Nitrifikation

Nitrifikation · https://www.dyena-genetics.de/docs/nitrifikation/

Biochemie, beteiligte Organismen und warum Ablaufwerte nicht zeigen, wie es den Bakterien wirklich geht

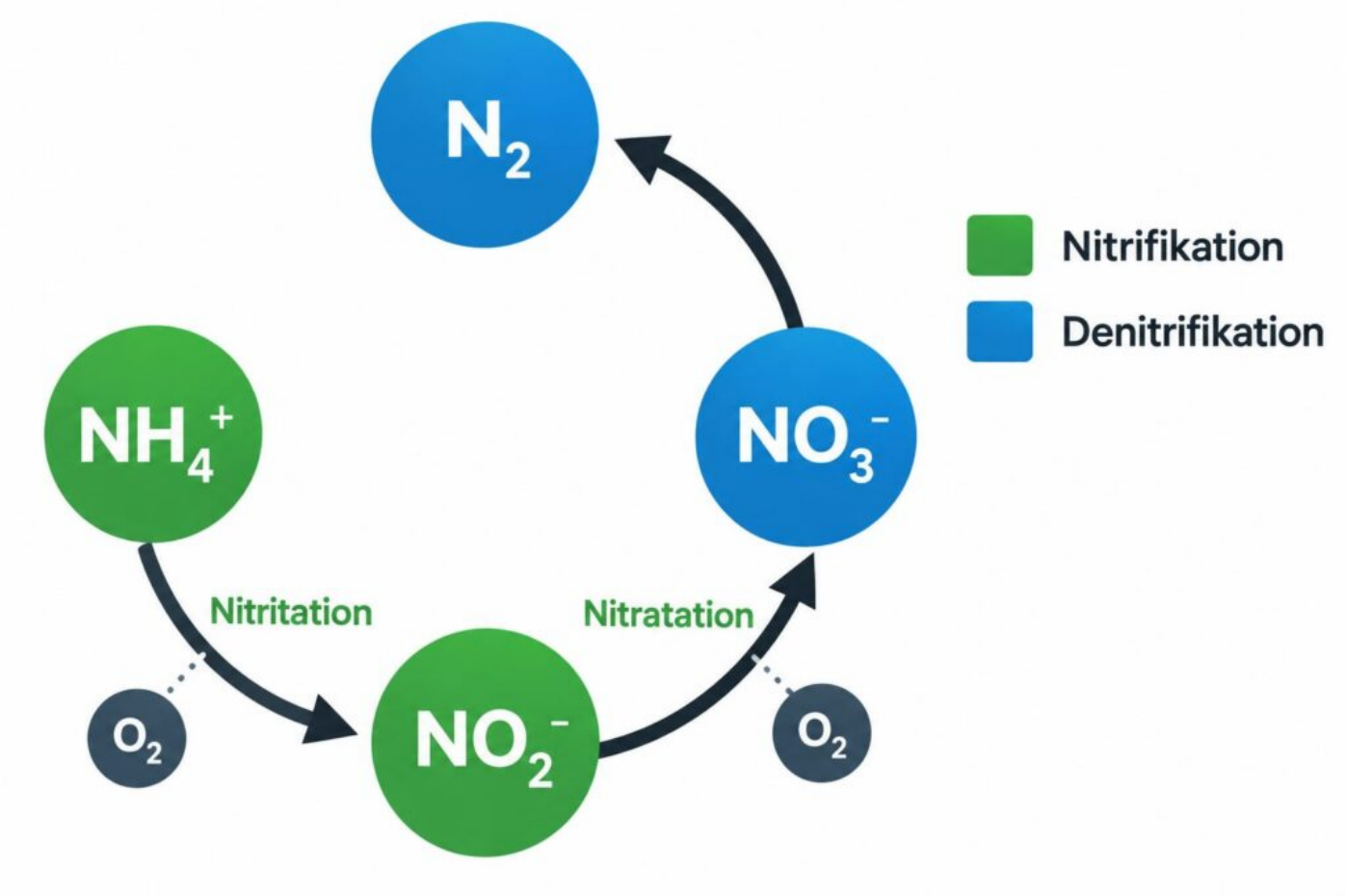


Auf einen Blick

Nitrifikation ist die zweistufige Oxidation von Ammonium über Nitrit zu Nitrat durch autotrophe Mikroorganismen.
Drei Enzyme sind an der Nitrifikation beteiligt: Ammoniak-Monooxygenase (AMO; Ammoniak → Hydroxylamin) und Hydroxylamin-Oxidoreduktase (HAO; Hydroxylamin → Nitrit) beide in den AOB, Nitrit-Oxidoreduktase (NXR; Nitrit → Nitrat) in den NOB.
Die Energieausbeute ist gering. Nitrifikanten wachsen deshalb langsam und stellen nur einen kleinen Teil der Belebtschlammbiomasse.

In Kläranlagen dominiert unter den NOB meist Nitrospira, teils in Coexistenz mit Nitrobacter; Nitrotoga tritt oft bei manchen Kläranlagen ebenfalls hinzu.
Ablaufwerte zeigen die aktuelle Leistung der Nitrifikanten, nicht die Populatiosgröße und den Zustand der Population, welche die Abbauleistung erbringt.

Nitrifikation = Nitritation + Nitratation



Die Nitrifikation gliedert sich in zwei Teilprozesse, die von unterschiedlichen Bakteriengruppen getragen werden. In der **Nitritation** oxidieren ammoniumoxidierende Bakterien (AOB) Ammonium zu Nitrit. In der anschließenden **Nitratation** oxidieren nitritoxidierende Bakterien (NOB) dieses Nitrit weiter zu Nitrat. Beide Gruppen sind chemolithoautotroph d.h. sie gewinnen ihre Energie aus der Oxidation der Stickstoffverbindung und bauen ihre Zellsubstanz aus CO_2 auf. Weil die NOB auf das Nitrit der AOB angewiesen sind, läuft die Nitrifikation nur stabil, wenn beide Gruppen im Gleichgewicht stehen.

Biochemie: zwei Schritte, drei Schlüsselenzyme

Schritt 1: Ammoniumoxidation

Reaktionsgleichung der Ammoniumoxidation: $NH_4^+ + 1{,}5\ O_2 \rightarrow NO_2^- + H_2O + 2\ H^+$

Ammoniumoxidierende Bakterien (AOB) setzen nicht Ammonium, sondern freies Ammoniak (NH_3) um. Die membrangebundene Ammoniak-Monooxygenase (AMO) oxidiert es zu Hydroxylamin, die Hydroxylamin-Oxidoreduktase (HAO) anschließend zu Nitrit. Weil der NH_3-Anteil vom pH-Wert abhängt, wirkt sich der pH direkt auf die Substratverfügbarkeit aus.

Schritt 2: Nitritoxidation

Reaktionsgleichung der Nitritoxidation: $NO_2^- + 0{,}5\ O_2 \rightarrow NO_3^-$

Nitritoxidierende Bakterien (NOB) oxidieren Nitrit mit der Nitrit-Oxidoreduktase (NXR) zu Nitrat.

Warum Nitrifikanten langsam wachsen

Beide Schritte liefern wenig Energie, die Nitritoxidation deutlich weniger als die Ammoniumoxidation. Zugleich müssen die Organismen ihren gesamten Zellkohlenstoff aus CO_2 aufbauen. Das Ergebnis sind Verdopplungszeiten von einem bis mehreren Tagen – heterotrophe Bakterien der Begleitflora im selben Becken teilen sich oft in Stunden.

Was der Prozess verbraucht

- Sauerstoff: 4,57 g O_2 je g oxidiertem NH_4-N (3,43 g im ersten, 1,14 g im zweiten Schritt).
- Säurekapazität: Je mg/l nitrifiziertem NH_4-N sinkt die KS4,3 um rund 0,14 mmol/l. Mehr dazu unter [Säurekapazität].

Im BSB_5-Test wird Allylthioharnstoff (ATH) zugegeben. Er blockiert das AMO-Enzym und verhindert so, dass die Nitrifikation den Sauerstoffverbrauch verfälscht.

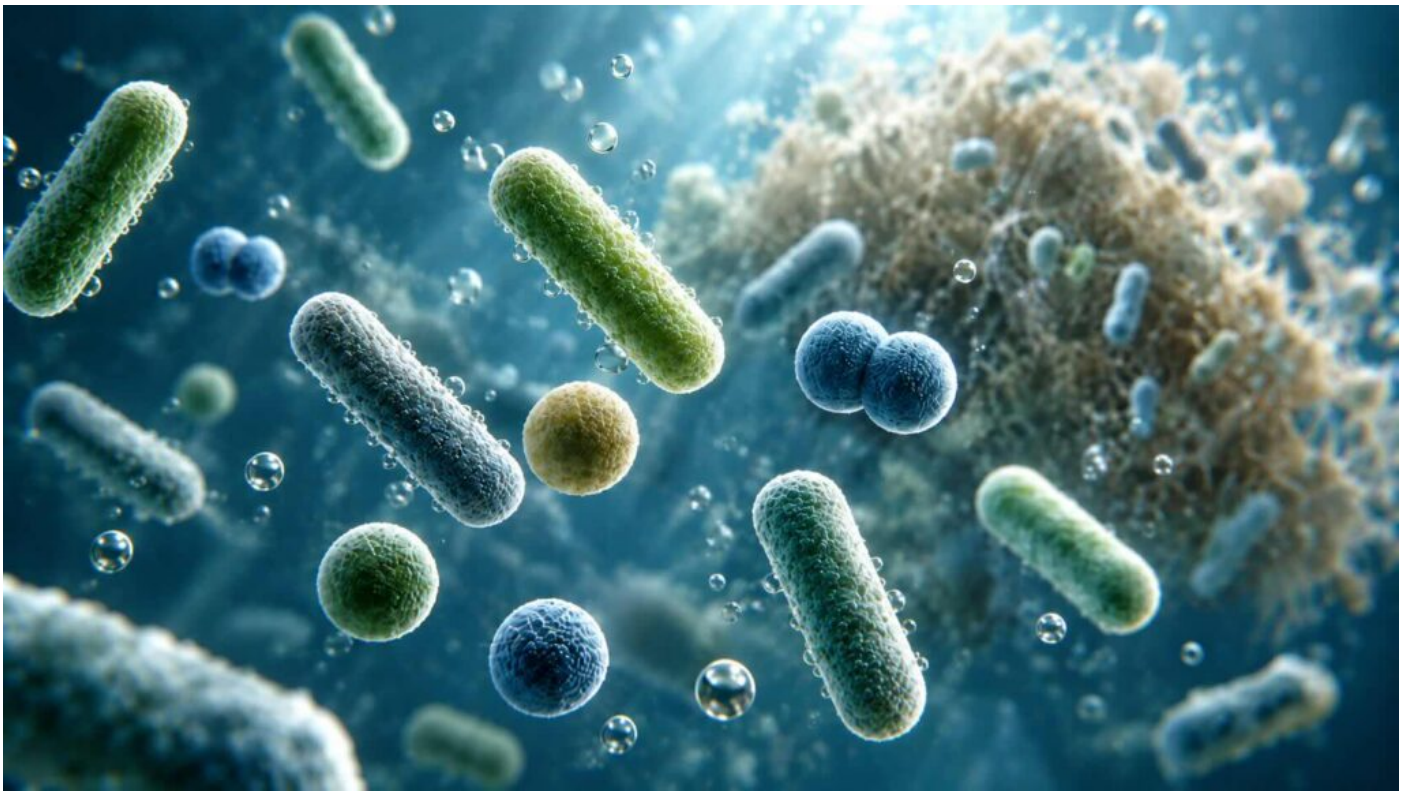
Wer nitrifiziert tatsächlich?

Gruppe	Wichtige Vertreter	Bedeutung im Belebtschlamm
AOB	Nitrosomonas, Nitrosospira	Tragen den ersten Schritt, die Nitritation
NOB	Nitrospira	Häufig dominierender Nitritoxidierer; hohe Affinität zu Nitrit, im Vorteil bei den niedrigen Nitritkonzentrationen, die in der Belebung meist vorliegen
NOB	Nitrobacter	Im Vorteil bei hohen Nitritkonzentrationen, im stabilen Betrieb oft in der Minderheit
NOB	Nitrotoga	Arbeitet bei höheren Nitritkonzentrationen besser als Nitrospira; in der Literatur als kälteangepasst beschrieben, in der Praxis mit stark anlagenspezifischem Jahresverlauf

Seit 2015 ist zudem bekannt, dass einzelne Nitrospira-Arten beide Schritte allein durchführen können. Mehr dazu unter [Comammox]. Ausführlich zu den Gruppen: AOB, NOB, [Nitrotoga].

Die Zusammensetzung unterscheidet sich zwischen Anlagen und verschiebt sich mit Temperatur und Betriebsweise. Das ist betrieblich relevant, weil die Gruppen unterschiedlich auf Kälte, Sauerstoffmangel und Nitritspitzen reagieren

Warum die Nitrifikation empfindlich ist



Das langsame Wachstum macht die Nitrifikanten zum begrenzenden Glied der Stickstoffelimination. Störungen, die heterotrophe Bakterien in Tagen ausgleichen, wirken bei ihnen über Wochen nach.

Schlammalter: Nitrifikanten müssen schneller nachwachsen, als sie mit dem Überschussschlamm abgezogen werden. DWA-A 131 legt deshalb ein temperaturabhängiges Mindest-Schlammalter für den aeroben Anteil fest. Mehr dazu unter [Schlammalter].
Temperatur: Mit sinkender Temperatur fällt die Wachstumsrate stark ab. Bei Abkühlung von 15 auf 10 °C verlängert sich das erforderliche aerobe Schlammalter um rund 60 %.
Sauerstoff: Unter etwa 1,5–2 mg/l O_2 wird die Nitrifikation zunehmend limitiert, NOB reagieren dabei oft empfindlicher als AOB.
Freies Ammoniak und salpetrige Säure: Freies Ammoniak hemmt vor allem NOB und steigt mit NH_4-N, pH und Temperatur. Freie salpetrige Säure hemmt beide Gruppen und steigt mit NO_2-N und sinkendem pH.
Hemmstoffe: Industrielle Einleitungen, Lösemittel oder Schwermetalle können die Nitrifikation schon in Konzentrationen stören, die den Abbau organischer Stoffe kaum beeinträchtigen.

pH-Wert: Nitrifikanten arbeiten am besten im schwach alkalischen Bereich. Unter etwa pH 7 sinkt ihre Leistung deutlich. Weil die Nitrifikation selbst Säure bildet, kann sie in schwach gepuffertem Abwasser den pH-Wert absenken und sich so selbst ausbremsen. Mehr dazu unter [Säurekapazität].

Was Ablaufwerte zeigen – und was nicht

NH_4-N, NO_2-N und NO_3-N im Ablauf messen das Ergebnis, also das Endergebnis, der Nitrifikation. Die Bakterienpopulationen, die dieses Ergebnis erbringen, bilden sie somit nur indirekt und zeitverzögert ab. Daraus ergeben sich drei Fragen, die Ablaufwerte allein nicht beantworten.

1. Wie groß ist die mikrobiologische Reserve?

Solange die Nitrifikationskapazität über der Stickstofffracht liegt, bleibt der Ablauf unauffällig. Schrumpft die Bakterienzahl, etwa durch Temperaturabkühlung oder ein zu niedriges Schlammalter, ändert sich am Ablauf zunächst nichts. Erst wenn die bakteriellen Zellzahlen zu gering werden, steigt NH_4-N – dann oft schnell, und der Wiederaufbau dauert Wochen.

2. Bakterien gehemmt oder abgestorben?

Ein Einbruch der Nitrifikation kann zwei sehr unterschiedliche Ursachen haben. Sind die Bakterien nur gehemmt, erholt sich der Prozess meist innerhalb von Tagen, sobald der Hemmstoff abgebaut oder ausgetragen ist. Sind sie abgestorben oder ausgeschwemmt, muss die Population neu aufwachsen. Im Ablauf sehen beide Fälle gleich aus.

Auch eine herkömmliche qPCR-Messung trennt diese Fälle nicht zuverlässig, da die qPCR-Tests normalerweise nur Gene detektieren, egal ob diese Gene von toten oder lebenden Bakterien stammen. Die DNA (Gene) abgestorbener Zellen bleibt eine Zeit lang im Schlamm erhalten und täuscht eine Population vor, die nicht mehr aktiv, sondern bereits abgestorben ist. Belastbar wird die Aussage erst, wenn nur intakte und somit lebende Bakterienzellen getrennt erfasst werden. Die qPCR-Tests von der DyeNA sind in der Lage nur, die Gene von lebenden und somit aktiven Bakterien mittes qPCR zu quantifizieren. Somit können unsere qPCR-Tests darüber Auskunft geben, ob die gestiegenen Ablaufwerte durch den Verlust an lebenden Nitrifikanten in der Belebung verursacht werden.

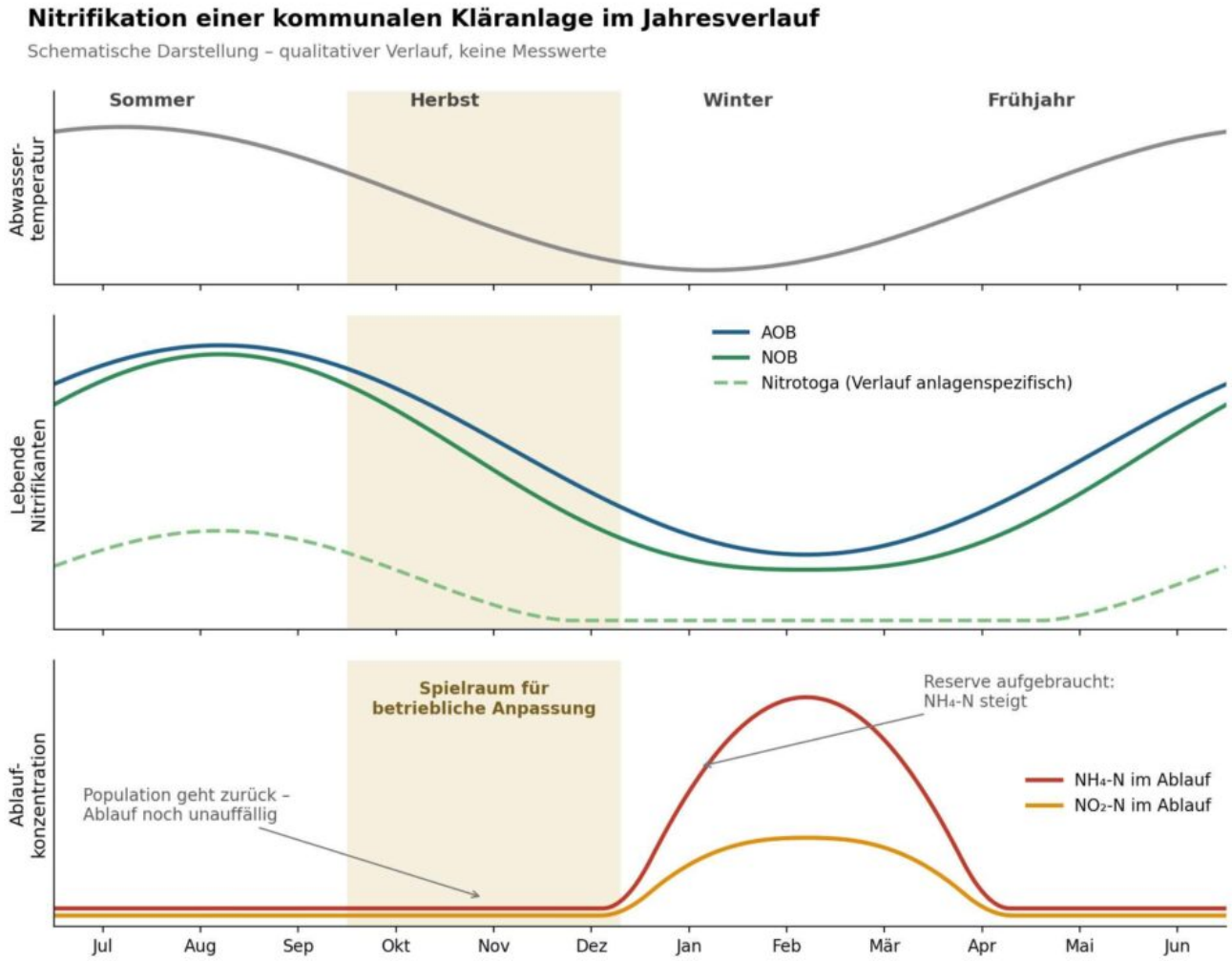
3. Warum steigt das Nitrit?

Nitrit im Ablauf zeigt, dass die Nitritoxidation mit der Ammoniumoxidation nicht Schritt hält. Offen bleibt, ob zu wenige NOB vorhanden sind, ob sie gehemmt sind oder ob sich die NOB-Gemeinschaft verschoben hat. Das Verhältnis von AOB zu NOB grenzt die Ursache ein.

Grenzen populationsbezogener Aussagen

Zellzahlen beschreiben das Potenzial einer Anlage, nicht ihre momentane Umsatzrate. Aussagekräftig werden sie erst im Zusammenhang mit Temperatur, Fracht, Schlammalter und Sauerstoffversorgung – und am besten im zeitlichen Verlauf statt als Einzelwert.

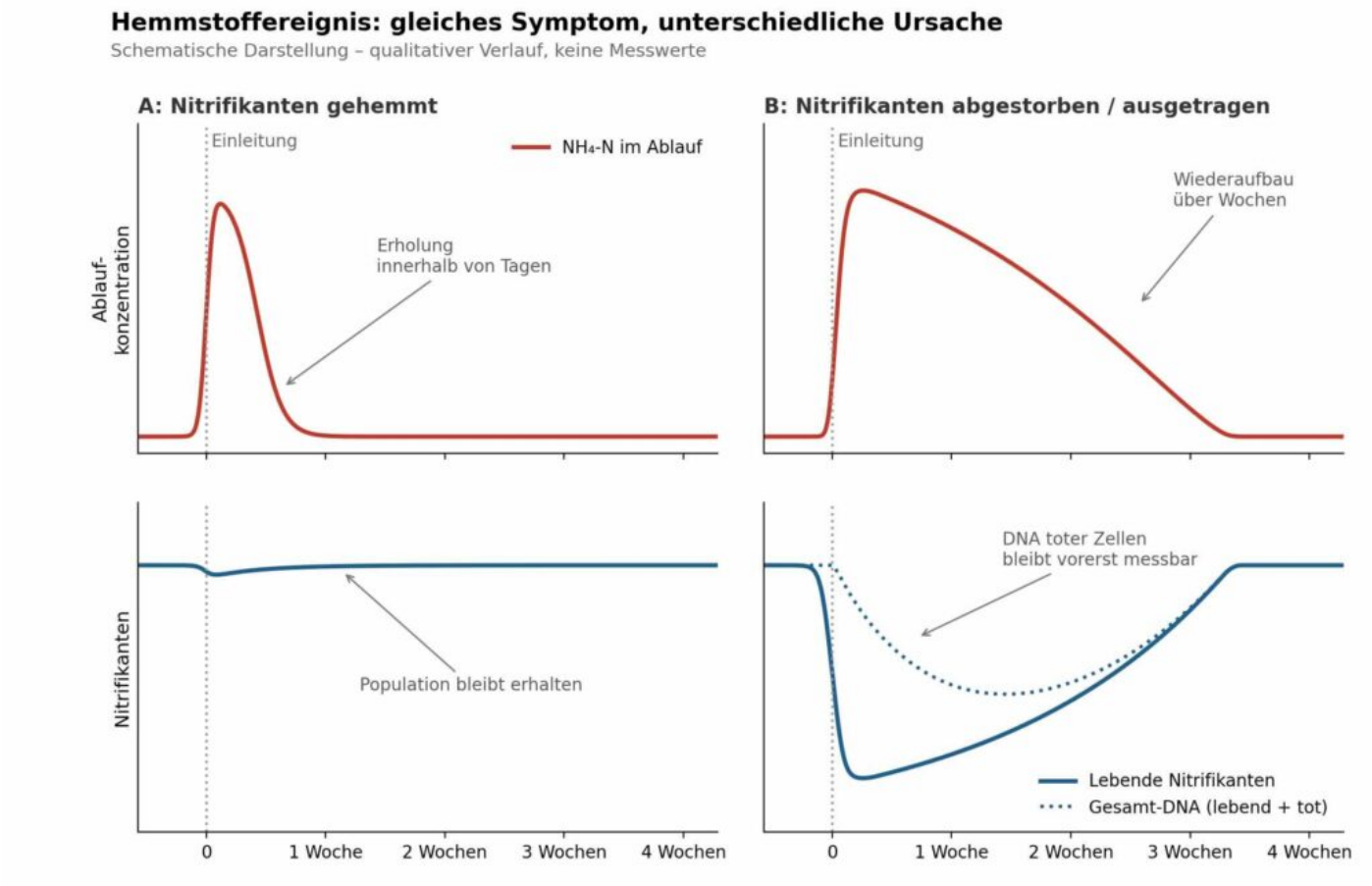
Beispiel: Nitrifikation einer kommunalen Kläranlage im Jahresverlauf



Grafik: Im Sommer ist die Nitrifikation normalerweise meist stabil, die Population hat eine deutliche Reserve. Mit der Abkühlung im Herbst geht die Zahl lebender Nitrifikanten zurück,

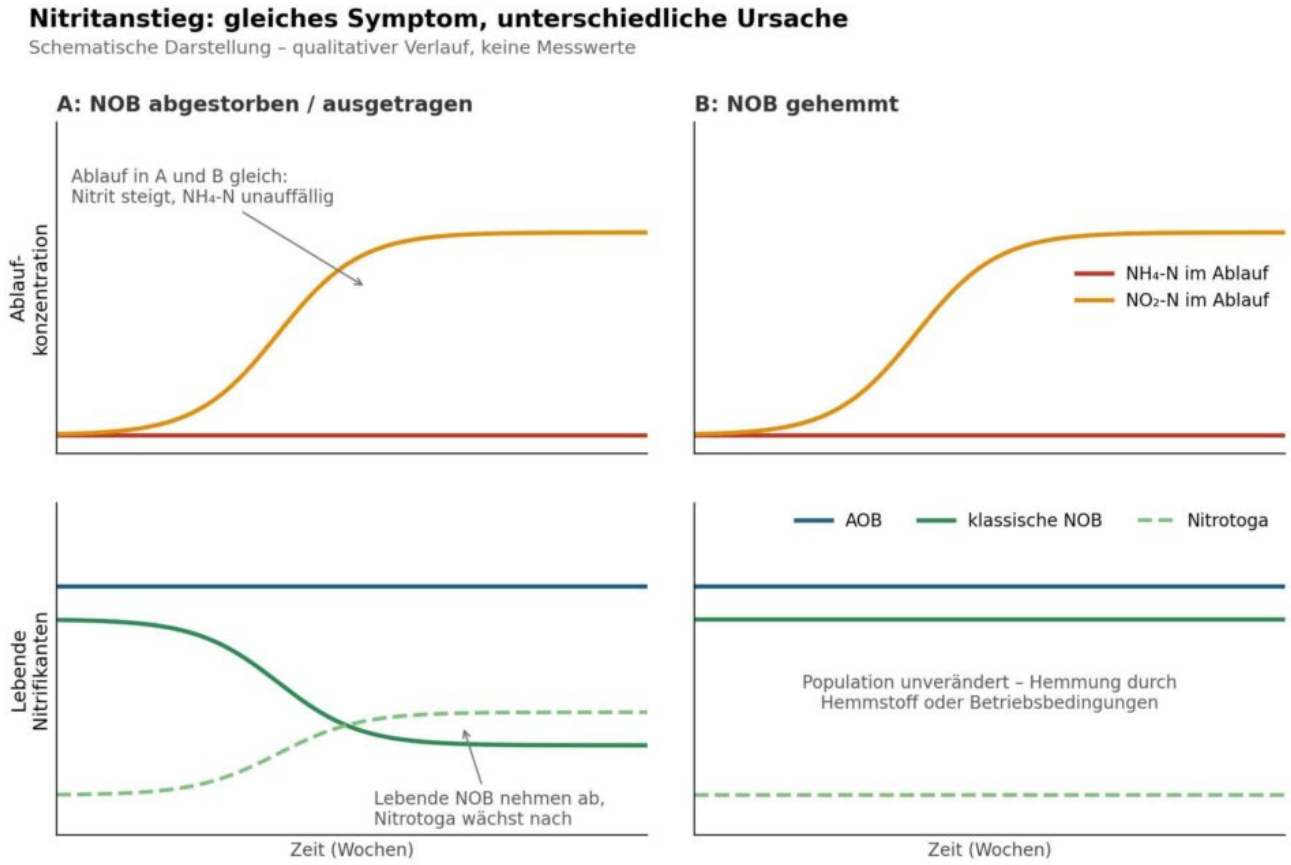
während die Ablaufwerte noch unauffällig bleiben. Ob Nitrotoga dabei zu- oder abnimmt, ist anlagenspezifisch: In manchen Anlagen wächst Nitrotoga im Frühjahr und Sommer und ist im Winter kaum noch nachweisbar.

Beispiel: Hemmstoffereignis in der Nitrifikation



Grafik: Nach einer Einleitung bricht die Nitrifikationsleistung innerhalb von Stunden ein. Ob der Abwasserbetrieb nur das Ende der Hemmstoffwirkung abwarten muss oder mit wochenlangem Wiederaufbau rechnen sollte, hierüber gibt der Anteil lebender Nitrifikanten nach der qPCR-Analyse Auskunft.

Beispiel: Nitritanstieg im Ablauf



Grafik: Steigt NO_2-N bei weiterhin unauffälligem NH_4-N, liegt die Störung meist bei den NOB. Ein qPCR-Vergleich lebender AOB und NOB im Verlauf zeigt, welcher Fall vorliegt. Ist die Zahl lebender NOB gesunken, sind Zellen abgestorben oder ausgetragen worden, und die Population muss erst wieder aufwachsen. Bleibt sie trotz steigendem Nitrit unverändert, sind die NOB gehemmt – durch einen Hemmstoff oder durch ungünstige Betriebsbedingungen wie Sauerstoffmangel, pH-Wert oder freie salpetrige Säure. Dann erholt sich die Nitritoxidation meist rasch, sobald die Ursache entfällt

Ein Hinweis: auf geschwächte NOB kann auch eine Verschiebung innerhalb der Gruppe sein: Gehen die klassischen NOB zurück, wächst häufig Nitrotoga stärker und besetzt offenbar die frei werdende Nische.

Literatur:

- DWA (2016): Arbeitsblatt DWA-A 131 – Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen. Hennef.

- Daims, H., Lücker, S., Wagner, M. (2016): A new perspective on microbes formerly known as nitrite-oxidizing bacteria. Trends in Microbiology 24, 699–712.
- Lücker, S. et al. (2015): Nitrotoga-like bacteria are previously unrecognized key nitrite oxidizers in full-scale wastewater treatment plants. ISME Journal 9, 708–720.
- Daims, H. et al. (2015): Complete nitrification by Nitrospira bacteria. Nature 528, 504–509.
- van Kessel, M. A. H. J. et al. (2015): Complete nitrification by a single microorganism. Nature 528, 555–559.

Hinweis zur Einordnung dieses Artikels

Dieser Artikel dient als fachliche Orientierungshilfe zur Interpretation von qPCR-Ergebnissen. Er ersetzt keine anlagenspezifische Auswertung und stellt keine verbindliche Handlungsempfehlung dar.

Bei Fragen zur Interpretation Ihrer individuellen Ergebnisse sprechen Sie uns gerne an.

Tel.: 09721 9486610 E-Mail: info@dyena-genetics.de Web: www.dyena-genetics.de

---