

**Verdünnungswasser für den
LCK 555 BSB₅
Dr. Lange-Küvetten-Test**

Dr. Lange Fibel A 122

- 1. Einleitung**
- 2. Verdünnungswasser ohne Animpfung**
- 3. Verdünnungswasser Animpfung mit kommunalem Abwasser**
- 4. Verdünnungswasser Animpfung mit Ablauf Kläranlage**
- 5. Verdünnungswasser Animpfung mit Oberflächenwasser**
- 6. Verdünnungswasser Animpfung mit adaptierten Mikroorganismen**
- 7. Animpfung mit dem Dr. Lange BioKIT LZC 555**
- 8. Information Nitrifikation**
- 9. Literatur**

1. Einleitung

Im Rahmen der EU – Harmonisierung wird die Verdünnungsmethode DIN 38 409 H 51 in absehbarer Zeit durch die Norm EN 1899 – 1 ersetzt, welche schon als Entwurf seit März 1995 publiziert wurde. Diese europäische Norm eröffnet dem BSB-Analytiker unter dem Kapitel 5.2 **Impfwasser** mehrere Möglichkeiten, wie sein Verdünnungswasser **schnell** angesetzt werden kann. Angeimpft werden kann das Verdünnungswasser zukünftig mit **kommunalem Abwasser, Kläranlagenablauf, Oberflächenwasser, adaptierten Mikroorganismen** und mit **Impfmaterial** das im Handel erhältlich ist (z. B. LZC 555 Dr. Lange BioKIT) . Die große Variabilität hilft dem BSB-Anwender, sei er nun ein Direkt- oder Indirekteinleiter, sein Verdünnungswasser unter **praxisnahen Bedingungen** anzusetzen. Verfügt die Probe über genügend Mikroorganismen kann auf eine Animpfung des Verdünnungswasser sogar völlig verzichtet werden. Nachfolgend sind alle Möglichkeiten aufgeführt, wie das Verdünnungswasser in Kombination mit dem LZC 555 BioKIT, LZC 901 Verdünnungswasserset und LCK 555 BSB₅ angesetzt werden kann.

2. Verdünnungswasser ohne Animpfung

Grundlage: Voraussetzung für die BSB₅- Bestimmung mit dem LCK 555 ist, daß die Probe bereits genügend angepaßte Mikroorganismen enthält.

Wann verfügt eine Probe über genügend angepaßte Mikroorganismen?

- Kommunales Abwasser weitgehend ohne industrielle Verschmutzungen
- Anfallendes Abwasser nach einer intakten biologischen, aeroben Klärstufe (Nachklärung, Ablauf etc.)
- Oberflächenwasser das kommunales Abwasser enthält

Welcher Anwender kann auf eine Animpfung verzichten?

- Kleine und mittlere kommunale Kläranlagen mit vorwiegend häuslichem Abwasser

Arbeitsgang

In das Verdünnungswassergefäß werden **500 ml** Leitungswasser gefüllt.

0.3 ml Spurenelementlösung (LCK 555; Lösung D) zupipettieren und den Ansatz **1 Stunde** belüften.

Die Belüftungspumpe sollte an einem staubfreien Standort stehen, so daß eine Verschmutzung (organische Stoffe, Metalle, oxidierende bzw. reduzierende Stoffe) des Verdünnungswassers ausgeschlossen werden kann. Die Temperatur des Verdünnungswassers sollte **20°C +/- 2°C** betragen. Der Ansatz darf **nicht** mit Sauerstoff übersättigt sein, deshalb **1 Stunde** vor der Befüllung der Küvetten, Belüftung abschalten. Der Ansatz sollte jeweils **frisch** hergestellt werden.

Was ist zu beachten?

Die analytische Qualitätssicherung mit Standards kann nur mit angeimpften Verdünnungswasser erfolgen.

3. Animpfung mit kommunalem Abwasser

Grundlage: Geeignet ist kommunales Abwasser mit einem CSB von höchstens **300 mg/l**, welches weitgehend frei von industriellen Verschmutzungen ist.

Welcher Anwender sollte mit kommunalem Abwasser animpfen?

- Mittlere und größere kommunale Kläranlagen mit z.T. industriellem Abwasserzulauf
- Indirekteinleiter, die mit kläranlagenspezifischem Verdünnungswasser behördlich überwacht werden

Arbeitsgang

In das Verdünnungswassergefäß werden **500 ml** Leitungswasser gefüllt (bei gechlortem Leitungswasser **5 min** belüften um freies Chlor auszutreiben).

0.3 ml Spurenelementlösung (LCK 555 BSB₅ Küvetten-Test **Lösung D**) zupipettieren.

Das Abwasser vor der Animpfung dekantieren und durch einen groben Filter filtrieren, wobei der erste Vorlauf des Filtrates verworfen werden sollte. Animpfmenge (Filtrat) nach beigefügter Animpftabelle verwenden.

Der Ansatz wird **1 Stunde** belüftet. Die Belüftungspumpe sollte an einem staubfreien Standort stehen, so daß eine Verschmutzung (organische Stoffe, Metalle, oxidierende bzw. reduzierende Stoffe) des Verdünnungswassers ausgeschlossen werden kann. Die Temperatur des Verdünnungswassers sollte **20°C +/- 2°C** betragen. Der Ansatz darf **nicht** mit Sauerstoff übersättigt sein, deshalb **1 Stunde** vor der Befüllung der Küvetten Belüftung abschalten. Der Ansatz sollte jeweils **frisch** hergestellt werden.

Animpftabelle:

CSB (mg/l)	100	150	200	250	300
Kommunales Abwasser Filtrat (ml)	3.6	3.0	2.4	1.8	1.2

Beispiel: Als Animpfmenge dient ein Ablauf aus einer Vorklärung mit einem CSB von ca. 300 mg/l. Es werden **1.2 ml** des Filtrates zu **500 ml** Leitungswasser zugesetzt. Die Konzentrationsangabe des CSB dient lediglich zur Orientierung, wieviel Filtrat zugesetzt werden muß.

4. Animpfung mit Ablauf Kläranlage

Grundlage: Geeignet ist der abgesetzte Ablauf (**30 min**) einer Kläranlage mit intakter biologischer, aerober Reinigungsstufe.

Welcher Anwender sollte mit dem Ablauf einer Kläranlage animpfen?

- Mittlere und größere Kläranlagen mit unregelmäßigen Stoßbelastungen im Zulauf aus Industrie und Kommune, welches ein stark unterschiedlich zusammengesetztes Abwasser im Zulauf zur Folge hat
- Schwierigkeiten im Kanalnetz (z. B. in Sommermonaten mit hohen Temperaturen und geringen Niederschlagsmengen)

Arbeitsgang

In das Verdünnungswassergefäß werden **500 ml** Leitungswasser gefüllt (bei gechlortem Leitungswasser **5 min** belüften um freies Chlor auszutreiben).

0.3 ml Spurenelementlösung (LCK 555 BSB₅ Küvetten-Test **Lösung D**) zupipettieren.

Animpfmenge nach beigefügter Animpftabelle verwenden. Der Ablauf sollte frei von Trüb- und Schwebstoffen sein, ansonsten Abwasser durch einen groben Faltenfilter filtrieren. Vorlauf Filtrat verwerfen.

Der Ansatz wird **1 Stunde** belüftet.

Die Belüftungspumpe sollte an einem staubfreien Standort stehen, so daß eine Verschmutzung (organische Stoffe, Metalle, oxidierende bzw. reduzierende Stoffe) des Verdünnungswassers ausgeschlossen werden kann. Die Temperatur des Verdünnungswassers sollte **20°C +/- 2°C** betragen.

Der Ansatz darf **nicht** mit Sauerstoff übersättigt sein, deshalb **1 Stunde** vor der Befüllung der Küvetten Belüftung abschalten. Der Ansatz sollte jeweils **frisch** hergestellt werden.

Animpftabelle:

CSB (mg/l)	25	50
Kommunaler Ablauf (ml)	20	10

Beispiel: Als Animpfmenge dient ein Ablauf mit einem CSB von ca. 50 mg/l. Es werden **10 ml Ablauf** zu **500 ml** Leitungswasser zugesetzt. Die Konzentrationsangabe des CSB dient lediglich zur Orientierung, wieviel Ablauf zugesetzt werden muß.

5. Animpfung mit Oberflächenwasser mit kommunalem Abwasseranteil

Grundlage: In Regionen, wo mehrere kommunale Kläranlagen eng begrenzt in ein Gewässer (Seen, Flüsse) einleiten, empfiehlt es sich ein Oberflächenwasser mit kommunalem Abwasseranteil einzusetzen. Es ist zu erwarten, daß dieses Verdünnungswasser für viele Anwender repräsentativ ist.

Welcher Anwender sollte mit Oberflächenwasser animpfen?

- Direkteinleiter
- Indirekteinleiter
- ggf. regional ansässige Dienstleistungslaboratorien
- ggf. Überwachungsbehörden die kein kläranlagenspezifisches Verdünnungswasser verwenden

Arbeitsgang

In das Verdünnungswassergefäß werden **500 ml** Leitungswasser gefüllt (bei gechlortem Leitungswasser **5 min** belüften um freies Chlor auszutreiben).

0.3 ml Spurenelementlösung (LCK 555 BSB₅ Küvetten-Test **Lösung D**) zupipettieren.

Animpfmenge nach beigefügter Animpftabelle verwenden. Das Oberflächenwasser sollte frei von Trüb- und Schwebstoffen sein, ansonsten Wasser durch einen groben Faltenfilter filtrieren. Vorlauf Filtrat verwerfen.

Der Ansatz wird **1 Stunde** belüftet. Die Belüftungspumpe sollte an einem staubfreien Standort stehen, so daß eine Verschmutzung (organische Stoffe, Metalle, oxidierende bzw. reduzierende Stoffe) des Verdünnungswassers ausgeschlossen werden kann. Die Temperatur des Verdünnungswassers sollte **20°C +/- 2°C** betragen. Der Ansatz darf **nicht** mit Sauerstoff übersättigt sein, deshalb **1 Stunde** vor der Befüllung der Küvetten Belüftung abschalten. Der Ansatz sollte jeweils **frisch** hergestellt werden.

Animpftabelle:

CSB (mg/l)	10	25
Oberflächenwasser (ml)	50	25

Beispiel: Als Animpfmenge dient ein Oberflächenwasser mit einem CSB von ca. 10 mg/l. Es werden **50 ml des Wassers** zu **500 ml Leitungswasser** zugesetzt. Die Konzentrationsangabe des CSB dient lediglich zur Orientierung, wieviel Oberflächenwasser zugesetzt werden muß.

6. Animpfung mit adaptierten Mikroorganismen

Grundlage: Eingesetzt werden kann Wasser, das flußabwärts von der Einleitung des zu analysierenden Wassers entnommen wurde, oder Wasser das Mikroorganismen enthält, die an das zu untersuchende Wasser angepaßt sind und im Laboratorium vermehrt wurden (z.B. im Falle industrieller Abläufe, die Substanzen enthalten, die schwer abbaubar sind).

Welcher Anwender sollte mit adaptierten Mikroorganismen animpfen?

- Anwender mit speziellen Fragestellungen zur Abbaubarkeit von organischen Substanzen
- Direkteinleiter (Industrie, Deponie) mit eigenen biologischen Abwasserbehandlungsanlagen

Arbeitsgang

In das Verdünnungswassergefäß werden **500 ml** Leitungswasser gefüllt (bei gechlortem Leitungswasser **5 min** belüften um freies Chlor auszutreiben).

0.3 ml Spurenelementlösung (LCK 555 BSB₅ Küvetten-Test **Lösung D**) zupipettieren.

Die optimale Animpfmenge muß vom Anwender selbst ermittelt werden. Als Anhaltspunkte können die unter Pkt. 3 und 4 beschriebenen Möglichkeiten dienen. Zusätzlich kann dem beimpften Verdünnungswasser noch spezielles Abwasser bzw. org. Einzelsubstanzen in geringen Konzentrationen zugefügt werden.

Der Ansatz wird je nach Fragestellung auch über einen längeren Zeitraum belüftet (zum Beispiel bis zu 3 Tagen) um mit adaptierten Mikroorganismen zu arbeiten.

Die Belüftungspumpe sollte an einem staubfreien Standort stehen, so daß eine Verschmutzung (organische Stoffe, Metalle, oxidierende bzw. reduzierende Stoffe) des Verdünnungswassers ausgeschlossen werden kann. Die Temperatur des Verdünnungswassers sollte **20°C +/- 2°C** betragen.

Der Ansatz darf **nicht** mit Sauerstoff übersättigt sein, deshalb **1 Stunde** vor der Befüllung der Küvetten Belüftung abschalten. Der Ansatz sollte jeweils **frisch** hergestellt werden.

Beispiel: Spezielle industrielle Abwässer bzw. unterschiedliche Deponieabwässer benötigen u. U. aufgrund ihrer Schadstoffzusammensetzung speziell optimierte Mikroorganismen um eine BSB₅ Analyse durchzuführen (s. a. Literaturempfehlung 2).

7. Animpfung mit dem Dr. Lange BioKIT LZC 555

Grundlage: BSB₅-Impfmaterialeignet sich zur schnellen Herstellung eines Verdünnungswassers mit angepaßten Mikroorganismen. Geeignet ist das Material für ein großes Spektrum an Abwasserinhaltsstoffen aus dem kommunalen und industriellen Sektor (Lebensmittel; Papier etc.).

Welcher Anwender sollte das BioKIT nutzen?

- Indirekteinleiter ohne biologische Abwasserbehandlungsanlage
- Kommunale Kläranlagen mit Störungen in der biologischen Reinigungsstufe
- Anwender, die eine schnelle und mobile Analytik benötigen

Arbeitsgang

1. In das Reaktionsglas wird ein **gestrichener Dosierlöffel** (blau) des Animpfmateriale (LZC 555 A) gegeben.
2. **10 ml** Pufferlösung (LZC 555 B) zupipettieren.
3. Reaktionsglas verschließen und **1 min** kräftig schütteln, um die Mikroorganismen zu resuspendieren.
4. Den Ansatz **1 Stunde** bei Raumtemperatur (18 – 24 °C) stehen lassen.
5. In **500 ml** Leitungswasser – bei **gechlortem** Leitungswasser **5 min** kräftig belüften – werden **0.3 ml** Spurenelementlösung (LCK 555 BSB₅ Küvetten-Test Lösung D) gegeben.
6. Aus dem Überstand des abgesetzten Ansatzes fügt man **0.5 ml** der Animpflösung (siehe Pkt.1) partikelfrei zu. Sollten beim pipettieren Partikel an der Außenseite der Pipettenspitze haften bleiben empfiehlt es sich die Partikel mit einem Einwegtuch abzuwischen.
7. Der Ansatz wird **1 Stunde** belüftet. Die Belüftungspumpe sollte an einem staubfreien Standort stehen, so daß eine Verschmutzung (organische Stoffe, Metalle, oxidierende bzw. reduzierende Stoffe) des Verdünnungswassers ausgeschlossen werden kann. Die Temperatur des Verdünnungswassers sollte **20°C +/- 2°C** betragen. Der Ansatz darf **nicht** mit Sauerstoff übersättigt sein, deshalb **1 Stunde** vor der Befüllung der Küvetten Belüftung abschalten. Der Ansatz sollte jeweils **frisch** hergestellt werden.

8. Information Nitrifikation

Moderne Abwasserbehandlungsanlagen verfügen nach dem heutigem Stand der Technik über mehrere biologische Reinigungsstufen u. a. eine Nitrifikationsstufe. Aus der Kläranlagenpraxis ist zusätzlich bekannt, daß oftmals anfallender Schlamm wieder im Zulauf oder in der Vorklärung einer Kläranlage zudosiert wird. Daher kann es vorkommen, daß ein erhöhter Anteil an Nitrifikanten im Abwasser vorhanden ist. Bei ungünstiger Zusammensetzung des Abwassers (Probe/Animpfmenge) **können 5 mg/l** Nitrifikationshemmstoff (Allylthioharnstoff), der im Lyophilisat der Küvette bereits enthalten ist, nicht ausreichen.

Die Nitrifikation ist ein biologischer, sauerstoffverbrauchender Prozeß. Eine unzureichende Nitrifikationshemmung kann ggf. am Verhältnis $BSB_5 : CSB$ ($BSB_5 > CSB$) erkannt werden.

Wie kann der Anwender dann reagieren?

Dr. Lange bietet für diesen Zweck einen zusätzlichen Nitrifikationshemmstoff (3) an.

Der Nitrifikationshemmer TMCP [2-Chlor-6-(trichlormethyl-)pyridin] unterbindet wirksam evtl. auftretende Nitrifikationseffekte.

Benötigte Reagenzien:

- LCW 912 Dr. Lange Pulverdosierer
- LCW 910 Nitrifikationshemmer

Arbeitsgang

Vorbereitung des Verdünnungswassers nach den Punkten 1 – 7.

Vor der **einstündigen** Belüftung wird zu dem Verdünnungswasser (gemäß Arbeitsgang Punkt 1 – 7) der Nitrifikationshemmer **TMCP** mit dem Dr. Lange Pulverdosierer **2 x** zudosiert.

9. Literatur

1. Entwurf EN 1899 - 1;
Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n) Teil 1: Verdünnungs- und Animpfverfahren mit Zugabe von Allylthioharnstoff; Beuth Verlag
 2. P. Bartholmes, M. Kaufmann, T. Schwarz;
Schadstoffabbau durch optimierte Mikroorganismen, Springer-Verlag
 3. DIN 38409 T 51;
Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n); Beuth Verlag
-