

**Herausgebender
Bewilligungsempfänger**

Alfred-Wegener-Institut Helmholtz Zentrum für
Polar und Meeresforschung
Am Handelshafen 12
27570 Bremerhaven
www.awi.de

Nutzung von aktiviertem Klärschlamm als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation in geschlossenen rezirkulierenden Aquakultur- Kreislaufsystemen (AcOMaCs - Activated Particulate Organic Matter as Carbon Source for Denitrification in RAS)

Abschlussbericht zum DBU Projekt 31367/01 Oktober 2018

**Projektlaufzeit:
Projektträger
Verfasser**

01.04.2016 - 31.05.2018 (2 Jahre und 2 Monate)
Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU)
Dr. Matthew J. Slater
Tel.: +0049 (0)471 4831 2727
Email: [mslater@awi.de](mailto:m Slater@awi.de)

Dr. Desislava Bögner
Tel.: 0049-(0)471-4831 – 2735
Email: dboegner@awi.de

MSc. Kai Lorkowski
Tel.: 0049-(0)471-4831 – 2705
Email: kai.lorkowski@awi.de
Alfred-Wegener-Institut Helmholtz Zentrum für
Polar und Meeresforschung
Am Handelshafen 12
27570 Bremerhaven
www.awi.de

**Projektkoordinator /
Projektbearbeitung**

Ratz Aqua & Polymer Technik
Güldenwerther Bahnhofstr. 17
42857 Remscheid

Projektpartner

Hochschule Bremerhaven e. V
Am Lunedeich 12
27572 Bremerhaven

06/02		Projektkennblatt der Deutschen Bundesstiftung Umwelt			
Az	31367	Referat	23	Fördersumme	122.238 €
Antragstitel	Nutzung von aktiviertem Klärschlamm als Kohlenstoffquelle für die Denitrifizierung in geschlossenen Kreislaufsystemen (AcOMaCs - Activated Particulate Organic Matter as Carbon Source for Denitrification in RAS)				
Stichworte	Aquakultur, Kreislauf				
Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)		
26 Monate	01.04.2016	31.05.2018	1		
Zwischenberichte					
Bewilligungsempfänger	Ratz Aqua & Polymer Technik Güldenwerther Bahnhofstr. 17 42857 Remscheid			Tel	02191 349509
				Fax	02191 385510
				Projektleitung Andre Pechura Dipl. UWi	
				Bearbeiter	
Kooperationspartner	Hochschule Bremerhaven, Prof. Dr. Stefan Wittke, Labor für marine Biotechnologie, An der Karlstadt 8, 27568 Bremerhaven Alfred-Wegener Institut Helmholtz Zentrum für Polar- und Meeresforschung Dr. Matt Slater/ Kai Lorkowski - Aquakulturforschung, Wissens- und Technologietransfer, Am Handelshafen 12, 27570 Bremerhaven				
Zielsetzung und Anlass des Vorhabens					
Ein erheblicher Optimierungsbedarf besteht bei der Verwertung der Nährstoffe C, N und P in rezirkulierenden Aquakultur-Kreislaufanlagen (RAS). Viele Nährstoffe verbleiben als Partikel oder gelöst im Prozesswasser und werden nicht vom Fisch genutzt. Ziel des Projektes „AcOMaCS“ ist die Steigerung der ökologischen und ökonomischen Effizienz geschlossener Kreislaufsysteme durch das Recycling von partikulären Abfallstoffen. Durch ein neues Modul soll der bisherige Einsatz einer teuren externen Kohlenstoffquelle durch aktivierten Klärschlamm ersetzt werden.					
Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden					
Zuerst soll im Labormaßstab untersucht werden, wie der Schlamm aus dem Trommelsieb mit Hilfe von Ozon optimal in gelösten Kohlenstoff überführt werden kann. Die optimalen Redoxbedingungen für die effektive Ozonisierung werden auf Basis des freigesetzten Kohlenstoffs bestimmt (C/N Bestimmung). Gleichzeitig wird eine Bilanzierung der Stoffflüsse von Kohlenstoff und Stickstoff an einem Kreislauf des Zentrums für Aquakulturforschung (ZAF) mit konventioneller Denitrifikation durchgeführt. Diese Bilanzierung wird von einer Identifizierung, Quantifizierung und Bilanzierung der vorhandenen Proteine und deren Aminosäuren durch die Hochschule Bremerhaven (HS-BHV) begleitet. Unter Berücksichtigung der gewonnenen Erkenntnisse wird von der Firma RATZ in Aufgabe A4 der Prototyp eines Ozonisierungsreaktors konstruiert und bis zum Ende des Arbeitspakets A (neun Monate nach Projektbeginn) gefertigt. Dieser wird in ein laufendes RAS System eingebunden und der Betrieb optimiert. Das AWI wird eine vergleichende Bilanzierung der Stoffflüsse von Kohlenstoff und Stickstoff durchführen und den Energiebedarf des Ozonreaktors im Praxistest ermitteln. Die Hochschule Bremerhaven wird die quantitative und qualitative Leistung des Abschäumers mit dem konventionellen Kreislaufsystem vergleichen und ermitteln, ob es zu einer Veränderung in der Proteinzusammensetzung im Abschaum kommt. Für die Analytik kann im Rahmen des Projekts auf Standardmethoden zurückgegriffen werden, die am AWI und der Hochschule Bremerhaven etabliert sind: pH, Redox, Temp., Leitfähigkeit, Stromverbrauch, Feinwägungen, photometrische Analytik für Nährstoffe, C/N-Analysen sowie Aminosäure- und Proteinanalysen.					
Deutsche Bundesstiftung Umwelt • An der Bornau 2 • 49090 Osnabrück • Tel 0541/9633-0 • Fax 0541/9633-190 • http://www.dbu.de					

Ergebnisse und Diskussion

Ziel 1: Effekte der Ozon Behandlung auf Klärschlamm und Schaum:

Ozon-Behandlung führte zu einer signifikanten Erhöhung des Kohlenstoffgehalt, des pH-Wertes, sowie der organischen Stickstoffverbindungen und anorganischen Ammonium im gelösten Zustand des Schlammes. Außerdem sind in Übereinstimmung mit der Literatur ein Abbau von Nitrit sowie eine Reduktion der Trübung auf diese Behandlung zurückzuführen.

Ziel 2: Denitrifikationsrate mit Ozon-behandeltem Schlamm im Labormaßstab:

Eine Anwendung des aktivierten Klärschlammes als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation wurde auf Labormaßstab erfolgreich getestet, zeigte jedoch, dass einen vollständigen Ersatz der kommerziellen Kohlenstoffquelle nicht möglich war. Nichtsdestotrotz konnte ein Ersatz von bis ca. 50% aufgezeigt werden, die eine akzeptable Kosteneinsparung bezüglich der Nutzung von kommerziellen Kohlenstoffquellen im RAS System entspricht.

Ziel 3: Vergleichende Bilanzierung der RAS System mit laufendem Prototyp: Auswirkungen der Verwendung eines Prototyps zur Ozonbehandlung von Klärschlämmen auf die Wasserparameter in einem laufenden RAS: Unter alleiniger Anwendung einer kommerziellen Kohlenstoffquelle und unter Anwendung zweier Quellen (Ozonbehandelter Schlamm unter Zugabe von Acetol), wurde die Leistung des Systems verglichen. Die erfolgreiche und optimierte Einbindung eines pH-gesteuerten Prototyps für die Ozonisierung des Schlammes an einem laufenden RAS System auf pilotmaßstab erlaubte eine Bilanzierung der Kohlenstoff und Stickstoffverbindungen des Systems. Bilanzierungsstudien im Rahmen der Aquakultur sind selten und bieten relevante Daten, die zur besseren Steuerung und zur Erkennung von notwendigen Betriebsänderungen an Aquakulturanlagen durchführen.

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Veröffentlichungen: Bögner, D. et al. (2018) Sludge Pre-Treatment through Ozone Application: Alternative Sludge Reuse Possibilities for Recirculating Aquaculture System Optimization, Ozone Science and Engineering, in press, DOI: 10.1080/01919512.2018.1510765

Bögner, D. et al. Ozone-activated sludge as alternative carbon source for denitrification: a pilot study using batch reactors. In prep.

Bögner, D. et al. What comes in and what comes out of a RAS: a budgeting study of a system rearing *Dicentrarchus labrax* with and without ozone-treated sludge as carbon source for denitrification. In prep.

Vorträge: Boegner, D., et al. (2018) Up-scaling Ozone treated sludge as carbon source for denitrification: from the lab to RAS working at commercial scale. World Aquaculture Society Conference, 27 - 29 August Montpellier, France.

Boegner, D., et al. (2017) Sludge composition during Ozone activation: preliminary results of its reuse capabilities as C - source for denitrification. Aquaculture Europe 2017, 17 - 20 Oct. Dubrovnik, Croatia.

Boegner, D., Schmachtl, F., Linden, C., Wildfoster, L., Lorkowski, K., Wittke, S., Slater, M.J. (2016). Activated particulate organic matter as a carbon source for denitrification in RAS. LACQUA World Aquaculture Society Latin-American Aquaculture Conference, 29 Nov-01 Dec 2016. Lima Peru.

Fazit

Insgesamt wurden alle Versuche erfolgreich durchgeführt und abgeschlossen. Die Ozonisierung vom Klärschlamm war erfolgreich in der Aufschlüsselung von Kohlenstoff die dann als Quelle für die Denitrifikation diente. Einen Abbau von Stickstoffverbindungen, vor allem Nitrat unter Anwendung von ozonisiertem Klärschlamm wurde erfolgreich vorgewiesen, jedoch war ein kompletter Ersatz des kommerziellen Kohlenstoffquelles nicht möglich. Die erfolgte Installation und Optimierung eines Prototyps für die Ozonisierung des Schlammes ausgerüstet und eine nach pH-Wert gesteuerte Ozonisierung erlaubte eine Bilanzierung des Systems. Das Projekt entwickelte ein System zur erfolgreichen Aufschlüsselung und Aktivierung vom Klärschlamm aus der Kreislaufaquakultur durch Ozonisierung. Der Schlamm wurde erfolgreich chemisch untersucht, und konnte erfolgreich als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation auf angewendet werden.

Inhalt

1. Zusammenfassung	3
A. Grundlegende Prämisse - Wissenschaftlicher und technischer Stand	4
B. Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden.....	7
2. Ergebnisse und Diskussion	8
A. Erzielte Einzelergebnisse.....	8
B. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit.....	23
C. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit des Ergebnisses.....	24
D. Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen.....	24
3. Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation	25
A. Erfolgte Veröffentlichungen des Ergebnisses	25
B. Geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses	25
4. Fazit	25
5. Literatur	26

1. Zusammenfassung

Ein erheblicher Optimierungsbedarf besteht bei der Verwertung der Nährstoffe C, N und P in rezirkulierenden Aquakultur-Kreislaufanlagen (RAS). Viele Nährstoffe verbleiben als Partikel oder gelöst im Prozesswasser und werden nicht vom Fisch oder der bakteriellen Flora des Systems genutzt. Ziel des Projektes „AcOMaCS“ war die Steigerung der ökologischen und ökonomischen Effizienz geschlossener Kreislaufsysteme durch das Recycling von partikulären akkumulierenden Abfallstoffen (Klärschlamm). Durch ein neues Modul sollte der bisherige Einsatz einer teuren externen Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation durch Ozon-aktivierten Klärschlamm ersetzt werden.

In dem Projekt sollten folgende Forschungsfragen zur Nutzung von Ozon als Desintegrationsmethode von partikuläre Nährstoffe im System untersucht werden:

1. Welche Effekte hat die Ozon-Behandlung auf den Inhalt der im Klärschlamm enthalten Nährstoffe und auf die Wassermatrix sowie auf den vom Eiweißabschäumer produzierten Schaum?
2. Welche Denitrifikationsrate kann mit Ozon-behandelten Schlamm erreicht werden?
3. Welche Auswirkungen hat die Verwendung eines Reaktors zur Ozonbehandlung von Klärschlämmen auf die Wasserparameter in einem laufenden RAS?

Insgesamt wurden alle Versuche erfolgreich durchgeführt und abgeschlossen. Die Ozonisierung vom Klärschlamm war erfolgreich in der Aufschlüsselung von Kohlenstoff die dann als Quelle für die Denitrifikation diente. Einen Abbau von Stickstoffverbindungen, vor allem Nitrat unter Anwendung von ozonisiertem Klärschlamm wurde erfolgreich vorgewiesen, jedoch war ein kompletter Ersatz des kommerziellen Kohlenstoffquelles nicht möglich. Die erfolgte Installation und Optimierung eines Prototyps für die Ozonisierung des Schlammes ausgerüstet und eine nach pH-Wert gesteuerte Ozonisierung erlaubte eine Bilanzierung des Systems.

Das Projekt wurde auf zwei internationalen Veranstaltungen präsentiert. Es wurden verschiedene Arbeiten wie Praktika und Abschlussarbeiten in das Projekt integriert. Eine Veröffentlichung liegt vor und zwei weitere Manuskripte sind in Bearbeitung.

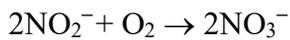
A. Grundlegende Prämisse - Wissenschaftlicher und technischer Stand

Aquakulturprodukte spielen eine sehr große Rolle hinsichtlich der Erzeugung hochwertiger Lebensmittel und Versorgung mit qualitativ hochwertigen Proteinquellen. Die Produktion basiert auf unterschiedlichen Methoden, wobei RAS als sehr effizient und umweltschonend angesehen sind. Basis hierfür ist das Recycling von Wasser im System durch die Verwendung von Filtrations- und Reinigungsmethoden um die Qualität des Halterungswassers auf einem hohen Niveau zu halten. Täglich werden weniger als 10% des Wasservolumens in RAS erneuert. Permanent werden Verbesserungen unternommen, um den Energieverbrauch und den Wasserverlust zu minimieren, ohne die Qualität des Endprodukts zu gefährden.

Bei der Wasseraufbereitung in RAS werden folgenden Methoden benutzt:

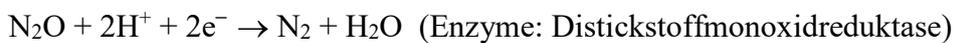
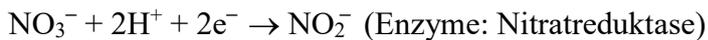
- Eine Feststoffseparation über Trommelfilter. Groben partikuläre Stoffe werden aus dem Prozess entfernt. Dies sind zum größten Teil Futterreste und Ausscheidungen der Fische.
- Der Eiweißabschäumer entfernt Proteinkomplexe, Mikroorganismen (z.B. potenzielle Pathogene) sowie gelöste organische und anorganische Substanzen im Halterungswasser. Es wird ein Gemisch feiner Blasen aus Luft und Ozon generiert, auf deren Oberfläche diese Stoffe anhaften und als Schaum abgesondert werden.
- Biologische Filter werden verwendet um durch Nitrifikation und Denitrifikation gelöste Stickstoffverbindungen im System in ungiftige Verbindungen umzuwandeln und zu entfernen.

Durch den Stoffwechsel bzw. die Ausscheidung der Fische sammelt sich Ammonium (NH_4^+) im System an. Chemolithotrophe nitrifizierende Bakterien der Gattung *Nitrosomonas* wandeln unter oxidischen Bedingungen Ammonium zuerst in Nitrit (NO_2^-) und in einen zweiten Schritt, durch Bakterien der Gattung *Nitrobacter*, zu Nitrat (NO_3^-) um, welches sich im höheren Konzentrationen negativ auf die Kulturorganismen auswirkt. Der Prozess verläuft durch folgende Reaktionen mit der Übertragung von 8 Elektronen durch die Elektronentransportkette, welche mit der ATP Synthese dieser Mikroorganismen verbunden ist (Madigan, Martinko et al. 2006):



Drei Enzyme sind dafür zuständig: Ammoniummonooxygenase, Hydroxylamine-Oxidoreduktase und Nitrit-Oxidoreduktase. Da der energetische Gewinn in diesen Reaktionen durch ähnliche Reduktionspotential der Reaktanten eingeschränkt wird, ist die Wachstumsrendite der nitrifizierenden Bakterien gering und viele dieser Mikroorganismen wachsen auch chemoorganotrophisch mit Glukose oder anderen organischen Verbindungen.

Denitrifizierenden Bakterien (z.B. *Bacillus*, *Pseudomonas Stutzeri*, *Paracoccus denitrificans*) wandeln unter anoxischen oder hypoxischen Bedingungen Nitrit und Nitrat in molekularem Stickstoff (N_2) um, der aus dem System entgast. Die Denitrifikation läuft unten folgenden Reaktionen (Zumft 1997):



Denitrifizierenden Organismen sind auf Kohlenstoffquellen angewiesen, um die benötigte Energie für diesen Prozess zu gewinnen. Abhängig von der Verfügbarkeit der Kohlenstoffquelle, pH, Licht und Sauerstoff Bedingungen, können auch toxische Zwischenprodukte durch unvollständige Reduktion von Nitrat akkumulieren.

Kohlenhydrate, organische Alkoholen, Aminosäuren und Fettsäuren können bei unterschiedlichen C:N Verhältnisse als natürliche Kohlenstoffquelle benutzt werden. Dieses Verhältnis muss individuell für jede Kohlenstoffquelle bestimmt werden, um den Prozess regulieren zu können. Bei eingeschränkter Verfügbarkeit der Kohlenstoffmenge werden meistens Zwischenprodukte akkumulieren während beim Kohlenstoffüberschuss eine dissimilierende Reduktion von Nitrat zu Ammonium durch anaerobischen fakultativen Bakterien gefördert wird.

Externe Kohlenstoffquellen für den Denitrifikationsfilter erhöhen die Produktionskosten eines RAS. Kommerzielle Kohlenstoffquellen wie Methanol, Ethanol, Essigsäuren oder Acetol werden derzeit hierfür benutzt, weil diese gut von den Bakterien metabolisiert werden können. Es besteht noch Optimierungsbedarf in diesem Bereich, deswegen wird an der Verwendung von alternativen Kohlenstoffquellen, z.B. Melasse oder Schlamm Fermentierung geforscht. Das Abwasser von Aquakulturanlagen hat in der Regel bis 1000 mg/L Gesamtfeststoffgehalt, 100 mg/L davon als ungelöste kleine Partikeln (sogenannte Suspended solids, größtenteils organischen Verbindungen), 290 mg/L sind durch Filtration trennbaren organischen Verbindungen (bestimmt durch Gewicht Verlust nach Zündung der Filtern), und 690 mg/L sind feste anorganische Rückstände (Mineralien) (Ghaly, Kamal et al. 2005).

An zwei Stellen eines RAS werden Abfallstoffe vom System abgeführt: am Trommelfilter, wo Klärschlamm aus den partikulären Resten von Futter- und Ausscheidungsstoffe der Fische abgesondert wird; und am Abschäumer, wo der Abschaum aus oxidierten Proteinen bestehend, entfernt wird (Abb. 1).

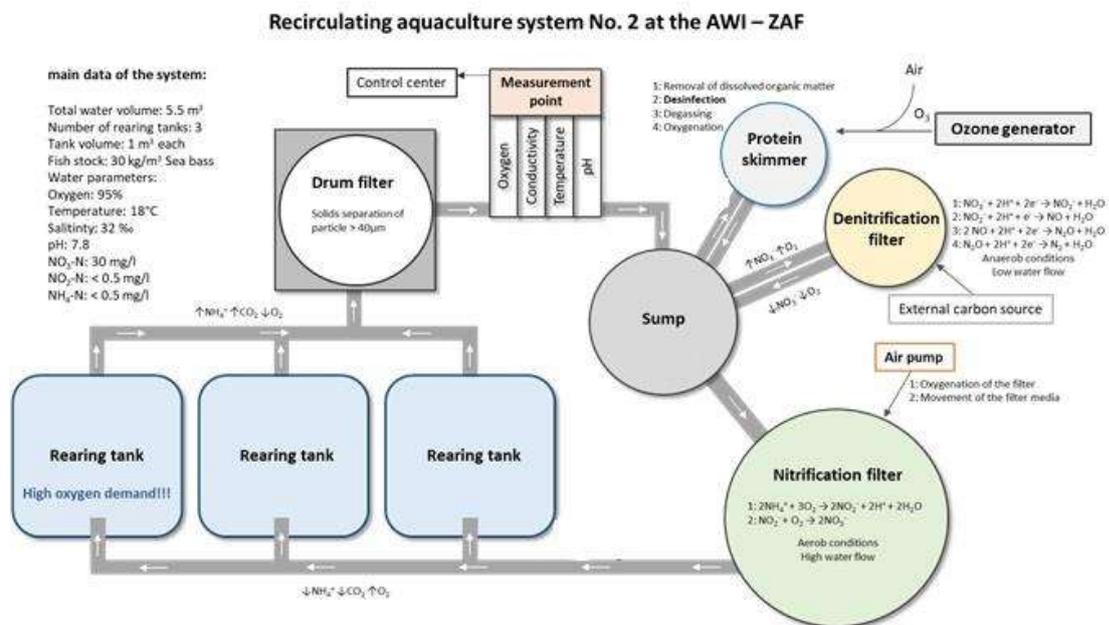


Abbildung 1. Darstellung des im Projekt genutzten Kreislaufsystems im Zentrum für Aquakulturforschung, AWI (M. Bögner).

Erhebliche Mengen von Kohlenstoffverbindungen sind im Klärschlamm enthalten und werden abgeführt. Eine komplette Analyse des Abschaums aus RAS fehlt. Der Kohlenstoffanteil hängt von der Verwertung der zugeführten Nährstoffe durch die Fische und deren partielle Abbau von denitrifizierende Bakterien ab. Partikuläre Reststoffe enthalten komplexe Kohlenstoffverbindungen, die den Denitrifizierungsprozess verlangsamen und ineffektiv machen. Es besteht deswegen Bedarf an der Entwicklung von Vorbehandlungsmethoden, um diese Reststoffe als Kohlenstoffquelle zu nutzen. Hierfür kommen Fermentation und mechanische Desintegration in Frage. Aktivierte Oxidationsprozesse (Advanced Oxidation Processes, AOPs), wie Ozonisierung, können auch dafür eingesetzt werden.

AOPs sind chemische Reaktionen, die bereits in der Wasseraufbereitung genutzt werden. Diese Verfahren basieren auf der Erzeugung von OH-Radikalen (Hydroxyl-Radikale) mit Hilfe von starken Oxidationsmitteln wie z.B. Ozon, Wasserstoffperoxid, oder UV-Strahlung. Durch die starke Reaktion mit OH-Radikalen werden nicht abbaubare belastende Stoffe zu CO_2 mineralisiert oder zu Salzen umgewandelt. Diese Methoden, insbesondere die Ozonbehandlung, bewirken auch eine Entkeimung des RAS.

Da Ozon ein sehr starkes Oxidationsmittel ist, das eine Gefahr für die Fische im Becken und die Bakterien in den Filtern darstellt, ist es notwendig die Wirkung von Ozon auf den Klärschlamm genau zu untersuchen bevor es in einem RAS als Kohlenstoffquelle getestet wird. Ein Vergleich der Inhalte des ozonisierten Klärschlammes mit dem mit Ozon erzeugten Abschaums könnte die Einsatzmöglichkeiten von Ozon in RAS erweitern.

B. Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

Zuerst sollte im Labormaßstab untersucht werden, wie der Schlamm aus dem Trommelsieb mit Hilfe von Ozon optimal in gelösten Kohlenstoff überführt werden kann (entspricht Aufgabe A2). Die optimalen Bedingungen für die effektive Ozonisierung wurden auf Basis des freigesetzten Kohlenstoffs bestimmt (C/N Bestimmung für Klärschlamm Proben und Total Dissolved Organic Carbon/Total Dissolved Nitrogen für flüssigen Proben). Gleichzeitig wurde eine Bilanzierung der Stoffflüsse von Kohlenstoff und Stickstoff an einem Kreislauf des Zentrums für Aquakulturforschung (ZAF) mit konventioneller

Denitrifikation durchgeführt (entspricht Aufgabe A3). Diese Bilanzierung wurde von einer Identifizierung, Quantifizierung und Bilanzierung der vorhandenen Proteine und deren Aminosäuren, sowie von Metallen und Fettsäuren im Abschaum durch die Hochschule Bremerhaven (HS-BHV) begleitet. Die Fettsäurenprofile des ozonisierten Schlammes wurden von AWI Mitarbeiter bei der HS-BHV untersucht. In einem Batch Experiment wurde dann im Labormaßstab bestimmt, welche Wirksamkeit der mit Ozon oxidierte Klärschlamm als Kohlenstoff für die Denitrifikation hat, um die Bedingungen zu bestimmen, die später bei der Verwendung der Ozonbehandlung von Klärschlämmen in einem RAS zu erwarten sind. Unter Berücksichtigung der gewonnenen Erkenntnisse wurde von der Firma RATZ (entspricht Aufgabe A4) der Prototyp eines Ozonisierungsreaktors konstruiert und bis zum Ende des Arbeitspakets A gefertigt. Dieser wurde in ein laufendes RAS System eingebunden und der Betrieb getestet und optimiert (entspricht Aufgabe B1 und B2). Das AWI hat eine vergleichende Bilanzierung der Stoffflüsse von Kohlenstoff und Stickstoff durchgeführt und den Energiebedarf des Ozonreaktors im Praxistest ermittelt (Entspricht Aufgabe B3). Die HS-BHV hat die Nährstoffzusammensetzung des Schaums aus dem Abschäumer nach der Ozon Behandlung mit dem konventionellen Kreislaufsystem verglichen und ermittelt, ob es zu einer Veränderung in der Zusammensetzung bzw. Mengenverteilung der Proteine, Fettsäuren und Metalle kommt. Für die Analytik konnte im Rahmen des Projekts auf Standardmethoden zurückgegriffen werden, die am AWI und der Hochschule Bremerhaven etabliert sind: pH, DOC-TDN, Temperatur, Leitfähigkeit, Stromverbrauch, Feinwiegen, photometrische Analytik für Nährstoffe, C/N-Analysen sowie Aminosäure, Metalle und Fettsäureanalysen. Erweiterte Methodik Anhang 1.

2. Ergebnisse und Diskussion

A. Erzielte Einzelergebnisse

Ziel 1: Effekte der Ozon Behandlung auf Klärschlamm und Schaum.

Die Effekte der Ozonisierung auf den Klärschlamm und die Wassermatrix wurden am AWI untersucht. Die Analyse des Schaumes wurde an der Hochschule Bremerhaven im Rahmen einer Masterarbeit durchgeführt. Für die Analyse des Klärschlammes und der Wassermatrix wurden zwei Batch- Experimente durchgeführt. Dafür wurde Klärschlamm aus einem RAS im ZAF in einem Polyethylenzylinder gesammelt und dieser später im Labor genutzt (Abb.2).

Für die Ozon Behandlung wurden 400 ml des Klärschlammes in Duran Glas Flaschen gefüllt (Abb.3a) und durch einen Ozon-beständigen Schlauch und ein Glas- Gasrohr mit einer Porosität von 100-160 μm begast (Abb. 3b). Hierfür wurden Ozon Generatoren (Certizon C300, Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH, Kapazität: 300 mg Ozon/Stunde) mit einer Dosis von 5 mg $\text{O}_3/\text{L}/\text{min}$ benutzt (Abb.3c). Trockene Luft wurde mithilfe einer Pumpe und Silikagel erzeugt. Von der Pumpe wurde die Raumluft durch das Silikagel geleitet und direkt an den Ozon- Generatoren weitergeführt (Abb.3d).



Abbildung 2. Kreislauf 2.1.1 im ZAF, ausgerüstet mit einem Klärschlammssammler (Sludge collector) und einem Schaumsammler (Foam collector).

Drei Duran Glasflaschen mit destilliertem Wasser wurden als Blank benutzt und vier Glasflaschen (1L) als Waschflaschen für die Begasungseinheiten genutzt (Abb.3d). Als Nullprobe (Kontrolle) wurden 3 Flaschen mit unbehandeltem Schlamm befüllt und ebenfalls zu den Probenahmezeiten beprobt.

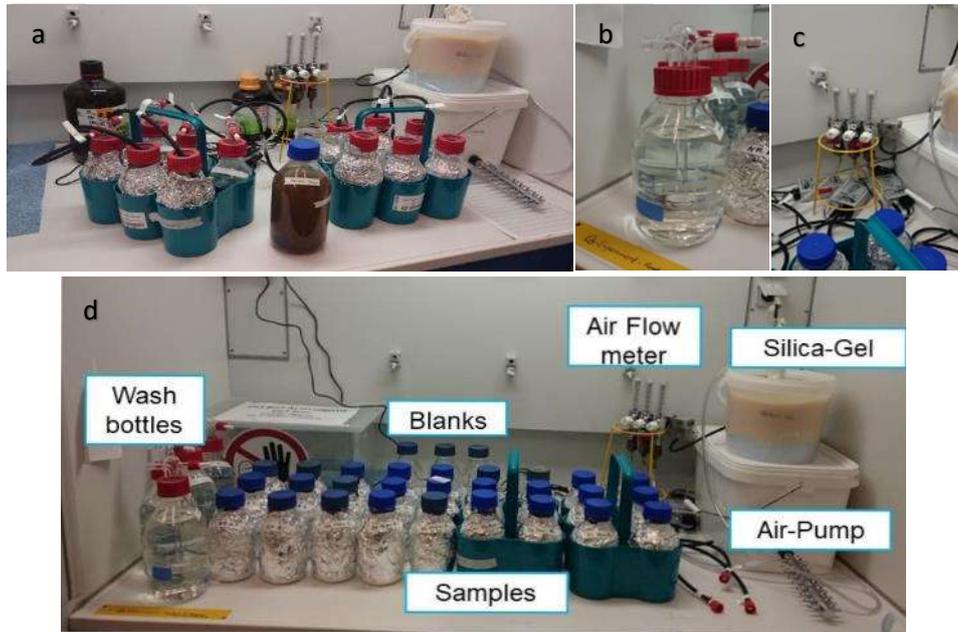


Abbildung 3. Setup des Ozonisierungsexperimentes im Labor des AWI.

Nach der Ozonbehandlung wurde in jeder Probe (Test und Kontrolle) pH, Leitfähigkeit und Sauerstoffgehalt gemessen und eine 45 ml Teilprobe für DOC/TDN (flüssigen Anteil), C:N Gehalt (in festen Anteil) und Fettsäureanalytik (flüssigen und festen Anteile) vorbereitet. Die Proben wurden zentrifugiert und nach der DOC/TDN Analyse für nachfolgende Analysen gefriergetrocknet. DOC/TDN wurde mit einem Shimadzu TOC-VCSH + TNM-1 Analyser, ausgestattet mit einem ASI-V Autosampler, gemessen und die C:N Analyse wurden mit einem Elementary Analysator EuroEA (HEKA tech GmbH) durchgeführt. Für die Bestimmung der Fettsäure Profile wurde ein GC Agilent 6890 N Gaschromatograph mit Combi PAL Autosampler (CTC Analytics) genutzt und nach dem Arbeitsprotokoll von Folch, Lees et al. (1957), Koch (2012) und Wildförster (2014) modifiziert, angewendet.

Zuerst wurden die Effekte der Ozonbehandlung in einen Zeitraum von bis zu 30 Minuten untersucht. Dieser Endpunkt wurde aufgrund der relativ hohen Kosten der Ozonerzeugung ausgewählt. DOC/TDN und C:N der festen Bestandteile des Schlammes sind nach 20 Minuten Behandlung angestiegen (Abb.4).

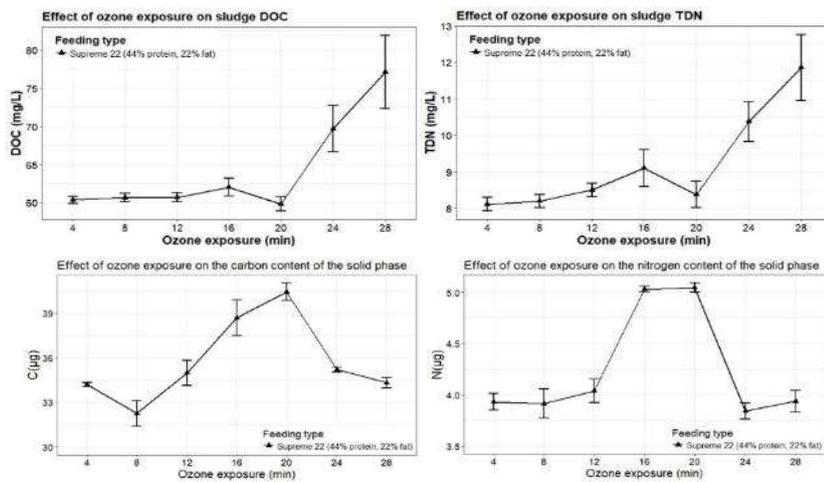


Abbildung 4. Kohlenstoff und Stickstoffgehalt in dem flüssigen (*sludge*) und festen (*solid phase*) Anteilen des Klärschlammes (ermittelt durch DOC/TDN bzw. C:N).

Die Wassermatrix (flüssigen und festen Anteilen zusammen) zeigte auch einen erhöhten pH-Wert mit hoher Variabilität, keine Muster in dem Verlauf der Phosphat- Konzentration, sowie steigenden Konzentrationen von Nitrit und Ammonium. Auf Grund der stagnierenden DOC in dem flüssigen Anteil der Proben, der interessant für das Ziel des Projektes war, wurde ein zweites Experiment unter denselben Bedingungen gemacht, in dem die maximale Behandlungsperiode einer Stunde war.

Insgesamt führte die Ozon-Behandlung zu einer signifikanten Erhöhung des Kohlenstoffgehalt, des pH-Wertes, sowie der organischen Stickstoffverbindungen und anorganischen Ammonium im gelösten Zustand. Außerdem sind in Übereinstimmung mit der Literatur ein Abbau von Nitrit sowie eine Reduktion der Trübung auf diese Behandlung zurückzuführen (Abb. 5).

Bougrier, Battimelli et al. (2007) gab an, dass nur 5% des Klärschlammes angreifbar für Ozon ist. Diese Autoren haben herausgefunden, dass die oxidierbaren gelösten Stoffe die Ozonisierung verlangsamen und die Dosierung von Ozon beeinträchtigen. Besonders unerwünscht in diesem Sinn ist die komplette Mineralisierung von kurzkettigen Kohlenstoffverbindungen, die nutzbar für die Bakterien wären. Kurzkettigen Fettsäuren, die von Bedeutung für die Denitrifikation wären, wurden nicht gefunden.

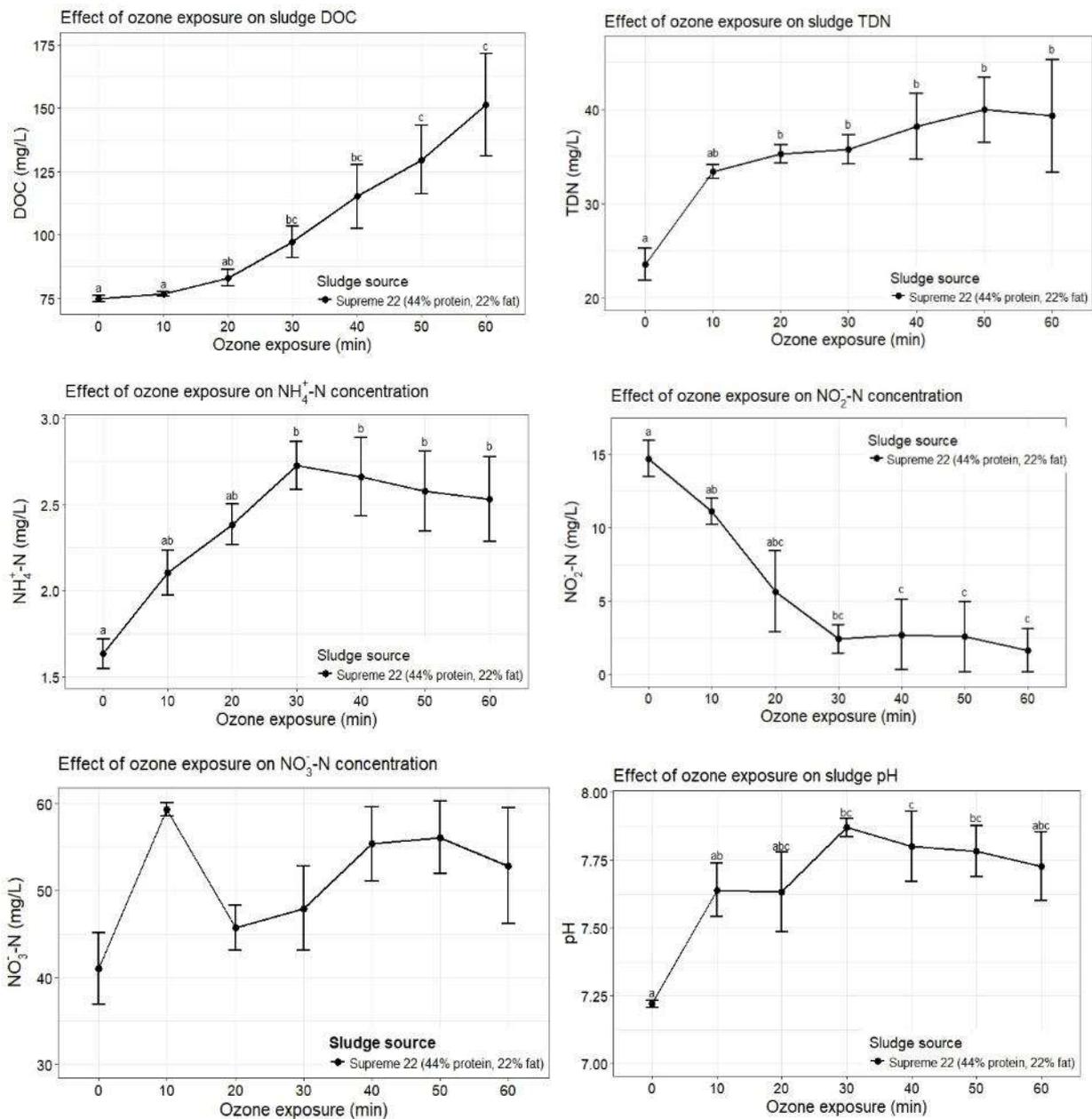


Abbildung 5. Verlauf der Kohlenstoff und Stickstoff Konzentrationen sowie des pH-Wertes während der Behandlung mit Ozon.

Die Analyse der Fettsäuren der Proben zeigte, dass der überwiegende Teil der Fettsäuren in gelöster Form vorlag (Abb. 6). In der flüssigen Phase des Schlammes sind meistens gesättigte Fettsäuren (SAFA) im Vergleich zu einfach (MUFA) oder mehrfach (PUFA)

ungesättigten Fettsäuren zu finden waren und deren Verhältnis sich nach 20 min Ozon Behandlung steigerte und die größten Unterschiede nach 40 und 60 Minuten Ozonisierung vorlagen (Tabelle 1). Andererseits gab es in den festen Phase der unbehandelten Proben vergleichbare Konzentrationen diesen Gruppen von Fettsäuren.

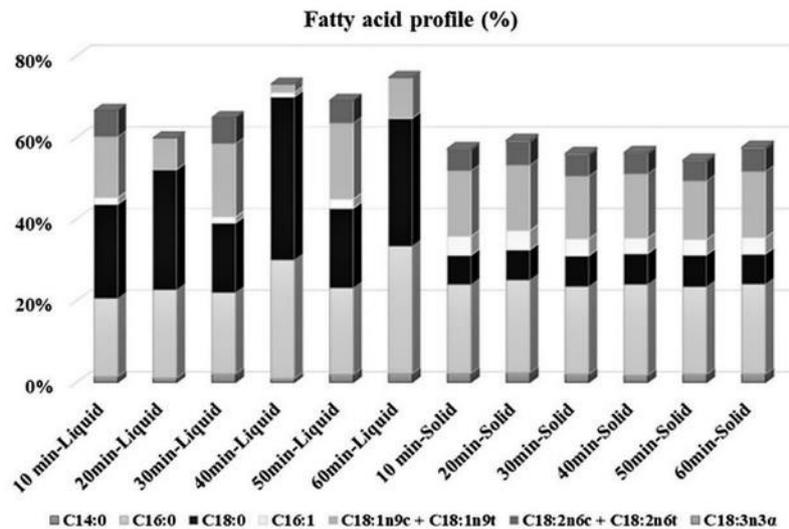


Abbildung 6. Fettsäuren Profil der flüssigen und festen Phasen des Klärschlammes nach unterschiedlichen Ozon Behandlung (von 10 bis 60 min).

SAFA in der festen Phase des Klärschlammes sind widerstandsfähig gegenüber Ozon während ungesättigte Fettsäuren aufgebraucht werden, möglicherweise durch den Effekt von Ozon auf Doppelbindungen in deren Struktur (Silvestre, Ruiz et al. 2015). Abhängig von der Konzentration des Klärschlammes ist es möglich, eine lineare Korrelation zwischen der Ozondosierung und der Konzentration von langkettige Fettsäuren in dem Abwasser von Ozon-behandelte Schlamm herzustellen (Silvestre, Ruiz et al. 2015). Die Menge an Fettsäuren war in dieser Studie abhängig von der Empfindlichkeit zum Ozon.

Für die Steuerung des späteren Prototyps war zunächst eine Steuerung der Ozonisierung über das Redoxpotential angedacht. Bei den Vorversuchen zeigte sich jedoch eine hohe Fehleranfälligkeit bei der Redoxmessung. Der pH-Wert hingegen zeigte einen ansteigenden Verlauf der zuverlässig messbar war. Entsprechend wurde der pH-Wert als Steuergröße für den Prototyp ausgewählt.

Der vom Eiweißabschäumer produzierten Schaum wurde von unserem Partner der Hochschule Bremerhaven analysiert. Das Hauptziel diese Analyse war die Bilanzierung jegliche Verluste vom System vor und nach der Einsetzung des Prototyps. Die Resultate dieser Analysen werden als separate Dokument von unserm Partner geliefert.

Tabelle 1. Fettsäure Profil der flüssigen und festen Phasen des Klärschlammes nach unterschiedlichen Ozonbehandlung (10 - 60 Minuten). Mittelwerte als µg FA/g Probe ± Standardabweichung. In fetter Schrift: Fettsäuren mit >5%.

Kettenlänge	%	Mittelwert (µg/g)	%	Mittelwert (µg/g)	%	Mittelwert (µg/g)	%	Mittelwert (µg/g)						
Probe	Ohne Ozon	10 min Ozon	20 min Ozon	30 min Ozon	40 min Ozon	50 min Ozon	60 min Ozon							
	Festen Anteil	Festen Anteil	Festen Anteil	Festen Anteil	Festen Anteil	Festen Anteil	Festen Anteil							
C10:0	0,04%	12±0	-	-	-	-	-	-	-	0,03%	7±0	0,03%	8±0	
C12:0	0,21%	33±16	0,23%	30±9	0,31%	45±6	0,20%	29±7	-	-	0,17%	22±8	0,14%	20±8
C13:0	0,04%	13±0	-	-	0,03%	9±0	0,06%	9±1	-	-	0,04%	9±0	0,02%	5±0
C14:0	2,18%	344±51	2,21%	293±32	2,39%	354±36	2,04%	287±30	1,76%	238±56	2,06%	268±18	2,09%	301±10
C15:0	0,80%	125±9	0,73%	97±4	0,75%	110±6	0,71%	100±3	0,64%	86±11	0,69%	90±1	0,76%	110±3
C16:0	22,20%	3487±176	21,76%	2902±55	22,69%	3367±473	21,45%	3008±110	22,23%	3003±317	21,38%	2787±33	21,98%	3160±75
C16:1	5,10%	801±49	4,66%	621±13	4,72%	700±99	4,16%	583±22	3,79%	512±63	3,77%	491±22	4,03%	580±29
C17:0	0,58%	91±1	0,48%	65±6	0,49%	72±12	0,63%	88±5	0,60%	81±8	0,71%	93±18	0,68%	97±6
C18:0	7,64%	1199±38	7,15%	955±4	7,38%	1094±126	7,50%	1051±59	7,52%	1016±76	7,76%	1013±6	7,34%	1055±37
C18:1n9*	16,02%	2516±64	16,05%	2144±57	16,04%	2374±210	15,36%	2152±124	15,76%	2128±171	14,36%	1872±31	16,20%	2330±17
C18:2n6*	5,80%	911±28	5,12%	684±12	5,62%	833±86	5,14%	719±84	4,91%	663±25	4,73%	616±9	5,52%	793±32
C18:3n3α	0,56%	87±2	0,36%	48±10	0,49%	74±22	0,46%	64±8	0,37%	49±3	0,40%	52±3	0,48%	69±1
C20:0	0,96%	151±4	0,72%	96±3	0,81%	120±17	0,92%	129±6	0,87%	118±11	0,91%	119±13	0,95%	137±4
C20:1n9	0,74%	116±0	0,67%	90±16	0,70%	105±18	0,82%	115±16	0,60%	81±0	0,69%	90±5	0,72%	103±3
C20:2	0,09%	28±0	0,11%	29±0	-	-	0,10%	29±0	0,08%	22±0	-	-	-	-
C21:0	0,93%	147±17	0,28%	78±0	0,62%	92±2	0,79%	111±10	0,59%	80±12	0,68%	88±3	0,68%	97±30
C20:3n3	0,70%	109±8	-	-	-	-	-	-	0,34%	46±0	0,52%	68±10	0,46%	66±18
C20:4n6	1,14%	179±5	1,49%	199±9	0,95%	137±43	0,60%	84±0	1,03%	139±6	1,12%	146±13	1,29%	185±3
C22:0/C20:5n3	0,36%	56±10	-	-	0,42%	131±0	1,25%	175±3	-	-	-	-	0,12%	34±0
C22:1n9	-	-	0,11%	29±0	-	-	0,24%	34±13	-	-	0,23%	30±7	0,13%	37±0
C23:0	30,94%	4855±47	35,33%	4721±134	33,10%	4878±24	34,92%	4902±0	36,66%	4951±49	37,41%	4878±24	34,09%	4902±48
C24:0	1,16%	183±4	0,88%	118±25	0,92%	136±0	1,03%	145±7	1,03%	139±21	1,11%	144±9	0,97%	140±5
C22:6n3	0,93%	147±15	0,89%	120±9	0,79%	116±7	0,86%	122±9	0,68%	92±2	0,70%	91±13	0,70%	101±17
C24:1n9	0,89%	139±4	0,79%	106±0	0,79%	116±3	0,74%	105±15	0,54%	73±4	0,55%	72±9	0,63%	91±11
SAFA	37%	-	34%	-	36%	-	35%	-	35%	-	36%	-	36%	-
MUFA	23%	-	22%	-	22%	-	21%	-	21%	-	20%	-	22%	-
PUFA	10%	-	8%	-	8%	-	8%	-	7%	-	7%	-	8%	-
Probe	Ohne Ozon	10 min Ozon	20 min Ozon	30 min Ozon	40 min Ozon	50 min Ozon	60 min Ozon							
	Flüssigen Anteil	Flüssigen Anteil	Flüssigen Anteil	Flüssigen Anteil	Flüssigen Anteil	Flüssigen Anteil	Flüssigen Anteil							
C10:0	1,22%	4±1	0,84%	3±1	1,49%	4±0	1,20%	3±0	1,46%	5±1	0,56%	2±0	0,78%	4±0
C12:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,57%	3±0
C14:0	1,31%	4±2	1,44%	5±1	1,10%	3±0	2,12%	6±0	0,95%	4±0	1,98%	7±3	2,20%	12±2
C16:0	18,46%	63±12	19,13%	73±24	21,56%	54±2	19,89%	56±2	29,05%	105±37	21,17%	80±29	31,19%	165±7
C16:1	2,62%	9±2	1,62%	6±3	-	-	1,46%	8±0	1,06%	8±0	2,24%	17±0	-	-
C17:0	5,35%	19±4	6,17%	23±4	-	-	-	-	-	-	4,51%	17±0	5,63%	30±1
C18:0	20,53%	72±1	23,03%	90±45	29,44%	73±2	17,04%	47±5	39,92%	145±40	19,46%	73±7	31,28%	167±6
C18:1n9*	15,27%	51±26	14,95%	56±11	7,79%	19±2	17,97%	50±0	2,10%	15±0	18,67%	72±41	10,01%	53±7
C18:2n6*	5,08%	32±0	6,44%	24±4	-	-	6,41%	18±0	-	-	5,59%	21±15	-	-
C20:0	-	-	0,97%	6±0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C22:2	0,24%	1±0	-	-	0,07%	0,4±0	-	-	-	-	-	-	-	-
C23:0	26,93%	95±0	25,41%	93±1	38,55%	96±2	33,92%	95±2	25,45%	94±0	25,82%	97±1	18,34%	98±1
C24:0	2,99%	24±0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAFA	49%	-	51%	-	52%	-	39%	-	70%	-	47%	-	71%	-
MUFA	18%	-	17%	-	8%	-	20%	-	3%	-	21%	-	10%	-
PUFA	5%	-	6%	-	0%	-	6%	-	0%	-	5%	-	0%	-

(-)= nicht messbar. C23:0 =Standard verwendet zur Identifikation. SAFA: Gesättigte Fettsäuren; MUFA: einfach- PUFA: mehrfach ungesättigten Fettsäuren

C18:1n9*= Kombination von nicht trennbaren Fettsäuren C18:1n9c + C18:1n9t

C18:2n6*= Kombination von nicht trennbaren Fettsäuren C18:2n6c + C18:2n6t

Ziel 2: Denitrifikationsrate mit Ozon-behandelten Schlamm im Labormaßstab

Zur Überprüfung der Eignung von Ozonbehandelten Schlamm als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation, wurden Batch-Experimente im Labor durchgeführt. Hier wurde die Effektivität der Denitrifikation unter der Zugabe unterschiedlichen Kohlenstoffquellen bestimmt.

Zuerst wurde eine Vorbereitungsphase durchgeführt indem die Reaktoren im Labor akklimatisiert wurden. Die Reaktoren waren 5000 ml Polypropylen Becher mit Deckel und zu 20% mit Filterkörpern befüllt. Kleine Umwälzpumpen sorgen für eine homogene Durchmischung des Reaktors. Die Reaktoren wurden mit dem Wasser aus dem denitrifizierenden Filter des RAS befüllt und mit Kohlenstoff und Nitrat angereichert, um eine gute Ansiedlung der Bakterien zu erreichen. Redoxpotential, pH-Wert, Sauerstoffgehalt, Salinität und Nitratkonzentration würden ständig kontrolliert. Nach vier Monaten wurden konstante chemische Bedingungen in den Reaktoren erreicht. Die optimalen Bedingungen für die Denitrifikation schließen niedrig bis kaum Sauerstoffgehalt, Verfügbarkeit von Nitrat und Kohlenstoff, pH zwischen 7 und 8.5 sowie einem Redoxpotential zwischen -200 und -325 mV (Lee, Lea et al. 2000, Timmons and Ebeling 2013) ein. Diese Bedingungen wurden in den Reaktoren erreicht.

Als zweiter Schritt wurden Vorversuche mit Ozonbehandelten Schlamm durchgeführt um die Bakterien an die alternative Kohlenstoffquelle zu akklimatisieren und zu bestimmen, bei welcher Konzentration des ozonisierten Schlammes die besten Abbauraten erreicht wurden (Abb. 7). Ozonisierter Schlamm (30 Minuten und 60 Minuten) wurde als Kohlenstoffquelle in Versuchsreaktoren getestet. Acetol wurde als Kohlenstoffquelle bei den Kontrollreaktoren eingesetzt. Dabei wurden alle chemische Parameter beachtet, die eine relevante Aussage über den Ablauf der Denitrifikation haben, ebenso wurden die Stickstoffverbindungen aufgenommen. Es wurden unterschiedliche Anfangsbedingungen in den Reaktoren (bezüglich die Menge in ml von Schlamm oder Acetol) in den Reaktoren erzeugt, und die mit Standardlösung eingestellten Nitratkonzentration wurden erprobt (Tabelle 2). Zwischen 30 und 60 Minuten ozonisiertem Schlamm konnten keine Unterschiede in der Abbauleistung festgestellt werden, die Reaktoren mit Acetol zeigten im Vergleich einer höheren Abbauleistung (Abb. 8). Die Filterkörper zeigten eine bessere Bakterienbesiedlung (im Form von erkennbare Bakterienbiofilme) bei Reaktoren die mit ozonisiertem Schlamm versorgt wurden. Ein weiterer positiver Aspekt war ein stabiler pH-Wert und sehr schnell auftretende anaerobe Bedingungen. Bei den Kontrollen sank der pH-Wert zunächst ab und stieg langsam an bis zum stabilisierten Werten um pH 7.7.



Abbildung 7. Versuchsaufbau der einzelnen Denitrifikationsreaktoren.

Tabelle 2. Eingestellte Kohlenstoff und Nitratbedingungen für die Vorversuche der Batch-Experiment.

Sludge:Acetol (ml)	NO ₃ -N(mg/L)
5:1	50
50:5	75
500:1	120

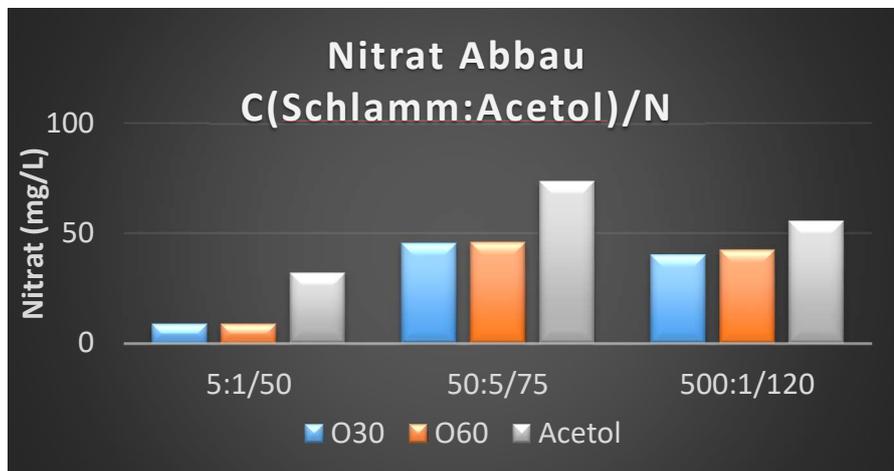


Abbildung 8. Nitratabbau in den Vorversuchen der Denitrifikation Batch Experimente.

Eine Reduktion der Denitrifikationsleistung im Verlaufe der Zeit wurde bei allen Reaktoren beobachtet. Möglicherweise ist dies auf mangelnde Mikronährstoffen zurückzuführen. Aus diesem Grund und unter der Berücksichtigung der erreichten Abbauraten, wurde das Experiment angepasst und ein Volumen-Austausch Experiment durchgeführt.

Bei dem Volumen-Austausch Experiment wurden zuerst alle Filterkörper durchmischt und neu zwischen allen Reaktoren verteilt um gleiche Bedingungen zu beschaffen. In alle Reaktoren wurden zuerst Acetol zugegeben und danach Nitrat-N zugegeben bis einer Konzentration von 50 mg/L Nitrat-N erreicht wurde. Dem Prozesswasser aus dem RAS wurde separat Nitrat zugegeben und über Nacht anaerob inkubiert, um den vorhandenen Kohlestoff abzubauen bevor diese den Reaktoren zugegeben wurde. Der Schlamm würde ein Tag vor der Einsetzung zubereitet (sodass potenziell schädigten Ozonreste abreagieren konnten) und dabei wurde die dazu benutzte Methodologie von Ziel 1 eingehalten. Die Reaktoren wurden zu 10%, 25% und 50% des Volumens mit ozonisiertem Schlamm befüllt und anschließend mit dem Prozesswasserproben auf 100% aufgefüllt. Für jedes Treatment wurden 4 Reaktoren befüllt sowie 4 Reaktoren mit 100% Prozesswasserprobe und 5 ml Acetol als Kontrolle.

Jedem Reaktor wurde die Nitratkonzentration direkt nach der Befüllung und nach 24 Stunden gemessen. Die Relative Abbauwerte wurden aus der Differenz dieser Messungen gerechnet. Diese Prozedur wurde 8 Tage lang wiederholt und täglich Proben für die Bestimmung von DOC/TDN, Nitrit, Ammonium und Phosphat genommen (Tabelle 3). Hierbei wurden die Reaktoren unter ständige Kontrolle der Wasser Parameter gehalten.

Die Ergebnisse zeigten, dass eine Abbaurrate von 31.1 mg/L Nitratstickstoff mit einer 50%igen Füllung der Reaktoren mit ozonisiertem Schlamm erreicht werden kann (Abb. 9). Diese Abbaurrate ist vergleichbar mit dem kommerziellen angewendeten Acetol die als Kontrolle diente.

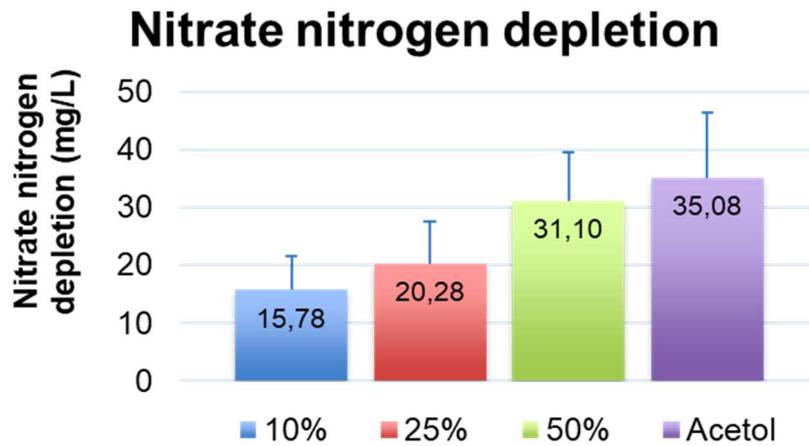


Abbildung 9. Nitrat Abbau in Reaktoren unter unterschiedlichen Anreicherung von ozonisierten Schlamm oder Acetol als Kohlenstoffquelle.

Tabelle 3. Mittelwert der gemessenen Nährstoffe in den Reaktoren des Volumen-Austausch Experiments. IC= nach der Befüllung; FC=nach 24 Stunden, N=8.

Treatment	Kondition	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	DOC (mg/L)	TDN (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)
10%	IC	45.2	127.9	124.1	0.71	2.64
	FC	41.0	69.7	100.7	0.72	3.07
25%	IC	52.6	141.4	116.1	0.57	5.59
	FC	46.3	84.3	91.8	0.71	6.02
50%	IC	66.0	170.5	117.8	0.25	11.08
	FC	57.2	98.6	74.0	0.42	11.35
Acetol	IC	40.7	253.1	81.4	0.49	0.29
	FC	39.6	89.6	58.8	1.88	0.69

Der pH-Wert der Reaktoren war mit den Ergebnissen des Vorversuches vergleichbar (Abb. 10). Eine initiale Versäuerung der Acetol-Reaktoren war messbar. Das Redoxpotential der Reaktoren mit Schlamm war am Anfang niedrig und stieg langsam bis zum optimalen Bereich. Diese Werte widerspiegeln die Anreicherung des Milieus mit komplexen organischen Verbindungen. Trotz Versäuerung hatten die Acetol-Reaktoren stabile optimale Redox Potential Werte von ca. -180 mV, die nach dem Nitrat Verbrauch gesunken sind (Abb. 11). Es gab keine Änderung in Salinität oder Temperatur während dieser Versuche. Der Sauerstoff sank bei den mit Schlamm befüllten Reaktoren sofort auf 0 mg/L während die Kontrollen einen Sauerstoffgehalt zwischen 0.02 und 0.05 mg/L aufwiesen.

Bei einer Befüllung von 50% des Volumens durch Ozon behandelten Schlamm zeigte sich eine Trübung der Wassersäule, die bei allen weiteren Experimenten beobachtet wurde (Abb. 12).

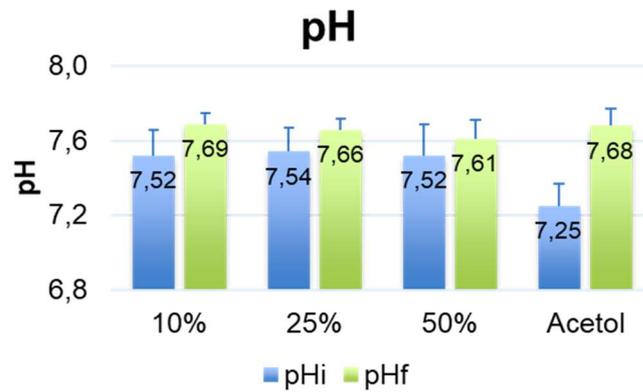


Abbildung 10. pH-Wert am Anfang (pHi) und nach 24 Stunden (pHf) der Anreicherung der Reaktoren mit unterschiedlichen Kohlenstoffquellen und Nitrat.



Abbildung 11. Verlauf der Redox Potential (ORP) nach der Anreicherung der Reaktoren mit unterschiedlichen Kohlenstoffquellen und Nitrat.

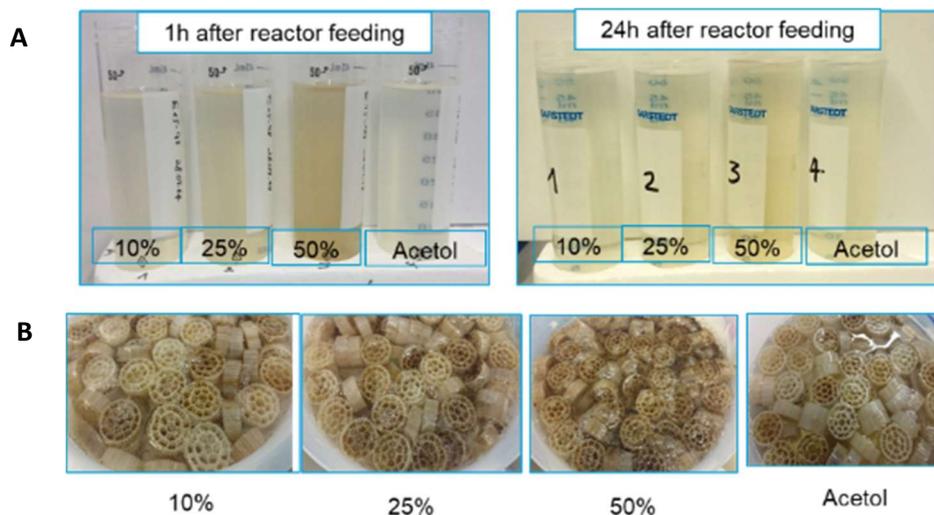


Abbildung 12. A. Trübung am Anfang und nach 24 Stunden der Anreicherung der Reaktoren mit unterschiedlichen Kohlenstoffquellen und Nitrat. B. Eine Darstellung der Status der Filterkörper nach 24 Stunde der Anreicherung.

Ziel 3: Vergleichende Bilanzierung der RAS System mit laufendem Prototyp: Auswirkungen der Verwendung eines Prototyps zur Ozonbehandlung von Klärschlämmen auf die Wasserparameter in einem laufenden RAS.

Als weiteres Experiment wurde ein RAS mit einem Prototyp für die Ozonisierung des Schlammes ausgerüstet und eine nach pH-Wert gesteuerte Ozongenerator installiert. Der Prototyp (Abb. 13) wurde vom Projekt-Partner Ratz Aqua & Polymer Technik gebaut nach Angaben von und in Absprache mit dem AWI-Wissenschaftler und Technikerteam installiert (entspricht Aufgaben A4 sowie B1).

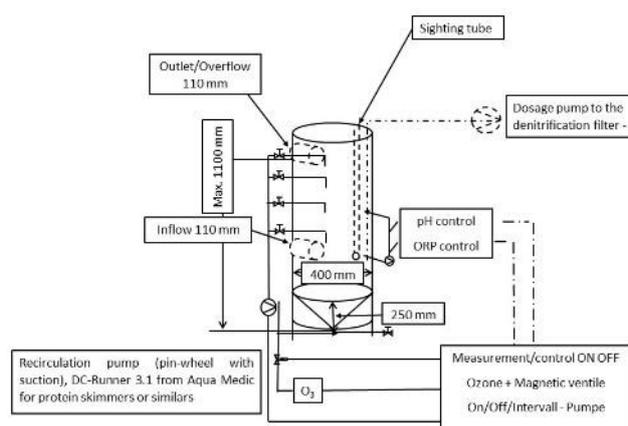


Abbildung13. Diagramm des Prototyps zur Ozonisierung des Schlammes.

Schlamm wurde über ein Inlet vom System in den Prototypen geführt bis das Niveau des Outlets erreicht wurde. Der Ozongenerator / Ozonzufuhr wurde nach Füllung eingeschaltet und lief kontinuierlich bis der pH-Wert den Sollwert erreichte und schließlich die Ozonisierung abgestellt wurde. Der Schlamm wurde während der Ozonisierung durchmischt. In dieser Zeit wurden auch

Reste von Ozon abgebaut, die sonst schädlich für die Bakterien der Denitrifikationsfilter wären. Eine Pumpe führte schließlich einen Teil des flüssigen ozonisierten Schlamm zum Denitrifikationsfilter, um als Kohlenstoffquelle benutzt zu werden.

Das Ziel dieses Arbeitspaket war es, unter alleiniger Anwendung einer kommerziellen Kohlenstoffquelle und unter Anwendung zweier Quellen (Ozonbehandelter Schlamm unter Zugabe von Acetol), die Leistung des Systems zu vergleichen.. Die Ozonisierung erfolgte nach der pH-Steuerung und die so vorbereitete alternative bzw. zusätzliche Kohlenstoffquelle in die Denitrifikation gepumpt. Die Zugabe von Acetol in das System wurde durch pH- und Redox-Werte kontrolliert, sodass nur wenn bestimmte Werte von diesen Parametern erreicht werden, Kohlenstoff nach Bedarf zudosiert wurde. Beim Einsatz von ozonisiertem Schlamm wäre zu erwarten, dass weniger Acetol verbraucht wird.

Ein Vorversuch bei diesem Arbeitspaket war die Beprobung des Klärschlamm und Schaums des Systems für die Fettsäure-, Aminosäure- und Metallanalytik. Dieser Teil des Arbeitspakets wurde von der Hochschule Bremerhaven im Rahmen einer Masterarbeit und als Pilotstudie über das Verhalten des Systems, mit und ohne Einsatz von Ozon-behandeltem Schlamm als Kohlenstoffquelle, umgesetzt. Hier wurde die Abnahme der Nitratkonzentration im System als Indikator einer gelungenen Denitrifikation aufgenommen. Diese Resultate befinden sich detailliert aufgeführt im Teilbericht der HS im Anhang 1.

Basierend auf diesen Resultaten, wurde ein zweites Experiment mit gleichem Design durchgeführt, um die Auswirkung dieses Moduls auf das ganze System zu bestimmen. Dabei wurden täglich Proben von allen Kompartimenten des Systems genommen und Nitrat, Nitrit, Ammonium, Phosphat, DOC und TDN bestimmt. Schlamm- und Schaumproben wurden außerdem auf Total Suspended Solids (TSS) und Trübung beprobt. Diese Variablen dienten der Einschätzung der Menge an Material, die unter beiden Einstellungen (mit und ohne Ozon-behandeltem Schlamm) von dem System ausgetragen werden mussten (Abb. 14).

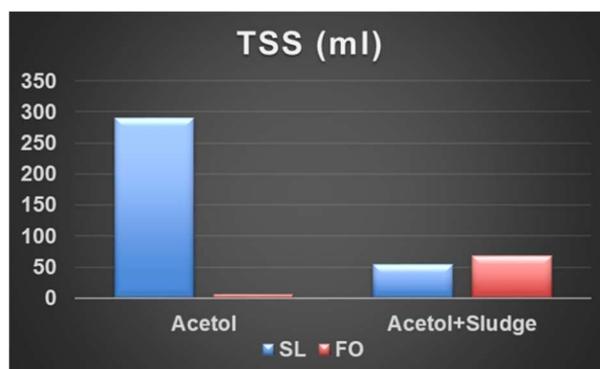
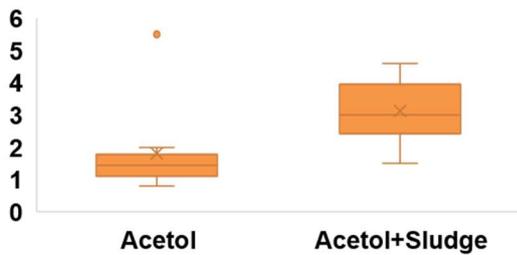


Abbildung14. Total Suspended Solids des Systems (TSS; SL= Schlamm; FO= Schaum) beim Einsatz von Acetol als einzige Kohlenstoffquelle, und Acetol in Kombination mit ozonisiertem Klärschlamm als Kohlenstoffquelle.

Durch die Ozonisierung wurden weniger Feststoffe aus dem System im Form von Schlamm entsorgt, während die Feststoffmenge in Form von Schaum gestiegen ist. Dieses spiegelt sich bei den gemessenen Trübungswerten der Schlamm- und Schaumproben wieder, während andere Kompartimente des Systems nicht betroffen waren. (Abb. 15).

Turbidity (cm)-Sludge samples



Turbidity (cm)-Foam samples

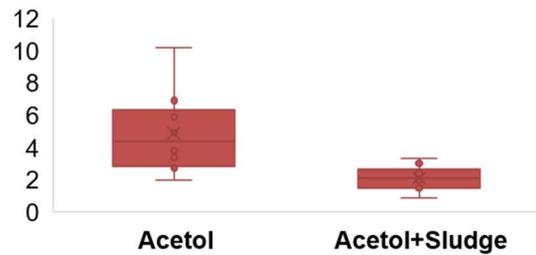


Abbildung 15. Gemessene Trübung (Turbidity) in Schlamm (Sludge)- und Schaum (Foam)- Proben beim Einsatz von Acetol als einzige Kohlenstoffquelle, und Acetol in Kombination mit ozonisiertem Klärschlamm als Kohlenstoffquelle.

Die gemessenen Trübungswerte in cm wurden zu NTU (Nephelometric Turbidity Units) Einheiten umgerechnet, um mit Referenzwerte für Trinkwasser und Abwasser zu vergleichen (Tabelle 4).

Tabelle 4. Referenzwerte für die Umrechnung der gemessenen Trübung in cm zur Nephelometric Turbidity Units (NTU)

Werte in cm	Äquivalent Nephelometric Turbidity Units
<6.25	>240 NTU
6.25-7	240 NTU
7-8	185 NTU
57.5-60	8 NTU
hinauf	6 NTU
	Trinkwasser: 0.05-0.5 NTU
	Abwasser: 200-1000 NTU

Der Acetol Bedarf des Systems ist wie erwartet bei der Anwendung von ozonisiertem Klärschlamm als zusätzlichen Kohlenstoffquelle gesunken (Abb. 16).

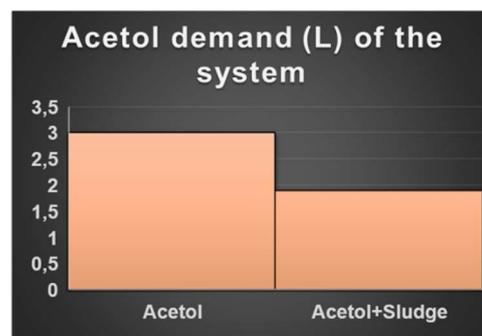


Abbildung 16. Bedarf des Systems an kommerziellen Kohlenstoffquellen beim Einsatz von Acetol als einzige Kohlenstoffquelle, und Acetol in Kombination mit ozonisiertem Klärschlamm als Kohlenstoffquelle.

Tabelle 5. Nährstoffanalyse der Proben von drei Kompartimenten des Systems: Denitrifikationsfilter (DE), Schlammsammler (SL) und Schaumsammler (FO). Die Pfeile zeigen steigende bzw. sinkende

Verläufe beim Einsatz von Acetol als einzige Kohlenstoffquelle, und Acetol in Kombination mit ozonisiertem Klärschlamm als Kohlenstoffquelle.

Source	NO ₃ -N	NO ₃ -N	NO ₂ -N	NO ₂ -N	NH ₄ -N	NH ₄ -N
DE	7.18±7.20	4.86±4.14↓	0.12±0.10	0.08±0.06↓	0.14±0.24	0.10±0.08↓
SL	0.00±0.00	1.93±1.15↑	0.05±0.02	0.04±0.03↓	32.2±7.39	5.48±13.2↓
FO	2.93±1.91	0.11±0.34↓	0.06±0.10	0.07±0.06↑	21.1±19.7	165.6±88.5↑
Source	PO ₃ ³⁻ ₄	PO ₃ ³⁻ ₄	DOC	DOC	TDN	TDN
DE	34.7±8.86	44.5±13.4↑	56.4±17.6	90.7±49.6↑	15.9±16.5	13.5±8.01↓
SL	88.5±22.4	69.8±22.8↓	164.7±36.5	212.4±305.4↑	59.6±9.61	55.6±101.3↓
FO	61.2±11.0	94.6±35.7↑	292.7±165	968.8±340.4↑	62.8±36.6	275.7±102.1↑
	Acetol	Acetol+ Sludge	Acetol	Acetol+ Sludge	Acetol	Acetol+ Sludge

Nährstoffanalysen wurden an Wasserproben der unterschiedlichen Kompartimente des Systems durchgeführt und diese zeigten keinen eindeutigen Trend (Tabelle 5). Weitere Analyse dieser Daten, um den Zusammenhang zwischen den unterschiedlichen Teilen des Systems darzustellen, werden durchgeführt und publiziert.

B. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die in dem Projekt durchgeführten Arbeiten wurden bisher nicht in dieser Form durchgeführt. Obwohl es einige Entwicklungen zu alternativen Kohlenstoffquellen gibt, und unterschiedlichen Vorbehandlungsmethode schon getestet wurden, zeigen die Resultate dieses Projektes zum ersten Mal das Potential von Ozonisierung als Vorbehandlungsmethode zur Nutzung von intern anfallendem Schlamm als Kohlenstoffquelle.

Ziel dieses Forschungsvorhabens war es, in situ zu testen, ob eine Steigerung der Effizienz des RAS durch Recycling des Schlammes und des Schaums möglich wäre. In der Tat kann man den ozonisierten Schlamm als alternative Kohlenstoffquelle nutzen. Die Ergebnisse der Versuche zeigen, jedoch dass diese nicht als Komplettersatz für kommerzielle Kohlenstoffquellen verwendet werden kann. Trotzdem könnte die Methode eine Reduzierung der Produktionskosten von Fischprodukten in RAS ermöglichen. Weitere Experimente, die nicht im Rahmen des jetzigen Projekts sind, wären für die Feinanpassung der Steuerung des Prototyps nötig. Außerdem sind Bestimmung der Zwischenprodukte dieses Verfahren notwendig, um die Akkumulation von potenzielle toxische Substanzen während der Produktion zu verhindert. Die Ozon-Behandlung industrieller Abwässer kann zu der Entstehung von halogenierte heterozyklischen Verbindungen sowie aromatischen Stickstoffverbindungen einschließlich Ketone, Aldehyde und organischen Säuren führen (Alvares, Diaper et al. 2001). Der Abbau von langkettigen Fettsäuren durch Ozon Behandlung erzeugt z.B. kurzkettige (6-9 Kohlenstoff Atome) Aldehyde und Hydroxyhydroperoxide, die schädlich für Bakterien wirken (Silvestre, Ruiz et al. 2015). Unter anderem wäre eine vollständige Untersuchung deren toxischer Wirkung auf gehaltene Arten erforderlich um das Prototyp Marktreif zu machen.

Derartig komplexe Studien in Zusammenarbeit mit den genannten Unterauftragnehmern sind von den beteiligten Forschungsinstitutionen ohne staatliche Förderung nicht durchführbar. In jedem Fall ist es sinnvoll durch die Zusammenarbeit des Alfred-Wegener-Instituts mit der Hochschule Bremerhaven und Ratz Aqua und Polymer Technik die strategische Forschung zur Weiterentwicklung der Aquakulturanlagen mit entsprechender Kompetenz in Verfahrenstechnologie zu verknüpfen.

C. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit des Ergebnisses

Die Ergebnisse deuten erstmal auf eine wirtschaftlich relevante mögliche Anwendung des Schlammes als preisgünstige Alternative hin. Diese als positiv zu bewertenden Ergebnisse wurden und werden weiterhin über die Projektveröffentlichungen sowie über die vorhandenen Netzwerke an potentielle Nutzer sowie in Form von aufgezeigten Wertschöpfungsketten auch an RAS Anlagen Produzenten und Verarbeiter kommuniziert. Mit der Abschätzung des Potenzial dieses Verfahren könnte auch der deutsche Aquakulturmarkt profitieren. Ein fast vollständiger Ersatz kommerzielle Kohlenstoffquellen ist durch Ozon behandelte Schlamm allein nicht möglich. Aus Sicht der Stakeholder (Fischfutterproduzenten, Forschung etc.) muss die Qualität und Menge des produzierten Schlammes unter reale Bedingungen evaluiert und quantifiziert werden. Die Vorteile und potenzielle Nachhaltigkeit werden von den Stakeholdern klar erkannt und deren Nutzung auch erwünscht, wenn diese Technologie sich weiterentwickelt.

Alle Ergebnisse wurden und werden gemäß den DFG-Richtlinien für gutes wissenschaftliches Arbeiten in „peer-reviewed“ Journalen veröffentlicht und darüber hinaus in weiteren Medien bzw. in der Öffentlichkeit (Vorträge, Messen, Presse) dargestellt.

D. Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Laufzeit des AcOMaCs Projekts sind einige Studien veröffentlicht bzw. präsentiert worden, die das Thema der Denitrifikation durch Aktiviertem Klärschlamm aufgreifen. Letelier-Gordo (2017) von der Technical University of Denmark (DTU) führte auch Reaktorversuche im Labormaßstab durch, unter Anwendung von Klärschlamm aus einer RAS Forellenzucht (26 ppt Salzgehalt). Fermentiertes Schlamm wurde mit Acetate als Kohlenstoffquelle verglichen (Letelier-Gordo, Larsen et al. 2017). Der fermentierte Schlamm war ein sehr erfolgreicher Ersatz für die Kohlenstoffquelle und es wurde geschätzt, dass die Fermentation und Anwendungen als Kohlenstoffquelle von 40% der Feststoffe aus dem System das Abbau von mehr als 70% der Nitrat ausstoß des RAS-Systems decken könnte. Letelier-Gordo, Larsen et al. (2017) verwendete in dem Versuch keine Filterkörper, sondern die Feststoffe wurden als bewegende Partikel im Bewegtes Reaktor verwendet. Gemeinsam mit Miguel Martin Herreros auch vom DTU, entwickelte Letelier-Gordo einen „Upflow-Sludge-Biofilter“, um die Denitrifikation zu verbessern. Durch optimiertes „BioFloc-Formation“ diese Optimierung war erfolgreich über kurze Versuchsphasen aber nach 7 Tagen wurde der Reaktor ineffizient und es fand einen Floc-desintegration statt (Herreros and Letelier-Gordo 2017). Es sind mehrere Veröffentlichungen zu „Activated Sludge“ in offenen Systeme erschienen, diese sind aber weniger verwandt mit der Anwendung in RAS Systeme bzw. bieten wenige Informationen zur Denitrifikation. Drs. Snir Azaria und Jaap van Rijn (2017) der Hebrew University of Jerusalem, Israel, haben gezeigt, dass den erfolgreichen Abbau von Geosmin sowie 2-methylisoborneol (MIB), zwei für den „Off-Flavour“ verantwortliche Chemikalien, durch Filtration mit aktiviertem Klärschlamm möglich ist.

3. Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

A. Erfolgte Veröffentlichungen des Ergebnisses

Veröffentlichungen:

Bögner, D. et al. (2018) Sludge Pre-Treatment through Ozone Application: Alternative Sludge Reuse Possibilities for Recirculating Aquaculture System Optimization, Ozone Science and Engineering, in press, DOI: 10.1080/01919512.2018.1510765

Vorträge:

Boegner, D., Schmachtl, F., Mayr, B., Pohl, L., Hubal, L., Daub, M., Jaehne, G., Boegner, M., Halfer, J., Lorkowski, K. and Slater, M. J. (2018) Up-scaling Ozone treated sludge as carbon source for denitrification: from the lab to RAS working at commercial scale. World Aquaculture Society Conference, 27 - 29 August Montpellier, France.

Boegner, D. , Schmachtl, F. , Mayr, B. , Pohl, L. , Franz, C. P. , Jaehne, G. , Lorkowski, K. and Slater, M. J. (2017) Sludge composition during Ozone activation: preliminary results of its reuse capabilities as carbon source for denitrification. Aquaculture Europe 2017, 17 - 20 October, Dubrovnik, Croatia.

Boegner, D., Schmachtl, F., Linden, C., Wildfoster, L., Lorkowski, K., Wittke, S., Slater, M.J. (2016). Activated particulate organic matter as a carbon source for denitrification in RAS. LACQUA World Aquaculture Society Latin-American Aquaculture Conference, 29 Nov-01 Dec 2016. Lima Peru.

B. Geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Bögner, D., Schmachtl, F., Mayr, B., Franz, C. P., Pohl, L., Jaehne, G., Halfer, J., Bögner, M., Lorkowski, K., Slater, M.J. Ozone-activated sludge as alternative carbon source for denitrification: a pilot study using batch reactors. In preparation.

Bögner, D., Schmachtl, F., Lara Hubal, L., Daub, M., Halfer, J., Jähne, G. Lorkowski, K., Slater, M.J. What comes in and what comes out of a RAS: a budgeting study of a system rearing *Dicentrarchus labrax* with and without ozone-treated sludge as carbon source for denitrification. In preparation.

4. Fazit

Das AcOMaCs Projekt entwickelte ein System zur erfolgreichen Aufschlüsselung und Aktivierung vom Klärschlamm aus der Kreislaufaquakultur durch Ozonisierung. Der Schlamm wurde erfolgreich chemisch untersucht, und konnte erfolgreich als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation angewendet werden. Eine Anwendung des aktivierten Klärschlammes als Kohlestoffquelle für die Denitrifikation wurde auf Labormaßstab erfolgreich getestet, zeigte jedoch, dass einen vollständigen Ersatz der kommerziellen Kohlenstoffquelle nicht möglich war. Nichtsdestotrotz konnte einen Ersatz von bis ca. 50% aufgezeigt werden, die eine akzeptable Kosteneinsparung bezüglich der Nutzung von kommerziellen Kohlenstoffquellen im RAS System entspricht. Es wird nach diesen Verfahren erwartet, dass die Verwendung der behandelte Klärschlamm zu einer Erhöhung der Trübung in System führen könnte, die vielleicht durch zukünftige technischen Anpassungen des Prototyps vermieden werden kann. Die erfolgreiche und optimierte Einbindung eines pH-gesteuerten Prototyps für die Ozonisierung des Schlammes an einem laufenden RAS System auf pilotmaßstab erlaubte eine

Bilanzierung der Kohlenstoff und Stickstoffverbindungen des Systems. Bilanzierungsstudien im Rahmen der Aquakultur sind selten und bieten relevante Daten, die zur besseren Steuerung und zur Erkennung von notwendige Betriebsänderungen an Aquakulturanlagen durchführen. Dieser Art Studien hängen von der Art die gezüchtet wird, sowie wie die Anlage betrieben wird, ab. Zukünftige Studien mit unterschiedlichen Arten sind nötig, um Technologien wie die Ozonisierung von Klärschlamm anpassen zu können. Eine ökonomische Bewertung der langfristige Einsatz dieser Technologie unter unterschiedlichen Betriebsbedingungen muss noch durchgeführt werden. Die Resultate solche Studien könnten dazu dienen, mehr Aquakulturbetriebe zur Nutzung dieser Recycling Möglichkeit zu engagieren. Durch die Ozonisierung steigt die Konzentration an Ammoniumverbindungen im System. Diese könnte zu einer Anpassung der Bakterielle Flora im Filter führen. Die bakterielle Anpassung des Systems nach der Ozonisierung sowie deren Reaktion zur potentiell schädliche Abbaustoffe ist noch ein Thema, dass in zukünftigen Studien behandelt werden sollte.

In dem Projekt wurde der Prototyp zu Ozonisierung in einem kleinen Maßstab und über einen kurzen Zeitraum getestet. Zukünftig wäre eine direkte Integration eines optimierten Prototyps über einen langen Zeitraum zu untersuchen. Dieses würde einen kontinuierlichen Betrieb nachweisen.

5. Literatur

- Alvares, A. B. C., C. Diaper and S. A. Parsons (2001). "Partial Oxidation by Ozone to Remove Recalcitrance from Wastewaters - a Review." Environmental Technology **22**(4): 409-427.
- Bougrier, C., A. Battimelli, J.-P. Delgenes and H. Carrere (2007). "Combined Ozone Pretreatment and Anaerobic Digestion for the Reduction of Biological Sludge Production in Wastewater Treatment." Ozone: Science & Engineering **29**(3): 201-206.
- Folch, J., M. Lees and G. H. S. Stanley (1957). "A SIMPLE METHOD FOR THE ISOLATION AND PURIFICATION OF TOTAL LIPIDES FROM ANIMAL TISSUES." Journal of Biological Chemistry **226**(1): 497-509.
- Ghaly, A. E., M. Kamal and N. S. Mahmoud (2005). "Phytoremediation of aquaculture wastewater for water recycling and production of fish feed." Environment International **31**(1): 1-13.
- Herreros, M. M. and C. O. Letelier-Gordo (2017). Denitrification in saltwater recirculating aquaculture systems (RAS) using an up-flow sludge bed reactor (USB) 4th NordicRAS Workshop on Recirculating Aquaculture Systems Denmark.
- Koch, B. (2012). Lipid extraction. Marine Biotechnology. B. U. o. A. Science. Bremerhaven.
- Lee, P. G., R. N. Lea, E. Dohmann, W. Prebilsky, P. E. Turk, H. Ying and J. L. Whitson (2000). "Denitrification in aquaculture systems: an example of a fuzzy logic control problem." Aquacultural Engineering **23**(1-3): 37-59.
- Letelier-Gordo, C. O. (2017). Performance of a marine activated sludge system for N removal using external and internal carbon sources 4th NordicRAS Workshop on Recirculating Aquaculture Systems Denmark.
- Letelier-Gordo, C. O., B. K. Larsen, J. Dalsgaard and P. B. Pedersen (2017). "The composition of readily available carbon sources produced by fermentation of fish faeces is affected by dietary protein:energy ratios." Aquacultural Engineering **77**(Supplement C): 27-32.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, K. S. Bender, D. H. Buckley and D. A. Stahl (2006). Brock biology of microorganisms.
- Silvestre, G., B. Ruiz, M. Fiter, C. Ferrer, J. G. Berlanga, S. Alonso and A. Canut (2015). "Ozonation as a Pre-treatment for Anaerobic Digestion of Waste-Activated Sludge: Effect of the Ozone Doses." Ozone: Science & Engineering **37**(4): 316-322.

- Timmons, M., B. and J. Ebeling, M. (2013). Recirculating Aquaculture. Ithaca, NY 14850, Ithaca Publishing Company LLC, 126 Sunset Drive.
- Wildförster, L. (2014). Entwicklung einer HPLC-Methode zur quantitativen Analyse des Einflusses verschiedener Futtermittel auf die Aminosäurezusammensetzung von Steinbuttfilet. Bachelor, Hochschule Bremerhaven
- Zumft, W. G. (1997). "Cell biology and molecular basis of denitrification." Microbiology and Molecular Biology Reviews **61**(4): 533-616.

Anhang 1 : Teilvorhaben Hochschule Bremerhaven

Arbeitsauftrag gemäß Antragstellung

Eine Identifizierung, Quantifizierung und Bilanzierung der vorhandenen Proteine und deren Aminosäuren werden durch die Hochschule Bremerhaven (HS-BHV) durchgeführt. Eingesetzt werden Standardmethoden zur Proteinquantifizierung (Kjeldahl für den Gesamtproteingehalt, Bradford o.ä. zur Bestimmung des Anteils an wasserlöslichen Proteinen). Die Aminosäureanalytik erfolgt mittels HPLC nach der im Labor etablierten OPA-Methodik. Hierbei soll insbesondere der Anteil an essentiellen Aminosäuren (z.B. Leucin, Lysin, Methionin etc.) und der nicht-essentiellen Aminosäuren (Serin, etc...). Diese Informationen sollen genutzt werden, um die Wertigkeit des Abschaums zu beurteilen, insbesondere vor dem Hintergrund einer potentiellen Verwendung als alternativer Rohstoff für die Bioverfahrenstechnik. Da Proteine zudem als schwermetallbindende Komponenten bekannt sind, werden zusätzlich auch noch für einige essentielle/nicht-essentielle Spurenelemente (Zn, Pb, Cd) sowie einige Mengenelemente (K, Mg, Ca) Kontrollmessungen in den Proben durchgeführt, um ggf. auftretende Anreicherungen von einzelnen Elementen zu bilanzieren und zu beurteilen.

Entgegen der ursprünglichen Planung wurden an der HS-Bremerhaven zusätzliche Arbeiten getätigt. Neben den genannten Aufgaben zur Aminosäure- und Elementgehaltbestimmung wurden auch noch die Fettsäure- und Lipidgehalte in den gewonnenen Proben bestimmt.

Das Arbeitsprogramm der HS-Bremerhaven ist in Abbildung 1 dargestellt:

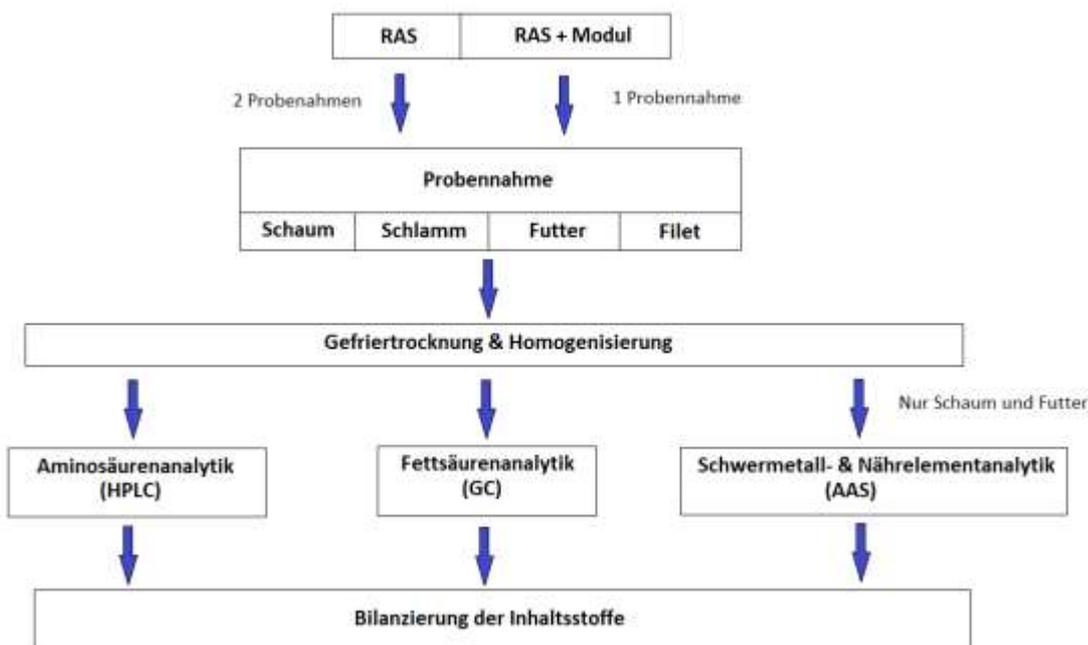


Abbildung 1: Arbeitsprogramm der HS Bremerhaven im Projekt Acomacs

1. Darstellung der Durchführung des Vorhabens

Probenmaterial:

Wie bereits beschrieben, wurden die Proben im Rahmen der Versuche am ZAF Bremerhaven gewonnen. Insgesamt wurden insgesamt ca. 100 Proben untersucht hinsichtlich der Elementgehalte (Al, Ca, Cd, K, Fe, Mg, Na, Pb, Zn), der Aminosäuregehalte und der Fettsäurezusammensetzung (Tabelle 1). Darüber hinaus

wurden Bilanzierungsversuche mittels Muffelofen an Einzelproben durchgeführt, um den organischen Gesamtanteil in den Schäumen zu bestimmen.

Tabelle 1: Auflistung der untersuchten Proben und der mit den Proben durchgeführten Analysen (SM: Schwermetalle und Nährsalze; FS: Fettsäuren; AS: Aminosäuren)

PROBEN	SM-Analytik	FS-Analytik	AS-Analytik	PROBEN	SM-Analytik	FS-Analytik	AS-Analytik
Futter				E4			
F1		x	x	SL-13		x	x
F2		x	x	SL-20		x	x
F3		x	x	SL-27		x	x
Filet				SL-34		x	x
Filet_1		x	x	SL-41		x	x
Filet_2		x	x	SL-48		x	x
Filet_3		x	x	SL-62		x	x
Filet_4		x	x	SL-69		x	x
Filet_5		x	x	SL-76		x	x
Filet_6		x	x	SL-83		x	x
Probenahme 1				SL-90		x	x
22.08_1	x	x	x	SL-97		x	x
22.08_2	x	x	x	E14			
24.08_1	x	x	x	F07		x	x
24.08_2	x	x	x	F014		x	x
26.08_1	x	x	x	F021		x	x
26.08_2	x	x	x	F028		x	x
29.08_1	x	x	x	F035		x	x
29.08_2	x	x	x	F042		x	x
31.08_1	x	x	x	F049		x	x
31.08_2	x	x	x	F056		x	x
2.09_1	x	x	x	F063		x	x
2.09_2	x	x	x	F070		x	x
5.09_1	x	x	x	F077		x	x
5.09_2	x	x	x	F084		x	x
7.09_1	x	x	x	F091		x	x
7.09_2	x	x	x	F098		x	x
9.09_1	x	x	x	F0105		x	x
9.09_2	x	x	x	SL6		x	x
12.09_1	x	x	x	SL13		x	x
12.09_2	x	x	x	SL20		x	x
14.09_1	x	x	x	SL27		x	x
14.09_2	x	x	x	SL34		x	x
16.09_1	x	x	x	SL41		x	x
16.09_2	x	x	x	SL48		x	x
E4				SL55		x	x
FO-7		x	x	SL62		x	x
FO-14		x	x	SL69		x	x
FO-21		x	x	SL76		x	x
FO-28		x	x	SL83		x	x
FO-35		x	x	SL90		x	x
FO-42		x	x	SL97		x	x
FO-49		x	x	SL104		x	x
FO-56		x	x				
FO-63		x	x				
FO-70		x	x				
FO-77		x	x				
FO-84		x	x				
FO-91		x	x				

Probenvorbereitung

Die gezogenen Proben wurden zunächst lyophilisiert. Nachfolgend wurde die Probe mit einer Retsch Mörsermühle (RM 100; Endfeinheit 10µm; Retsch, Haan, Germany) zerkleinert und homogenisiert (**Abbildung 2**). Bis zur weiteren Verwendung wurden die Proben anschließend bei -32°C gelagert. Sämtliche Messungen wurden als Duplikate durchgeführt, wobei in der Regel auch eine Zweifach- oder Dreifachbestimmung (d.h. insg. bis zu 9 Messungen pro Probe) erfolgte.



Abbildung 2: Verwendete Lyophilisationsanlage (Christ Alpha 1-2 LDplus) und Retschmühle RM 100

2. Ergebnisse

2.1 Bestimmung Feststoffanteil der Proben

Zunächst wurde für die Proben der Anteil an Gesamtfeststoff bestimmt. Darin enthalten sind dann als Hauptkomponenten Mineralsalze, Proteine und Lipide. Ein Anteil an Polysacchariden ist nicht bestimmt worden.

Methodisch wurde die Abschäumerflüssigkeit bzw. der Schlamm in einem ausgewogenen Kolben lyophilisiert. Insgesamt wurden 3 Experimente durchgeführt und Tabelle 1 a-c fasst den Feststoffanteil der

Proben zusammen. Allgemein ist festzuhalten, dass der Feststoffanteil in den gewonnenen Schaumproben mit $2,0 \pm 0,9$ % bei der ersten Versuchsdurchführung (E4) sehr gering. Beim zweiten Ansatz (E14, mit und ohne Ozonisierungsmodul) liegt der Feststoffanteil im Schaum bei $3,6 \pm 0,2$ % und im gewonnenen Schlammproben (SL) bei $3,3 \pm 0,4$ %.

Tabelle 1 a-c: Übersicht über den Feststoffgehalt der bei den Hauptexperimenten (E4 und E14) angefallenen Schaum und Schlammproben

Probe	Probegewicht [g]	Trockengewicht [g]	Festanteil	Mittelwert	Stabw
E4-7	56,32	0,20	0,35%	2,01%	0,89%
E4-14	54,31	0,75	1,38%		
E4-21	49,27	1,25	2,54%		
E4-28	54,30	1,63	3,01%		
E4-35	57,40	1,29	2,25%		
E4-42	57,42	1,49	2,60%		
E4-49	55,99	1,40	2,49%		
E4-56	55,84	1,43	2,57%		
E4-63	58,10	1,50	2,59%		
E4-70	57,21	1,72	3,01%		
E4-77	57,10	0,91	1,60%		
E4-84	10,98	0,06	0,57%		
E4-91	10,73	0,13	1,22%		

Probe	Probegewicht [g]	Trockengewicht [g]	Festanteil	Mittelwert	Stabw
E14-7	63,49	2,29	3,60%	3,57%	0,21%
E14-14	59,73	2,17	3,63%		
E14-21	60,04	2,13	3,55%		
E14-28	60,85	1,87	3,07%		
E14-35	61,82	2,26	3,66%		
E14-42	60,92	2,46	4,04%		
E14-49	61,69	2,02	3,27%		
E14-56	59,34	2,12	3,57%		
E14-63	58,84	2,07	3,52%		
E14-70	57,76	2,12	3,66%		
E14-77	58,93	2,17	3,68%		
E14-84	59,56	2,14	3,59%		
E14-91	58,34	2,09	3,58%		
E14-98	57,13	1,96	3,43%		
E14-105	57,74	2,17	3,76%		

Probe	Probegewicht [g]	Trockengewicht [g]	Festanteil	Mittelwert	Stabw
SL14-6	63,09	2,18	3,46%	3,31%	0,39%
SL14-13	60,06	1,80	2,99%		
SL14-20	60,69	2,09	3,44%		
SL14-27	58,95	1,30	2,21%		
SL14-34	61,23	2,12	3,46%		
SL14-41	58,87	2,06	3,50%		
SL14-48	57,78	2,05	3,55%		
SL14-55	55,09	1,95	3,54%		
SL14-62	57,29	2,05	3,58%		
SL14-69	55,76	1,99	3,57%		
SL14-76	57,93	2,04	3,52%		
SL14-83	57,58	2,02	3,51%		
SL14-90	57,81	1,99	3,44%		
SL14-97	59,25	1,80	3,04%		
SL14-104	59,93	1,67	2,79%		

2.2 Bestimmung des organ. Anteils im Lyophilisat

Da wie in Tabelle 1 gezeigt, die Gesamtprobenmenge nach der Lyophilisation sehr gering war, konnten die Versuche zur Bestimmung des organischen Anteils in den Proben lediglich exemplarisch durchgeführt werden, um die Durchführung des Projektes und der verschiedenen Bestimmungen nicht zu gefährden.

Dazu wurden 4 mL der aufgefangenen Proben (Schaum oder Schlamm) zunächst lyophilisiert und anschließend noch bei 500 °C gemuffelt, d.h. der organische Anteil wurde verbrannt. Eine höhere Temperatur war nicht angeraten, weil ab 550 °C NaCl flüchtig ist.



Abbildung 3: verwendeter Muffelofen (Nabertherm) zur Quantifizierung des organ. Anteil in den lyophilisierten Schaumproben

Bei den ausgewählten Proben (n=3; E4-28; E14-7; SL14-69) aus dem Hauptexperiment lag der Anteil an organischem Material jeweils bei 20,5 %.

Tabelle 2: Anteil Feststoff an Gesamtprobe und Anteil organisches Material im Feststoffanteil der Probe

	Einwaage [g]	Feststoffanteil	org. Anteil im Feststoff
E4-28	4	3,05%	20,95%
E14-7	4	3,60%	20,43%
SL14-69	4	3,60%	20,68%

Bezogen auf die Gesamtproben ergeben sich dann als Anteile ca 30 mg/gProbe stellen den Feststoffanteil dar. Hiervor sind ca. 6 mg der organische Anteil der im Rahmen der Fettsäure- bzw. Aminosäureanalytik näher untersucht werden soll.

2.3 Schwermetallanalytik

Die Messungen zur Schwermetallanalytik wurden im Labor für Ver- und Entsorgungstechnik der Hochschule Bremerhaven durchgeführt. Zur Verfügung stand ein Thermo Fisher GF-AAS welches sowohl die Möglichkeit bietet mit der Flammentechnologie (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, Zn => F-AAS) als auch der Grafitrohrentechnologie (Pb, Cd => GF-AAS) zu arbeiten.

Die Proben wurden zuvor mit einem oxidativem Mikrowellenaufschluss (MWS Star; MWS Mikrowellensysteme, Leutkich, Germany; Tefloneinsatzgefäße; PFA-C-35) mit Hilfe von 3 mL Salpetersäure (Rotipuran Super 69%; Supra Qualität, Roth, Karlsruhe, Germany) und 1 mL H₂O₂ (30% zur Analyse, Applichem, Darmstadt, Germany) aufgeschlossen. Als zertifizierte Referenzsubstanzen wurden zwei verschiedene Standards verwendet. Einerseits der IAES-Referenzstandard 413 (Algae) und der NCS ZC 80002b (Weizenmehl). Die Probenpräparation und die Messung erfolgten gemäß Standardprotokoll des Labors für Marine Biotechnologie.

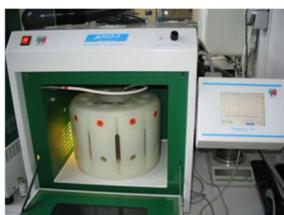
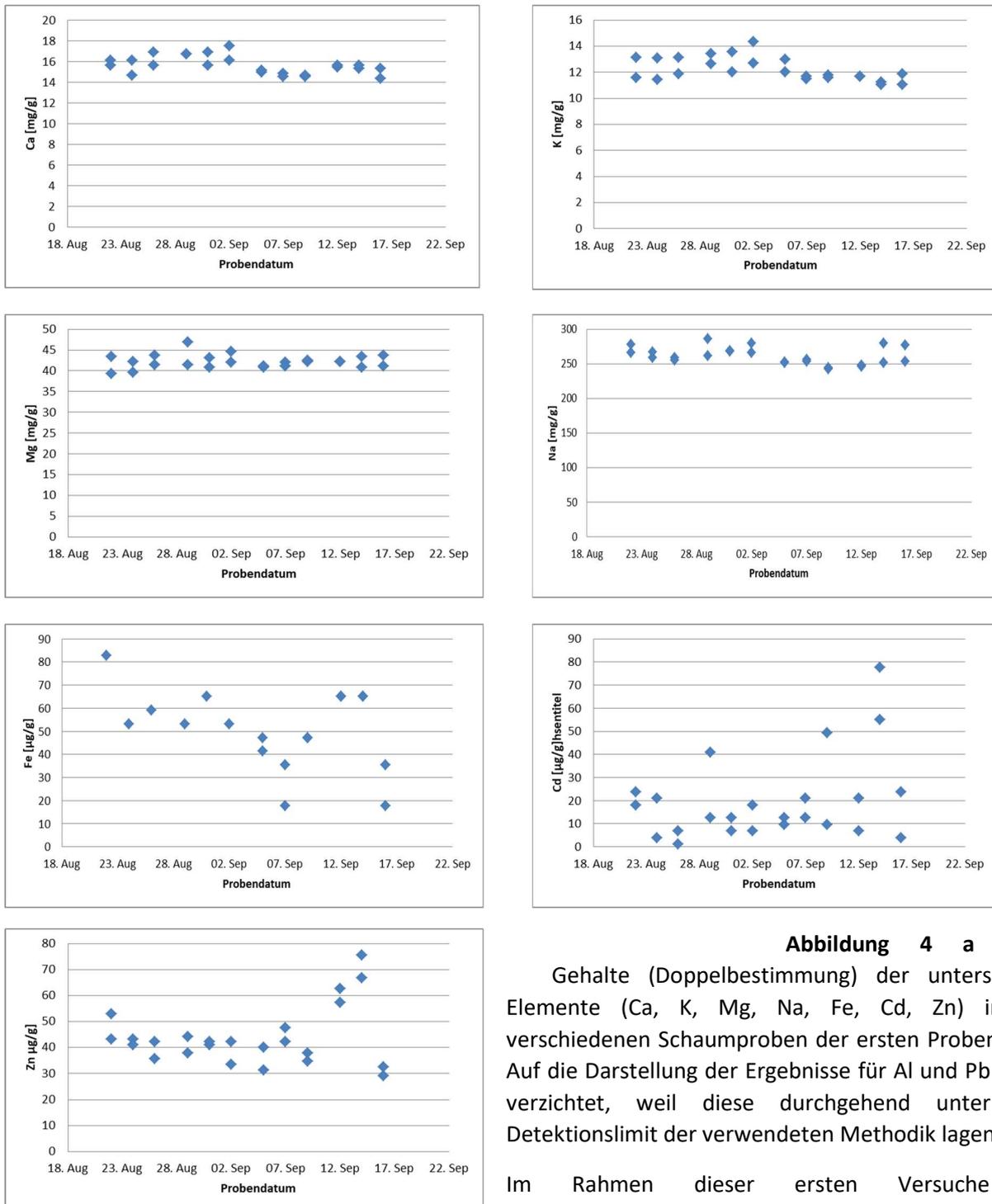


Abbildung 4: Verwendetes Mikrowellenaufschlussystem (links) und GF-AAS-Gerät (rechts)

Die Messungen mit der Atomabsorptionsspektrometrie erfolgten ausschließlich an der Proben der ersten Probenahme. Auf Grund der geringen Probenmenge wurde immer eine Einwaage von ca. 0,1 g gewählt und die Untersuchungen wurden als Duplikate (zweifacher Aufschluss) und jeweils drei Messungen (=> insges. 6 Messungen je Probe) durchgeführt. Abbildung 4 zeigt die Gehalte in den einzelnen untersuchten Schaumproben, wobei die Doppelbestimmung der einzelnen Proben zeigt, dass die verwendete Methode stabil ist.



um ein Salzwasseraquakultursystem handelt. Damit waren unerwünschte Kontaminationen an potentiell toxischen Elementen ausgeschlossen.

Tabelle 3: mittlere Gehalte der untersuchten Elemente in den Schaumproben der ersten Probenahme inkl. Standardabweichung und Variationskoeffizient

Element	Mittelwert Gehalt [mg/g]	Stdabw [mg]	VK [%]
Al	< DL		
Ca	15,6	0,9	5,8
Cd	0,02	0,02	100,0
Fe	0,04	0,02	50,0
K	12,2	0,9	7,4
Mg	42	1,6	3,8
Na	261	12	4,6
Pb	< DL		
Zn	0,04	0,01	25,0

Tabelle 3 fasst die mittleren Ergebnisse der Untersuchungen über alle Proben zusammen. Allgemein konnte nachgewiesen werden, dass Mengenelemente wie Na, K, Ca, Mg den größten Teil am Feststoffanteil der Gesamtprobe ausmachen. Umgerechnet auf die jeweiligen Molmassen der Chloride ergibt sich dann für den Feststoffanteil ein Gesamtgehalt von 893 ± 41 mg/g an Nährsalz (Tabelle 4). Dieser Wert korreliert sehr gut mit den zuvor bestimmten Gehalten an Salzen (80 %) bzw. organ. Substanzen (20 %) in den Rohproben (s. Tabelle 2) und liegen im Erwartungsbereich analytischer Wiederfindungsraten von 80 - 120 %

Tabelle 4: mittlere Gehalte der Schaumproben der ersten Probenahme inkl. Standardabweichung und Variationskoeffizient für CaCl_2 , KCl, MgCl_2 und NaCl

Element	Mittelwert Gehalt [mg/g]	Stdabw [mg]	VK [%]
CaCl_2	43,2	2,5	5,8
KCl	23,3	1,7	7,4
MgCl_2	164,5	6,3	3,8
NaCl	662	30,5	4,6
Summe	893	40,9	

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde gemeinsam entschieden, dass keine weiteren Untersuchungen der Schäume hinsichtlich der Nährsalzgehalte bei weiteren Probenahmen erfolgen soll, weil die dafür notwendige Einwaage z.T. höher ist, als für sämtliche Untersuchungen zur Verfügung stünde (s. Tabelle 1 a-c) bzw. die Aussagekraft der zu erwartenden Ergebnisse nur wenig Neuheitswert hat. Vielmehr wurden - abweichend von der ursprünglichen Planung - die verbliebenen Ressourcen daher für eine Fettsäureanalytik in allen gewonnenen Proben verwendet, um die Werthaltigkeit der Proben noch besser einschätzen zu können.

2.4 Fettsäureanalytik:

Die Messungen zur Fettsäureanalytik wurden im Labor für Marine Biotechnologie der HS Bremerhaven durchgeführt. Zunächst wurden die Lipide in den Proben verseift und anschließend erfolgte eine Derivatisierung zum Fettsäuremethylester. Die Verseifung und Veresterung erfolgt nach einem Standardprotokoll des Labors für Marine Biotechnologie der HS Bremerhaven.

Die Messungen erfolgten mit dem GC HP GC 6890 (Hewlett Packart, heute Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), welches mit einem Combi PAL Autosampler betrieben wird. Als Säule wurde eine TR

FFAP Capillary Column 30m x 0,25 mm x 0,25 µm von THERMO Scientific verwendet. Als Standardmix zur Identifikation der Fettsäuren wurde ein FAME-Mix (Supelco37, Sigma Aldrich, Germany) verwendet. Als interner Standard für die Quantifizierung und Qualitätskontrolle (Wiederfindungsrate) wurde FAME 23 von Sigma Aldrich eingesetzt. Über alle Experimente wurde eine Wiederfindungsrate von 94,8 % bestimmt. D.h. beim gesamten analytischen Prozess inklusive Probenvorbereitung wurde ein Verlust von 5,2 % festgestellt, so dass festzustellen ist, dass die Messungen hochreproduzierbar waren.

2.4.1 Futtermittelproben

Es wurde eine Futtermittelprobe als Triplikate untersucht, um den Eintrag an Fettsäuren durch das Futtermittel einschätzen zu können. Diese Daten dienen als Grundlage für die Bewertung der Fettsäuregehalte in den Schäumen und im Schlamm. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abbildung 5 und Tabelle 5 dargestellt. Die untersuchten Proben wurden im Rahmen der Probenahme 2 (E4) im November / Dezember 2016 gezogen.

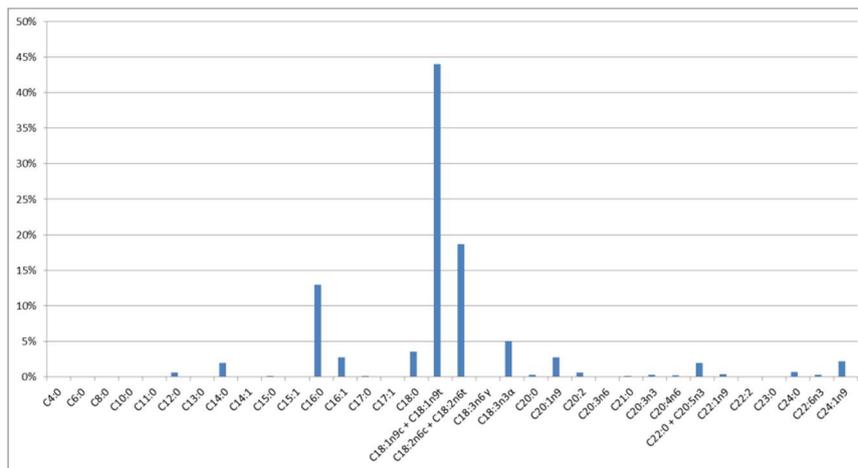


Abbildung 5: mittlere Gehalte (n=3) an Fettsäuren [%] in einer untersuchten Futtermittelprobe

Tabelle 5: mittlere Gehalte (n=3) an Fettsäuren [%-Anteil] und [µg/g] in einer Futtermittelprobe um den Eintrag an Fettsäuren durch das verwendete Futtermittel einschätzen zu können

Komponente	Mittelwert (%)	Stdabw. [%]	Gehalt FS [$\mu\text{g/g}$]
C4:0	0,00%	0,00%	0,00
C6:0	0,00%	0,00%	0,00
C8:0	0,00%	0,00%	0,00
C10:0	0,03%	0,00%	48,87
C11:0	0,00%	0,00%	0,00
C12:0	0,58%	0,00%	977,50
C13:0	0,00%	0,00%	0,00
C14:0	2,01%	0,00%	3360,80
C14:1	0,08%	0,00%	129,61
C15:0	0,17%	0,00%	290,35
C15:1	0,00%	0,00%	0,00
C16:0	12,95%	0,01%	21695,75
C16:1	2,74%	0,00%	4592,50
C17:0	0,14%	0,00%	231,09
C17:1	0,00%	0,00%	0,00
C18:0	3,55%	0,00%	5947,05
C18:1n9c + C18:1n9t	43,99%	0,03%	73689,96
C18:2n6c + C18:2n6t	18,66%	0,01%	31261,43
C18:3n6 y	0,08%	0,00%	133,54
C18:3n3 α	5,07%	0,00%	8506,21
C20:0	0,33%	0,00%	556,55
C20:1n9	2,78%	0,00%	4653,32
C20:2	0,60%	0,00%	999,02
C20:3n6	0,00%	0,00%	0,00
C21:0	0,14%	0,00%	228,68
C20:3n3	0,34%	0,00%	563,87
C20:4n6	0,23%	0,00%	378,77
C22:0 + C20:5n3	1,97%	0,00%	3293,82
C22:1n9	0,37%	0,00%	623,34
C22:2	0,00%	0,00%	0,00
C23:0	0,00%	Interner Standard	
C24:0	0,71%	0,00%	1197,41
C22:6n3	0,30%	0,00%	499,08
C24:1n9	2,18%	0,00%	3653,59
Summe	100,00%	0,06%	167512,10

Die Ergebnisse zeigen, dass die Hauptfettsäuren des Futters die ungesättigten Fettsäuren C18:1n9c (Ölsäure) und C18:1n9t (Elaidinsäure) mit insgesamt ca. 44% sind. Die zweifach ungesättigten Fettsäuren C18:2n6c (Linolsäure) und C18:2n6t (Linolaidinsäure) sind am zweithäufigsten mit ca. 18% vertreten. Dagegen spielen gesättigte Fettsäuren, wie Palmitinsäure (C16:0) mit 13 % und Stearinsäure (C18:0) mit 3,6 % nur eine untergeordnete Rolle. Insgesamt liegt der bestimmbare Fettsäureanteil bei 167,5 mg/g d.h. bei ca. 16,8 % bezogen auf die Rohprobe.

2.4.2 Fischfiletproben

Es wurden insgesamt sechs Filetproben von drei Fischen untersucht. Jede dieser Filetproben wurde in Doppelbestimmung aufbereitet und gemessen (Anzahl der Messungen $n = 12$). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 6 und Abbildung 6 dargestellt. Die Proben wurden im Rahmen der Probenahme 2 (E4) im November / Dezember 2016 gewonnen.

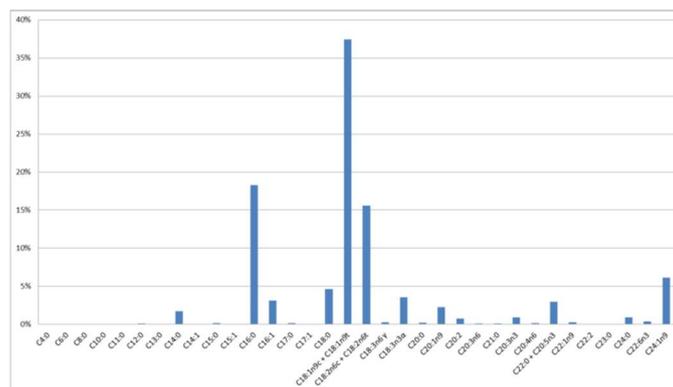


Abbildung 6: Vergleich der mittleren Gehalte an Fettsäuren [%] in Fischfiletproben ($n=6$; 3 Individuen)

Tabelle 6: mittlere Gehalte (12 Messungen) an Fettsäuren [%] und [Gehalt FS $\mu\text{g/g}$ Probe] in Fischfiletproben ($n=6$; 3 Individuen)

Komponente	Mittelwert (%)	Stabw	Gehalt FS [$\mu\text{g/g}$]
C4:0	0,00%	0,00%	0,00
C6:0	0,00%	0,00%	0,00
C8:0	0,00%	0,00%	0,00
C10:0	0,00%	0,00%	0,00
C11:0	0,00%	0,00%	0,00
C12:0	0,09%	0,02%	82,38
C13:0	0,00%	0,00%	0,00
C14:0	1,71%	0,12%	1566,53
C14:1	0,05%	0,02%	45,45
C15:0	0,16%	0,02%	146,71
C15:1	0,00%	0,00%	0,00
C16:0	18,30%	0,78%	16459,82
C16:1	3,10%	0,31%	2848,63
C17:0	0,16%	0,01%	140,83
C17:1	0,00%	0,00%	0,00
C18:0	4,63%	0,30%	4109,83
C18:1n9c + C18:1n9t	37,42%	1,52%	34380,65
C18:2n6c + C18:2n6t	15,56%	0,58%	14216,09
C18:3n6 γ	0,26%	0,02%	233,62
C18:3n3 α	3,53%	0,22%	3249,21
C20:0	0,18%	0,01%	168,85
C20:1n9	2,27%	0,19%	2098,42
C20:2	0,77%	0,07%	696,09
C20:3n6	0,09%	0,01%	79,79
C21:0	0,09%	0,00%	79,03
C20:3n3	0,89%	0,17%	775,59
C20:4n6	0,18%	0,02%	167,98
C22:0 + C20:5n3	2,93%	0,36%	2581,54
C22:1n9	0,24%	0,03%	220,56
C22:2	0,00%	0,00%	0,00
C23:0	interner Standard		

Die Ergebnisse zeigen, dass sich der größte Anteil mit ca. 37,5% auf die Komponenten C18:1n9c und C18:1n9t aufteilt. Der Anteil von C16:0 liegt bei etwa 18% und C18:2n6c & C18:2n6t bei ca. 16%. Damit ist die Zusammensetzung der des Futters relativ ähnlich, bei dem auch die C18:1-Komponenten am stärksten vertreten sind. Der Gesamtfettsäureanteil der Trockenmasse des Filet liegt bei $(91 \pm 24)\text{mg/g}$, d.h. bei ca. 9 %.

2.4.3 Ergebnisse der Lipid- und Fettsäuregehalte zur Probenahme 1

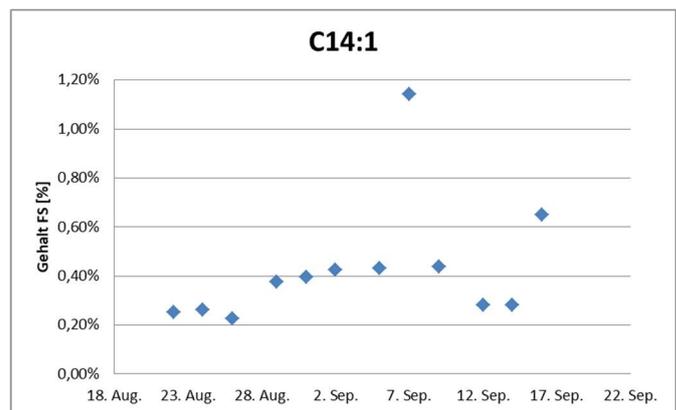
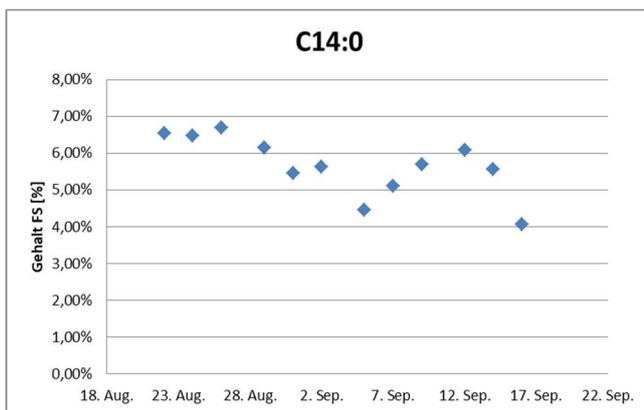
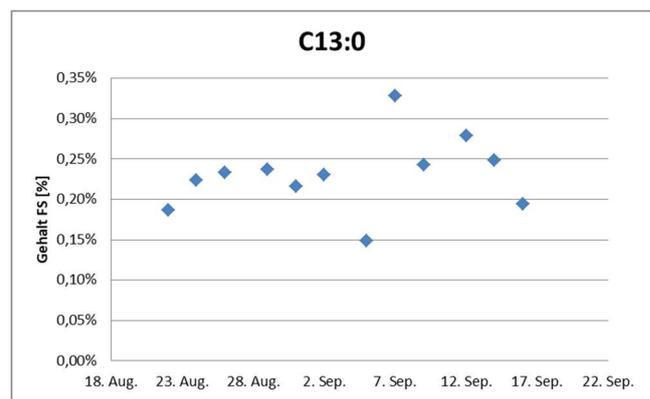
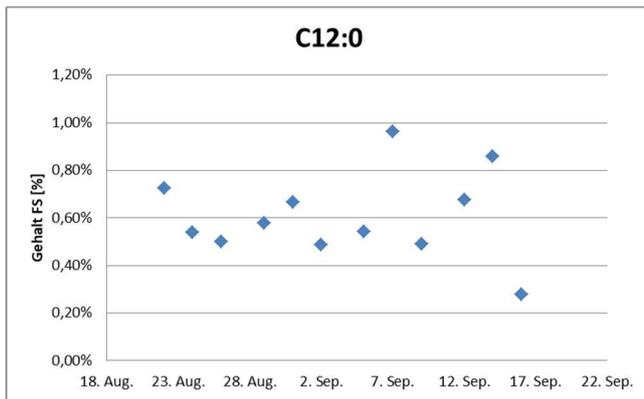
Die Probenahme 1 war ein Vorversuch zur eigentlichen Untersuchungsreihe (E4, E14) um die Probenahme zu testen, eine Machbarkeitsstudie durchzuführen und allg. Parameter hinsichtlich Ihrer Bestimmbarkeit und Aussagekraft hin zu bewerten. Bei den, diese Probenahme betreffenden Nährsalzuntersuchungen, wurde - wie in Kapitel 2.3 bereits beschrieben - festgestellt, dass eine entsprechende Analytik keine neuen Erkenntnisse liefert.

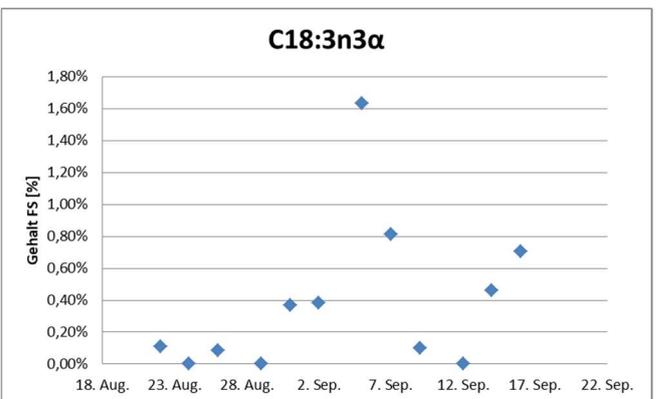
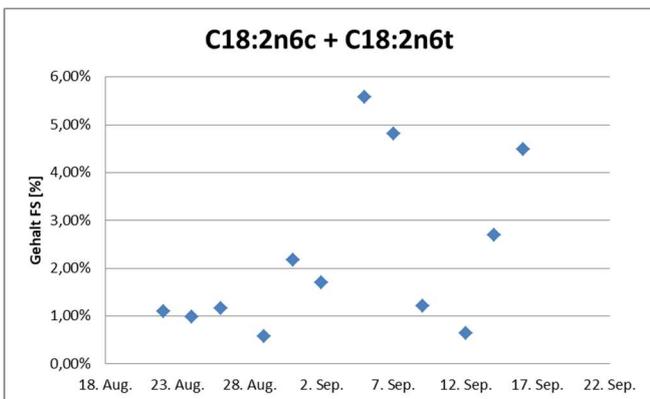
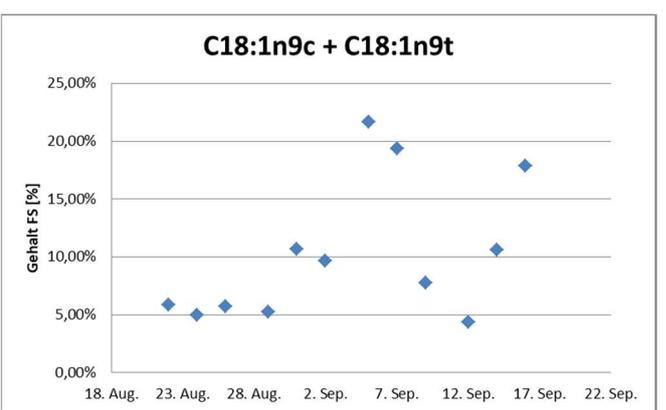
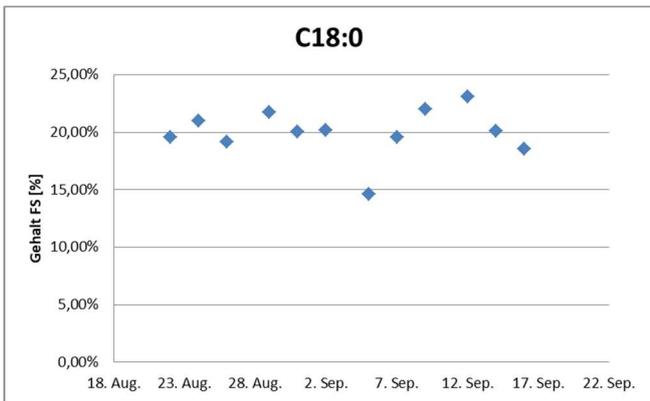
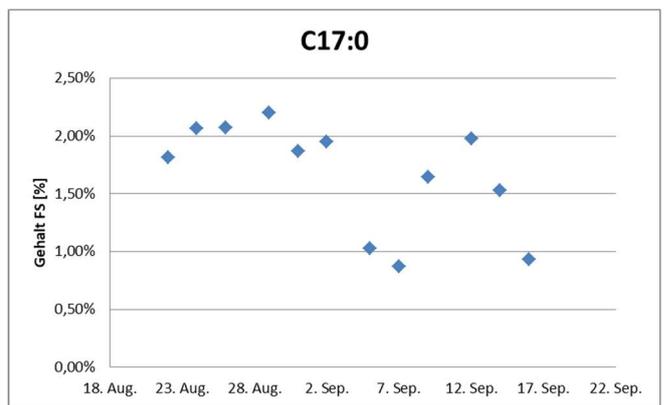
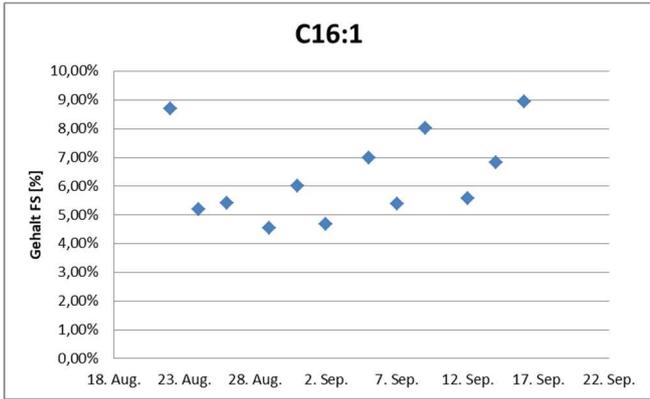
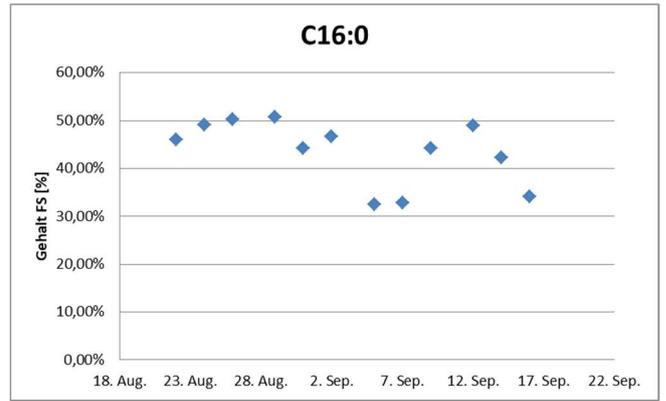
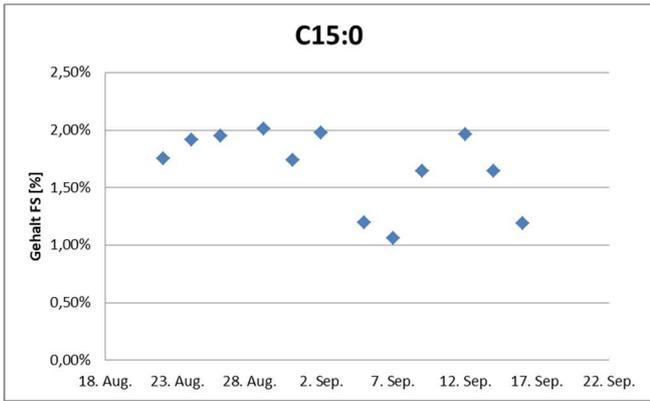
Die Probennahme erfolgte am Zentrum für Aquakulturforschung (ZAF) in dem der Kreislauf 2.1 für dieses Projekt genutzt wurde. Die Fütterung der Fische fand jeden Tag um 9 Uhr statt und die Probennahme wurde zwischen 10:30 und 11 Uhr durchgeführt. Insgesamt wurden über drei Abschnitte Proben am Abschäumer genommen sowie weitere Proben aus den Kreislaufkompartimenten, von den Fischen selbst und von dem Futter. Begleitparameter wurden für Temperatur, Salzgehalt, Sauerstoffgehalt, pH-Wert, Redox-Wert und Ammoniumgehalt aufgenommen. Die Probennahme 1 erfolgte im August / September 2016. Über vier Wochen wurden jeweils montags, mittwochs und freitags Abschäumerproben gezogen. Tabelle 7-9 und Abbildung 7 zeigen die entsprechenden Ergebnisse. Dargestellt sind jeweils die Verläufe für die jeweiligen Gehalte an Fettsäuren im genannten Zeitraum. Dabei zeigt Tabelle 7,9 den prozentualen Anteil der Fettsäuren an der Gesamtprobe (Tab. 8: Einzelwerte, Tabelle 9: Mittelwerte), während Tabelle 8 den Anteil in $\mu\text{g/g}$ Probe d.h. den Absolutanteil auf Massenbasis darstellt.

	22. Aug.	22. Aug.	24. Aug.	24. Aug.	26. Aug.	26. Aug.	29. Aug.	29. Aug.	31. Aug.	31. Aug.	02. Sep.	05. Sep.	05. Sep.	07. Sep.	07. Sep.	09. Sep.	09. Sep.	12. Sep.	12. Sep.	14. Sep.	14. Sep.	16. Sep.	16. Sep.		
C40																									
C60																									
C80																									
C100																									
C110																									
C120	5,11	3,91	3,29932457	2,8740213	3,6626112	3,2956537	2,58157861	2,8849834	2,2096448	3,4884825	2,0464167	1,8190479	4,6916574	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C130	1,21	1,12	1,20664727	1,3855324	1,63904559	1,57492824	1,2750662	0,99579285	0,74555687	1,09541723	0,91720645	0,5001851	1,21247813	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C140	40,90	40,83	34,5811675	30,9836038	50,7789721	41,9841067	30,2936922	28,1253883	20,3539513	25,859069	23,742381	15,0356679	28,7852599	1,57523735	1,57272302	1,68393732	1,55734471	1,7748747	1,6972066	1,7200385	1,9562405	1,75749728	1,50515642	0	
C141	1,57	1,60	1,34312622	1,65966037	1,44154569	1,65874976	2,03337774	1,5692057	1,40881102	1,86582055	1,7917121	1,44825256	6,322074	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C150	11,12	10,82	10,2944126	11,7072838	14,0988643	12,8154697	10,1557009	8,99029431	6,68865577	8,04589972	8,33058297	4,03140167	6,322074	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C151	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
C160	286,03	288,61	261,400525	302,667652	359,33784	332,614464	260,387025	222,983362	171,325546	201,409911	197,002698	109,448494	147,530442	47,0402833	45,9822287	160,210131	168,82575	294,155161	311,353469	271,730768	284,210078	75,8283336	99,7874913	0	
C161	54,31	54,36	27,4279372	32,3795012	41,430186	33,7042262	23,1195328	20,1718449	21,0921265	29,9058665	19,7395732	23,5150847	36,1751511	3,66866366	3,87679689	28,421352	31,314001	34,959547	34,0288361	42,7421749	47,1773902	20,4245084	25,4586844	0	
C170	11,29	11,40	11,0829576	12,666473	14,6027764	13,9251147	11,2381179	9,7377892	7,14061492	8,60849663	8,22518814	3,45212815	5,2482982	1,21042101	0,81968089	5,94741412	6,2888808	11,972356	12,5444687	9,9095439	10,2047251	2,1913876	2,5314539	0	
C171	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
C180	123,03	121,56	112,127203	128,92264	133,139368	130,511127	114,660688	92,8647229	77,5105892	91,1170255	85,2129152	40,0886211	62,8020201	38,8927888	35,0967597	80,0200878	83,5743049	140,556836	145,749816	131,575990	132,212217	46,606588	47,3767	0	
C181nK + C181nR	33,36	40,00	26,4593865	30,4370889	51,3723719	28,997666	27,5107337	22,6114094	36,687763	51,6409851	40,6592511	72,8831475	65,1634328	26,5016994	27,1943909	26,6073618	31,4655509	27,1150202	26,6570149	67,5463194	71,889898	37,0802637	55,748474	0	
C182nK + C182nR	5,79	7,95	5,18403394	6,04328472	10,4003042	5,83949248	3,01230787	2,54595964	7,4678726	11,0594727	7,17123884	18,7419564	22,798192	5,88850138	6,36253925	3,6158364	5,4726972	4,0712822	3,89490302	17,165285	18,2488255	10,0709039	13,0946304	0	
C183nK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C183nR	18,4486635	17,3993373	15,4242882	17,3712829	15,8862398	16,1367313	13,2770886	11,7549634	9,3403706	10,3691472	10,4275009	4,6748014	9,4400831	16,1002797	14,4178397	8,74877042	9,7369831	16,2695294	16,5964474	15,8658914	16,563779	2,7809302	2,5645038	0	
C20-n9	1,25994994	3,3712194	1,4146152	1,9929737	7,1076045	2,19040176	0,59015502	0,52221527	2,01029717	2,26305976	2,27916318	3,55686764	8,27267741	0,89891561	1,00657881	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C20-n9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C20-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C20-3n6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C21-0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C20-n3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C20-n6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C22-0 + C20-5n3	16,2600148	15,5326475	12,94817	14,5438807	15,4375688	13,846378	9,42408955	8,9681528	7,9422259	7,7907036	8,5216111	6,19459281	10,024596	2,24877237	2,00781167	7,53403619	9,49740682	13,7502096	13,1715647	13,6928524	14,2531495	4,90685469	5,58728816	0	
C22-n9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C22-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C23-0	124,007937	124,254473	123,517787	124,759049	124,378109	124,636122	124,875125	124,131082	124,636122	124,501992	124,885035	124,875125	125	124,759049	125	124,378109	124,759049	124,501992	124,254473	124,636122	124,759049	124,501992	124,759049	0	
C24-0	7,25442543	7,6075922	6,10089103	6,88946926	6,46088634	6,23932464	4,385807	4,63594049	4,80552065	4,38689143	3,97426336	2,9043642	1,80139608	0,82726908	3,83836771	4,16972467	7,35278632	6,89385315	6,43202061	6,8796674	1,60392016	1,96639165	1,97015377	0	
C24-n3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C24-n9	1,48751799	2,17072549	4,26984138	2,07242823	3,2365821	2,13959229	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Tabelle 9: mittlere Gehalte (n=2) an Fettsäuren [%] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 08/09.2016

	22. Aug.	24. Aug.	26.08.	29. Aug.	31. Aug.	02.09.	5. Sep.	7. Sep.	09.09.	12.09.	14.09.	16.09.
C4:0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C6:0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C8:0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C10:0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,55%	0,00%	0,00%	0,13%	0,00%
C11:0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,06%	0,00%
C12:0	0,72%	0,54%	0,50%	0,58%	0,67%	0,49%	0,54%	0,96%	0,49%	0,68%	0,86%	0,28%
C13:0	0,19%	0,22%	0,23%	0,24%	0,22%	0,23%	0,15%	0,33%	0,24%	0,28%	0,25%	0,19%
C14:0	6,54%	6,49%	6,70%	6,15%	5,47%	5,63%	4,47%	5,12%	5,71%	6,09%	5,57%	4,07%
C14:1	0,25%	0,26%	0,23%	0,38%	0,40%	0,42%	0,43%	1,14%	0,44%	0,28%	0,28%	0,65%
C15:0	1,76%	1,92%	1,95%	2,01%	1,74%	1,98%	1,20%	1,06%	1,65%	1,96%	1,65%	1,19%
C15:1	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C16:0	45,99%	49,09%	50,17%	50,71%	44,28%	46,72%	32,55%	32,83%	44,27%	48,90%	42,22%	34,11%
C16:1	8,70%	5,20%	5,43%	4,54%	6,00%	4,68%	6,99%	5,38%	8,03%	5,58%	6,82%	8,96%
C17:0	1,82%	2,07%	2,07%	2,20%	1,87%	1,95%	1,03%	0,87%	1,65%	1,98%	1,53%	0,93%
C17:1	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C18:0	19,58%	20,99%	19,15%	21,72%	20,03%	20,21%	14,60%	19,57%	22,02%	23,13%	20,12%	18,56%
C18:1n9c + C18:1n9t	5,87%	4,95%	5,74%	5,25%	10,66%	9,64%	21,66%	19,40%	7,79%	4,35%	10,59%	17,87%
C18:2n6c + C18:2n6t	1,10%	0,98%	1,16%	0,58%	2,18%	1,70%	5,57%	4,81%	1,21%	0,64%	2,69%	4,49%
C18:3n6 y	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C18:3n3α	0,11%	0,00%	0,09%	0,00%	0,37%	0,38%	1,63%	0,81%	0,10%	0,00%	0,46%	0,71%
C20:0	2,87%	2,86%	2,31%	2,63%	2,35%	2,47%	1,39%	1,56%	2,48%	2,64%	2,45%	1,05%
C20:1n9	0,37%	0,29%	0,65%	0,12%	0,51%	0,54%	1,06%	1,32%	0,21%	0,14%	0,64%	1,32%
C20:2	0,00%	0,00%	0,05%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,09%
C20:3n6	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C21:0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:3n3	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,36%	0,00%	0,00%	0,00%	0,61%
C20:4n6	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C22:0 + C20:5n3	2,55%	2,40%	2,12%	1,94%	1,89%	2,02%	1,84%	1,83%	2,28%	2,18%	2,12%	2,06%
C22:1n9	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,26%	0,14%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C22:2	0,11%	0,04%	0,09%	0,00%	0,12%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,23%	0,39%
C23:0	19,87%	21,71%	18,10%	26,27%	29,83%	0,00%	37,14%	58,85%	33,56%	20,10%	18,95%	49,26%
C24:0	1,19%	1,13%	0,92%	0,95%	1,11%	0,94%	0,62%	0,81%	1,07%	1,17%	1,01%	0,70%
C22:6n3	0,00%	0,00%	0,06%	0,00%	0,08%	0,00%	0,42%	0,67%	0,09%	0,00%	0,17%	0,81%
C24:1n9	0,29%	0,57%	0,39%	0,00%	0,07%	0,00%	3,59%	1,06%	0,27%	0,00%	0,16%	0,96%





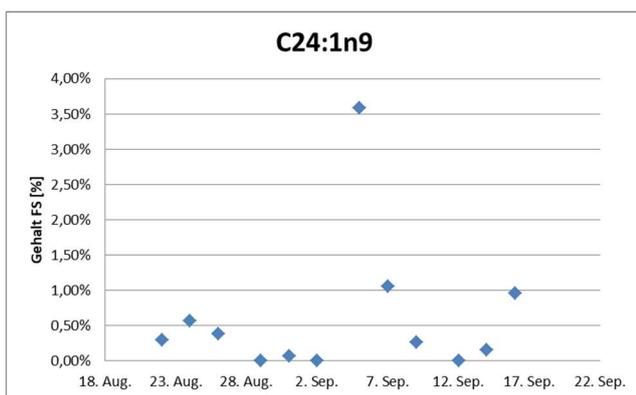
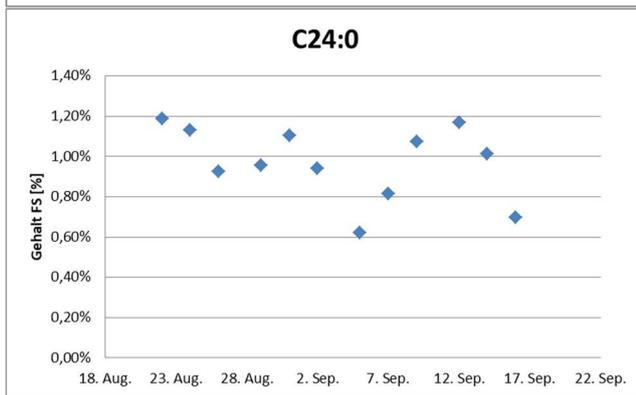
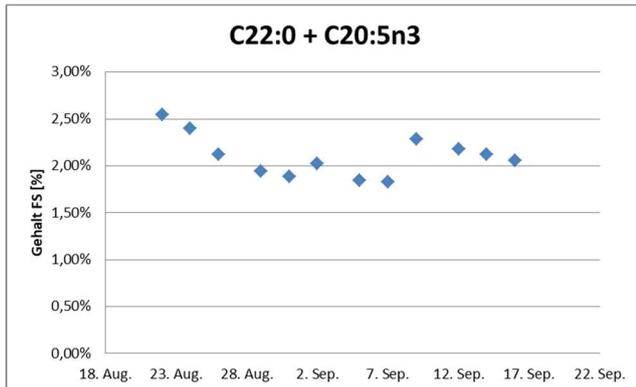
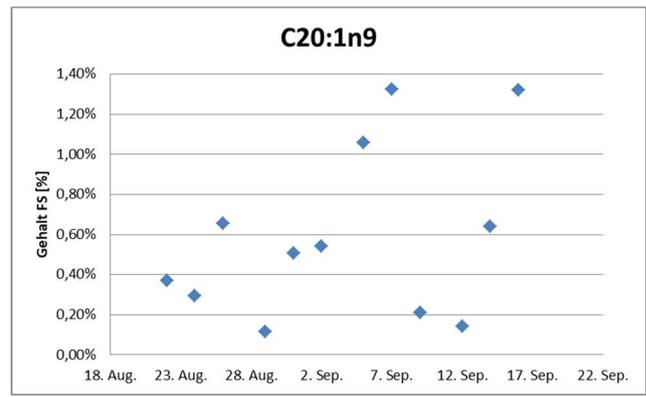
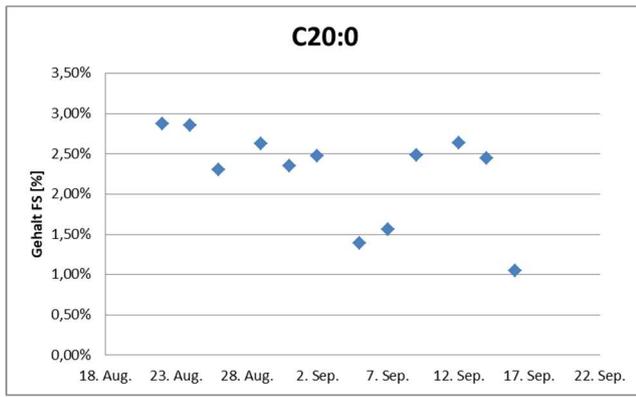


Abbildung 7: Darstellung der Verläufe für die Gehalte (s. Tabelle 9) an untersuchten Fettsäuren [%] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 08-09.2016 (x-Achse: Probenahmedatum)

Auffällig an den Daten ist zunächst, dass die typischen gesättigten Fettsäuren (Myristinsäure, Palmitinsäure und Stearinsäure) mit insgesamt ca. 80% den Hauptanteil der im organischen Rest enthaltenen Fettsäuren ausmacht. Im Vergleich zu den untersuchten Futtermitteln sind die dargestellten Gehalte damit nahezu

vollständig auf den Kopf gestellt. Während im Futtermittel die ungesättigten Fettsäuren mit ca. 80% den Hauptanteil stellen (Abb. 5; Tab. 5), ist im Schaum deren Anteil sehr gering. Dieses ist ein Hinweis darauf, dass die ungesättigten Fettsäuren von den Organismen gut aufgenommen und verwertet werden. Diese Annahme wird unterstützt von den hohen Gehalten an ungesättigten Fettsäuren im untersuchten Fischfilet und sehr viel niedrigeren Gehalten an gesättigten Fettsäuren (Abb. 6, Tab. 6).

Insgesamt ist für die Untersuchungen zu Fettsäuren in diesem Vorversuch festzustellen, dass die Untersuchungen problemlos durchgeführt werden konnten und dass die Ergebnisse vielversprechend sind in Hinsicht auf die gute Verwertung des verwendeten Fischfutters sind und die „Verluste“ an ungesättigten Fettsäuren als gering einzustufen sind. Bezüglich der Weiterverwertbarkeit der Schäume als Futtermitteladditiv ist dagegen festzustellen, dass das Fettsäureprofil als nicht-vielversprechend einzustufen ist.

2.4.4 Probenahme 2 (E4)

Während der Monate Nov/Dez 2016 wurden über drei Wochen jeweils täglich wochentags insgesamt 13 Schaumproben genommen. Aus dieser Probenahmekampagne stammen auch die Filetproben sowie die Futterproben.

Die Probenahme erfolgte am Zentrum für Aquakulturforschung (ZAF) in dem der Kreislauf 2.1 für dieses Projekt genutzt wurde. Die Fütterung der Fische fand wie schon bei Probenahme 1 jeden Tag um 9 Uhr statt und die Probenahme wurde zwischen 10:30 und 11 Uhr durchgeführt. Insgesamt wurden über drei Abschnitte Proben am Abschäumer genommen. Begleitparameter wurden für Temperatur, Salzgehalt, Sauerstoffgehalt, pH-Wert, Redox-Wert und Ammoniumgehalt aufgenommen. Diese Werte sind in den Daten vom ZAF Bremerhaven zu finden. Tabelle 10 / 11 zeigen die entsprechenden Ergebnisse. Dargestellt sind jeweils die Verläufe für die jeweiligen Gehalte an Fettsäuren im genannten Zeitraum. Dabei zeigt Tabelle 10 den prozentualen Anteil der Fettsäuren an der Gesamtprobe, während Tabelle 11 den Anteil in µg/gProbe d.h. den Absolutanteil auf Massenbasis darstellt. Die Probenübersicht ist in Tabelle 1 zu finden.

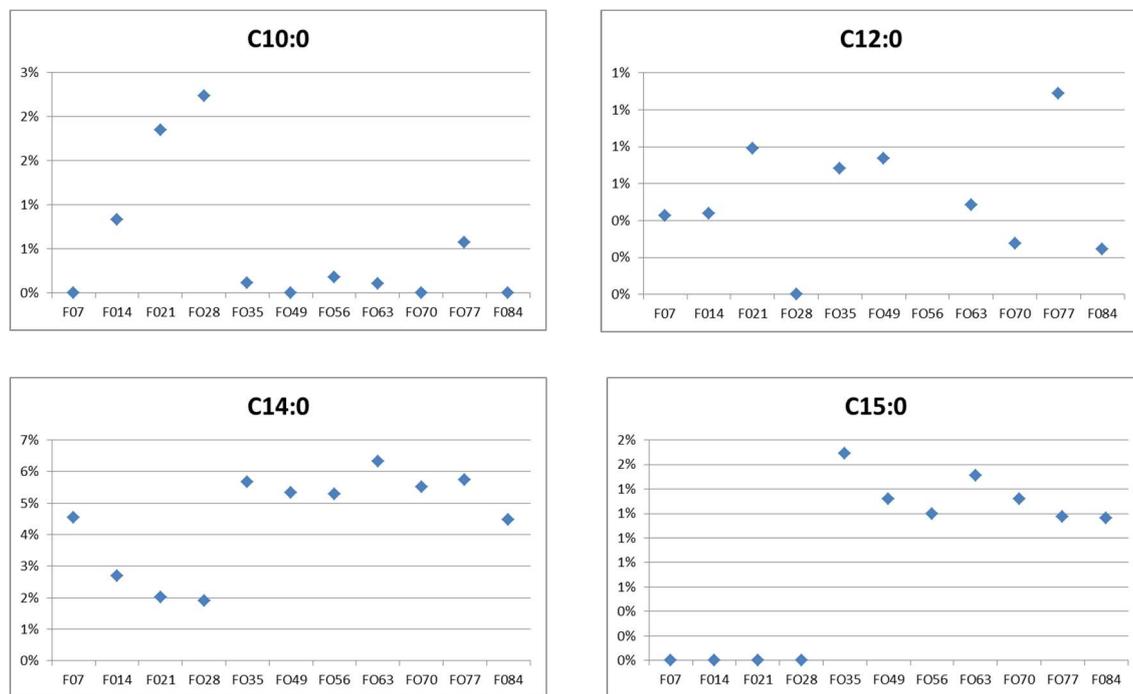
Tabelle 10: mittlere Gehalte (n=2) an Fettsäuren [C:4 bis C:24; %] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 11/12_2016 je Probenahme

Komponente	Ret-Time	F07	F014	F021	F028	F035	F049	F056	F063	F070	F077	F084
C4:0	2,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C6:0	3,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C8:0	4,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C10:0	5,763	0,00%	0,83%	1,85%	2,23%	0,12%	0,00%	0,18%	0,10%	0,00%	0,58%	0,00%
C11:0	6,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C12:0	7,763	0,43%	0,44%	0,79%	0,00%	0,68%	0,74%	12,28%	0,49%	0,28%	1,09%	0,24%
C13:0	8,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,13%	0,09%	0,09%	0,00%
C14:0	9,763	4,55%	2,69%	2,01%	1,91%	5,68%	5,34%	5,28%	6,33%	5,52%	5,74%	4,47%
C14:1	10,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C15:0	11,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	1,69%	1,32%	1,20%	1,51%	1,32%	1,17%	1,16%
C15:1	12,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	6,81%	6,02%	4,15%	8,58%	0,00%
C16:0	13,763	42,90%	28,95%	24,24%	22,07%	48,18%	45,95%	39,49%	49,04%	51,17%	44,43%	51,36%
C16:1	14,763	0,00%	1,63%	1,04%	5,96%	2,57%	3,97%	1,91%	2,81%	1,61%	1,49%	0,50%
C17:0	15,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C17:1	16,763	4,79%	0,00%	7,67%	0,00%	0,74%	1,45%	0,61%	1,39%	1,43%	4,87%	0,00%
C18:0	17,763	37,80%	37,21%	37,41%	42,76%	32,17%	29,09%	23,93%	22,78%	23,96%	29,43%	32,73%
C18:1n9c + C18:1n9t	18,763	9,54%	14,79%	4,97%	1,39%	8,17%	8,04%	4,44%	3,74%	4,60%	2,54%	7,75%
C18:2n6c + C18:2n6t	19,763	0,00%	3,52%	0,00%	0,00%	0,00%	1,82%	0,90%	0,63%	0,72%	0,00%	1,78%
C18:3n6 γ	20,763	0,00%	5,22%	4,76%	6,79%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C18:3n3 α	21,763	0,00%	0,00%	0,00%	6,21%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:0	22,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	2,30%	2,14%	1,97%	2,26%	0,00%	0,00%
C20:1n9	23,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,35%	0,11%	0,00%	0,00%
C20:2	24,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,26%	0,36%	0,00%	0,00%
C20:3n6	25,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,19%	0,00%	0,00%	0,00%
C21:0	26,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:3n3	27,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:4n6	28,763	0,00%	4,72%	11,79%	7,60%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C22:0 + C20:5n3	29,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,82%	1,38%	1,60%	0,00%	0,00%
C22:1n9	30,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C22:2	31,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C23:0	32,763											
Interner Standard												
C24:0	33,763	0,00%	0,00%	3,48%	3,08%	0,00%	0,00%	0,00%	0,87%	0,84%	0,00%	0,00%
C22:6n3	34,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C24:1n9	35,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%

Tabelle 11: mittlere Gehalte (n=2) an Fettsäuren [$\mu\text{g/gProbe}$] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 11/12_2016 (Werte je Probenahme)

Komponente	Ret-Time	F07	F014	F021	F028	F035	F049	F056	F063	F070	F077	F084
C4:0	2,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C6:0	3,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C8:0	4,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C10:0	5,763	0,00	13,59	24,42	29,98	0,26	0,00	0,88	0,86	0,00	11,77	0,00
C11:0	6,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C12:0	7,763	4,41	7,15	10,20	0,00	1,58	2,41	60,63	3,98	1,46	20,63	1,05
C13:0	8,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,07	0,49	1,54	0,00
C14:0	9,763	43,54	38,05	26,65	25,58	13,08	17,46	26,10	51,90	29,09	108,33	19,09
C14:1	10,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C15:0	11,763	0,00	0,00	0,00	0,00	3,90	4,31	5,92	12,38	6,94	22,07	4,95
C15:1	12,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,65	49,35	21,87	162,38	0,00
C16:0	13,763	411,51	412,39	318,57	296,22	111,06	150,30	195,03	401,98	269,80	837,27	219,45
C16:1	14,763	0,00	20,49	12,74	79,28	5,93	12,97	9,44	23,01	8,49	28,33	2,14
C17:0	15,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C17:1	16,763	49,65	0,00	102,14	0,00	1,66	4,75	3,01	11,37	7,55	91,28	0,00
C18:0	17,763	362,45	533,03	492,86	574,52	74,27	95,15	118,19	186,70	126,34	556,24	139,85
C18:1n9c + C18:1n9t	18,763	91,16	209,59	64,95	19,72	18,83	26,31	21,95	30,63	24,25	47,17	33,13
C18:2n6c + C18:2n6t	19,763	0,00	50,38	0,00	0,00	0,00	5,95	4,44	5,19	3,81	0,00	7,60
C18:3n6 γ	20,763	0,00	85,49	67,16	87,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:3n3 α	21,763	0,00	0,00	0,00	87,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:0	22,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,52	10,59	16,14	11,93	0,00	0,00
C20:1n9	23,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,86	0,57	0,00	0,00
C20:2	24,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,12	1,91	0,00	0,00
C20:3n6	25,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,56	0,00	0,00	0,00
C21:0	26,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:3n3	27,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:4n6	28,763	0,00	77,36	154,50	107,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:0 + C20:5n3	29,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,10	11,36	8,46	0,00	0,00
C22:1n9	30,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:2	31,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C23:0	32,763											
C24:0	33,763	0,00	0,00	42,50	43,51	0,00	0,00	0,00	7,19	4,41	0,00	0,00
C22:6n3	34,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C24:1n9	35,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Abbildung 8 beschreibt den Verlauf der Fettsäuregehalte für ausgewählte Fettsäuren (mindestens bei 5 Probenahmen nachweisbar). Dargestellt sind die Verläufe [%] gemäß Tabelle 10.



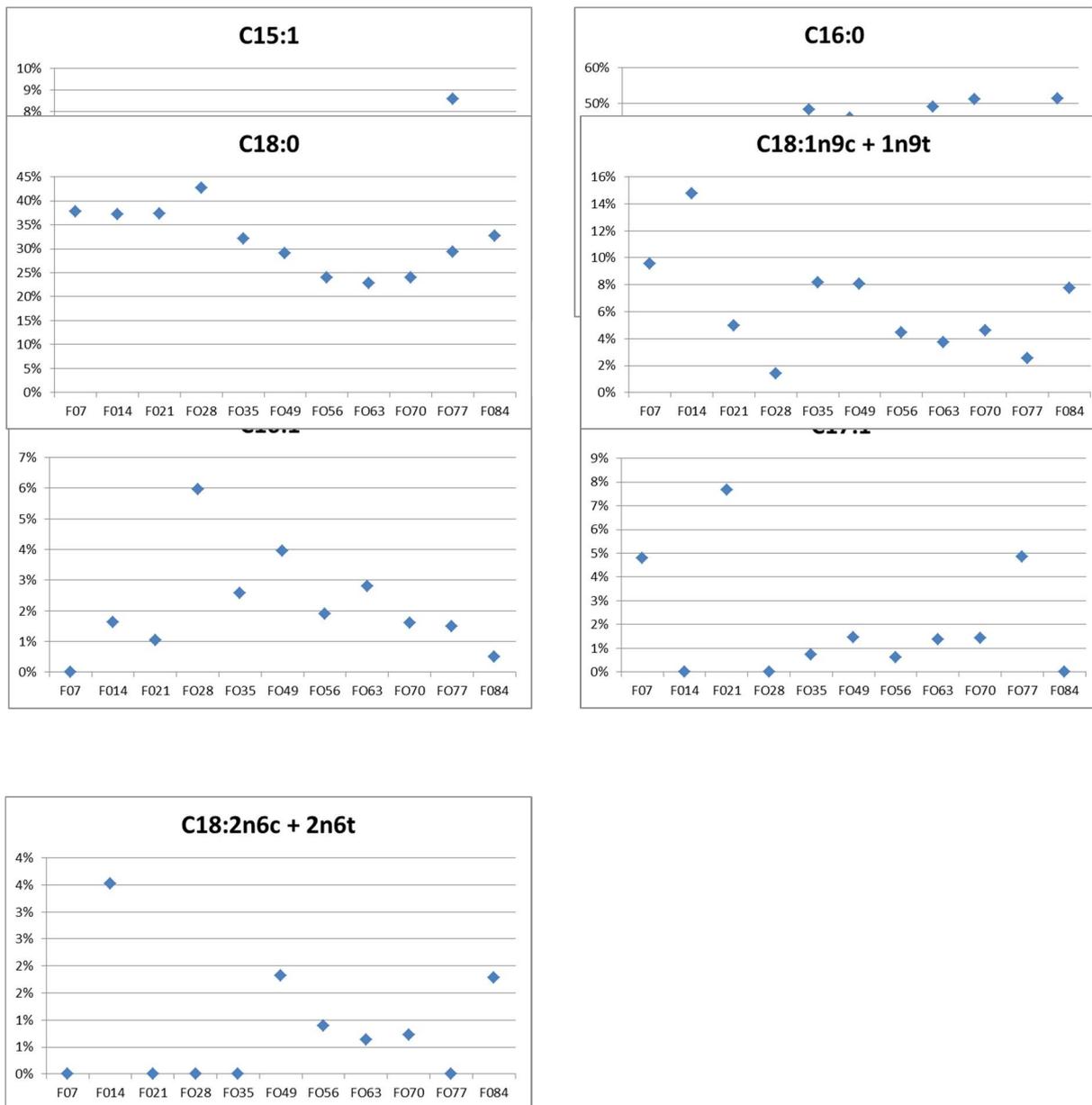


Abbildung 8: Darstellung der Verläufe für die Gehalte (s. Tabelle 10) an untersuchten Fettsäuren [%] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 11-12.2016 (x-Achse: Probenbezeichnung gemäß Tabelle 1)

Auch in diesem Fall ist auffällig, dass die typischen gesättigten Fettsäuren (Myristinsäure, Palmitinsäure und Stearinsäure) mit insgesamt ca. 80% erneut den Hauptanteil der im organischen Rest enthaltenen Fettsäuren ausmachen. Allgemein ist zu erkennen, dass die Gehalte von Tag zu Tag recht stark schwanken. Zudem sind zahlreiche Fettsäuren nur vereinzelt nachweisbar, sodass Sie im Gegensatz zur ersten Probenahme nicht im Verlauf gezeigt werden (vgl. Tabelle 10, 11).

Dieses ist erneut ein Hinweis darauf, dass die ungesättigten Fettsäuren von den Organismen gut aufgenommen und verwertet werden und entspricht somit –auch im Vergleich zu den untersuchten Filet- und Futterproben- den Ergebnissen aus der ersten Probenahme. Während z.B. im Futtermittel die ungesättigten Fettsäuren mit ca. 80% den Hauptanteil stellen (Abb. 5; Tab. 5), ist im Schaum deren Anteil mit < 20% sehr viel geringer.

Die Schlammproben von dieser Probenahme wurden nicht weiter untersucht um Ressourcen zu sparen, weil ein Vergleich der Proben vor und nach Einbau des Ratz-Moduls noch nicht möglich war und damit der Einfluss des Moduls (Ziel des Projektes) nicht untersucht werden konnte.

2.4.5 Probenahme 3 (E14)

Im Juni 2017 wurden für eine Woche täglich wochentags Schaum- und Schlammproben genommen (n=5). Anschließend erfolgte der Einbau eines Sammelmoduls für Schlamm aus dem Trommelfilter welcher danach dem Denitrifikationsbiofilter zugeführt wurde. Nach einer einwöchigen Einlaufzeit wurden im Juli 2017 für zwei Wochen täglich Schaum- & Schlammproben genommen (n=10). Ansonsten waren sämtliche weiteren Parameter zu Anlage, Fütterung, Begleitparameteraufnahme etc. identisch zu Probenahme 1 und 2.

Schaumproben

Tabelle 12 / 13 zeigen die entsprechenden Ergebnisse für die Schaumproben der 3. Probenahme. Dargestellt sind jeweils die Verläufe für die jeweiligen Gehalte an Fettsäuren im genannten Zeitraum. Dabei zeigt Tabelle 12 den prozentualen Anteil der Fettsäuren an der Gesamtprobe, während Tabelle 13 den Anteil in µg/gProbe d.h. den Absolutanteil auf Massenbasis darstellt. Die Probenübersicht ist in Tabelle 1 zu finden.

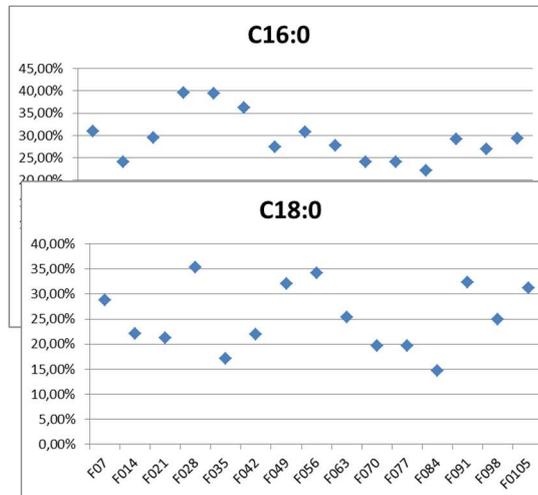
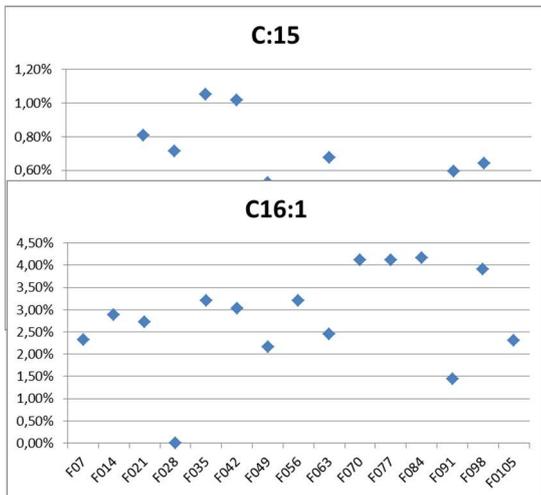
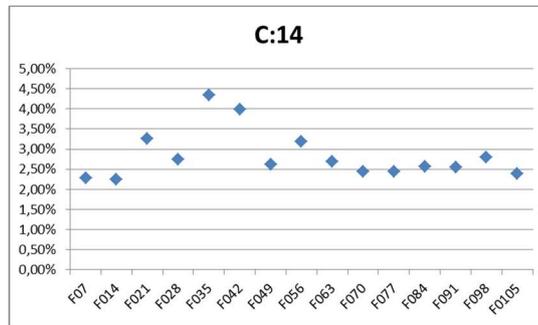
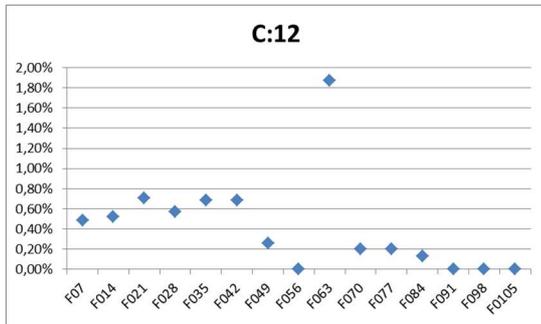
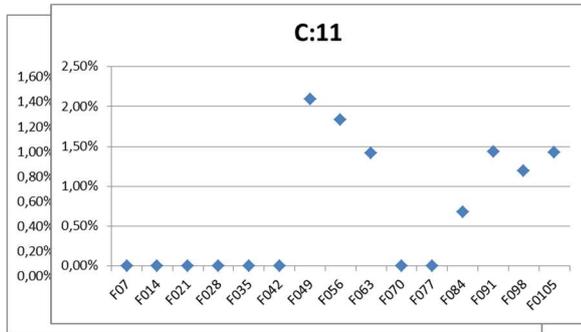
Tabelle 12: Gehalte an Fettsäuren [C:4 bis C:24; %] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 06/07_2017 je Probenahme

Komponente	Ret-Time	F07	F014	F021	F028	F035	F042	F049	F056	F063	F070	F077	F084	F091	F098	F0105
C4:0	2,763	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C6:0	4,167	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C8:0	5,911	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C10:0	7,606	0,44%	0,60%	0,75%	0,54%	0,35%	0,49%	1,43%	0,00%	0,00%	0,62%	0,62%	0,46%	1,00%	0,74%	0,98%
C11:0	8,401	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	2,09%	1,84%	1,41%	0,00%	0,00%	0,68%	1,43%	1,19%	1,43%
C12:0	9,161	0,49%	0,52%	0,71%	0,57%	0,69%	0,68%	0,26%	0,00%	1,88%	0,20%	0,20%	0,13%	0,00%	0,00%	0,00%
C13:0	9,886	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C14:0	10,587	2,28%	2,25%	3,25%	2,74%	4,34%	3,99%	2,61%	3,18%	2,69%	2,44%	2,44%	2,56%	2,54%	2,80%	2,39%
C14:1	10,877	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C15:0	11,321	0,00%	0,00%	0,81%	0,72%	1,05%	1,02%	0,52%	0,00%	0,68%	0,32%	0,32%	0,31%	0,60%	0,64%	0,00%
C15:1	11,636	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C16:0	12,115	30,86%	24,08%	29,42%	39,59%	39,46%	36,21%	27,39%	30,81%	27,70%	24,12%	24,12%	22,06%	29,11%	26,88%	29,29%
C16:1	12,365	2,33%	2,89%	2,72%	0,00%	3,21%	3,04%	2,16%	3,20%	2,45%	4,12%	4,12%	4,16%	1,45%	3,90%	2,31%
C17:0	12,982	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	1,60%	2,85%	0,00%	0,00%	0,00%	2,73%	2,73%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C17:1	13,257	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C18:0	13,931	28,82%	22,15%	21,22%	35,33%	17,17%	21,95%	32,02%	34,16%	25,30%	19,72%	19,72%	14,72%	32,26%	24,93%	31,13%
C18:1n9c + C18:1n9t	14,171	23,99%	31,09%	28,26%	9,89%	21,81%	16,74%	18,41%	17,11%	18,28%	30,70%	30,70%	33,01%	16,82%	24,07%	23,24%
C18:2n6c + C18:2n6t	14,679	6,40%	11,73%	6,06%	2,45%	4,61%	4,67%	7,63%	6,05%	7,91%	9,23%	9,23%	15,97%	7,55%	9,11%	7,37%
C18:3n6 y	15,027	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C18:3n3a	15,396	0,00%	2,20%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	5,47%	3,64%	2,35%	2,47%	2,47%	3,61%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:0	16,067	0,00%	0,00%	0,00%	1,93%	1,74%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,75%	0,75%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:1n9	16,339	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	1,66%	1,66%	2,33%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:2	16,923	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:3n6	17,226	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C21:0	17,279	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:3n3	17,579	1,82%	2,50%	6,80%	1,93%	1,12%	2,82%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C20:4n6	17,733	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C22:0 + C20:5n3	18,427	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	1,05%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C22:1n9	18,745	2,57%	0,00%	0,00%	4,30%	1,80%	1,76%	0,00%	0,00%	9,37%	0,91%	0,91%	0,00%	7,24%	5,75%	1,87%
C22:2	19,442	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	3,76%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C23:0	19,788															
C24:0	21,436	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C22:6n3	21,916	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
C24:1n9	22,085	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%

Tabelle 13: Gehalte an Fettsäuren [µg/gProbe] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 06/07_2017 (Werte konsekutiv je Probenahme)

Komponente	Ret-Time	F07	F014	F021	F028	F035	F042	F049	F056	F063	F070	F077	F084	F091	F098	F0105
C4:0	2,763	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C6:0	4,167	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C8:0	5,911	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C10:0	7,606	2,03	3,20	1,88	1,99	2,20	2,27	15,79	0,00	0,00	0,00	9,59	8,85	11,01	12,11	15,83
C11:0	8,401	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	23,10	16,56	17,23	21,91	0,00	13,16	15,80	19,52	23,05
C12:0	9,161	2,26	2,79	1,77	2,12	4,34	3,16	2,85	0,00	22,85	30,95	3,13	2,56	0,00	0,00	0,00
C13:0	9,886	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C14:0	10,587	10,63	12,02	8,14	10,12	27,47	18,41	28,91	28,70	32,73	20,38	37,51	49,84	28,04	45,80	38,56
C14:1	10,877	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C15:0	11,321	0,00	0,00	2,02	2,64	6,66	4,70	5,80	0,00	8,22	0,00	4,92	6,12	6,56	10,50	0,00
C15:1	11,636	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C16:0	12,115	143,65	128,80	73,58	146,10	249,85	166,91	302,93	277,93	337,43	271,73	371,42	428,71	320,98	440,00	473,15
C16:1	12,365	10,83	15,44	6,81	0,00	20,31	14,00	23,91	28,90	29,85	22,16	63,46	80,87	15,95	63,91	37,33
C17:0	12,982	0,00	0,00	0,00	0,00	10,13	13,16	0,00	0,00	0,00	0,00	42,01	0,00	0,00	0,00	0,00
C17:1	13,257	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:0	13,931	134,14	118,45	53,09	130,38	108,71	101,20	354,18	308,11	308,12	351,09	303,67	286,17	355,75	408,07	502,87
C18:1n9c + C18:1n9t	14,171	111,68	166,27	70,68	36,51	138,11	77,16	203,65	154,37	222,60	182,41	472,74	641,59	185,47	394,03	375,42
C18:2n6c + C18:2n6t	14,679	29,78	62,75	15,16	9,05	29,22	21,55	84,43	54,60	96,29	71,12	142,17	310,38	83,22	149,09	119,00
C18:3n6 y	15,027	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:3n3a	15,396	0,00	11,76	0,00	0,00	0,00	0,00	60,48	32,87	28,59	45,90	37,97	70,15	0,00	0,00	0,00
C20:0	16,067	0,00	0,00	0,00	7,12	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,60	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:1n9	16,339	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	25,57	45,25	0,00	0,00	0,00
C20:2	16,923	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:3n6	17,226	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C21:0	17,279	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:3n3	17,579	8,49	13,39	17,01	7,12	7,10	13,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:4n6	17,733	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:0 + C20:5n3	18,427	0,00	0,00	0,00	0,00	6,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:1n9	18,745	11,95	0,00	0,00	15,87	11,42	8,13	0,00	0,00	114,07	0,00	14,06	0,00	79,84	94,08	30,20
C22:2	19,442	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	17,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C23:0	19,788	99,90	99,30	99,21	99,30	98,43	99,50	99,90	100,00	100,10	99,21	99,11	100,40	99,40	99,80	99,40
C24:0	21,436	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:6n3	21,916	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C24:1n9	22,085	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Abbildung 9 beschreibt den Verlauf der Fettsäuregehalte für ausgewählte Fettsäuren (mindestens bei 5 Probenahmen nachweisbar). Dargestellt sind die Verläufe [%] gemäß Tabelle 12.



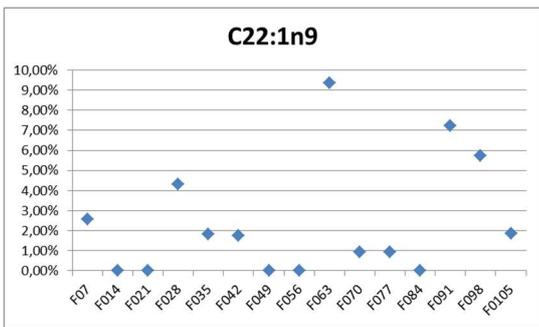
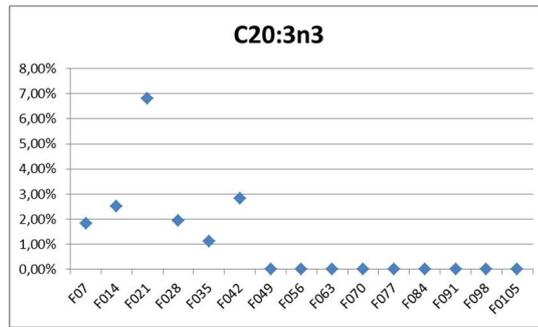
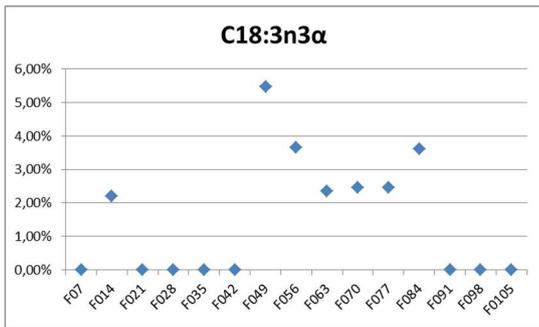
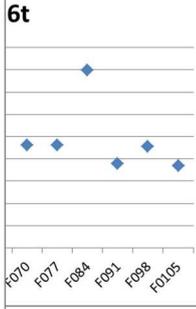
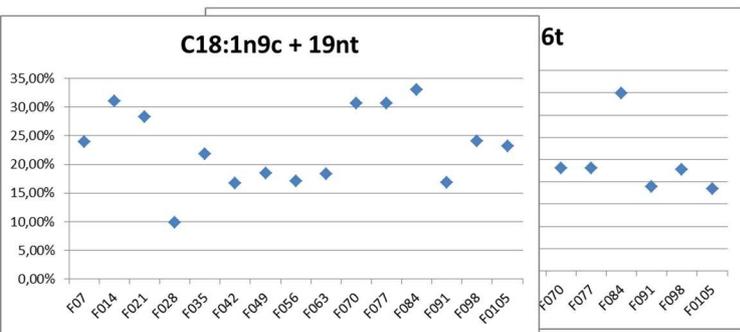


Abbildung 9: Darstellung der Verläufe für die Gehalte (s. Tabelle 12) an untersuchten Fettsäuren [%] in gezogenen Schaumproben im Zeitraum 06-07.2017 (x-Achse: Probenbezeichnung gemäß Tabelle 1)

Auch in diesem Fall stellen die typischen gesättigten Fettsäuren (Myristinsäure, Palmitinsäure und Stearinsäure) den Hauptanteil der detektierten Fettsäuren. Allerdings ist dieser mit insgesamt ca. 60% erheblich geringer als bei den anderen Experimenten. Da grundsätzlich kein Trend zu erkennen ist, dass nach den ersten fünf Probenahmen (vor Einbau Sammelmodul) eine signifikante Veränderung im Fettsäureprofil eintritt. D.h. der Einbau des Sammelmoduls für Schlamm in den Trommelfilter beeinflusst die Fettsäurezusammensetzung nicht nachhaltig. Auffällig ist aber, dass insbesondere der Anteil an im Schaum verfügbaren ungesättigten Fettsäuren wie C18:1, C18:2, C18:3 aber auch C20:3 und C22:1 mit ca. 40% unerwartet hoch ist. Worauf diese Unterschiede beruhen lässt sich nur mit den Wasserparametern vorliegen und werden später im Zusammenhang diskutiert.

Erneut zeigt sich, dass die Gehalte von Tag zu Tag recht stark schwanken. Zudem sind mehr Fettsäuren als bei der zweiten Probenahme in mindestens fünf Proben nachweisbar.

Dieses ist ein Hinweis darauf, dass die ungesättigten Fettsäuren von den Organismen nicht so gut aufgenommen und verwertet werden und entspricht somit –auch im Vergleich zu den untersuchten Filet- und Futterproben- nicht den Ergebnissen aus der ersten und zweiten Probenahme. Die Schlammproben von dieser zweiten Probenahme wurden ebenfalls untersucht, weil ein Vergleich der Proben vor und nach Einbau des Ratz-.Moduls möglich war und damit der Einfluss des Moduls (Ziel des Projektes) untersucht werden konnte.

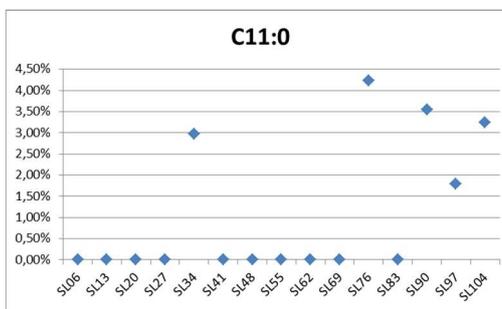
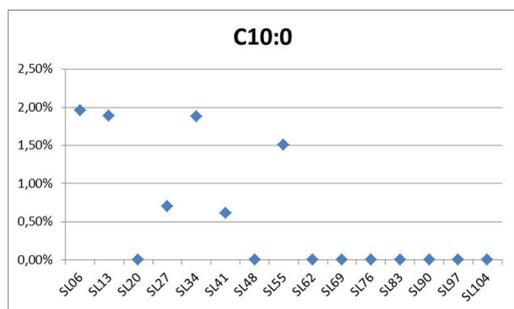
Tabelle 16 vergleicht die mittleren Absolutgehalte der Schaum- und Schlammproben der 3 Probenahmen und zeigt zudem, dass bei der Probenahme 2 und 3 die Schwankungen der Absolutwerte sehr viel höher sind als bei der Probenahme 1. Insgesamt ist dabei auffällig, dass die Fettsäuregesamtgehalte in den Proben erst zum Ende des Probenahmezeitraumes deutlich ansteigen. Dieser Trend ist bei den Probenahmen 2 und 3 zu beobachten, ist aber im Schlamm stärker ausgeprägt als in den Schaumproben. Bei der ersten Probenahme ist ein derartiger Trend nicht festzustellen. Vielmehr ist der Fettsäuregehalt bei der ersten Probenahme – obwohl mehr verschiedene Fettsäuren nachweisbar sind- insgesamt geringer.

Tabelle 16: Vergleich der mittleren Gehalte an Fettsäuren [$\mu\text{g/gProbe}$] in gezogenen Schaum- und Schlammproben der Probenahmen 1-3

Komponente	Probenahme 1	Probenahme 2 (E4)	Probenahme 3 (E14)	Probenahme 3 (SL14)
	[$\mu\text{g/g}$]	[$\mu\text{g/g}$]	[$\mu\text{g/g}$]	[$\mu\text{g/g}$]
C4:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C6:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C8:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C10:0	1,06	7,43	5,78	4,09
C11:0	0,16	0,00	10,02	16,06
C12:0	2,95	10,32	5,25	27,76
C13:0	1,08	0,28	0,00	5,88
C14:0	27,98	36,26	26,48	17,93
C14:1	1,58	0,00	0,00	0,00
C15:0	8,25	5,50	3,88	0,00
C15:1	0,00	24,30	0,00	0,00
C16:0	213,04	329,42	275,55	254,23
C16:1	29,98	18,44	28,92	14,84
C17:0	8,36	0,00	4,35	0,00
C17:1	0,00	24,67	0,00	0,00
C18:0	95,75	296,33	254,93	365,89
C18:1n9c + C18:1n9t	41,22	53,43	228,85	153,35
C18:2n6c + C18:2n6t	8,77	7,03	85,19	57,14
C18:3n6 γ	0,00	21,83	0,00	4,34
C18:3n3 α	1,29	7,99	19,18	5,23
C20:0	11,36	4,20	1,98	0,00
C20:1n9	2,54	0,31	4,72	0,00
C20:2	0,05	0,37	0,00	0,00
C20:3n6	0,00	0,14	0,00	0,00
C21:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:3n3	0,28	0,00	4,41	0,49
C20:4n6	0,00	30,86	0,00	0,00
C22:0 + C20:5n3	10,18	2,17	0,44	0,00
C22:1n9	0,09	0,00	25,31	32,63
C22:2	0,40	0,00	1,16	0,00
C24:0	4,81	8,87	0,00	0,00
C22:6n3	0,57	0,00	0,00	0,00
C24:1n9	1,95	0,00	0,00	0,00
Summe	473,71	890,15	986,40	959,85
Stabw	172,77	538,21	529,87	671,55

Der durchschnittliche Gesamtgehalt an Fettsäuren in den Abschäumer- und Schlammproben der Probenahmen 2 und 3 lag bei 0,9 – 1 g, d.h. bei ca. 0,1 %. Demgegenüber lag der Fettsäuregehalt in den Abschäumerproben der ersten Probenahme mit ca 0,5mg/g (0,5%) noch niedriger.

Abschließend sein noch der zeitliche Verlauf der Fettsäuregehalte [%] basierend auf Tabelle 14 in den Schlammproben gezeigt (Abbildung 10).



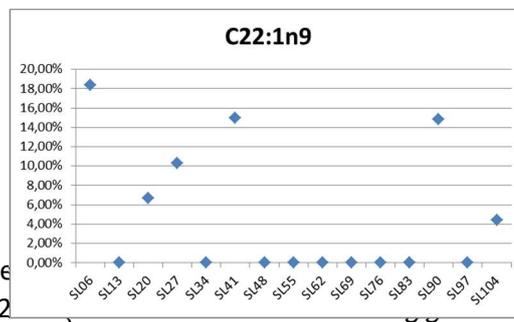
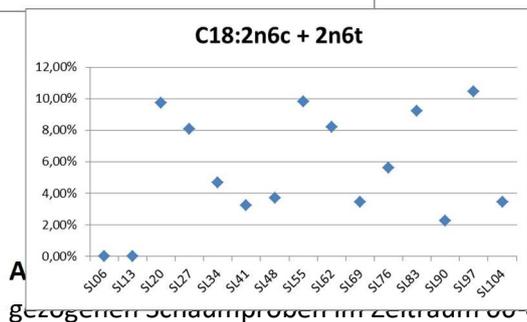
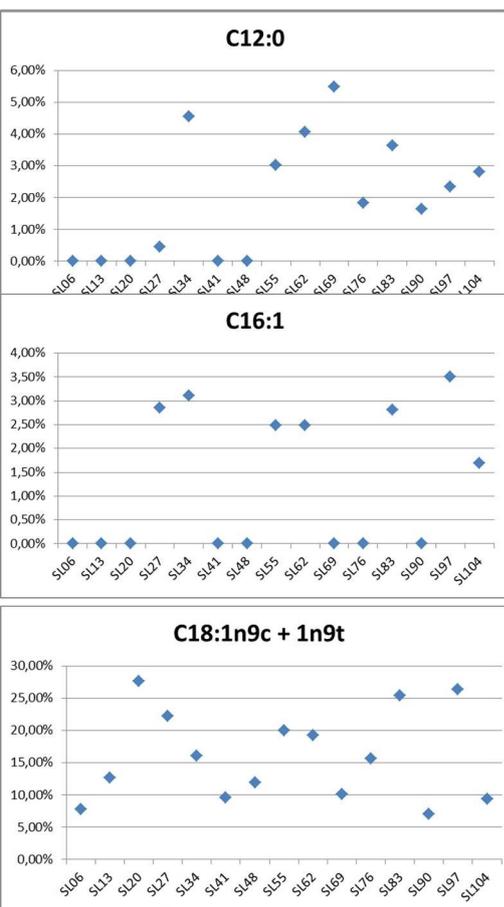


Abbildung 7.2: Die Gehalte an gesättigten und ungesättigten Fettsäuren [%] in den Schlämmpflanzenproben (siehe Tabelle 1)

Auch bei den Untersuchungen der Schlämmpflanzenproben lässt sich kein eindeutiger Unterschied zwischen den Probenahmen vor (SL06-34) und den Probenahmen nach Einbau des Sammelmoduls (SL41-104) beobachten.

2.5 Aminosäureanalytik

2.5.1 Allgemeines

Die Primärsequenz von Proteinen und Peptiden besteht aus kovalent über Peptidbindungen miteinander verbundene Aminosäurereste. Daher könnte die einzelnen Aminosäuren erst nach Hydrolyse nachgewiesen und quantifiziert werden. Die hydrolytische Spaltung erfolgt nach einem Standardprotokoll des Labors für marine Biotechnologie bei Temperaturen von über 100°C sowie in Anwesenheit einer starken Säure. Nach der Hydrolyse stehen einige Aminosäuren nicht mehr für die weitere Analytik zur Verfügung. Tryptophan wird nahezu vollständig abgebaut, ähnliches gilt in geringerem Maße für die Aminosäuren Serin und Threonin. Des Weiteren besteht trotz Arbeiten unter einer Stickstoffatmosphäre die Gefahr, dass Methionin oxidiert wird und ebenfalls nur in geringem Maße detektierbar ist. Durch die Hydrolyse liegt zudem Cystein als Dimer Cystin in der Lösung vor und kann nicht mit der verwendeten Methode detektiert

werden. Peptidbindungen zwischen Valin und Isoleucin werden zudem nur teilweise aufgespalten und durch eine Desaminierung sind Asparagin und Glutamin nur als Asparaginsäure bzw. Glutaminsäure detektierbar. Die verwendete Methode basiert auf dem Nachweis mittels eines Fluoreszenzdetektor. Da Aminosäuren selbst keine fluoreszierenden Substanzen sind, erfolgt zunächst eine Derivatisierung mit ortho-Phthaldialdehyd (OPA), weil in Gegenwart eines Thiols (z.B. β -Mercaptoethanol) primäre Aminosäuren mit OPA-Reagenz hoch fluoreszierende Isoindole bilden. Ein Nachteil des OPA-Verfahrens ist jedoch, dass nur primäre Aminosäuren derivatisiert werden können. Somit werden sekundäre Aminosäuren wie Prolin nicht derivatisiert. Die jeweiligen Messungen werden mit Hilfe eines kommerziell erwerblichen Referenzstandards zugeordnet. Zu diesem Zweck wird bei jeder Messsequenz ein Referenzstandard (5mg/L) mitgemessen. Damit ist sichergestellt, dass Schwankungen in der Retentionszeit aber auch Unterschiede in der chromatografischen Auflösung schnell erkannt werden können.

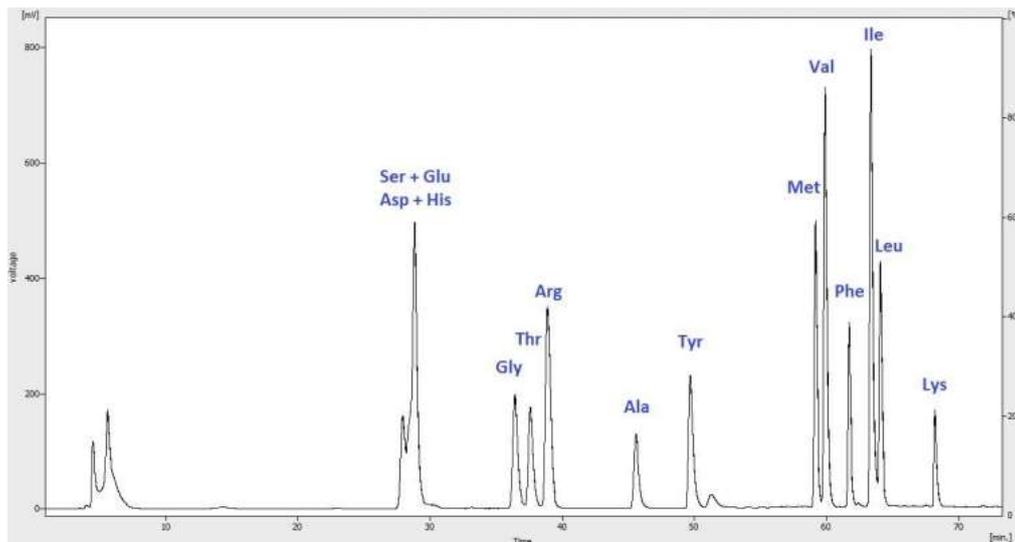


Abbildung 11: Elutionsprofil für den AS-18 Referenzstandard

2.5.2 Futtermittelproben

Die Futtermittelprobe wurde in Dreifachbestimmung aufbereitet und gemessen. Es handelt sich dabei um Pellets welche vor der Hydrolyse mit einem Mörser fein zermahlen wurden. Die untersuchten Proben entsprechen den Proben, welche bereits für die Fettsäureanalytik (2.4.1) eingesetzt wurden. Abbildung 12 zeigt ein Beispielchromatogramm für die untersuchte Futtermittelprobe.

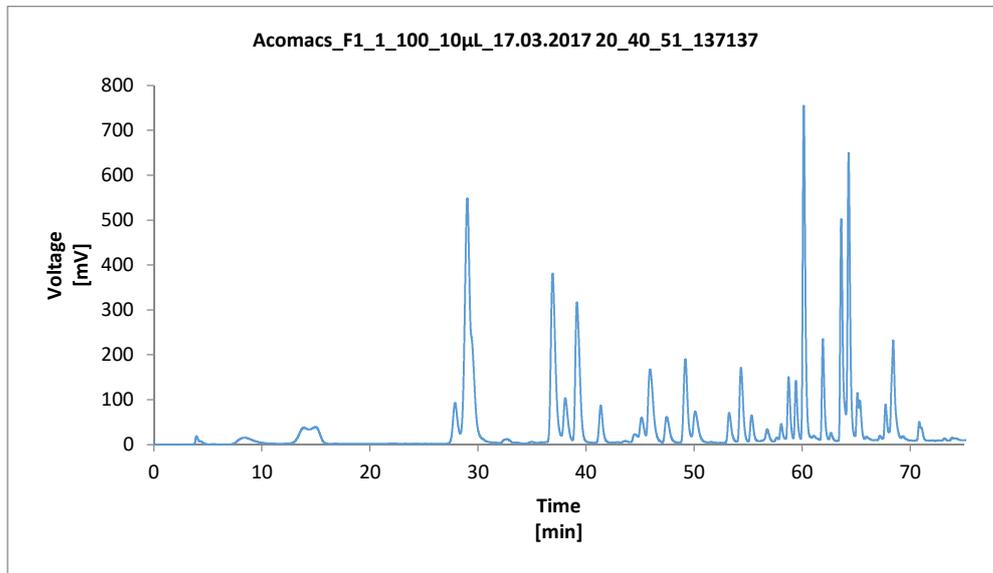


Abbildung 12: Elutionsprofil für eine hydrolysierte Futtermittelprobe. Die Probe wurde hierzu zunächst verdünnt (1:100)

Die Aminosäuren wurden dann unter Zuhilfenahme von Abbildung 11 zugeordnet. Tabelle 17 fasst die mittleren Anteile[%] als auch die mittleren Gehalte [mg/g] der Aminosäuren zusammen.

Tabelle 17: mittlere Anteile [%] und mittlere Gehalt [mg/g] der Aminosäuren in der untersuchten Futtermittelprobe (n=3)

Aminosäure	Anteil [%]	StdAbw	Gehalt [mg/g]
Ser+Glu	2,65%	0,18%	31,96
His + Asp	22,38%	0,65%	42,78
Gly	11,33%	0,19%	26,34
Thr	2,64%	0,17%	12,67
Arg	8,77%	0,19%	29,52
Ala	4,78%	0,09%	20,07
Tyr	5,56%	1,08%	32,60
Met	2,07%	0,02%	7,01
Val	12,39%	0,31%	21,33
Phe	3,50%	0,11%	22,35
Ile	8,34%	0,26%	15,62
Leu	10,65%	0,24%	37,26
Lys	4,95%	0,38%	53,44
Gesamt	100,00%		352,96

Die Futterproben zeichnen sich durch einen besonders hohen Histidin- + Asparaginsäureanteil aus, der bei etwa 22,5% liegt. Zudem ist ein geringer Anteil an Methionin nachweisbar. Insgesamt liegt der Anteil der quantifizierbaren Aminosäuren (2.5.1) in der Futtermittelproben bei etwa 350 mg/g und daher bei ca. 35% Gewichtsanteil.

Die Verteilung der Aminosäuren in der Futtermittelprobe (Tabelle 17) ist in Abbildung 13 als Säulendiagramm dargestellt.

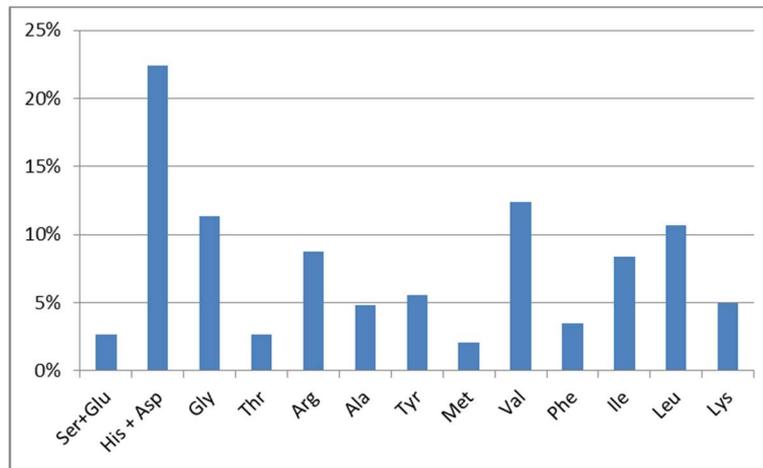


Abbildung 13: prozentuale Verteilung der Aminosäuren in der untersuchten Futtermittelprobe

Auffällig ist der recht hohe Gehalt (> 10%) an Valin Glycin und Leucin in der untersuchten Futtermittelprobe.

2.5.3 Fischfiletproben

Es wurden von drei verschiedenen Fischen insgesamt sechs Filetproben genommen. Jede dieser Filetproben wurde in Doppelbestimmung aufbereitet und gemessen. Die Filetproben wurden gefriertrocknet und anschließend gemörsert. Bei den untersuchten Fischfiletproben handelt es sich um die bereits für die Fettsäurebestimmung verwendeten Filetproben. Auch in diesem Fall wird das in Abbildung 11 gezeigte Elutionsprofil des Referenzstandards zur Zuordnung der Aminosäuren verwendet. Abbildung 14 zeigt exemplarisch das Elutionsprofil für eine der untersuchten Filetproben.

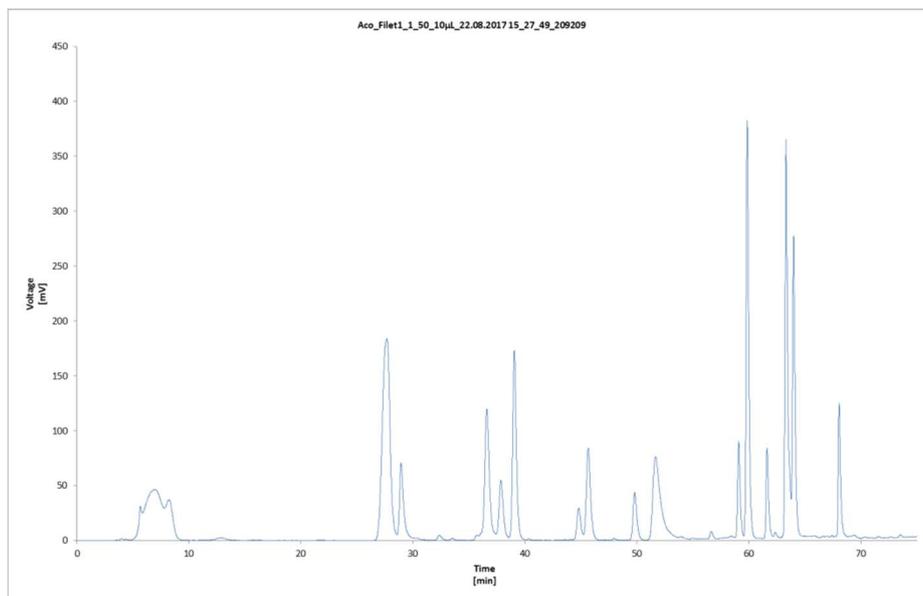


Abbildung 14: Aminosäureelutionsprofil für eine hydrolysierte Fischfiletprobe.

Tabelle 18 fasst die mittleren Anteile[%] als auch die mittleren Gehalte [mg/g] der Aminosäuren zusammen.

Tabelle 18: mittlere Anteile [%] und mittlere Gehalt [mg/g] der Aminosäuren in den untersuchten Fischfiletproben (n=6; Doppelbestimmung)

Aminosäure	Anteil [%]	StdAbw	Gehalt [mg/g]
Ser+Glu	3,34%	0,84%	240,3
His + Asp	14,29%	1,15%	25,6
Gly	8,81%	1,15%	26,4
Thr	3,45%	0,41%	21,4
Arg	9,72%	1,30%	42,1
Ala	5,17%	0,66%	28,0
Tyr	2,73%	0,37%	21,0
Met	3,49%	0,57%	15,3
Val	15,69%	1,77%	34,7
Phe	3,16%	0,36%	26,0
Ile	15,03%	1,73%	36,2
Leu	10,83%	1,28%	48,7
Lys	4,29%	0,55%	60,1
Gesamt	100,00%		625,8

Auch in diesem Fall ist es wahrscheinlich, dass Serin und Glutaminsäure bzw. Histidin und Asparaginsäure co-eluieren und die Verteilung der einzelnen Aminosäuren in der Realität etwas anders als berechnet ist. Es ist zu betonen, dass in die Auswertung nur die Messungen eingeflossen sind, bei denen eine eindeutige Zuordnung (Ser+Glu bzw. His + Asp) möglich war. Auffällig sind zudem die neben Histidin + Asparaginsäure recht hohen Gehalte an Valin, Isoleucin und Leucin mit jeweils mehr als 10%. Abbildung 15 vergleicht die unterschiedlichen Gehalte der Aminosäuren.

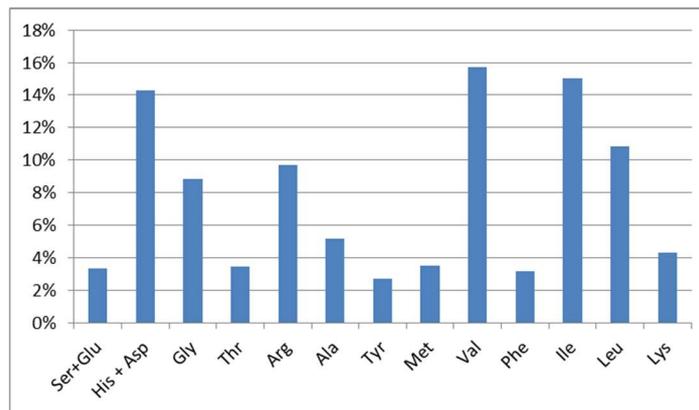


Abbildung 15: mittlere prozentuale Verteilung der Aminosäuren in den untersuchten Fischfiletproben

2.5.4 Schaumproben der Probenahme 1

Die insgesamt 12 Proben aus dem Abschäumer wurden über die Monate Jul/Aug in 2016 über einen Zeitraum von vier Wochen jeweils montags, mittwochs und freitags gezogen. Die Proben wurden jeweils in Doppelbestimmung aufgearbeitet und gemessen. Zur Bestimmung der Gehalte im Feststoff und in der Flüssigphase wurden die Ergebnisse mit Hilfe der Aminosäurenrestmassen umgerechnet und gemäß Abbildung 11 zugeordnet. Da mit dem verwendeten Verfahren keine eindeutige Trennung zwischen Serin und Glutaminsäure möglich ist, wurden diese Aminosäuren in einem gemeinsamen Signal dargestellt und als Summe ausgewertet. Bei der Betrachtung der Ergebnisse ist zunächst aufgefallen, dass das Gesamtsignal der Messungen stark variiert (Abbildung 16). Da sich diese Abweichungen allerdings durch die jeweilige Doppelbestimmung bestätigen lassen, kann daraus geschlossen werden, dass diese Unterschiede entweder reale Unterschiede sind oder auf Inhomogenitäten der Proben zurückzuführen ist. Probe Nr.8 (Ild. Nr. 15 und 16) brachte keine auswertbaren Ergebnisse und wurde daher aus allen weiteren Auswertungen entfernt.

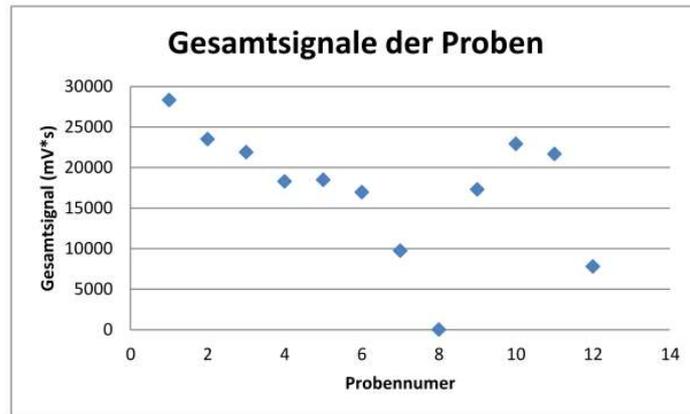


Abbildung 16: Gesamtsignal (Gesamtheit der detektierten Aminosäuren) für die Proben der ersten Probenkampagne. Insgesamt wurden 12 Probenahmen durchgeführt, Probe 8 führte zu keinen verwertbaren Ergebnissen

Abbildung 17 zeigt exemplarisch ein typisches Elutionsprofil für die Proben der Probenahme 1.

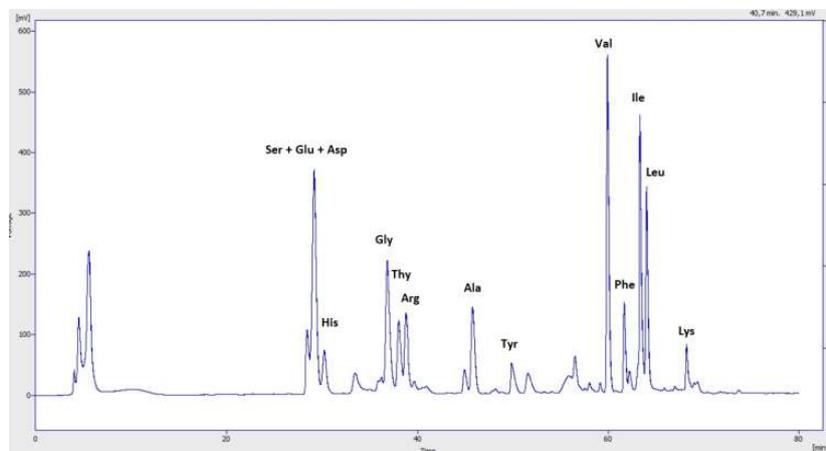
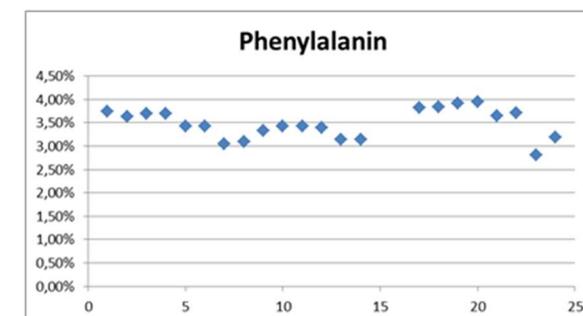
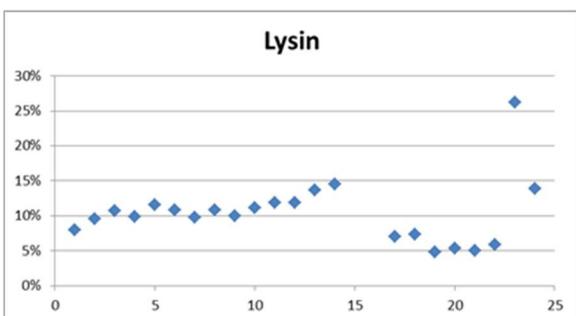
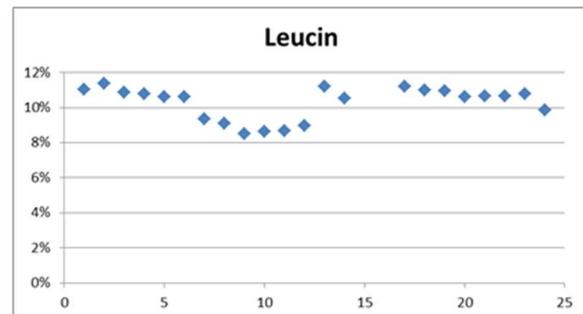
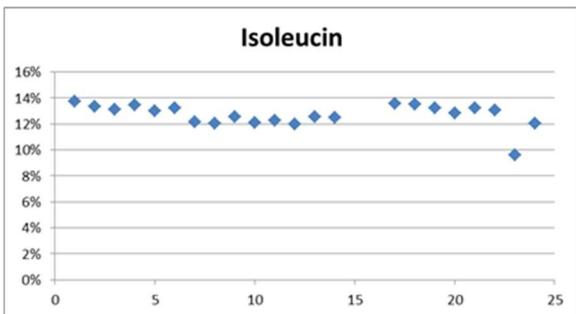
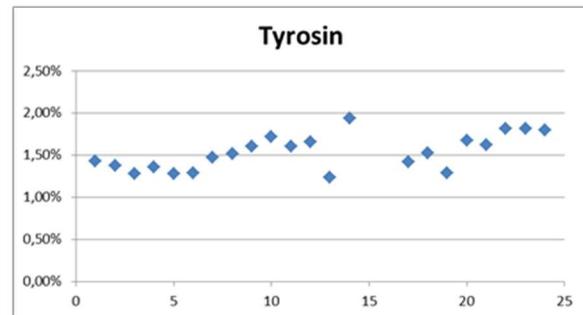
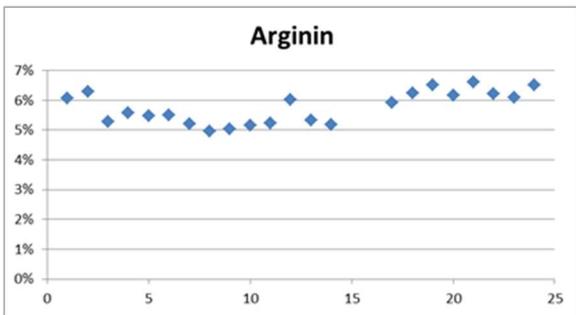
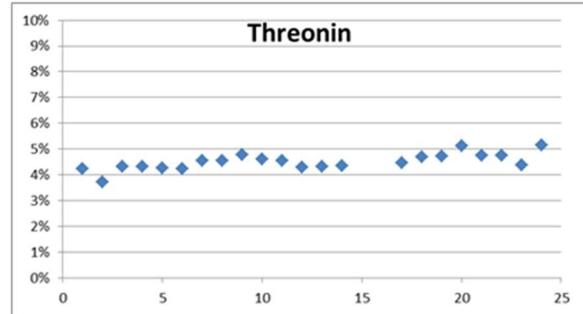
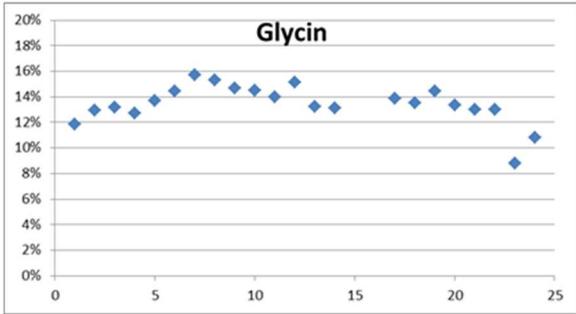
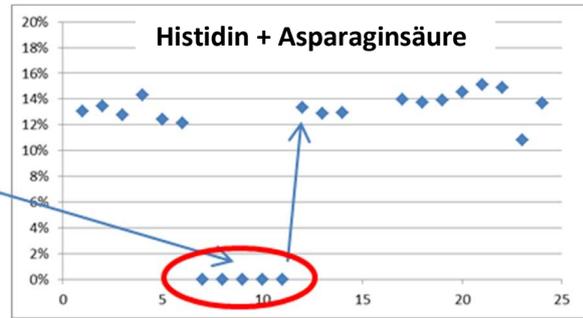
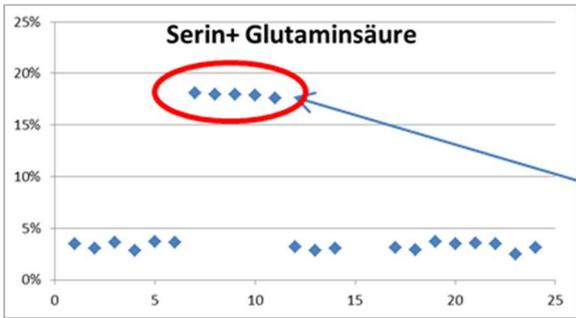


Abbildung 17: Aminosäureelutionsprofil für Abschäumerproben im Rahmen der Probenahme 1

Nachfolgend werden in Abbildung 18 die Gehalte der einzelnen Aminosäuren in den gezogenen Proben der Probenahmekampagne 1 dargestellt.



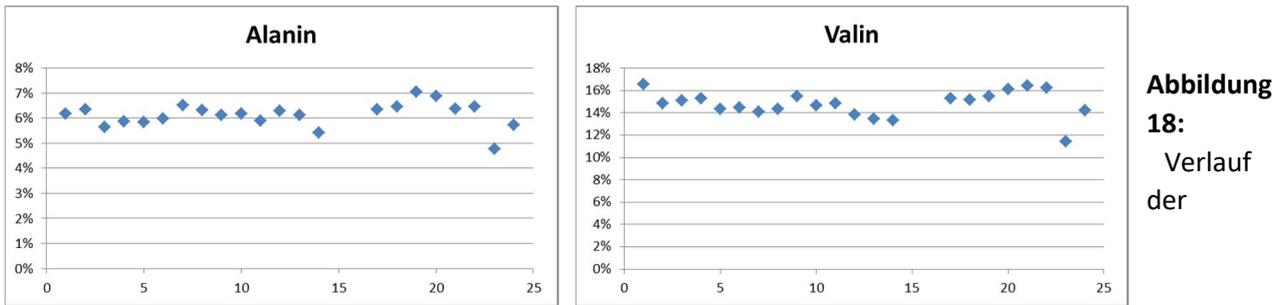


Abbildung 18:
Verlauf der

Aminosäuregehalte in den Abschäumerproben der Probenahme 1; auffällig ist die Korrelation zwischen den Ser/Glu-Proben mit dem Verlauf bei His/Asp. Dort war die Trennperformance der HPLC bei 5 Messungen schlechter, sodass Ser/Glu/His/Asp co-eluierten (rote Kreise). Der 2. Pfeil von Probe 11 zu Probe 12 verdeutlicht diese Sachlage, weil 11 und 12 die Doppelbestimmung der 6. Probenahme darstellen und dort die verbesserte chromatografische Auflösung die Unterscheidung von Ser/Glu und His/Asp erlaubt.

Mit Ausnahme eines Trennproblems bei der Unterscheidung von Ser/Glu von His/Asp (s. rote Kreise in Abb. 18) zeigen die Abbildungen eine sehr gleichmäßige Verteilung der Aminosäuren. Dieses spricht für eine funktionierende und gleichmäßige Probenahme. Damit sind die Schwankungen im Gesamtsignal (Abb. 16) eher auf Messchwankungen im chromatografischen System zurückzuführen. Bei der Betrachtung der Ergebnisse lässt sich erkennen, dass Valin mit etwa 15% in den Proben am stärksten angereichert wird. Histidin + Asparaginsäure, Glycin, Isoleucin, Leucin und Lysin sind mit 10-15% enthalten, während für Serin/Glutaminsäure, Threonin, Arginin, Alanin, Phenylalanin lediglich Gehalte um 5% festgestellt werden konnten. Tyrosin stellt einen Anteil von 1,53%. Die Werte für Asparaginsäure und Methionin liegen unterhalb der Bestimmungsgrenze.

Auf Grund der ausgeprägten Konstanz der Ergebnisse wurde im Verlauf der Auswertung der Probenahme 1 auf eine Darstellung der Einzelverläufe verzichtet. Vielmehr wurden die mittleren Gehalte über die gesamte Probenkampagne miteinander verglichen. Abbildung 19 und Tabelle 19 zeigen diesen Vergleich für die im Rahmen der Probenahme 1 gewonnenen Abschäumerproben.

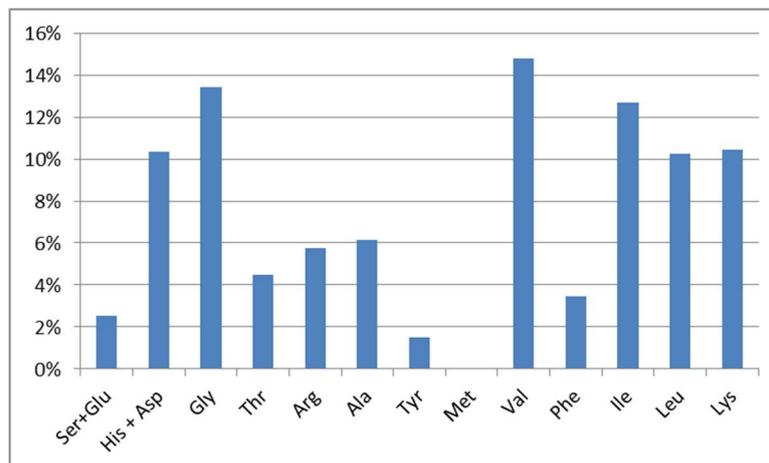


Abbildung 19: mittlere Anteile [%] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben der Probenahme 1

Tabelle 19: mittlere Anteile [%] und mittlere Gehalte [mg/g] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben der Probenahme 1

Aminosäure	Anteil [%]	StdAbw	Gehalt [mg/g]
Ser+Glu	2,52%	0,36%	0,93
His + Asp	10,36%	4,35%	0,31
Gly	13,42%	1,64%	0,37
Thr	4,50%	1,24%	0,25
Arg	5,75%	0,65%	0,23
Ala	6,13%	0,46%	0,31
Tyr	1,53%	0,94%	0,11
Met	0,00%	0,51%	
Val	14,76%	4,32%	0,30
Phe	3,48%	2,26%	0,27
Ile	12,69%	2,92%	0,28
Leu	10,27%	0,92%	0,42
Lys	10,45%	4,34%	1,21
Gesamt	95,86%		4,99

Auffällig an den Werten in Tabelle 19 sind die mittleren Gehalte in mg/g Probe. Der Gesamtgehalt von ca 5mg/g Probe entspricht einem Anteil von 0,5% bezogen auf die Gesamtprobe. Dieser Wert korreliert sehr gut mit dem organischen Gesamtanteil, der mit 6mg/g oder 0,6% bestimmt wurde (2.2).

Abschließend für die Abschäumerproben der Probenahme 1 zeigt Abbildung 20 den Vergleich der Aminosäuregehalte in den Abschäumerproben (rot) zu den untersuchten Futtermittelproben (blau). Der Unterschied bei Histidin korreliert mit geringeren Gehalten für Ser/Glu. Ansonsten sind die größten Unterschiede für Methionin, Tyrosin (abgereichert in den Abschäumerproben) und für Lysin (angereichert in den Abschäumerproben) zu erkennen.

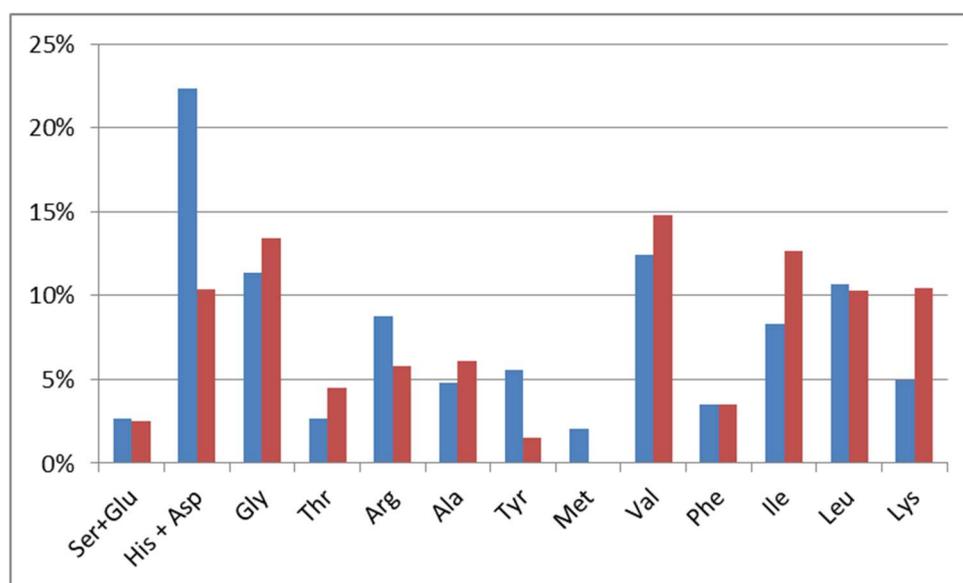


Abbildung 20: Vergleich der mittleren Anteile [%] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben (rot) der Probenahme 1 und den Futtermittelproben (blau)

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass es in den Abschäumerproben zu einer Abreicherung von Asparaginsäure / Histidin sowie Tyrosin kommt, während sich bei Isoleucin und Lysin eine Anreicherung andeutet.

2.5.5 Probenahme 2 (E4)

Während der Monate Nov/Dez 2016 wurden über drei Wochen jeweils täglich wochentags Schaumproben gewonnen. Insgesamt wurden 13 Schaumproben gewonnen. Hierbei handelt es sich um Aliquots der bereits für die Fettsäureanalytik verwendeten Proben (2.4.4). Die Proben wurden jeweils in Doppelbestimmung aufgearbeitet und gemessen. Zur Bestimmung der Gehalte im Feststoff und in der Flüssigphase wurden die Ergebnisse mit Hilfe der Aminosäurenrestmassen umgerechnet und gemäß

Abbildung 11 zugeordnet. Da mit dem verwendeten Verfahren keine eindeutige Trennung zwischen Serin und Glutaminsäure möglich ist, wurden diese Aminosäuren in einem gemeinsamen Signal dargestellt und als Summe ausgewertet.

Abbildung 21 zeigt exemplarisch ein Elutionsprofil für Abschäumerproben der 2. Probenahme (E4).

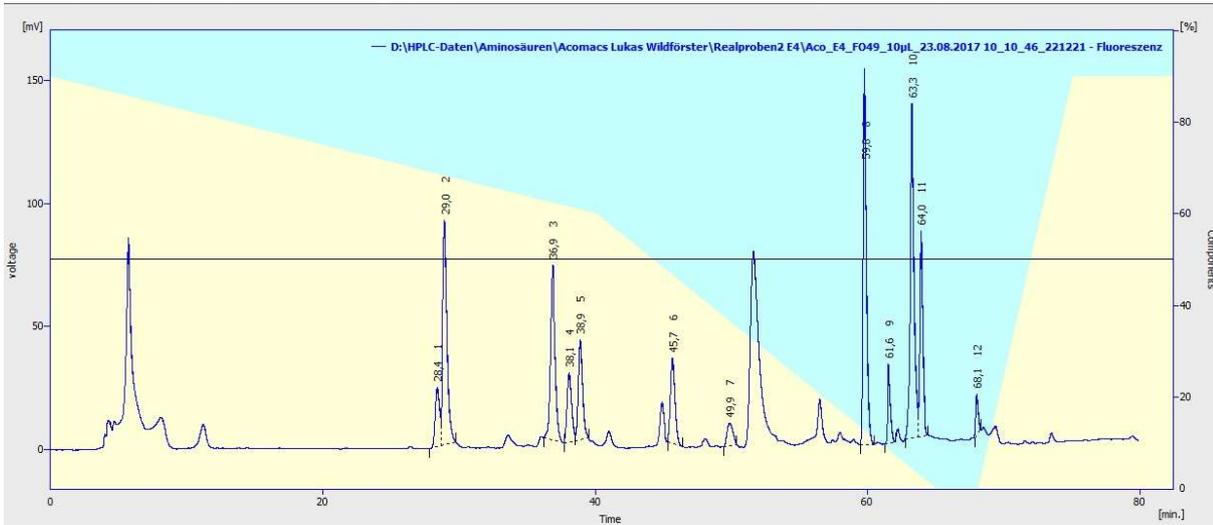


Abbildung 21: exemplarisches Elutionsprofil für Abschäumerproben der 2. Probenahme (E4).

Nachfolgend werden in Abbildung 22 die Gehalte der einzelnen Aminosäuren in den gezogenen Proben der Probenahmekampagne 2 (E4) dargestellt. Hierbei wird einerseits auf das Serin / Glutaminsäure / Histidin-Trennproblem verdeutlicht und andererseits exemplarisch gezeigt, dass auch in diesem Fall (analog zu Probenahme 1) die prozentualen Anteile der jeweiligen Aminosäuren im organ. Anteil der Abschäumproben annähernd konstant bleibt. Daher werden nachfolgend die weiteren Auswertungen auf Basis der Mittelwerte erfolgen. Dabei wird für das Paar Ser/Glu immer der niedrigere bestimmte Wert als korrekt angesehen, während für Histidin immer der höhere Wert angesetzt wird (Abbildung 22 und Tabelle 20).

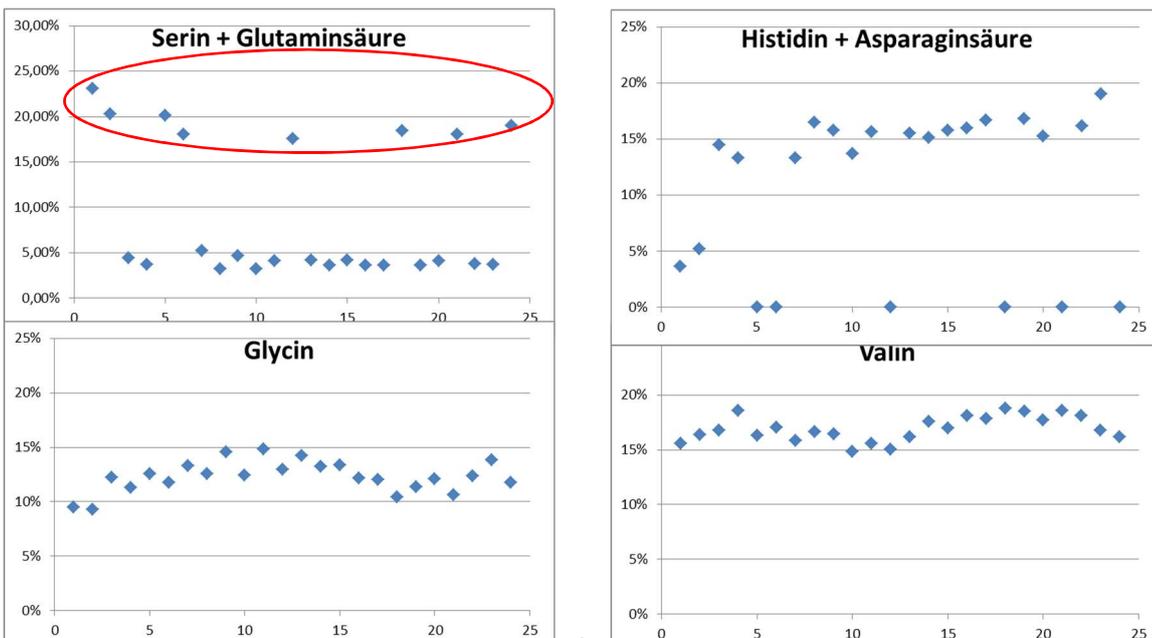


Abbildung 22: Verlauf der Aminosäuregehalte in den Abschäumproben der Probenahme 2 (E4); auffällig ist die Korrelation zwischen den Ser/Glu-Proben mit dem Verlauf bei His/Asp. Dort war die

Trennperformance der HPLC bei 8 Messungen schlechter, sodass Ser/Glu/His/Asp co-eluierten (rote Kreise). Die Ergebnisse sind als Doppelbestimmungen dargestellt um die Reproduzierbarkeit der Untersuchung zu dokumentieren (d.h. 1/2; 3/4 usw. gehören immer zur gleichen Probe)

Tabelle 20 fasst daher die mittleren Anteile [%] und die mittleren Gehalte [mg/g] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben der zweiten Probenahme (E4) zusammen.

Tabelle 20: mittlere Anteile [%] und mittlere Gehalte [mg/g] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben der Probenahme 2 (E4)

Aminosäure	Anteil [%]	StdAbw	Gehalt [mg/g]
Ser+Glu	3,05%	1,03%	0,5
His + Asp	12,02%	3,08%	0,5
Gly	12,41%	6,42%	0,3
Thr	5,01%	3,12%	0,2
Arg	6,39%	4,19%	0,2
Ala	6,29%	4,09%	0,3
Tyr	2,19%	1,63%	0,1
Met	0,59%	0,27%	0,0
Val	18,21%	11,57%	0,3
Phe	4,20%	2,86%	0,3
Ile	17,77%	9,92%	0,3
Leu	10,02%	6,78%	0,3
Lys	1,84%	1,30%	0,2
Gesamt	100,00%		3,6

Auffällig ist, dass der Gesamtgehalt an Ser/Glu/His mit ca. 20% unterhalb von deren Gesamtgehalt im Futtermittel liegt. Auffällig sind zudem die recht hohen Gehalte an Valin und Isoleucin mit mehr als 15%. Auch die Leucin und Glycinanteile sind mit ca. 10% recht hoch. Abbildung 23 vergleicht die unterschiedlichen Gehalte der Aminosäuren.

Interessant sind erneut die Gesamtgehalte an Aminosäure. In diesem Fall liegt der Gehalt analog zur Probenahme 1 bei 3,6 mg/gProbe, d.h. bei 0,4% bezogen auf die Ausgangsprobe. D.h. auch in diesem Fall korreliert der Gehalt an Aminosäuren sehr gut mit dem Erwartungswert von maximal 6mg wie er in Kapitel 2.2 bestimmt wurde. Auch im Vergleich zur Probenahme 1 ist der Unterschied zwischen 5,0 bzw. 3,6 mg relativ gering, sodass die Vorgehensweise bei beiden Probenahmen grundsätzlich vergleichbar ist.

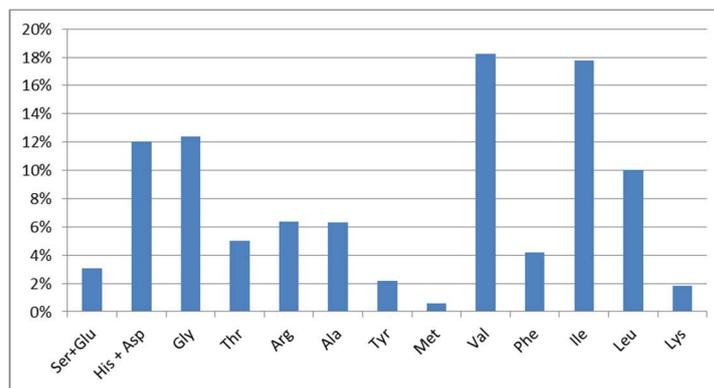


Abbildung 22: mittlere Anteile [%] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben der Probenahme 2 (E4)

Abschließend sollen analog zur Probenahme 1 die verschiedenen Aminosäuregehalte in den unterschiedlichen Proben verglichen werden. D.h. in diesem Fall sollen die Gehalte in den Fischfilet-, den Futtermittel- und den Abschäumerproben der P1 und P2 verglichen werden (Abbildung 23).

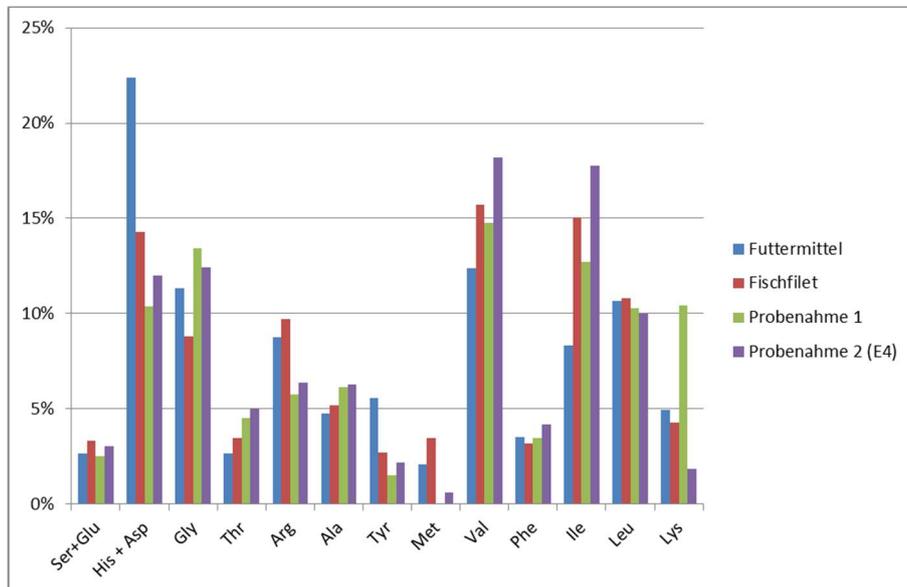


Abbildung 23: Vergleich der mittleren Anteile [%] der detektierbaren Aminosäuren in Futtermittel (blau), Fischfilet (rot), Abschäumerproben der Probenahme 1 (grün) und Probenahme 2 (E4, lila)

Allgemein fällt beim Vergleich auf, dass die Anteile bei den Probenahmen 1 und 2 vergleichbar hoch sind. Ausnahmen sind lediglich His/Asp/Ser/Glu (hier sei aber auf die Trennproblematik verwiesen) für das Futtermittel und insbesondere Lysin, welches bei der ersten Probenahme sehr viel stärker in den Abschäumerproben enthalten ist. Die zuvor vermutete Anreicherung von Lysin erscheint damit unwahrscheinlich. Allgemein ist aber festzuhalten, dass die prozentualen Anteile im Futtermittel (Blau) sich bis auf die Ausnahme Histidin und in geringerem Maße für Isoleucin erwartungsgemäß auch im Fischfilet und den Abschäumerproben abbilden.

2.5.6 Probenahme 3 (E14)

Im Juni 2017 wurden für eine Woche täglich wochentags Schaum- und Schlammproben genommen. Während dieser Probenahme wurden insgesamt fünf Proben gewonnen, welche jeweils einfach präpariert wurden, da bei dieser Probenahme nur sehr wenig Probenmaterial zur Verfügung stand.

Anschließend erfolgte der Einbau des Sammelmoduls für Schlamm aus dem Trommelfilter. Dieser Schlamm wurde danach dem Denitrifikationsbiofilter zugeführt wurde. Nach einer einwöchigen Einlaufzeit wurden im Juli 2017 für zwei Wochen täglich Schaum- & Schlammproben insgesamt 10 weitere Proben gezogen. Diese wurden ebenfalls einfach präpariert und vermessen. Nachfolgend werden zunächst die Schaumproben ausgewertet. Anschließend erfolgt die Auswertung der Schlammproben sowie der Vergleich der Schlamm- und Schaumproben. Abschließend erfolgt ein Vergleich sämtlicher hinsichtlich der Aminosäurezusammensetzung untersuchten Proben.

2.5.6.1 Schaumproben der 3. Probenahmekampagne (E14)

Zur Bestimmung der Gehalte im Feststoff wurden die Ergebnisse mit Hilfe der Aminosäurenrestmassen umgerechnet und gemäß Abbildung 11 zugeordnet. Da mit dem verwendeten Verfahren erneut keine eindeutige Trennung zwischen Serin und Glutaminsäure möglich ist, wurden diese Aminosäuren in einem gemeinsamen Signal dargestellt und als Summe ausgewertet. Zudem ist bei den vorbereiteten Schaumproben festzustellen, dass die Proben 11-15 nicht mehr gemessen werden konnten. Es kam zu einem Geräteausfall und die bereits vorbereiteten Proben wurden durch einen Lagerungsfehler zerstört. Daher ist in diesem Fall (anders als bei den Schlammproben) lediglich eine Betrachtung der Proben 1-10 möglich.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse ist zunächst aufgefallen, dass das Gesamtsignal der Messungen stark variiert (Abbildung 24). Da Probe 5 aber noch zu den Proben aus dem Vorlauf gehört, ist ein Unterschied, der auf den Einbau des Sammelmoduls zurückzuführen ist nicht wahrscheinlich. Diese Einschätzung wird auch durch die prozentualen Anteile der Aminosäuren im organ. Teil der gewonnenen Proben verdeutlicht (Abbildung 26 und Tabelle 21)

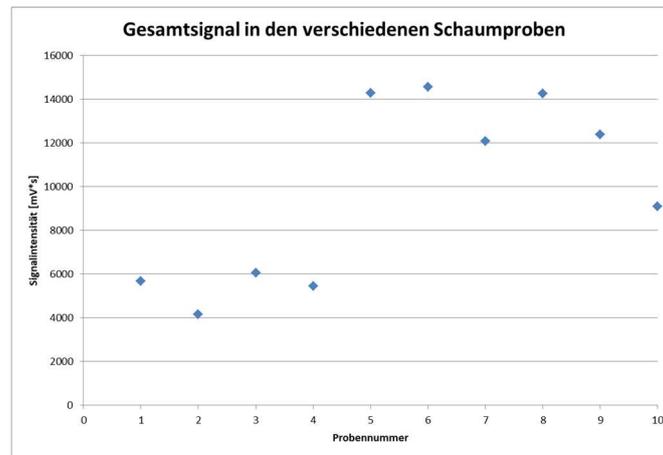


Abbildung 24: Gesamtsignal (Gesamtheit der detektierten Aminosäuren) für die Proben der dritten Probenkampagne. Insgesamt wurden 15 Probenahmen durchgeführt, Proben 11-15 konnten nicht mehr gemessen werden, da die Proben durch einen Lagerungsfehler zerstört wurden

Abbildung 25 zeigt exemplarsch ein typisches Elutionsprofil für die Proben der Probenahme 1.

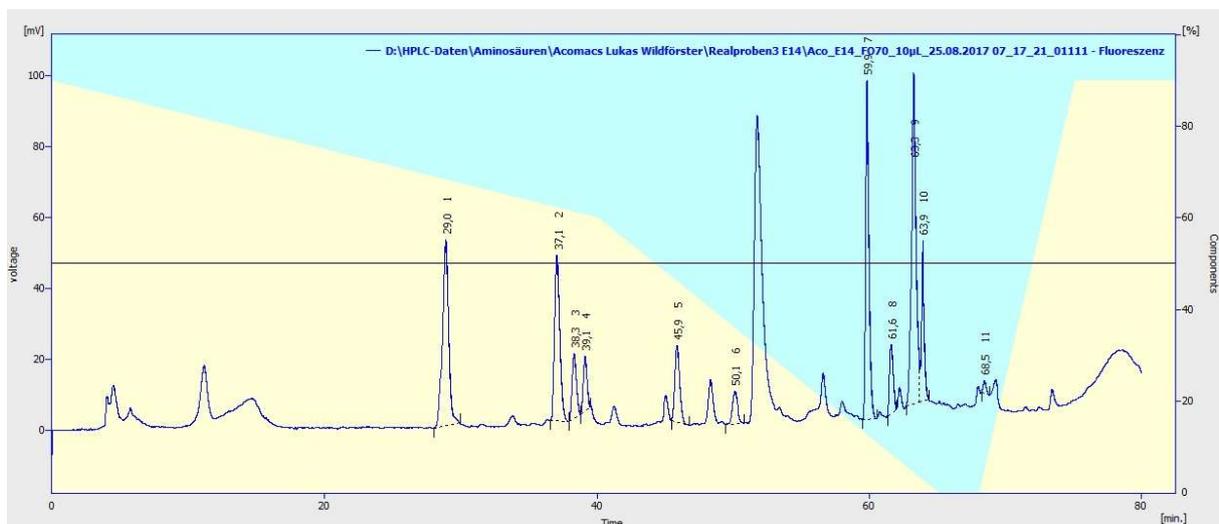


Abbildung 25: Aminosäureelutionsprofil für Abschäumerproben im Rahmen der Probenahme 3 (E14)

Nachfolgend werden in Abbildung 26 die Gehalte der einzelnen Aminosäuren in den gezogenen Abschäumerproben der Probenahmekampagne 3 dargestellt.

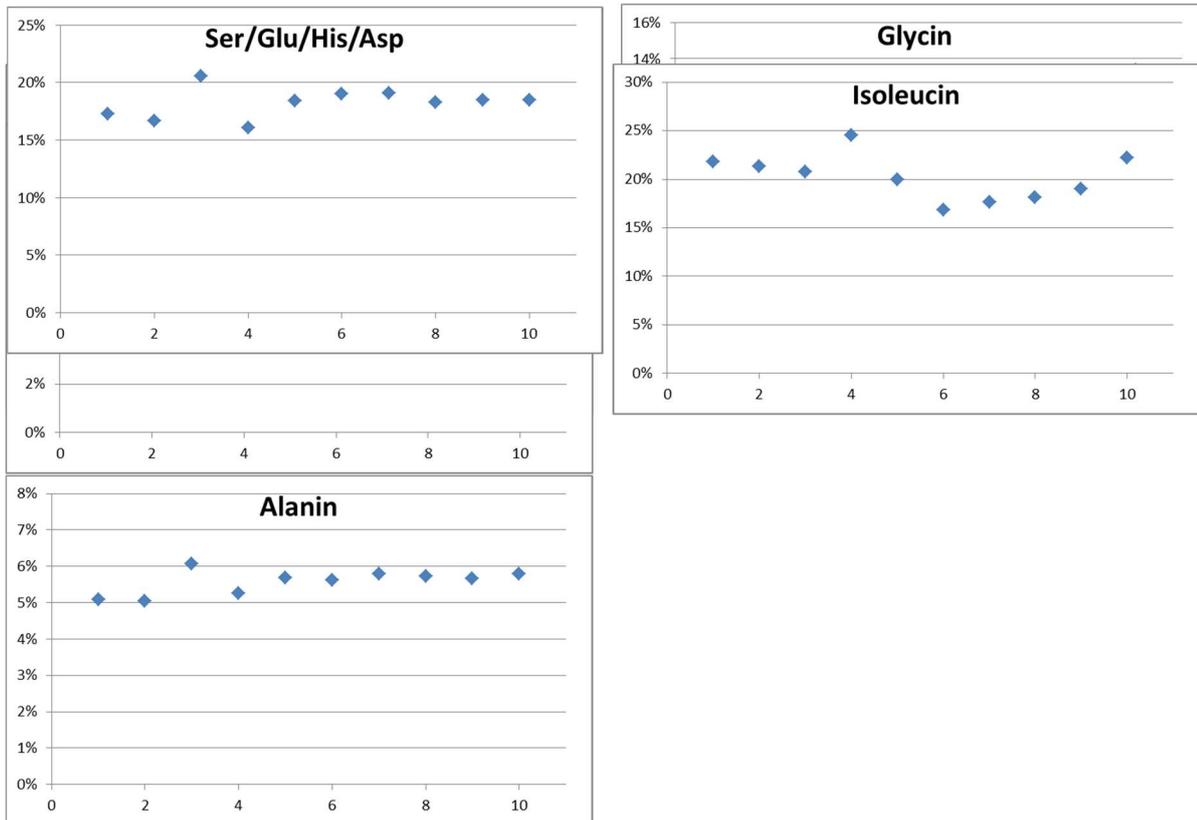


Abbildung 26: Verlauf der Aminosäuregehalte in den Abschäumerproben der Probenahme 3; Auffällig ist das zwischen Ser/Glu und His/Asp nicht mehr unterschieden werden konnte. Dort hatte sich die Trennperformance der HPLC deutlich verschlechtert, sodass Ser/Glu/His/Asp co-eluierten.

Auch hier tritt erneut das Trennproblem Ser/Glu/His/Asp auf. His/Asp ist nicht mehr von den beiden anderen Aminosäuren zu unterscheiden. Darüber hinaus zeigen die Abbildungen eine sehr gleichmäßige Verteilung der Aminosäuren. Dieses spricht für eine funktionierende und gleichmäßige Probenahme sowie für eine Homogenität der gezogenen Proben. Damit sind die Schwankungen im Gesamtsignal (Abb. 24) ggf. auf Messschwankungen im chromatografischen System zurückzuführen. Auf Grund der ausgeprägten Konstanz der Ergebnisse wurde im Verlauf der Auswertung der Probenahme 3 auf eine weitere grafische Darstellung der Einzelverläufe verzichtet. Vielmehr wurden im weiteren Verlauf ausschließlich die mittleren Gehalte über die gesamte Probenkampagne verglichen. Die in Tabelle 22 dargestellte Standardabweichung der Einzelmesswerte (Tabelle 21) unterstützt diese Vorgehensweise. Abbildung 27 und Tabelle 22 zeigen diesen Vergleich für die im Rahmen der Probenahme 3 gewonnenen Abschäumerproben.

Tabelle 21: Aminosäuregehalte [%] der Abschäumerproben der dritten Probenahme

	FO7	FO14	FO21	FO28	FO35	FO42	FO49	FO56	FO63	FO70	Mittelwert	Standabw
Ser/Glu/His/Asp	17,27%	19,09%	22,23%	17,02%	19,12%	19,01%	19,57%	18,81%	18,50%	18,48%	18,91%	1,42%
Gly	10,64%	11,52%	12,06%	11,58%	11,55%	12,82%	12,30%	12,60%	11,95%	13,38%	12,04%	0,78%
Thr	4,75%	4,44%	4,26%	5,27%	5,08%	4,64%	4,64%	4,66%	4,51%	4,34%	4,66%	0,31%
Arg	5,70%	5,31%	3,87%	4,49%	5,68%	6,05%	6,00%	6,44%	5,86%	3,10%	5,25%	1,08%
Ala	5,09%	5,05%	6,07%	5,26%	5,68%	5,63%	5,79%	5,73%	5,66%	5,80%	5,58%	0,33%
Tyr	2,96%	3,46%	3,15%	2,56%	1,82%	2,07%	1,96%	1,99%	2,73%	2,79%	2,55%	0,56%
Met	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	1,17%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,12%	0,37%
Val	16,64%	16,52%	15,76%	16,20%	17,79%	17,98%	18,51%	18,19%	18,01%	17,18%	17,28%	0,95%
Phe	4,71%	3,89%	3,51%	3,75%	3,76%	4,09%	3,65%	3,71%	4,21%	3,95%	3,92%	0,35%
Ile	21,81%	21,32%	20,73%	24,55%	19,93%	16,84%	17,67%	18,14%	19,01%	22,24%	20,22%	2,37%
Leu	8,72%	8,33%	7,51%	7,93%	8,69%	8,74%	8,96%	8,94%	8,92%	8,12%	8,49%	0,49%
Lys	1,72%	1,07%	0,85%	1,38%	0,90%	0,96%	0,94%	0,80%	0,64%	0,62%	0,99%	0,34%

Tabelle 22 zeigt die Mittelwerte [%] und die Standardabweichung der prozentualen Gehalte. Zusätzlich enthält Tabelle 22 die mittleren Absolutgehalte [mg/g] der detektierbaren Aminosäuren in den

Abschäumerproben der Probenahme 3 (E14). Abbildung 27 verdeutlicht die Werte aus Tabelle 22 als Säulendiagramm.

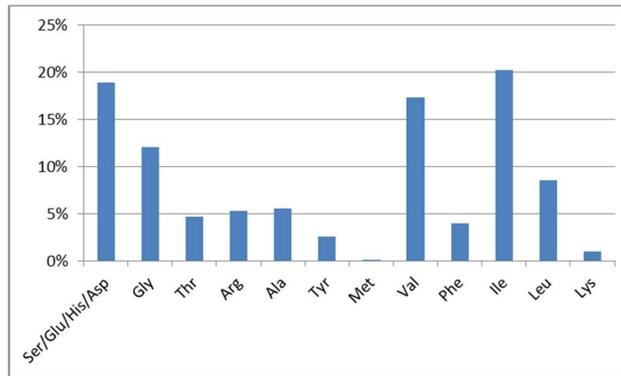


Abbildung 27: mittlere Anteile [%] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben der Probenahme 3 (E14)

Tabelle 22: Mittlere Anteile [%] und mittlere Gehalte [mg/g] der detektierbaren Aminosäuren in den Abschäumerproben der Probenahme 3 (E14)

Aminosäure	Anteil [%]	StdAbw	Gehalt [mg/g]
Ser+Glu+His + Asp	18,91%	1,29%	1,39
Gly	12,04%	0,78%	0,17
Thr	4,66%	0,31%	0,14
Arg	5,25%	1,08%	0,11
Ala	5,58%	0,33%	0,15
Tyr	2,55%	0,56%	0,09
Met	0,12%	0,37%	0,00
Val	17,28%	0,95%	0,19
Phe	3,92%	0,35%	0,15
Ile	20,22%	2,37%	0,22
Leu	8,49%	0,49%	0,18
Lys	0,99%	0,34%	0,06
Gesamt	100,00%		2,86

Bei der Betrachtung der Ergebnisse (Tabelle 22) lässt sich erkennen, dass Isoleucin und Valin mit etwa 17 - 20% in den Proben am stärksten angereichert werden. Glycin, Leucin ca. 10-% enthalten, während für Threonin, Arginin, Alanin, Phenylalanin lediglich Gehalte um 5% festgestellt werden konnten. Tyrosin stellt einen Anteil von 2,5 %. Die Werte für Methionin liegen unterhalb der Bestimmungsgrenze. Serin, Glutaminsäure, Asparaginsäure und Histidin lassen sich nicht einzeln beurteilen und liegen in Ihrer Gesamtheit bei ca. 20%. Auffällig an den Daten ist, dass der Lysingehalt der Proben mit ca. 1 % sehr niedrig ausfällt.

Interessant sind erneut die Gesamtgehalte an Aminosäure. In diesem Fall liegt der Gehalt bei 2,9 mg/gProbe, d.h. bei 0,3% bezogen auf die Ausgangsprobe. D.h. auch in diesem Fall korreliert der Gehalt an Aminosäuren sehr gut mit dem Erwartungswert von maximal 6mg wie er in Kapitel 2.2 bestimmt wurde. Auch im Vergleich zur Probenahme 1 und 2 ist der Gesamtgehalt in der gleichen Größenordnung (3 vs. 5,0 bzw. 3,6 mg), sodass die Vorgehensweise bei allen Probenahmen offensichtlich vergleichbar ist, wobei Probenahme 2 und 3 insgesamt etwas niedrigere Werte im Vergleich zu Probenahme 1 zeigen.

2.5.6.2 Schlammproben der 3. Probenahmekampagne (E14)

Durch einen Komplettausfall des HPLC-DAD-Systems (dieser deutete sich rückblickend betrachtet schon durch die nachlassende Trennleistung an; Abbildungen 17, 21, 25) konnten die Proben nicht nach der OPA-Methode untersucht werden. Stattdessen wurde eine in der Entwicklung befindliche Methode auf Basis der

Massenspektrometrie eingesetzt. Um deren Anwendbarkeit zu evaluieren wurden zunächst Kalibrationsreihen für die einzelnen Aminosäuren am MS aufgenommen.

Die Messung der Aminosäuren im Projekt OLA erfolgte mittels Massenspektrometrie an einem Tripletof 4600 der Firma ABSciex welches an eine Eksigent micro-LC-System (expert microLC200) angeschlossen ist. Die Massenkalkulation des MS erfolgt mit β -Galactosidase als Standard und erfolgt alle 6 Messungen. Zwischen 2 Probenmessungen werden zur Rekonditionierung und Reinigung des Systems immer zwei Blankmessungen durchgeführt. Die Analyse der Proben erfolgte als Duplikat. Das MS wurde im positiv-Modus betrieben.

Untersucht wurden folgende Aminosäuren:

L-Alanine, L-Arginine, L-Aspartic acid, L-Cystine, L-Glutamic acid, Glycine, L-Histidine, L-Isoleucine und L-Leucine als Summe, L-Lysine, L-Methionine, L-Phenylalanine, L-Proline, L-Serine, L-Threonine, L-Tyrosine und L-Valine. Kein Nachweis konnte für L-Tryptophane geführt werden, weil es im verwendeten Standardmix (AAS18 SIGMA-ALDRICH) nicht enthalten ist. Die Quantifizierung von Glyzin war ebenfalls nicht möglich, weil der lineare Bereich der Methode nicht identifiziert werden konnte. Als Problem erwies sich die in den Proben nach Präparation für die OPA-Methode enthaltene Borsäure. Erst ab einer Verdünnung von Faktor 50 war deren Gehalt so stark reduziert, dass seine Messung möglich war. Damit wurde bei einigen Aminosäuren allerdings die Nachweisgrenze der Methode unterschritten, sodass deren Quantifizierung nicht mehr möglich war. Eine Neupräparation der Rohproben war aus Mangel an Material nicht möglich. Es ist darauf hinzuweisen, dass es hierdurch zu Verschiebungen bei den prozentualen Anteilen kommt. Daher wird bei der Verwendung der Daten empfohlen eher eine semiquantitative Aussage hinsichtlich der Gehalte zu treffen.

Die Identifikation der Aminosäuren erfolgte auf Basis von charakteristischen Mutterionen, welche in Tabelle 23 aufgeführt sind. Das Injektionsvolumen beträgt jeweils 5 μ L.

Tabelle 23: charakteristische Massen der detektierten Aminosäuren (nach Hydrolyse)

Aminosäure	Hauption [m/z]	Nebenionen [m/z]						
Asparaginsäure	134.0600	116.0485	88.0522	74.0358				
Cystin	241.0398	122.0382	105.0113	76.0324				
Glutamat	148.0754	149.0783	130.0641	102.0683	84.0572			
Glycin	76.0504							
Histidin	156.0914	157.0941	110.0848					
Leucin	132.1131	133.1161	86.1068					
Lysin	147.1280	148.1308	130.1007	131.1039	84.0934			
Methionin	150.0739	133.0465	104.6630					
Phenylalanin	166.1024	120.0952	167.1056	149.0750	1210984.0000	103.0677		
Prolin	116.0819	117.0849	70.0761					
Serin	106.0635	88.0520	60.0564					
Threonin	120.0772	102.0663	74.0712	56.0604				
Typtophan	188.0808	205.1073	189.0842					
Tyrosin	182.0916	183.0943	165.0653	166.3068	147.0549	136.0870	123.0553	119.0603
Alanin	90.0500							
Valin	118.1510							
Arginin	175.1324							

Auf Basis dieser Mutterionen wurde für die einzelnen Aminosäuren eine Kalibration aufgestellt. Der lineare Bereich wurde für alle Aminosäuren im Bereich von 0,5 bis 25 μ mol/L. Ausnahme ist Cystin, welche lediglich in einer Konzentration von 0,25 – 12,5 μ mol/L gemessen wurde. Cystin ist das Dimer von Cystein und daher ist bezogen auf das Monomer die angesetzte Kalibration wieder identisch. Das Bestimmtheitsmaß lag für die verschiedenen Aminosäuren im Bereich von 0,9678 (Threonin) bis 0,9988 (Cystin).

Analog zur bisherigen Vorgehensweise soll zunächst das Gesamtsignal, in diesem Fall die Gesamtmenge an detektierbaren Aminosäuren betrachtet werden. Dabei zeigt Abbildung 28, dass der Aminosäuregehalt mit einer Ausnahme (Probenahme SL83; Tag 12) recht konstant bleibt. Allgemein betrachtet schwankt der

Gesamtgehalt an Aminosäure um einen Wert von etwa 1 - 2% (10-20 mg/g). Mögliche Ursachen für den stark erhöhten Einzelwert könnten Fehler bei der Probenahme, eine inhomogene Probe, als auch im Bereich des Futtermittelkonsums in der Anlage zu suchen sein. Denn schon bei der Probenahme am Vortag (SL76) ist ein leichter Anstieg zu beobachten. Nachfolgend sinken die Werte wieder auf den üblichen Gehalt.

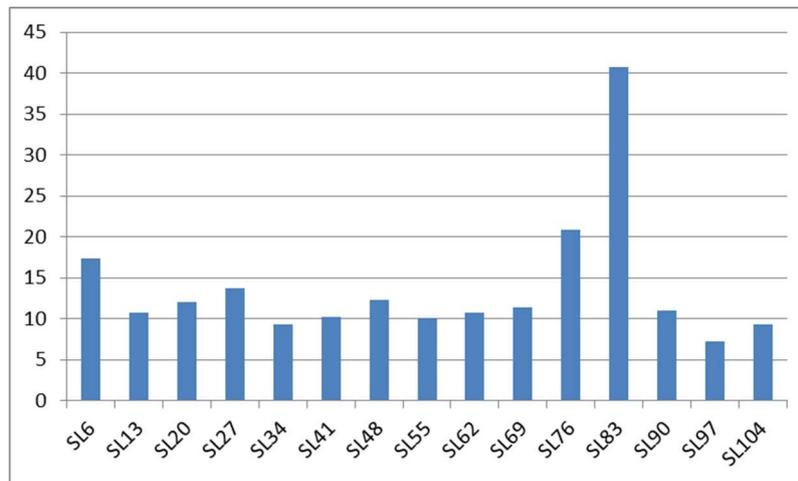


Abbildung 28: Gesamtsignal (Gesamtheit der detektierten Aminosäuren) für die Schlammproben der dritten Probenkampagne. Insgesamt wurden 15 Probenahmen durchgeführt.

Der starke Anstieg an Tag 12 hat auch zur Folge, dass die Standardabweichung für die Einzelwerte recht groß ist im Verhältnis zu den Einzelwerten. Tabelle 24 zeigt die Daten der Aminosäuregehalte in den Aufschlusslösungen.

Tabelle 24: Gesamtgehalte [$\mu\text{g}/\text{mg}$] der detektierbaren Aminosäuren in den untersuchten Schlammproben

	SL6	SL13	SL20	SL27	SL34	SL41	SL48	SL55	SL62	SL69	SL76	SL83	SL90	SL97	SL104	Mittelwert [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	Strdabw	
Einwaage Probe	-	11,5	10,9	11,3	12,3	13,6	10,4	11,9	12,1	11	11,2	11,5	11	10,3	14,4	11,2		
Glycin	76,0464_0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,53	0	0	0	0	0,10	0,40	
Alanin	90,0582_0,35	0,33	0,23	0,54	0,24	0,43	0,75	0,47	0,23	0,14	0,40	0,77	0,88	0,78	0,34	0,76	0,49	0,24
Serin	106,0558_0,33	0,26	0,17	0,17	0,10	0,08	0,07	0,07	0,22	0,27	0,07	0,44	0,24	0,24	0,14	0,07	0,17	0,11
Prolin	116,0765_0,34	1,46	0,82	0,80	0,93	1,55	1,84	1,77	0,87	0,74	0,79	1,34	1,86	0,88	0,61	0,63	1,13	0,46
Valin	118,0910_0,61	5,37	2,85	4,01	4,60	1,96	1,70	2,02	3,11	3,57	3,30	3,28	5,12	3,32	2,21	1,37	3,19	1,22
Threonin	120,0874_0,73	0,72	0,58	0,56	0,83	0,48	0,30	0,38	0,38	0,35	0,41	0,50	2,16	0,34	0,22	0,72	0,60	0,47
Leucin/Isoleucin	132,1081_0,65	0,54	0,37	0,32	0,44	0,26	0,24	0,36	0,26	0,24	0,34	0,39	0,58	0,22	0,18	0,40	0,34	0,12
Asparaginsäure	134,0505_0,33	3,39	2,44	2,34	2,32	1,85	2,37	3,64	1,93	2,70	2,59	5,70	18,13	2,16	1,26	1,92	3,65	4,14
Lysin	147,1187_0,33	0,54	0,34	0,44	0,57	0,29	0,29	0,52	0,45	0,31	0,54	0,56	0,56	0,31	0,20	0,31	0,41	0,13
Glutamat	148,0668_0,34	2,05	1,16	1,14	1,38	0,75	0,89	1,03	1,08	0,88	1,29	3,90	6,56	1,15	0,79	0,95	1,67	1,56
Methionin	150,0645_0,62	0,64	0,44	0,44	0,61	0,52	0,53	0,63	0,41	0,36	0,51	0,88	1,15	0,44	0,35	0,44	0,56	0,21
Histidin	156,0840_0,33	0,39	0,23	0,19	0,24	0,17	0,25	0,27	0,20	0,19	0,22	0,30	0,67	0,25	0,18	0,21	0,26	0,13
Phenylalanin	166,0919_0,73	0,52	0,39	0,36	0,58	0,38	0,25	0,25	0,26	0,29	0,23	0,30	0,85	0,26	0,20	0,59	0,38	0,18
Arginin	175,1253_0,33	0,41	0,23	0,22	0,27	0,17	0,21	0,24	0,28	0,27	0,28	0,31	0,66	0,22	0,16	0,29	0,28	0,12
Tyrosin	182,0886_0,63	0,57	0,37	0,35	0,40	0,27	0,33	0,47	0,31	0,31	0,36	0,42	0,92	0,37	0,29	0,39	0,41	0,16
Cystin	241,0355_0,34	0,18	0,14	0,14	0,16	0,11	0,15	0,24	0,15	0,13	0,12	0,26	0,40	0,12	0,11	0,25	0,18	0,08
Summe [mg/g]		17,36	10,77	12,02	13,69	9,28	10,18	12,36	10,12	10,75	11,45	20,88	40,75	11,06	7,25	9,31		

Die prozentuale Verteilung der detektierten Aminosäuren in der Gesamtprobe zeigen Tabelle 25 und Abbildung 29. Dabei fällt auf, dass die Proben einen hohen Gehalt an Asparaginsäure aufweisen. Das deutet daraufhin, dass die Signale der wie zuvor beschrieben bei der OPA-Untersuchung mehr oder weniger co-eluierenden Aminosäuren Ser/Glu/His/Asp einen hohen Gehalt an Asp repräsentieren.

Um einen besseren Vergleich der Messergebnisse für die einzelnen Probenahmen zu ermöglichen, sollen abschließend noch die prozentualen Verteilungen (inkl. Mittelwerte) für die verschiedenen Probenahmezeitpunkte dargestellt werden. Da grundsätzlich die Werte, mit Ausnahme der Probenahme SL83) kaum schwanken wird dieser Wert als Ausreißer behandelt und aus der Mittelwertberechnung eliminiert. Tabelle 25 und Abbildung 29 zeigen diese Werte.

Tabelle 25: prozentuale Anteile der detektierten Aminosäuren in den gezogenen Schlammproben der Probenahme 3

	SL6	SL13	SL20	SL27	SL34	SL41	SL48	SL55	SL62	SL69	SL76	SL83	SL90	SL97	SL104	Mittelwert [%]	StdAbw
Glycin	76,0464_0,33	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	7,34%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,52%	1,96%
Alanin	90,0582_0,35	1,88%	2,12%	4,52%	1,74%	4,67%	7,33%	3,76%	2,24%	1,35%	3,47%	3,68%	2,16%	7,10%	4,76%	8,17%	4,06%
Serin	106,0558_0,33	1,51%	1,53%	1,38%	0,73%	0,81%	0,68%	0,54%	2,13%	2,53%	0,63%	2,12%	0,59%	2,21%	1,87%	0,80%	1,39%
Prolin	116,0765_0,34	8,39%	7,62%	6,62%	6,81%	16,69%	18,11%	14,31%	8,60%	6,85%	6,91%	6,42%	4,57%	7,94%	8,42%	6,78%	9,32%
Valin	118,0910_0,61	30,91%	26,43%	33,36%	33,61%	21,14%	16,73%	16,38%	30,76%	33,18%	28,78%	15,71%	12,56%	30,00%	30,56%	14,76%	25,88%
Threonin	120,0874_0,73	4,15%	5,39%	4,68%	6,08%	5,18%	2,98%	3,10%	3,72%	3,30%	3,58%	2,39%	5,30%	3,05%	3,06%	7,73%	4,17%
Leucin	132,1081_0,65	3,08%	3,48%	2,64%	3,22%	2,84%	2,36%	2,90%	2,55%	2,20%	2,96%	1,89%	1,43%	2,00%	2,43%	4,30%	2,78%
Asparaginsäure	134,0505_0,33	19,54%	22,70%	19,49%	16,95%	19,98%	23,26%	29,47%	19,08%	25,09%	22,66%	27,30%	44,50%	19,51%	17,39%	20,60%	21,64%
Lysin	147,1187_0,33	3,13%	3,15%	3,66%	4,15%	3,16%	2,81%	4,20%	4,42%	2,88%	4,74%	2,69%	1,38%	2,78%	2,71%	3,32%	3,41%
Glutaminsäure	148,0668_0,34	11,78%	10,78%	9,51%	10,09%	8,13%	8,78%	8,37%	10,65%	8,14%	11,23%	18,67%	16,09%	10,43%	10,97%	10,23%	10,55%
Methionin	150,0645_0,62	3,70%	4,12%	3,67%	4,48%	5,57%	5,21%	5,07%	4,09%	3,34%	4,44%	4,21%	2,81%	3,99%	4,83%	4,76%	4,39%
Histidin	156,0840_0,33	2,24%	2,14%	1,59%	1,77%	1,79%	2,50%	2,17%	1,99%	1,80%	1,90%	1,42%	1,65%	2,25%	2,55%	2,24%	2,03%
Phenylalanin	166,0919_0,73	3,02%	3,62%	2,98%	4,27%	4,11%	2,41%	2,06%	2,53%	2,71%	2,02%	1,43%	2,09%	2,32%	2,76%	6,31%	3,04%
Arginin	175,1253_0,33	2,34%	2,16%	1,81%	2,00%	1,85%	2,06%	1,91%	2,78%	2,50%	2,44%	1,48%	1,62%	1,99%	2,15%	3,06%	2,18%
Tyrosin	182,0886_0,63	3,30%	3,45%	2,92%	2,91%	2,86%	3,24%	3,80%	3,01%	2,92%	3,16%	2,02%	2,25%	3,33%	4,03%	4,23%	3,23%
Cystin	241,0355_0,34	1,04%	1,31%	1,16%	1,20%	1,22%	1,52%	1,98%	1,45%	1,21%	1,07%	1,25%	0,99%	1,10%	1,50%	2,70%	1,41%
Summe [%]		100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	

Es wird deutlich, dass ebenso wie in den Schaumproben Valin angereichert wird, und dass die Gruppe Ser/Glu/Asp/His einen hohen Anteil an der Aminosäurezusammensetzung hat. Hierbei deuten die Ergebnisse an, dass insbesondere Asparaginsäure einen erhöhten Anteil haben könnte.

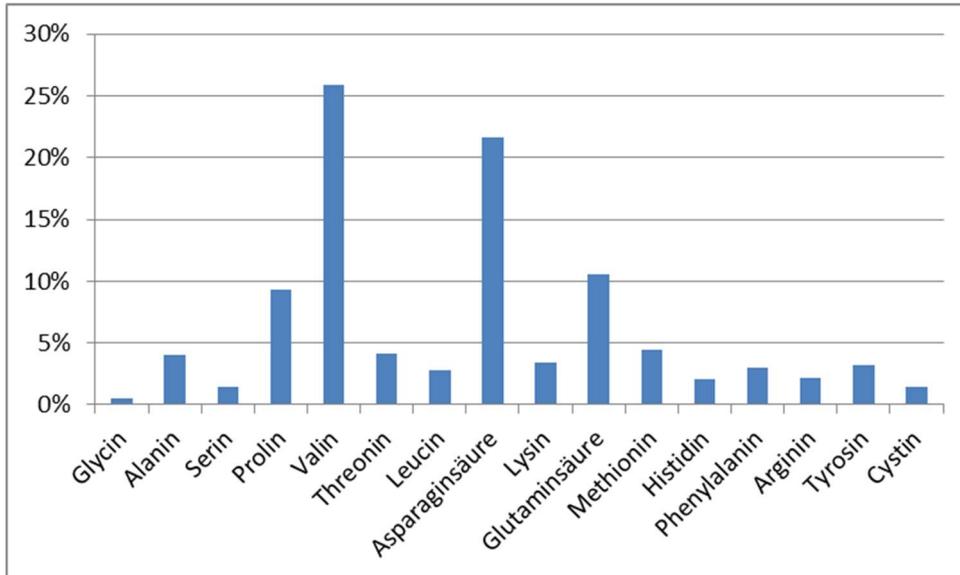


Abbildung 29: prozentuale Anteile der detektierten Aminosäuren in den gezogenen Schlammproben der Probenahme 3

Vergleich der Einzelergebnisse

Abschließend sollen analog zur Probenahme 1 und 2 die verschiedenen Aminosäuregehalte in den unterschiedlichen Proben verglichen werden. D.h. in diesem Fall soll zunächst ein Vergleich der Schaum- und Schlammproben der Probenahme 3 erfolgen (Abbildung 30). Nachfolgend werden dann alle aufgenommenen Daten miteinander verglichen (Abbildung 31).

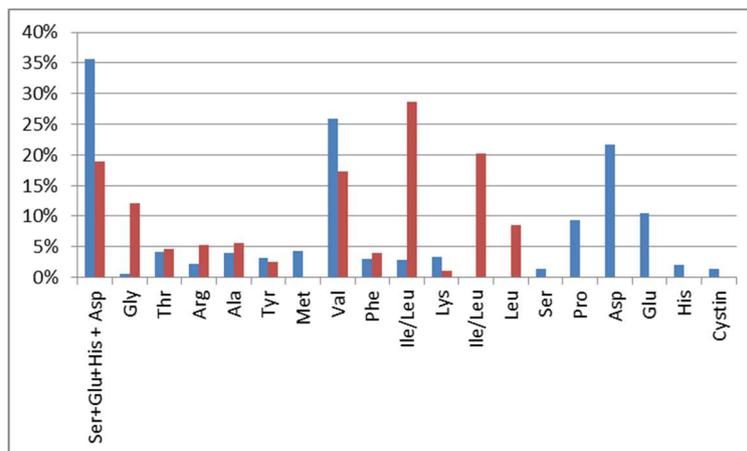


Abbildung 30: Vergleich der Aminosäuregehalte [%] in den Schaum (rot)- und Schlammproben (blau) der Probenahme 3 (Ile/Leu sind am MS nicht ohne weiteres zu unterscheiden und wurden daher zusammengefasst betrachtet; Ser/Glu/His/Asp konnten an der HPLC nicht immer sauber getrennt werden und werden daher hier ebenfalls zusammengefasst)

Wie schon beschrieben sind die Aminosäuregehalte in Schaum- und Schlammproben weitestgehend vergleichbar. Auffällig sind die Unterschiede beim Glycin (evtl analytisch bedingt), und beim Leucin / Isoleucin sowie bei der Asparaginsäure. Zudem wird deutlich, dass mit der Massenspektrometrie weitere Aminosäuren erfasst werden konnten, wobei aber deren Quantifizierung nur semiquantitativ betrachtet werden sollte, da die Probenpräparation insgesamt die Ergebnisse der massenspektrometrischen Untersuchungen beeinflusst, da Sie grundsätzlich nicht optimal geeignet ist. Umso mehr ist es wichtig zu betonen, dass sich die Zusammensetzung des Schaumes auch weitestgehend im Schlamm wiederfindet.

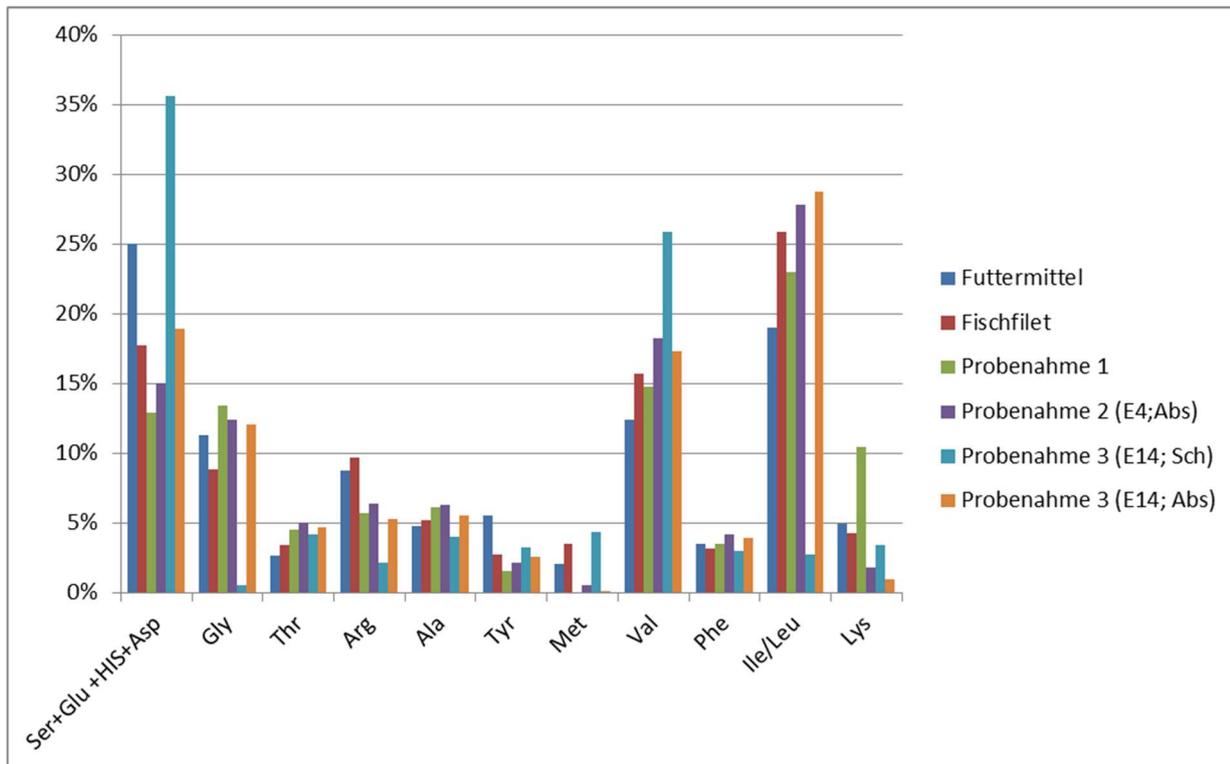


Abbildung 31: Vergleich der Aminosäuregehalte [%] in den Futter-, Filet-, Schaum- und Schlammproben des gesamten Projektes (es wurden nur die Aminosäuren betrachtet, die bei allen Messtechniken nachweisbar waren; ggf. wurden Daten zusammengefasst um den Vergleich zu erleichtern)

Auch der Vergleich der verschiedenen Proben und Probenahmen zeigt die große Homologie der Daten. Bei Threonin, Alanin, Tyrosin, Phenylalanin zeigen sich keine Unterschiede zwischen den Proben. Die Gruppe Ser/Glu/Asp/His ist in ebenso wie die Aminosäure Valin allen Proben dominant sodass insgesamt für neun Aminosäuren keine signifikanten Veränderungen nachweisbar sind.

Die Lysin- und Methioningehalte in den Abschäumerproben der Probenahme 2 und 3 sind im Vergleich zu den anderen Probenahmen dagegen reduziert. Methionin ist in den Schlammproben dagegen fast genauso hoch wie in den Futtermittelproben. Auffällig ist zudem, dass in den Schlammproben fast kein Glycin und nur wenig Leucin/Isoleucin nachweisbar ist. Das sind im Übrigen die einzigen beiden Aminosäuren, die eine starke Abweichung in den Schlammproben im Vergleich zu den anderen Proben zeigen.

3. Bilanzierung

Für die Bilanzierung werden ausschließlich die Gesamtgehalte der einzelnen Probenbetsandteile betrachtet. D. h. interessant ist der Wassergehalt der Probe, der Salzgehalt der Proben, sowie der Lipid-

bzw. Aminosäuregesamtgehalt. Zunächst ist einmal festzuhalten, dass der Feststoffanteil in den Schaumproben mit ca. 3,3% sehr gering ist.

Der Salzgehalt der Proben sollte gemäß der Trocknungsversuche bei ca. 80% liegen und wurde mit 89,3% verifiziert. Der Anteil an Fettsäure-basierenden Lipiden liegt bei 0,1% und der Anteil an detektierbaren Aminosäuren bei ca. 0,5 %. Damit konnten 90% der in den Schaumproben zu erwartenden Feststoffanteile identifiziert werden.

4. Bewertung der Ergebnisse des Vorhabens hinsichtlich einer Verwertbarkeit der Schäume bzw. Schlämme als Futtermitteladditiv für die Aquakultur

Die Ergebnisse der Untersuchungen lassen von Seiten der Bioanalytik recht eindeutige Rückschlüsse auf die weitere Verwertbarkeit von Schäumen als Futtermitteladditive zu. Zunächst einmal ist der hohe Salzgehalt auffällig. Da das System allerdings als Salzwassersystem betrieben wurde, ist dieser nicht unerwartet. Auch wenn der Salzgehalt für Salzwasserorganismen nicht schädlich ist, so ist der hohe Anteil am Rückstand doch kritisch zu sehen. Denn der interessante (werthaltige) organische Anteil der Schaumproben ist mit ca. 0,7% (7g/kg) sehr gering. D.h. es fällt sehr wenig Material an, sodass eine entsprechende Gewinnung und Nutzung unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten (z.B. hoher Energiebedarf bei der Trocknung) als nicht sinnvoll anzusehen ist.

Des Weiteren ist gerade bei den Fettsäuren, welche grundsätzlich nur einen geringen Anteil der gewonnenen Proben stellen, der Anteil an gesättigten Fettsäuren mit 60-80% sehr hoch, sodass auch die Werthaltigkeit des Materials auch in diesem Punkt als gering anzusehen ist. Dagegen spiegelt die Aminosäurezusammensetzung in den gewonnenen Proben die Zusammensetzung des Rohmaterials (Futtermittels) wieder und dürfte weitestgehend aus nicht verwertetem Futtermaterial bestehen. Da der Anteil mit maximal 0,5 % aber sehr niedrig ist, sind die Verluste an verwertbarem Futtermittel an dieser Stelle aber zu vernachlässigen und eine Rückgewinnung des Materials scheint nicht notwendig.

Ein Vergleich der Schaum- und Schlammproben der Probenahme 3 zeigt einige Unterschiede in der Zusammensetzung der Aminosäuren und Fettsäuren. D.h. ein Einfluss des Schlammabscheiders auf die Analyseergebnisse ist zumindest zu vermuten.

