zum ersten Mal mit technischer Biologie konfrontiert wird, mag darin Erläuterungen finden, welche seinen Aufgaben dienlich sein können.

1.1

Form und Gestalt der Mikroorganismen in Ökosystemen und in der industriellen Biotechnologie

Aus der Sicht der Mikrobiologen lassen sich hierzu folgende Aspekte nennen, die für den Bioverfahrenstechniker von Bedeutung sein können: Form und Gestalt der Mikroorganismen, der Stoffwechsel und die Energetik mikrobieller Stoffumwandlungsprozesse, Bakterienwachstum und die Regulation biologischer Vorgänge [3]. So lassen sich die Mikroorganismen aufgrund ihrer Zellstruktur in zwei abgrenzbare Gruppen unterteilen. Die erste Gruppe umfasst höher, d. h. stärker differenzierte Mikroorganismen, die Eukaryoten, deren Zellorganisation

derjenigen der Tiere und Pflanzen gleicht. Hierzu gehören Algen, Pilze und Protozoen. Die zweite Gruppe wird von den niederen Mikroorganismen, den Prokaryoten, gebildet; zu diesen gehören die Bakterien, denen aufgrund ihrer erheblichen Bedeutung in der Ökobiotechnologie der Schwerpunkt nachfolgender Ausführungen eingeräumt wird.

1.1.1

Eukaryotische und prokaryotische Zellen und ihre Struktur

Es gibt eine große Anzahl verschiedener Arten von Eu- und Prokaryoten, die zusammen eine systematische Ordnung bilden. In den Prokaryoten hat man Relikte aus der Frühzeit der organischen Evolution zu sehen und ihre Entwicklung zu den Eukaryoten stellt die größte Diskontinuität in der Evolution der Organismen dar [3]. Die prinzipielle Struktur der Prokaryoten und der Eukaryoten ist aus Abb. 1-1 und Abb. 1-2 zu ersehen.

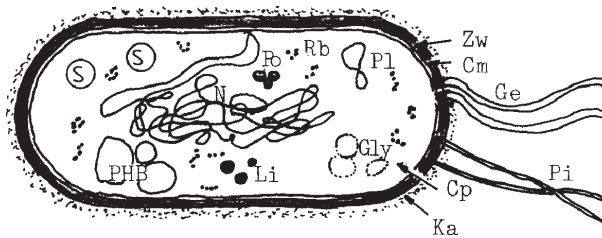


Abb. 1-1: Schematisches Längsschnittbild einer prokaryotischen Zelle (Bakterienzelle) und die Typen der intracytoplasmatischen Membranstrukturen. Cm - Cytoplasmamembran; Cp - Cytoplasma; Ge - Geißel; Gly - Glykogengranula; Ka - Kapsel;

Li - Lipidtropfen; N - Nucleus oder Kern; PHB - Poly-β-hydroxybuttersäure; Pi - Pili; Pl - Plasmid; Po - Polyphosphatgranula; Rb - Ribosomen und Polysomen; S - Schwefeleinschlüsse; Zw - Zellwand; nach [3].

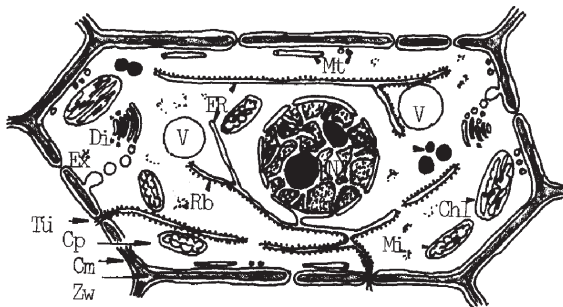


Abb. 1-2: Kombiniertes schematisches Längsschnittbild einer eukaryotischen Zelle (Pflanzenzelle). Notationen: Chl - Chloroplasten; Cm - Cytoplasmamembran; Cp - Cytoplasma; Di - Dictyosomen; ER - Endoplasmatisches

Reticulum; Ex - Sekretionsvesikeln (Exocytose); Li - Lipidtropfen; Mi - Mitochondrien; Mt - Mikrotubuli; N - Nucleus oder Kern; Rb - Ribosomen; Tü - Tüpfel mit Plasmodesmen; V - Vakuolen; Zw = Zellwand; nach [3].

Die wichtigsten morphologischen Unterschiede verschiedener Zelltypen werden in der Tab. 1–1 zusammengetragen und nachstehend kurz kommentiert.

Tabelle 1–1: Morphologische Unterschiede verschiedener Zelltypen; nach [7].

Zelltyp	Größenordnungen	Besonderheiten
Prokaryotische Mikroorganismen	1 μm Zellvolumen etwa 10^{-12} ml Zellmasse etwa 10^{-12} g	viele Zellformen möglich, Einzeller oder Mycelbildner, sehr einfach organisierte Zellen, im Lichtmikroskop schwer differenzierbare Zellkomponenten, schnell wachsend
Eukaryotische Mikroorganismen	10 μg	Einzeller oder Mycelbildner, im Lichtmikroskop gut beobachtbar (Zellstrukturen), können morphologisch komplizierte Formen annehmen
Pflanzenzellen	50 μm	fragil, langsam wachsend
Tierische Zellen	50 bis 100 μm	sehr fragil (keine Zellwände), wachsen sehr langsam

Jede Zelle besteht aus dem Cytoplasma, einer kolloidalen Suspension von Proteinen, Hydrocarbonaten und anderen komplexen Komponenten, wie die zur Synthese von Proteinen benötigte Ribonukleinsäure (RNA), sowie Kernmaterial, welches seinerseits überwiegend den Erbgutträger, die Desoxyribonukleinsäure (DNA), beinhaltet. Sie wird nach außen hin von einer Zellwand, die vorwiegend mechanische Funktion erfüllt, umhüllt; das ist bei den Pflanzenzellen und den meisten Bakterien der Fall [3–5].

Bei Eukaryoten ist die DNA ausschließlich auf einer Anzahl von Untereinheiten, den Chromosomen, im Zellkern verteilt [3], wohingegen bei Prokaryoten und insbesondere bei Bakterien auch extrachromosomale DNA-Ringe, Plasmide, als Erbgutträger nachgewiesen worden sind [3], die bevorzugt Träger von resistenten (erworbenen) Eigenschaften sind, wie z. B. gegen Schwermetalle, Antibiotika, Chemotherapeutika, toxische organische Verbindungen (AOX, PCB, etc.) [6].

Für die Eucyten ist eine ausgeprägte Unterteilung des Cytoplasmas, dieser aus Plasmagrundsubstanz, d. h. aus vorwiegend Enzymen und Ribonukleinsäure (RNA) bestehenden Flüssigkeit, in eine Vielzahl von Reaktionsräumen charakteristisch, die durch die Einstülpungen der Cytoplasmamembran gebildet werden, wohingegen bei den Protocyten durch die Cytoplasmamembran zur Zellwand hin das Cytoplasma abgeschlossen wird, in welchem lediglich Zelleinschlüsse, so genannte Vesikeln, und der Zellkern eingebettet sind.

Sowohl bei Eukaryoten wie auch bei Prokaryoten und vor allem bei Bakterien ist die Zellwand nicht starr sondern elastisch. Der Innendruck der Zelle ist osmotisch bedingt, wobei die osmotisch wirksame Schranke die Cytoplasmamembran ist; sie ist

semipermeabel und kontrolliert den Ein- und Austritt gelöster Substanzen. Demgegenüber ist die Zellwand für Salze und zahlreiche niedermolekulare Substanzen durchlässig [3]. Da die Mehrheit der unter den Aspekten des Stoffwechsels und der Energetik betrachteten biochemischen Reaktionen im Innern der Zelle stattfinden, müssen auch die Reaktionspartner, z. B. Kohlenstoffquelle und Sauerstoff, sowie die Stoffwechselprodukte an den Ort, sind daher intrazellulär, d. h. in einem sehr eng definierten Verhältnis, zu halten. Nur so verlaufen Stoffumsetzungen in der Zelle optimal. Außerhalb der Zelle (extrazellulär) allerdings liegen die gleichen Substanzen oft in ganz anderen Konzentrationen vor. Der Verfahreningenieur muss bei Stofftransportberechnungen solche biologischen Transportphänomene berücksichtigen, indem er der eigentlichen Zellgrenzschicht für den selektiven Transport der Nährstoffe in das Zellinnere hinein oder aus diesem heraus – der Cytoplasmamembran – und den dabei beteiligten Diffusionsmechanismen Rechnung trägt [7].

1.1.2

Grund- und Regulationsmechanismen des Stoffwechsels und der Energieumwandlung

Die stoffwechselphysiologischen Vorgänge, die sich in Bioreaktoren abspielen, vollziehen sich über biochemische Reaktionsketten, welche grundsätzlich von verschiedenen Enzymen (Proteine oder mit Proteinen kombinierte anorganische Moleküle) der Bakterienzelle katalysiert werden [3, 5, 8]. In Abhängigkeit vom Nährstoffangebot (Substrat) werden die aufgenommenen Substanzen dem Betriebsstoffwechsel (Katabolismus), respektive Baustoffwechsel (Anabolismus) zugeführt. Der erste hat die Aufgabe, der Bakterienzelle energiereiche Verbindungen, wie die Adenosintriphosphatsäure (ATP), die als energiereiches Phosphat als Elementarquantum [3] der biologischen Energie zwischen Energie erzeugenden und Energie verbrauchenden Vorgängen fungiert, zur Verfügung zu stellen und so den benötigten Energiebedarf für den Baustoffwechsel, d. h. für Bakterienwachstum und -vermehrung, zu sichern. Das prinzipielle Ablaufschema solcher Stoffumwandlungsprozesse wird in Abb. 1–3 dargestellt.

Die Stoffumsetzungen in der Zelle werden von Enzymen, welche dabei die Rolle eines (Bio)Katalysators spielen, besorgt. Die wesentlichsten Merkmale eines solchen Enzymproteins sind das Erkennen der betreffenden Substratkomponente(n), die Katalyse und die Regulierbarkeit der katalytischen Aktivität. Jedes Enzym ist also durch eine bestimmte Substratspezifität und eine bestimmte Wirkungsspezifität ausgezeichnet [3]. Da ein solches Enzym als Biokatalysator fungiert, vollzieht sich die Kette biochemischer Reaktionen nicht nur bei einer erniedrigten Aktivierungsenergie und normalen Temperaturen, sondern auch mit Reaktionsgeschwindigkeiten, die um etwa zehn Potenzen (!) höher liegen als die nicht enzymatischer Reaktionen. (Näheres über Enzym katalysierte Reaktionsmechanismen und assimilatorische und dissimilatorische Prozesse ist dem Abschnitt 1.2.2.3 zu entnehmen.)

Eine ganz wesentliche, erst im letzten Jahrzehnt von den Biochemikern entdeckte, Eigenschaft der Enzyme ist die steuerbare Veränderlichkeit ihrer katalyti-

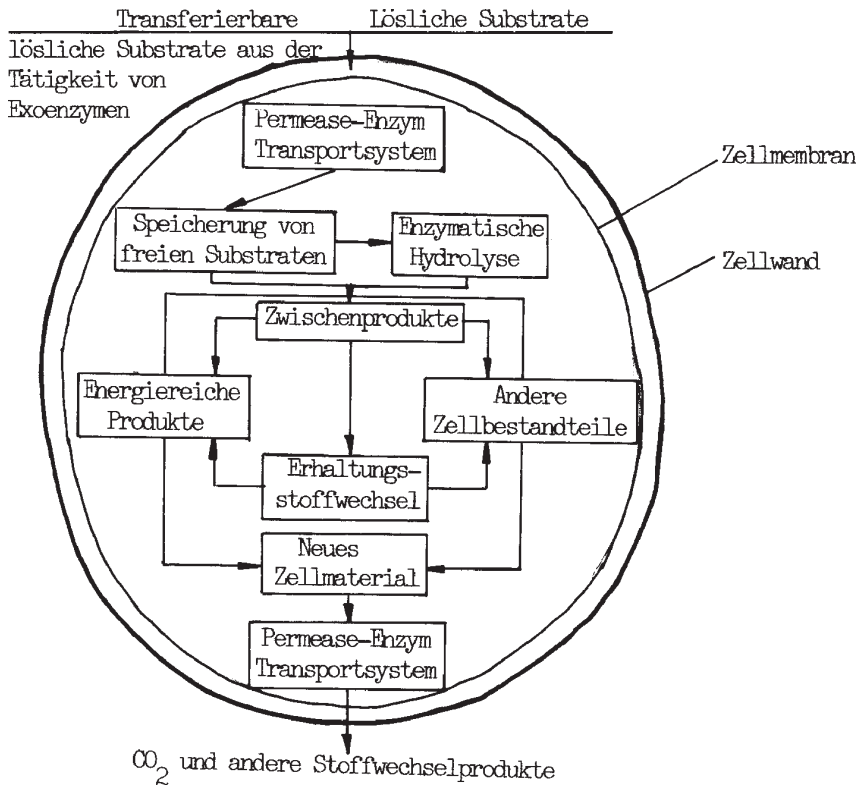


Abb. 1-3: Stoffwechselvorgänge in der Bakterienzelle; nach [8].

schen Aktivität. So wird mittels eines „katalytischen Zentrums“, zumindest in gewissen Enzymen, nicht nur die betreffende Substratkomponente metabolisiert, sondern auch das entsprechende Endprodukt der Reaktionskette oder andere niedermolekulare Verbindungen, deren Einflussnahme auf die Enzymaktivität sinnvoll ist, „erkannt“ [3].

Bei Anpassung an ein bestimmtes Substrat werden somit zwei Vorgänge wirksam: die phänotypische Adaption (enzymatische Anpassung) und die genotypische Adaption (Anpassung durch Selektion). Bei ersterer stellt die Zelle ihr Enzymmuster auf die Verwertung der im Substrat befindlichen organischen Stoffe ab. Die Regulation dieser Vorgänge erfolgt über genetisch festgelegte Mechanismen, die als Enzymaktivierung, -inhibierung und Repression in der Bakterienphysiologie bezeichnet werden [3–5, 7, 8]. Hiermit wird auch sichergestellt, dass die Reihenfolge der Aufnahme der einzelnen verwertbaren Substanzen einer Steuerung unterliegt, wobei in der Regel über eine katabolische Repression [3] zuerst jene Substratkomponente metabolisiert wird, welche auch die höchste Wachstumsrate ermöglicht. Dieser sequentielle Abbau im Falle von Multikomponentensubstraten wird als *Diauxie* bezeichnet [3, 5, 8]. Zum Erscheinungsbild der phänotypischen Adaption gehört schließlich auch die Bildung von Exoenzymen,

die den ersten Schritt des mikrobiologischen Angriffs auf das Substrat bilden und hierzu meist nur einen geringen Zeitbedarf von Minuten bis Stunden erfordern, um eine entsprechende Änderung des Enzymmusters herbeizuführen. Die genotypische Adaption hingegen beinhaltet die artliche Auswahl (Selektion) jener am besten für den Abbau einer bestimmten Substratkomponente geeigneten Mikroorganismenpopulation. Besonders bei schwer abbaubaren Substraten (Industrieabwässern) setzt daher ein erheblicher Selektionsdruck ein, wodurch entsprechende, zeitlich bedingte Speziesprädominanz entstehen [9]. Dieser Adaptionsvorgang nimmt einen erheblich längeren Zeitraum in Anspruch (mehrere Wochen) und führt in der Regel zur Bildung voll akklimatisierter Bakterienstämme. Alle diese Regelmechanismen haben im Prinzip zur Folge, dass die Mikroorganismen ihre Nährstoffe sparsam verwenden, keine Energie verschwenden und keine unnötigen Stoffe bilden. Eine Chance der biologischen Verfahrenstechnik besteht nun aber gerade darin, abnormes Regelverhalten für technisch interessante Prozesse auszunutzen. So kann z. B. die Ausscheidung vieler Stoffwechsel- und Sekundärmetabolite als Folge einer Fehlregulation (z. B. Überproduktion) des Stoffwechsels betrachtet werden [8].

Unter der Voraussetzung, dass von einem Organismus die Stoffwechselwege sowie deren Regulation bekannt sind, kann somit ein Hochleistungsstamm selektioniert werden. Der Biotechnologe macht sich hierbei zunutze, dass fehlregulierte Mutanten den einen oder anderen Stoff überproduzieren, anhäufen oder ausscheiden [7]. Für den Bioverfahrenstechniker ist es wichtig zu wissen, dass sowohl Substrate wie auch Endprodukte stimulierend (Effektoren) in die biologische Regulation eingreifen können. Dies wirkt sich oft in einer Herabsetzung der Reaktionsgeschwindigkeit und damit in einer Minderbildung des gesuchten Produktes (geringere Reinigungsleistung in der biologischen Abwassertechnik) aus.

Die Kenntnis der Regulationsmechanismen eröffnet somit große Möglichkeiten zur Steigerung der Raum-Zeit-Ausbeute, wozu zuallererst die Genetiker angesprochen werden, da das Auffinden einer Mutanten, welche sich durch das vorher erwähnte abnormale Regulationsverhalten auszeichnet, für einen technischen Prozess äußerst Erfolg versprechend sein kann [7]. Auf diese in der allgemeinen Biotechnologie und nicht zuletzt in der Ökobiotechnologie (Klärtechnik) immer mehr an Bedeutung gewinnende Thematik wird nachstehend kurz eingegangen.

1.1.3

Mutation und Erbgutübertragung

Eine Mutation ist eine zufällige oder für einen technischen Prozess erzeugte (hochgezüchtete) Veränderung des Erbgutes einer Zelle, welche auf die Nachkommen dieser Zelle vererbt wird. Bis zu einem gewissen Grad treten Mutationen spontan auf. Die natürliche Mutationsrate ist allerdings sehr gering; sie liegt bei einer Mutation pro 10^6 Genduplikationen [6].

Erheblich bedeutsamer als diese natürliche Mutation ist die Erzeugung von Mutanten mittels chemischer oder/und physikalischer Methoden (induzierte Mutation) sowie durch Anwendung gentechnologischer Eingriffe. Letzteres ist

eine Errungenschaft neuester Zeit; man nennt sie auch Rekombinationstechnik oder, etwas polemischer, Genmanipulation. Sie basiert im Wesentlichen darauf, dass mit Hilfe komplizierter Verfahren eine ganz spezifische Erbinformation aus dem Erbgutträger (Genom) einer Zelle herausgeschnitten und in das Genom einer anderen Zelle eingebaut wird; mit dieser „Gentechnologie“-Technik wird noch ein zukunftsreiches, selbständiges Gebiet auf uns zukommen [10] und dessen muss sich der Bioverfahrenstechniker bewusst sein. Man denke nur an die Herstellung billiger Proteinmasse aus zurzeit minderwertigen Rohstoffen.

In der Ökobiotechnologie stellt sich das Problem des Herauszüchtens mutierter Bakterien durch genotypische Adaption zum biologischen Abbau spezieller, schwer abbaubarer Inhaltsstoffe aus Industrieabwässern weniger kompliziert, dennoch nicht weniger wichtig, dar. So zeichnet sich in der Abwassertechnik seit einigen Jahren der Trend des Übergangs von ein- zu mehrstufigen biologischen Reinigungsverfahren ab [11–13], indem man die Spezialisierung von Bakterienstämmen auf leicht abbaubare (1. Stufe) und schwer abbaubare (2. Stufe) Substratkomponenten durch Trennung der entsprechenden Biozönose-Kreisläufe einführt und sich die große Mutationsrate der in der ersten Stufe vorhandenen Mikroorganismen zunutze macht [11]. Es wird hierbei auf die rasche Anpassung der Prokaryoten auf mutagen wirkende (Ver)Änderung des Substrates sowie die Vererbung resistenter Eigenschaften über in der Zelle frei schwimmende Plasmide (DNA-Ringe) auf nicht Plasmid tragende Bakterien hingewiesen, was durch Trennung von den langsamer wachsenden und Bakterien fressenden Eukaryonten eine hohe Vermehrungs- und Mutationsrate der in der 1. Stufe tätigen Prokaryonten bewirkt [11].

Es liegt daher auf der Hand, dass die Entwicklung solcher, auf einen gewissen Anteil des Substrates hoch spezialisierter, Mikroorganismen zu anderen Werten von Prozessparametern – und das will heißen auch zu unterschiedlichen Substrat-abbaugeschwindigkeiten in dem betreffenden Bioreaktor – als im Falle der Einstufigkeit führt. Ein ähnlicher, nicht aber identisch verlaufender sequentieller Abbau findet auch in einer mehrstufigen Kaskadenschaltung [14] statt, obwohl es sich diesmal um einen einzigen Biomasserücklauf handelt. Auch hierbei dürfte die mikrobiologische Anpassung an das abzubauen Substrat eine Rolle spielen, sich allerdings in die Richtung einer phänotypischen bewegend, und nicht, wie bei getrennten Biomasserückführungen, überwiegend auf genotypischer Adaption basierend.

Die Strategie der Selektion/Anpassung von mutierten Bakterienstämmen ist von größter Bedeutung für die weitere Aufklärung des Zellstoffwechsels und zur Erkennung der Mechanismen der Regulation in der allgemeinen Biotechnologie, da sie die Wege für eine bewusste Selektion von Hochleistungsmutanten für die Produktion aller Substanzen weist, die mit Hilfe von Mikroorganismen gewonnen werden können [3]. Ähnlich stellt sich das Problem bei der Heranzüchtung mutierter Bakterienstämme in der Ökobiotechnologie dar, wodurch in Bioreaktoren höhere Raum-Zeit-Ausbeuten und ein weitergehender Abbau biologisch schwer abbaubarer Substratkomponenten erreicht werden können [11, 12].

1.2

Bioverfahrenstechnische Aspekte des Stoffwechsels

In der allgemeinen Biotechnologie dient der Einsatz mikrobiell verlaufender Prozesse zuallererst der *Gewinnung* von Reaktionsprodukten. In der Ökobiotechnologie hingegen liegt der Schwerpunkt auf der *Vernichtung* organischer Substratkomponenten durch mikrobiellen Abbau respektive darin, durch deren Oxidation oder Reduktion eine Überführung in anorganische und die Umwelt weniger belastende Endprodukte zu bewirken. Der hiermit einhergehende Biomassezuwachs stellt ein unerwünschtes Reaktionsprodukt dar, da dieses wiederum entsorgt, d. h. entwässert und deponiert oder getrocknet und verbrannt werden muss (vgl. Abschnitt 1.2.2). Dementsprechend haben sich auch die technologischen Aspekte bei der Prozessanalyse zu richten, worauf nachstehend kurz eingegangen wird.

1.2.1

Produktionsverfahren

1.2.1.1 Biomassegewinnung

Unter Biomasse versteht man die in einem technischen Prozess gewachsenen Zellen, wobei es sich sowohl um Bakterien- und Hefezellen als auch um Myzelien oder Algenzellen handeln kann. Der Hauptrohstoff für die Mehrzahl technisch relevanter Verfahren zur Herstellung mikrobieller Biomasse ist das Kohlenstoff enthaltende Substrat (Kohlenstoffquelle). Darunter fallen [7]:

- Zuckerhaltige Rohstoffe (Melasse, Molke, Kartoffeln, Mais, Sulfitablauge, etc.),
- Cellulose (grüne Biomasse), welche z. B. mittels spezifischer Enzyme (Cellulosen) zur Herstellung von Glucose-Sirup eingesetzt werden kann,
- n-Alkane und Methanol als Rohstoff zur Herstellung von mikrobiellem Protein.

1.2.1.2 Biosynthese von Stoffwechselprodukten

Stoffwechselprodukte werden eingeteilt in Primärmetabolite (Aminosäuren, Nukleotide, Nukleinsäure, etc., d. h. die niedermolekularen Bausteine der Zelle) und Sekundärmetabolite (Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, Pflanzen oder Tieren), für die keine Funktion im Stoffwechsel erkennbar ist [7]. Zu den wichtigsten Primärmetaboliten gehören u. a.:

- Alkohole, Ketone, Säuren, Methan,
- Aminosäuren, Nukleotide,
- Vitamine, Polysaccharide.

Durch die sprunghaft gestiegenen Energiepreise haben sich die auf mikrobieller Basis arbeitenden Herstellungsverfahren gegenüber den chemischen Syntheseverfahren der Petrochemie als konkurrenzfähig erwiesen. Diese Situation wird

zugunsten der Biotechnologie noch stärker verbessert, wenn man Abfallprodukte oder preisgünstige Rückstände aus der Verarbeitung landwirtschaftlicher Erzeugnisse als Rohstoffe einsetzt; Einzelheiten hierüber in [4]. Sekundärmetabolite ihrerseits zeigen in Bezug auf die chemische Struktur eine außerordentliche Mannigfaltigkeit, da darunter sowohl aliphatische, aromatische und heterocyclische Verbindungen als auch Aminosäure-, Peptid- und Zuckerderivate fallen. Die werden wie Biopolymere der Zellen aus Substanzen des Primärmetabolismus aufgebaut und sind deshalb mit dessen Sequenzen eng verbunden [4]. Die Herstellung von Sekundärmetaboliten stellt meist hohe Anforderungen an die Verfahrensingenieure, da die Herstellungsprozesse in den Bioreaktoren den Umgang mit nicht newtonschem Verhalten aufweisenden Nährlösungen oder Kultivationsbrühen bedingen [7]; Näheres hierüber in [4].

1.2.1.3 Biotransformation

Unter Biotransformation versteht man ein- oder mehrstufige Reaktionen, bei denen mit Hilfe von Mikroorganismen oder den daraus isolierten Enzymsystemen eine Substanz in eine andere umgewandelt wird. Hierunter fallen: Hydroxilierung an verschiedenen Positionen, Einführung einer Dehydrierung, Isomerisierung und Aromatisierung [4, 7].

Die Biotransformation weist einige Vorteile gegenüber der chemischen Transformation und Synthese auf, zu denen die „sanfte Chemie“, d. h. der Ablauf der Reaktionen unter milden Temperatur- und Druckbedingungen, gehört. Hinsichtlich der Verfahrensform lassen sich Biotransformationen einteilen in [15]:

- Biotransformation mit fixierten Zellen,
- Biotransformation mit isolierten und immobilisierten Enzymen,
- Biotransformation mit wachsenden Zellen.

Die neuste Entwicklung geht eindeutig in die Richtung fixierten Biomaterials [16]. Bei dieser Art des Vorgehens wird nämlich die Transformationskapazität der Zellen besser genutzt als bei Verwendung freier Zellen. Ferner wird die Prozessstabilität und damit auch die Raum-Zeit-Ausbeute des Reaktors verbessert [7]. Einzelheiten hierüber in [4, 7, 15, 16].

1.2.1.4 Industrieller Einsatz von Biomasse an natürlichen Standorten (Erzlaugungsverfahren)

Im Unterschied zu allen bisher genannten mikrobiellen Prozessen, welche als Monokultur in oft sterilisierten Bioreaktoren ablaufen, wird dieses Verfahren am natürlichen Standort im Biobergbau in großem Ausmaß eingesetzt. Entsprechend den Lagerstätten, dem pH-Wert und der Temperatur der Umgebung stellen sich unterschiedliche Speziesprädominanz in der Mischkultur ein [7].

1.2.2

Substratabbau

Bei den speziell in der Klärtechnik hierfür eingesetzten Verfahren handelt es sich um eine die Natur nachahmende, technisch aber intensivierte Destruktion von gelösten organischen Substratkomponenten (biologische Reinigung). Hierzu gehören als Extremfälle die aeroben (unter Zufuhr von Sauerstoff) und anaeroben (unter Ausschluss von Sauerstoff) Reinigungsverfahren. Zwischen diesen zwei Grenzen liegen die anoxischen und aerob-anaerob-fakultativen Prozesse, bei denen man von einer „anaeroben Atmung“ [3], wie „Nitratatmung“, „Sulfat-atmung“, „Carbonat-atmung“ und anderen sprechen kann (Abb. 1–4).

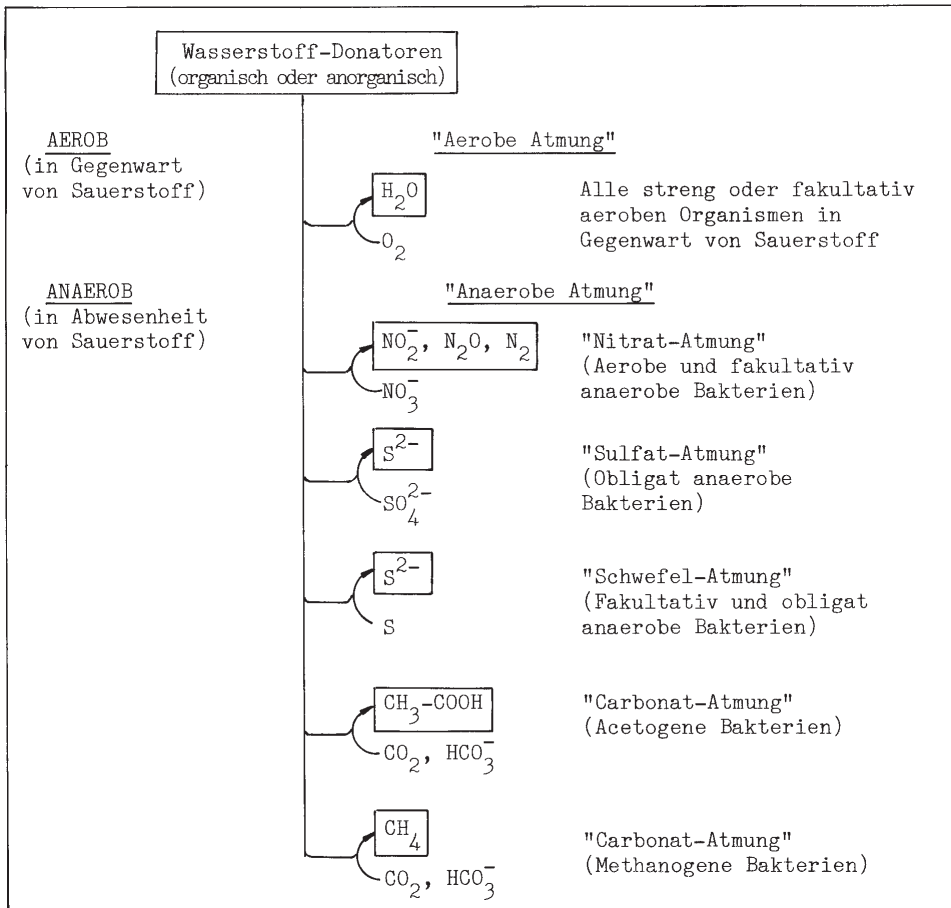


Abb. 1–4: Prozesse der Energiegewinnung durch Elektronentransportphosphorylierung unter aeroben und anaeroben Bedingungen, auch „aerobe Atmung“ und „anaerobe Atmung“ genannt; nach [3].

Außerdem können über mikrobiologische Prozesse auch anorganische Substanzen oxidiert oder reduziert werden; hierauf wird nur sehr kurz eingegangen und in Detailfragen auf entsprechende Literatur hingewiesen.

1.2.2.1 Denitrifikation

Die denitrifizierenden Mikroorganismen vermögen Nitrat über Nitrit zu gasförmigem N_2O und N_2 zu reduzieren. Das dafür nötige Enzymsystem, Nitrat-Reductase A und Nitrit-Reductase, wird unter anoxischen Bedingungen induziert; daher fungiert das Nitrat als terminaler Wasserstoff-Acceptor [3]. Erfolgt die Nitratreduktion nur in Anwesenheit von Nitrat-Reductase A, so führt dies nur bis zur Stufe Nitrit, welches auf dem Wege der assimilatorischen Nitritreduktion zu Ammonium reduziert und ausgeschieden wird (Nitratammonifikation). Weder die Stufe Nitrit noch die Stufe Ammonium werden in der Klärtechnik angestrebt, sondern ganz im Gegenteil, durch eine Reihe gekoppelter verfahrenstechnischer/mikrobiologischer Maßnahmen, tunlichst vermieden (vgl. Kap. 2). So wird bei einem zu niedrigen Angebot an Kohlenstoffverbindungen, d.h. $BSB_5/NO_3 \leq 1$, die Zugabe von Methanol als Elektronen-Donator praktiziert [19]. Für den Verfahrenstechniker bereitet die mikrobielle Denitrifikation in der Regel keine Probleme bei der Dimensionierung und Betrieb des Reaktors, vor allem dann, wenn die Härte des Wassers ausreicht, um einen pH-Wert zwischen 6,5 und 7,5 aufrecht zu erhalten [19]. Näheres über die Biochemie des Prozesses ist aus [3, 4] zu entnehmen.

1.2.2.2 Methanbildung

Methan entsteht durch den Abbau von organischem Substrat in streng anaeroben Milieu; Luftsauerstoff tötet die Methan bildenden Bakterien ab. Diese Methan bildenden Bakterien sind das letzte Glied einer anaeroben Nahrungskette, an deren Anfang Polysaccharide, Proteine und Fette stehen und sehr verschiedene fermentative Bakterien beteiligt sind (Abb. 1–5).

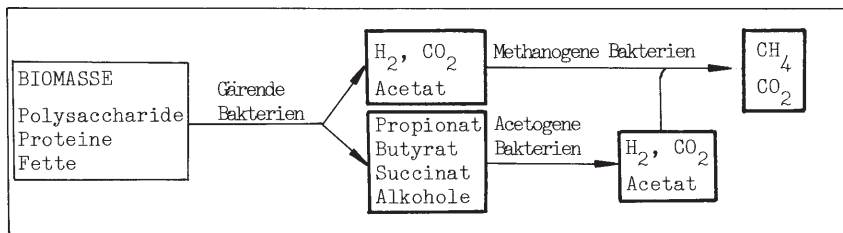


Abb. 1–5: Nahrungskette bei der anaeroben Fermentation; nach [3].

An den biochemischen Umsetzungen des organischen Substrates zu Methan sind eine Reihe von Coenzymen beteiligt, unter denen das Coenzym M (Mercaptoethan Sulfonat) die wichtigste Rolle spielt [3]. Im Gegensatz zu der hoch spezialisierten Gruppe der Methanbakterien wird der ganze anaerobe mikrobiologische

Angriff komplexer Substrate von einer hinsichtlich der Stoffwechselaktivität äußerst inhomogenen Bakterienpopulation durchgeführt, wobei, vereinfachend betrachtet, hydrolytische und fermentative sowie obligat Wasserstoff bildende acetogene bzw. Wasserstoff und Kohlendioxid verwertende homoacetogene, wie auch Methan-Bakterien zu unterscheiden sind [20]. Als moderne Theorie der Methanbildung gilt zurzeit das so genannte Dreistufenmodell [20] – siehe dazu Abb. 1–6.

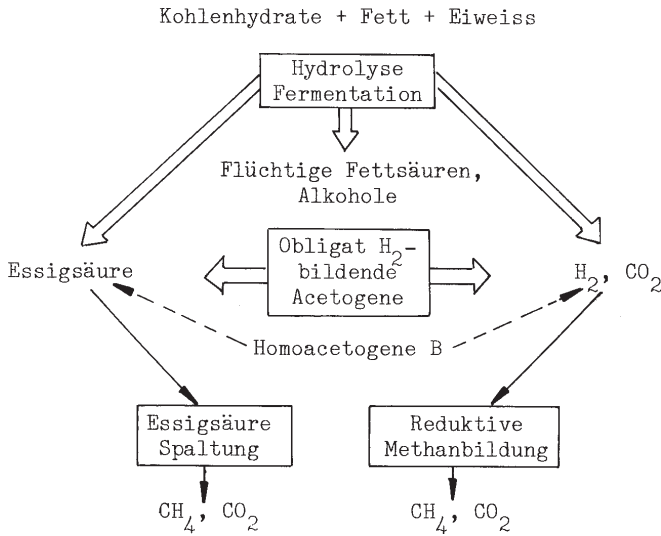


Abb. 1–6: Schematische Darstellung des dreistufigen Modells bei der Methangärung; nach [20].

Demnach erfolgt die Umwandlung der bei der Hydrolyse anfallenden niedermolekularen Fettsäuren und Alkohole in für Methanbakterien verwertbare Verbindungen durch eine dritte Organismengruppe, die obligat Wasserstoff produzierenden acetogenen Mikroorganismen. Ihre wesentlichen Endprodukte sind Essigsäure, Kohlendioxid und Wasserstoff. Die eigentliche Methanbildung erfolgt danach, in einer dritten Stufe, durch Reduktion von Kohlendioxid bzw. Spaltung der gebildeten Essigsäure [20]. Zu der Methangärung wäre ergänzend zu vermerken, dass es bei Mischpopulation unter den strikt anaeroben Bakterienstämmen auch fakultativ anaerobe Mikroorganismen gibt, welche zu einer Nitratammonifikation führen [21]. Durch diesen Vorgang werden der Methangärung Reduktionsäquivalente entzogen, was zu einem höheren Anteil an unerwünschtem Kohlendioxid im so genannten Biogas führt [3, 20]. Näheres zur Biochemie der Methangärung ist in [3, 4, 20] zu finden.

Durch Anwesenheit der strikt anaerob Sulfat reduzierenden Bakterien kommt ferner auch eine Bildung von H_2S zustande, was häufig zur Hemmung oder sogar Teil-Vergiftung methanogener Bakterien führen kann [20]. Eine gewisse Prozess-Stabilität lässt sich indessen durch das Heranzüchten von Bakterienstämmen erreichen, indem durch strenge Kontrolle des Bakterienaustrags und Anwendung zusätzlicher Bakterienbesiedlungsflächen Biomasse-Retentionszeiten von 100 Tagen

und mehr angestrebt werden [15, 16, 18, 20]. Dem Verfahreningenieur bereitet die Methangärung gewisse Probleme, zwar nicht installationsmäßiger, sondern meist technologischer Natur. So muss bei einstufigen Bioreaktoren ein dynamisches Gleichgewicht zwischen den methanogenen und nicht methanogenen Populationen aufrechterhalten werden. Dies lässt sich meistens durch die, mittels Zugabe von Kalkmilch und manchmal Bindung des H_2S durch Zugabe von Eisenchlorid bewirkte, Aufrechterhaltung eines $6,6 \leq pH \leq 7,6$ erreichen; sehr gute Mischeinrichtungen sind aber hierzu erforderlich. Erheblich leichter lässt sich der Prozess bei Kaskadenschaltungen beherrschen, da hierin auf jeden Prozessschritt direkt eingewirkt werden kann [18–21].

In der letzten Zeit, vor allem durch Energiepreise ausgelöst, gewinnt die anaerobe Behandlung auch bei hochkonzentrierten Industrieabwässern immer mehr an Bedeutung, da die Zellausbeute, bezogen auf das umgesetzte Substrat, um eine Zehnerpotenz tiefer als bei aeroben Prozessen liegt. Der Rest wird in Biogas, was zu Heizzwecken genutzt werden kann, umgewandelt. In der jüngsten Zeit durchgeführte Forschungsarbeiten erbrachten den Beweis, dass durch gezielte Selektion hochaktive Bakterienstämme isoliert werden können, die beim Abbau von aus der Zellstoffherstellung stammenden Brüdenkondensaten Raum-Zeit-Ausbeuten von über $60 \text{ kgCSB/m}^3/\text{d}$ hervorbringen [22]. Bis sich solche „hochgezüchteten“ Bioreaktoren auch in der Siedlungswasserwirtschaft verbreiten können, wird aber leider noch eine geraume Zeit vergehen müssen. Um so mehr wird daher die verstärkte Einbeziehung verfahrenstechnischer Aspekte, d. h. der Modelldenkweise, in die Forschung und Entwicklung von Hochleistungsbioreaktoren in der Siedlungswasserwirtschaft von Vorteil sein.

1.2.2.3 Oxidation von TOC- und TKN-haltigen Verbindungen

Dieser Prozess spielt eine erhebliche Rolle bei der Auslegung der in der Klärtechnik eingesetzten Bioreaktoren, in spe beim Belebtschlamm-, respektive Tropfkörperverfahren, da wegen solcher den Rahmen industrieller Biotechnologie sprengender Volumendurchsätze (einige m^3/s sind üblich) und Reaktionszeiten (Stunden bis Tage) sich jede Anhebung der Raum-Zeit-Ausbeute des Reaktors mit Tausenden von Kubikmetern auf dessen Dimensionierung niederschlägt. Schon aus diesem Grunde ist für den Verfahreningenieur die Kenntnis der wichtigsten mikrobiologischen und biochemischen Zusammenhänge des Substratabbaus eminent wichtig, da durch eine gezielte Intensivierung des Verfahrens [23] erheblich weniger Reaktionsraum benötigt wird.

Wie in der Klärtechnik üblich, kommt den biologischen Reinigungsverfahren die Aufgabe zu, Nährstoffe, die in Abwässern in gelöster Form vorliegen, in Zellmasse umzuwandeln und sie somit zu eliminieren oder ihren Nährstoffcharakter durch Mineralisation weitgehend zu zerstören [8, 18, 19]. Beim Abbau kohlenstoffhaltiger Substratkomponenten kommen vor allem heterotrophe Mikroorganismen, d. h. auf allgemeine Kohlenstoffverwertung spezialisierte Bakterienmischpopulationen in Frage [24]. Bei Oxidation stickstoffhaltiger organischer Verbindungen hingegen beteiligen sich nur hoch spezialisierte Bakterienstämme,

autotrophe Bakterien, die als Kohlenstoffquelle (Nahrung) CO_2 verwerten. Die Tabelle 1–2 stellt die Merkmale zusammen.

Tabelle 1–2: Allgemeine Klassifikation von Mikroorganismen nach Nahrungs- und Energiequellen; nach [9].

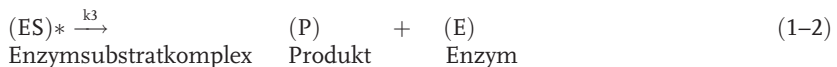
Klassifikation	Energiequelle	Nahrungsquelle
Autotrophe		
• Photosynthetische	Licht	CO_2
• Chemosynthetische	Anorganische Redox-Reaktionen	CO_2
Heterotrophe	Organische Redox-Reaktionen	Organischer Kohlenstoff

Wegen der großen Mannigfaltigkeit der in Abwässern enthaltenen kohlenstoffhaltigen Substratkomponenten werden sich je nach der Gestaltung des Verfahrensschemas eine Vielzahl von Mikroorganismen an deren Abbau beteiligen [8, 9, 19]. Darunter fallen Bakterien (monozellulare Protisten), verschiedene Arten (mono- oder multizellulare, nicht-photosynthetische, heterotrophe Protisten), Algen (mono- oder multizellulare, autotrophe, photosynthetische Protisten) und Protozoen (heterotrophe, monozellulare). Außer diesen Mikroorganismen tragen auch höhere Spezies zu einer besseren Qualität des biologisch gereinigten Abwassers bei, indem sie dessen „Säuberung“ von Bakterienzellen und -resten bewirken (*effluent polishers*). Hierzu zählen Protozoen (bewegliche, heterotrophe Protisten), Rotiphäre (multizellulare Mikroorganismen, deren Anwesenheit schon auf einen sehr hohen Abbaugrad hinweist) und kleine Krustentiere (multizellulare Organismen, deren Anwesenheit mehr in so genannten Schönungsteichen zu verzeichnen ist). Näheres über die Gestaltung und Funktion der Mikroorganismen im Reinigungsprozess ist aus [3, 5, 8, 9, 18, 19] zu entnehmen.

Wie im Abschnitt 1.1.2 bei den Regulationsmechanismen des Stoffwechsels kurz angedeutet, findet auch beim Abbau von kohlenstoffhaltigen Multikomponentensubstraten durch Bakterienmischpopulationen eine Reaktionskette enzymatisch bedingter Reaktionen statt, deren allgemeiner Reaktionsverlauf sich mit einer qualitativen Beziehung der Form [25]:



Enzym Substrat Enzymsubstratkomplex



Enzymsubstratkomplex Produkt Enzym

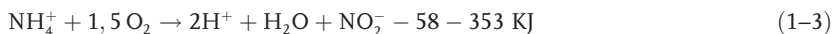
ausdrücken lässt. Die mathematischen Zusammenhänge solcher autokatalytisch verlaufender, enzymatischer Reaktionen wurden theoretisch von Michaelis Men-

ten [3, 9, 18, 19, 25] hergeleitet und später, bei der Abhandlung des Bakterienwachstums in substratlimitierten Kulturen, u. a. von Monod [21, 27], empirisch aufgestellt (vgl. Abschnitt 4). Solche Reaktionsabläufe (*reactions of shifting order*) weisen die spezifische Eigenschaft auf, dass bei niedrigen Substratkonzentrationen die Reaktionsgeschwindigkeit direkt proportional mit dieser variiert, bei hohen Substratkonzentrationen aber davon unabhängig und nur von der Enzymkonzentration bedingt wird [27]. Zur Durchführung der vielfältigen Stoffwechselleistungen stehen den Bakterien eine Reihe von bekannten Energie liefernden Abbauwegen zur Verfügung [8], und zwar durch Verwertung von:

- Kohlenhydraten und Zuckern der Abbau über den Embden-Meyerhof-Parnas-Weg (EMP), welcher die Nutzung von Hexosen gestattet und zu C_3 -Körpern führt, die letztlich dann in den Tricarbonsäurezyklus eingeführt und dort vollständig oxidiert werden; Pentosephosphat-Weg (PP), bei dem das primär gebildete Glucose-6-phosphat dehydrogeniert wird und Ribulose-4-phosphat (Pentose) und CO_2 über oxidativen Abbau entstehen.
- Fetten über eine hydrolytische Spaltung der Esterbindung zu Glycerin und freier Fettsäure durch Lipasen und die anschließende Verwertung des Glycerins im EMP-Weg. Die Fettsäuren werden je nach Kettenlänge über mehrere β -Oxidationen zu C_2 -Körpern (Acetyl-CoA) abgebaut und in dieser Form ebenfalls in den Tricarbonsäurezyklus eingeschleust, der als wichtigster Stoffwechselweg für alle Vorgänge des Betriebsstoffwechsels und letztlich auch Baustoffwechsel eine zentrale Bedeutung besitzt.
- organischen Stickstoffverbindungen (Eiweiß, Proteine), die zunächst wie viele andere hochmolekulare Stoffe außerhalb der Zelle in Spaltstück zerlegt werden und dann innerhalb der Zelle als Oligo- und Polypeptide durch Peptidasen zu Aminosäuren abgebaut werden. Die gebildeten Aminosäuren werden schließlich einer Decarboxilierung oder Desaminierung (NH_4 -Abspaltung) unterzogen. Hierbei ist die oxidative Desaminierung der am meisten verbreitete Typ des Aminosäureabbaus. Das verbleibende Kohlenstoffgerüst wird bei den verschiedenen Aminosäuren auf unterschiedlichen Stoffwechselwegen verwertet. Häufig tritt es in den Tricarbonsäurezyklus ein und wird im weiteren Verlauf bis zum CO_2 abgebaut.
- aromatischen Kohlenwasserstoffen (Benzolderivate, Phenylpropanabkömmlinge wie Lignin), bei denen zur Vorbereitung der Ringspaltung zuerst eine Hydroxilierung durch Hydrolasen erfolgt und dann die Öffnung des Ringes an zwei benachbarten hydroxilierten C-Atomen vorgenommen wird. Im einfachsten Fall entsteht dabei aus Phenol durch Anlagerung von Sauerstoff die *cis,cis*-Muconsäure.

Letzte gemeinsame Stufe der katabolen Umsetzungsvorgänge ist die Energiegewinnung in der so genannten Atmungskette, in welcher der Wasserstoff aus den zahlreichen Dehydrierungsprozessen über mehrere Stufen enzymatisch mit Sauerstoff oder anderen Wasserstoffacceptoren zur Reaktion gebracht wird. Da diese Vorgänge an zahlreiche Elektronenübergänge gebunden sind, wird die Atmungskette auch als Elektronentransport-System bezeichnet. Endprodukte sind energiereiche Phosphate (ATP) und Wasser [8].

In Energie verbrauchenden Reaktionen des Baustoffwechsels werden dann wieder Stoffe aufgebaut, welche der Anlage von Reservestoffen, dem Wachstum und der Vermehrung dienen. Teilweise handelt es sich dabei um einfache Umkehrung der angeführten Energie liefernden Reaktionswege, wie überhaupt im Gesamtstoffwechsel Energie verbrauchende und Energie liefernde Vorgänge im Rahmen einer sinnvollen Gesamtregulation der Zelle sehr eng miteinander verbunden sind (Amphibolismus). Eine Sonderstellung nehmen die nitrifizierenden Bakterien ein, die in ihrem Stoffwechsel nicht von organischen Stoffen abhängen, sondern auf anorganische Substrate angewiesen sind. Dazu gehört auch die Gruppe der Schwefelwasserstoff bzw. Schwefel oxidierenden Bakterien, die beim Belebungsverfahren jedoch nur eine untergeordnete Rolle spielen. Bei der Nitrifizierung wird das im Abwasser vorhandene Ammonium durch die Tätigkeit von chemoautotrophen Bakterienarten, welche Kohlendioxid zusätzlich als Kohlenstoffquelle nutzend, über die Zwischenstufe Nitrit in Nitrat umgewandelt. Die Gattung *Nitrosomonas* bewirkt nach Gl. 1–3 die Umwandlung in Nitrit, Nitrobacter besorgt die Umsetzung zum Nitrat nach Gl. 1–4.



Typisch für diese, beim Substratabbau stattfindenden, Enzym katalysierten biochemischen Reaktionen ist die Tatsache, dass die durch Photosynthese oder Oxidation organischer, gegebenenfalls anorganischer, Substanz aufgenommene Energie mit Hilfe organischer Komponenten, vor allem des Adenosintriphosphates (ATP), in der Zelle gespeichert wird. Diese so gespeicherte Energie kann danach für Zellaufbau und Erhaltungsstoffwechsel, endogene Atmung, verwendet werden, indem hierfür das energiereiche ATP zum energiearmen Adenosindiphosphat (ADP) umgewandelt wird, welches wiederum durch Energieaufnahme (Reaktionswärme oder Photosynthese) zum energiegeladenen ATP wird [18, 19]. In den Abbildungen 1–7 und 1–8 werden der heterotrophe (Kohlenstoffoxidation) und der autotrophe (Nitrifikation) Bakterienmetabolismus vereinfacht dargestellt [19].

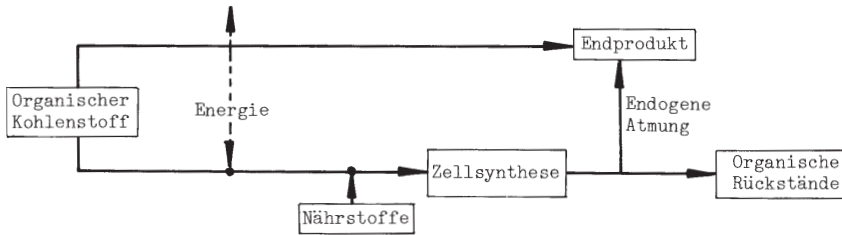


Abb. 1-7: Vereinfachte Darstellung des Stoffwechsels bei heterotrophen Bakterien; nach [19].

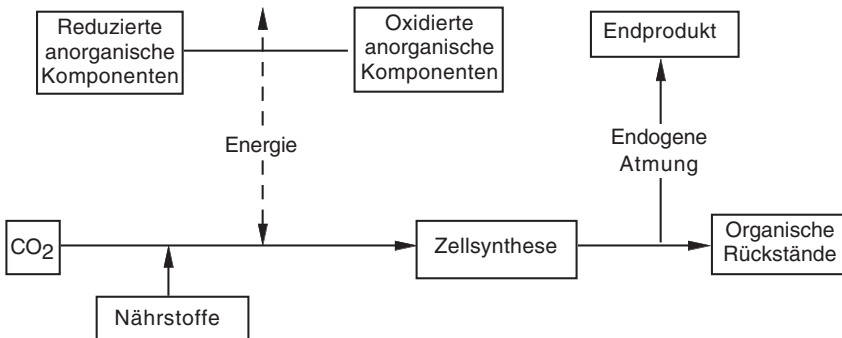
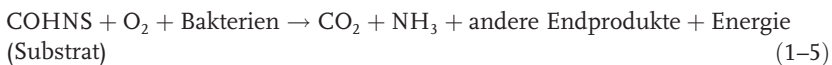


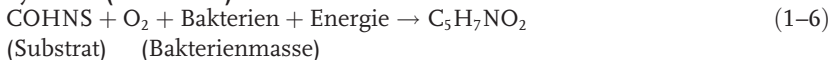
Abb. 1-8: Vereinfachte Darstellung des Stoffwechsels bei chemoautotrophen Bakterien; nach [19].

Schematisch lässt sich nach [18, 19] der aerobe mikrobielle Stoffwandlungsprozess für kohlenstoffhaltige Verbindungen durch folgende summarische Reaktionen darstellen:

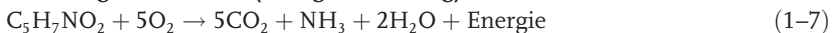
Oxidation



Synthese (Zellaufbau)



Erhaltungsstoffwechsel (endogene Atmung)



Für die Oxidation des Stickstoffs (Nitrifikation) wurde in [28] folgende, allgemeine Beziehung (*overall ammonia conversion*) empfohlen:



Wegen dieser mit einer pH-Senkung einhergehenden Reaktion muss das Wasser eine genügend große Härte aufweisen, da bei der Oxidation von 1 g (NH₄-N) ein

Verbrauch an Alkalität von 7,1 g CaCO₃ entsteht [19]. Charakteristisch für die so genannte „Nitrifizierbarkeit“ eines Abwassers ist das Verhältnis BSB₅/TKN (Total Kjeldahl Nitrogen) des entsprechenden Abwassers [29]. Je größer der Quotient ist, desto niedriger liegt der Anteil an nitrifizierenden Bakterien und desto schwieriger wird es, eine Nitrifikation herbeizuführen, ohne spezielle verfahrenstechnische Maßnahmen (sehr große Aufenthaltszeiten im Reaktor, getrennte Kohlenstoff- und Stickstoffoxidationsstufen, Verhinderung eines Mitreißens (Aufschwemmens) von Nitrifikanten, etc.) ergreifen zu müssen [19].

Für den Verfahrensingénieur wirkt die Nitrifikation eine Reihe von reaktionstechnischen Problemen auf. So ist bei Forderung sehr kleiner NH₄-Auslaufkonzentrationen die Aufstellung von Reaktorkaskaden oder PF-Reaktoren vorzuziehen, allen voran von solchen mit schwebenden oder immobilisierten Trägern [28, 29]. Neuere Forschungsergebnisse bestätigten auch in Deutschland [30–32] den positiven Einfluss der AK-Zugabe auf die Stabilität und weitergehende Reinigung schwer abbaubarer Komponenten in Belebtschlamm- und in Festbettreaktoren. Zur weitergehenden Reinigung bei problematischen Abwässern sowie zur Herbeiführung von Nitrifikation wird seit kurzem in Deutschland [33] die Zugabe von Braunkohlenkoks, anstatt AK-Pulver, in Belebungsbecken empfohlen und auf die hieraus resultierenden niedrigeren Betriebskosten hingewiesen.

Außer solchen, vom Verfahrenstechniker relativ einfach vorzunehmenden, technologischen Eingriffen in den Nitrifikationsprozess bereiten die Aufrechterhaltung eines optimalen pH-Bereichs von 8 bis 9 (Zugabe von NaOH oder Kalkmilch erforderlich) sowie die Verhinderung eines Nitrifikationsverlustes mit dem Auslauf noch gewisse Probleme in der rauen Alltagspraxis des Kläranlagenbetriebes [28]. Sollte darüber hinaus eine Stickstoffentfernung, d. h. Nitrifikation und Denitrifikation, gefordert werden, so zeichnet sich in der letzten Zeit immer mehr der Trend zur Mehrstufigkeit ab [12, 18, 19, 28, 29, 34, 36], obwohl es hierzu auch gegenteilige Meinungen gibt [8, 35]. Für den Siedlungswasserbauer oder den Verfahrensingénieur ergibt sich hieraus die Notwendigkeit, durch enge Zusammenarbeit mit dem Mikrobiologen, zuerst auf eine Reduzierung möglicher Verfahrensvarianten hinzuwirken und, wie gesagt, mittels schon im Labormaßstab durchführbarer Sondierungsversuche die Vielfalt des möglichen Pilotversuchsspektrums erheblich einzuschränken.

Ein gewisses verfahrenstechnisches Wissen seitens des mehr Labor geschulten Mikrobiologen oder (Bio)Chemikers dürfte diese Zusammenarbeit dabei wesentlich fördern. Deshalb wird das nachfolgende Kapitel 2 den naturwissenschaftlich geschulten Abwasserfachleuten, respektive angehenden Siedlungswasserbauern empfohlen.

Literaturverzeichnis Kapitel 1

- 1 Trohsche, K.: Weiche Chemie statt heißer Prozesse. VDI-Nachrichten, Nr. 8/21 Februar (1986), S. 22
- 2 Böhnke, B.: Leistung und Einsatzmöglichkeiten zwei- und mehrstufiger Abwasserreinigungsverfahren unter Berücksichtigung mikrobiologischer Reaktionsmechanismen. 14. Abwassertechnisches Seminar, TU München (1984), Heft 11
- 3 Schlegel, H. G.: Allgemeine Mikrobiologie. 6. überarbeitete Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart 1 (1985)
- 4 Rehm, H. J.: Industrielle Mikrobiologie. 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin (1980)
- 5 Mudrack, K.: Wirkungsweise der Mikroorganismen bei der mehrstufigen biologischen Abwasserreinigung. Schriftenreihe Gewässerschutz-Wasser-Abwasser, Band 42, Aachen (1980)
- 6 Böhnke, B.: Mikrobiologische Grundlagen für die hohe Prozessstabilität und Reinigungsleistung von zweistufigen biologischen Anlagen mit vor geschalteter A-Stufe. Vortrag am 10./12.10.1985 in Plovdiv
- 7 Einsele, A., Finn, R. K. und Samhaber, W.: Mikrobiologische und biochemische Verfahrenstechnik. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1985)
- 8 ATV: Lehr- und Handbuch der Abwassertechnik. 3. Auflage, Band IV, Verlag Ernst & Sohn, Berlin (1985)
- 9 Gaudy, F. G. und Gaudy, E. T.: Mixed Microbial Populations. Advances in Biochemical Engineering, 2, Springer-Verlag, Berlin (1972)
- 10 Esser, K.: Über die Gentechnologie, Chemieingenieurtechnik, 53, Heft 3 (1981), S. 401/408
- 11 Böhnke, B.: Mikrobiologische Reaktionsabläufe beim AB-Verfahren. Acta Biotechnologica, 5 (1985), S. 45/50
- 12 Böhnke, B.: Vergleich einstufiger/zweistufiger Belebungsanlagen mit weitergehendem und abgestimmtem Schlammbehandlungskonzept. Aachener Symposium, 22./23. Januar (1987)
- 13 Bischofsberger, W.: Überlegungen zur Planung zweistufiger biologischer Kläranlagen. 16. Abwassertechnisches Seminar, TU München, Heft 69, (1986), S. 97/119
- 14 Braha, A.: Über die Abbaukinetik von komplexen Substraten in Mischbeckenkaskaden. Wasser, Luft und Betrieb, Heft 6 (1986), S. 24/28
- 15 Rehm, H. J.: Aktuelle Probleme und Entwicklungen in der Biotechnologie. Chemieingenieurtechnik, 58 (1986), Nr. 5, S. 379/386
- 16 Zlokarnik, M.: Immobilisierung ganzer Zellen – eine Bestandsaufnahme aus bioverfahrenstechnischer Sicht. Biotech-Forum, 3 (1986), Heft 4, S. 12/20
- 17 Volesky, B.: Bioabsorptionsmaterialien für die Metall-Rückgewinnung. Vortrag auf Biotec 87, 18.03.(1987) in Düsseldorf
- 18 Benefield, L. D. and Randall, C. W.: Biological Process Design for Wastewater Treatment. Prentice-Hall Inc., New York (1980)
- 19 Metcalf and Eddy: Wastewater Engineering. McGraw-Hill Book Company, 2nd Edition, New York (1979)
- 20 Braun, R.: Biogas-Methangärung organischer Abfallstoffe. Springer-Verlag, Wien (1982)
- 21 Torien, D. F.: Enrichment Culture Studies on Aerobic and Facultative Anaerobic Bacteria Found in Anaerobic Digesters. Water Research, 1 (1967), S. 147/155
- 22 Sahn, H.: Statt Schlamm, Biogas zum Heizen. Vortrag auf der Biotec 87, 18.03.(1987) in Düsseldorf
- 23 Braha, A.: Biokinetisches Modell für Festbettreaktoren. Wasser, Luft und Betrieb, Heft 1/2 (1987), S. 21/24
- 24 Braha, A.: Über die Kinetik des Substratabbaus durch mikrobielle Mischpopulationen. Biotech-Forum, 4 (1987), Heft 1, S. 13/19
- 25 Levenspiel, O.: Chemical Reaction Engineering. 2nd Edition, John Wiley & Son, Inc., New York (1972)
- 26 Monod, J.: The Growth of Bacterial Cultures. Ann. Rev. Microbiology, 3 (1949), S. 371/384

- 27 Lemuel, B. W., Jr.: Enzyme Engineering. *Advances in Biochemical Engineering* 2, Springer-Verlag, Berlin (1972), S. 1/48
- 28 McCarty, P. L.: Biological Processes for Nitrogen Removal. *Proceedings Twelfth Sanitary Engineering Conference*, University of Illinois, Urbana (1970)
- 29 *Process Design Manual for Nitrogen Control*. United States EPA, Office of Technology Transfer, Washington, D. C., October (1975)
- 30 Jüntgen, H., Jockers, und Klein, J.: Verbesserte Abwasserreinigung durch Kombination von biologischem Abbau mit Aktivkohle-Adsorption. *Umwelt*, Heft 4 (1981), S. 310/317
- 31 Schäfer, L.: Einsatz von Aktivkohle in Biohochreaktor. DEHEMA-Sonderversammlung vom 2./3. April (1984) in Königstein/Taunus
- 32 Naundorf, E. A., Rübiger, N. und Vogel-pohl, A.: Reinigung hoch belasteter Industrieabwässer im Kompaktreaktor mit und ohne Zusatz von Aktivkohle. 4. DEHEMA-Tagung der Biotechnologen, 3./4. Juni (1986) in Frankfurt
- 33 Ehrler, P., Glöckler, R., Erken, M. und Ritter, G.: Unterstützung der aeroben biologischen Abwasserreinigung durch Braunkohlekoks. *Korrespondenz Abwasser*, Heft 2 (1987), S. 129/136
- 34 ATV: Umwandlung und Elimination vom Stickstoff im Abwasser. *Arbeitsbericht der ATV-Fachausschüsse 2.6. und 2.8. Korrespondenz Abwasser*, Heft 2 (1987), S. 167/171
- 35 Hüper, F.: Die simultane Stickstoffoxi-dation – weitergehende Abwasserrei-nigung und Energieeinsparung. *Korrespondenz Abwasser*, Heft 2 (1987), S. 137/146
- 36 Braha, A.: Zum Stand der Technik in der biologischen Abwasserreinigung. *Wasser, Luft und Betrieb*, IFAT-Sonder-heft, Mai (1987), S. 8/22