

Bestimmung des biologischen Sauerstoffbedarfs BSB_n

Die organische Substanz (Total Organic Carbon, TOC) in einem Gewässer wird durch Mikroorganismen abgebaut, die dabei Sauerstoff verbrauchen. Zunächst konnte die Summe der organischen Verbindungen nicht, nicht genau genug oder nur mit zu hohem Aufwand gemessen werden, so dass der zur Oxidation des in organischen Verbindungen reduziert vorkommenden Kohlenstoffs benötigte Sauerstoff als Maß der organischen Substanz benutzt wurde. Heute kann der TOC sehr gut, genau und direkt gemessen werden, so dass die Bedeutung des BSB als TOC-Äquivalent zurückgeht. Der BSB entspricht jedoch näherungsweise ohnehin eher dem biologisch abbaubaren organischen Kohlenstoff als dem TOC, so dass bei weiterer Absicherung und Anpassung der Inkubationsbedingungen dieser Parameter eine eigenständige Bedeutung als Maß der organischen Last bzw. der sich daraus ergebenden O₂-Zehrung erhalten kann.

Die Sauerstoffzehrung ($n = 1, 2, 5$ oder 7 d, nach DIN 5 d) wird in gasdicht verschlossenen, dunkel bei 20°C inkubierten Flaschen gemessen. Die Differenz zwischen Ausgangs- und Endkonzentration ist der jeweilige BSB_n. Abwässer und Sedimente müssen stark verdünnt werden, damit die hohe Zehrung den Sauerstoff nicht vorzeitig verbraucht. Die ebenfalls Sauerstoff zehrende Nitrifikation wird mit einem Hemmstoff unterdrückt. Das betrifft Proben, die einen hohen Ammoniumgehalt haben, der bei hoher Remineralisation entsteht und bei O₂-Mangel *in situ* nicht nitrifiziert wurde. Einer P- und N-Limitation wird durch Düngung vorgebeugt. Soll die biologische Abbaubarkeit einer Substanz untersucht werden oder ist die Probe z. B. mit Chlor vergiftet, wird die Probe (nach Chloraustreibung) noch zusätzlich mit einer diversen Mikroorganismengemeinschaft angereichert. Die Sauerstoffkonzentration wird mit einer Clark-Elektrode gemessen.

Eine hohe organische Belastung verursacht u. U. eine Untersättigung oder gar Anoxie. Die An- oder Abwesenheit von Sauerstoff steuert ganz wesentlich die meisten anderen Stoffkreisläufe, z. B. den N- und P-Kreislauf, und die Artenzusammensetzung. Anoxische Bedingungen haben überwiegend negative Auswirkungen, z. B. P-Freisetzungen aus dem Sediment, NH₄-Anreicherung, H₂S-Bildung und das Absterben der meisten Tiere.

Material:

Karlsruher Flaschen ca. 250 ml
Sauerstoffmessgerät (WTW OXI 196)
Magnetrührer
Rührzusatz für Elektrode
Thermostat, Wärmeschrank ($20^{\circ}\text{C} \pm 1\text{K}$)
Aquariumpumpe, Schläuche

Durchführung:

a) unverdünnte Proben (BSB₅ 0,5-6 mg l⁻¹, Plankton)

- Probe auf 20°C temperieren,
- O₂-Sättigung kontrollieren (>70%, sonst belüften),
- Probe in Karlsruher Flasche füllen, Sauerstoffkonzentration messen, Zeit notieren, dunkel bei 20°C inkubieren für 2 Tage.
- Erneut messen, Zeit notieren.
- Die Endkonzentration sollte mindestens $\frac{1}{3}$ kleiner sein als die Ausgangskonzentration (DIN). Die Mindestsättigung am Ende sollte $> \frac{1}{3}$ der Ausgangskonzentration sein.

- Der BSB_n ist die gemessene Sauerstoffdifferenz nach n Tagen. Weicht die Aufarbeitung >1 h von einem ganzen Tag ab, auf ganzen Tag umrechnen.
- Die DIN schreibt n heute mit 5 d vor, ermöglicht aus arbeitsorganisatorischen Tagen auch 7 d, früher gab es auch eine Inkubation von 1 oder 2 d. Da die O₂-Zehrung linear sein sollte, ist eine tägliche Kontrolle der O₂-Sättigung und ggf. der Abbruch der Inkubation ratsam.
- Entgegen den wenig flexiblen Vorgaben der DIN erscheint eine kürzere Messzeit einer starken Verdünnung hoch belasteter Proben weit überlegen.

b) verdünnte Proben (Abwasser)

- Verdünnungswasser herstellen: je 1 ml des Phosphatpuffers und der Mg-, Ca- und Fe-Lösung auf 1 l mit Wasser auffüllen.
- Verdünnungswasser auf 20°C (auch Raumtemperatur) erwärmen, 1 h belüften (O₂-Konzentration > 8 mg l⁻¹).
- maximal 24 h nutzen.
- Probe neutralisieren (nach DIN pH 6-8), höhere pH-Werte in algenreichen Proben tolerieren.
- Im Gegensatz zur DIN algenreiche Proben nicht filtrieren. Dunkelinkubation schließt Photosynthese (O₂-Produktion) aus. Algenrespiration ist ein biologischer Sauerstoffbedarf und charakterisiert genauso wie eine bakterielle Atmung die organische Last bzw. den verbrauchten TOC!
- Probe je nach erwartetem BSB verdünnen (Tab. 1 und 2). Wird abweichend von der DIN kürzer inkubiert, muss entsprechend weniger verdünnt werden. Damit die O₂-Konzentration nicht zu stark sinkt (s.o.)
- Je Probe eine Karlsruher Flasche mit (Nitrifikation unterdrückt) und eine ohne ATH (2 ml l⁻¹, wegen der Toxizität und möglicher Kontaminationsgefahr 0,6 ml in Flasche vorpipettieren, Genauigkeit ist weniger wichtig) ansetzen und O₂-Konzentration nur in der unvergifteten Probe messen.
- Die DIN schreibt eine geometrische Reihe von mindestens 3 Verdünnungen vor (= 6 Flaschen). Aus Platz- und Flaschenmangel nur eine Verdünnung ansetzen, aber ca. alle 12 h O₂ messen und ggf. Inkubationszeit weiter verkürzen (s.o.).
- BSB jedes Verdünnungswassers messen.

Tabelle 1. Erwarteten BSB₅ (mg O₂ l⁻¹), typische Verdünnungen (Probenvolumen / Gesamtvolumen) und Beispielgewässer

BSB ₅	Verdünnung	Gewässer	Fischteiche
3-6	<2	Flüsse	
4-12	2	Flüsse, gereinigtes	
10-30	5	Abwasser	Reservoir
20-60	10		Fischbecken
40-120	20	geklärtes Abwasser	mechanische Reinigung
100-300	50	Rohabwasser	
200-600	100		
400-1200	200	verschmutztes	
1000-3000	500	Industrieabwasser	

Tabelle 2. Verhältnisse R zwischen TOC, CSB und BSB₅

	TOC/BSB	CSB _{Cr} /BSB	CSB _{Mn} /BSB
unbehandeltes Abwasser	1,2-2,8	0,35-0,65	1,2-1,5
behandeltes Abwasser	0,3-1,0	0,20-0,35	0,5-1,2

Vorschrift:

- a) EN 1899-2 (Mai 1998)
- b) EN 1899-1 (Mai 1998)

Auswertung:

$$(A) \quad \text{BSB}_n = \left[(c_0 - c_t) - \frac{V_G - V_P}{V_G} \cdot (c_{\text{BW0}} - c_{\text{BWt}}) \right] \cdot \frac{V_G}{V_P}$$

n	Inkubationszeit (d)
c ₀	O ₂ -Konzentration (mg l ⁻¹) vor der Inkubation
c _t	O ₂ -Konzentration (mg l ⁻¹) nach der Inkubation
c _{BW0}	O ₂ -Konzentration (mg l ⁻¹) im Verdünnungswasser vor der Inkubation
c _{BWt}	O ₂ -Konzentration (mg l ⁻¹) im Verdünnungswasser nach der Inkubation
V _G	Volumen der verdünnten Probe (gesamter Ansatz, nicht in der Flasche)
V _P	Probenvolumen, das verdünnt wurde

Qualitätssicherung:

- Für die Bestimmungsgrenze 5 Leerproben (Deionat) inkubieren und messen.
- Je Serie eine Probendoppelbestimmung.
- Die relative Differenz r_i der beiden Proben (B) in eine Kontrollkarte eintragen.

$$(B) \quad r_i = \frac{\text{Differenz} \cdot 100\%}{\text{Mittelwert}}$$

- Die obere Kontrollgrenze r_o berechnet sich aus dem Mittelwert r_m aller r_i (C).

$$(C) \quad r_o = 3,27 \cdot r_m$$

Chemikalien:

- Wasser: kein entionisiertes Wasser (hypoosmotischer Schock für alle Organismen!), sondern Leitungswasser. Auf 5 PSU mit Seesalz (notfalls mit NaCl) aufsalzen. Cu, Cl₂, Chloramine <0,01 mg l⁻¹ (toxisch für Bakterien)
- Impfwasser: Mikroorganismen aus Abwasser (<100 mg TOC l⁻¹) ohne industrielle Abwässer, nicht für BSB als Maß der organischen Belastung, eher für Abbaubarkeitstests oder bei chloriertem Wasser, das neu angeimpft werden muss
- Phosphatpuffer pH 7,2: 8,5 g KH₂PO₄, 21,75 g K₂HPO₄, 33,4 g Na₂HPO₄·7 H₂O, 1,7 g NH₄Cl in 1 l Wasser
- Magnesiumsulfatlösung: 22,5 g l⁻¹ MgSO₄·7 H₂O
- Calciumchloridlösung: 27,5 g l⁻¹ wasserfreies CaCl₂
- Eisen(III)-Lösung: 0,25 g l⁻¹ FeCl₃·6 H₂O
- Alle Lösungen im Kühlschrank aufbewahren, bei beginnendem mikrobiellen Wachstum (Trübung, Schimmel) verwerfen. Da Wasser weder intionisiert, noch sterilisiert ist, sind mikrobielle Verunreinigungen schnell möglich.
- ATH (Allylthioharnstoff, GIFTIG!): 200 mg auf 200 ml mit Wasser auffüllen. 2 Wochen im Kühlschrank haltbar.