

BLUT, MILCH, MOLKE UND GÜLLE IN ABWASSER

QUALITATIVE UND QUANTITATIVE NACHWEISERBRINGUNG

Verschiedene flüssige Abfallprodukte aus Industrie und Landwirtschaft wie Blut, Milch, Molke und Gülle, die in die Kanalisation gelangen, führen zu Problemen in Kläranlagen. Aufgrund der grossen Schmutzfracht, die diese Abfallprodukte mit sich bringen, werden Kläranlagen stark belastet. Ausserdem entstehen Mehrkosten durch den zusätzlichen Energieaufwand und die Entsorgung des Klärschlammes. Da diese Stoffe im Abwasser unerwünscht sind, wurden im Auftrag des Amt für Natur und Umwelt Graubünden (ANU) Methoden entwickelt, um diese nachzuweisen und zu quantifizieren.

Silvio Inauen; Nicole Fried, Amt für Lebensmittelsicherheit und Tiergesundheit (ALT)*

RÉSUMÉ

SANG, LAIT, LACTOSÉRUM ET LISIER DANS LES EAUX USÉES – FOURNITURE DE PREUVES QUALITATIVES ET QUANTITATIVES

Des déchets liquides issus des abattoirs, des laiteries et des exploitations agricoles peuvent être rejetés de manière intentionnelle ou non dans les canalisations. Comme ces substances représentent une charge supplémentaire pour les stations d'épuration, ainsi qu'un coût énergétique et opérationnel important, elles constituent un problème pour la gestion des eaux usées. C'est pourquoi l'Office de la nature et de l'environnement des Grisons (ANU) a développé des méthodes pour détecter de telles substances et les quantifier.

Un procédé de détection qualitatif à l'aide de bandelettes de test faciles à obtenir a été trouvé pour le sang. Celles-ci permettent de détecter l'hémoglobine avec un résultat prêt en quelques minutes. D'autres réactions colorées et méthodes spectroscopiques peuvent être utilisées comme alternatives. Afin de mesurer la quantité de sang dans les eaux usées, on utilise une combinaison de la demande chimique en oxygène et de la teneur en fer. Pour la détection qualitative de lait ou de lactosérum, un procédé commercialisé peut être mis en œuvre à l'aide d'un kit de test. Cette méthode permet de détecter la protéine de lactosérum, la β -lactoglobuline, et donc le lait et le lactosérum. Une combinaison de différents paramètres globaux, comme la demande chimique en oxygène, l'azote total et le phosphore total, est utilisée pour quantifier le lait ou le lactosérum dans les eaux usées.

EINLEITUNG

Flüssige Abfallstoffe aus Schlachthöfen, Molkereien und Landwirtschaftsbetrieben können beabsichtigt oder infolge von Betriebsstörungen in die Kanalisation gelangen. Da diese Stoffe eine Abwasserreinigungsanlage (ARA) zusätzlich belasten und einen erheblich grösseren Energie- und damit Kostenaufwand verursachen, stellen sie ein Problem in der Abwasserwirtschaft dar. Aus diesem Grund wurden Methoden etabliert, die solche Stoffe nachzuweisen und zu quantifizieren vermögen.

BLUT IN ABWASSER

Eine nennenswerte Menge Blut im Abwasser könnte von Schlachtbetrieben stammen, die über keine Abwasseraufbereitung zur Abtrennung von Stechblut verfügen. Dieses wird vom Klärwerkpersonal in der Regel durch die rote Färbung und den intensiven Geruch festgestellt. Als Beispiel ist in *Figur 1 (a)* bluthaltiges Abwasser im Zulauf einer ARA dargestellt. Diese ARA liegt im Einzugsgebiet eines grösseren Schlachtbetriebs. Zum Vergleich ist in *Figur 1 (b)* bluthaltiges Abwasser neben gewöhnlichem Abwasser dargestellt.

** Kontakt: nicole.fried@alt.gr.ch*

QUALITATIVER NACHWEIS

Spektrometer

Das rein visuelle Feststellen von rot eingefärbtem Abwasser stellt noch keinen Beweis für Blut dar. Es könnte sich auch um rostiges oder anderweitig rot eingefärbtes Abwasser handeln. Mit einem Spektrometer kann aber das Hämoglobin, der rote Blutfarbstoff, identifiziert werden. Ein Spektrometer kann die Abschwächung (Absorption) von Licht einer bestimmten Wellenlänge beim Durchleuchten einer Probe messen. Dadurch kann ein spezifischer «Fingerabdruck» in Form eines Spektrums erhalten werden. Zum Vergleich sind in *Figur 2* die Spektren von gewöhnlichem und bluthaltigem Abwasser (*a*) und Rinderblut (*b*) nebeneinander dargestellt.

Das bluthaltige Abwasser zeigt dieselben für Hämoglobin charakteristischen Absorptionsbanden wie verdünntes Blut. Anhand des Spektrums Blut nachzuweisen, ist eine einfache und schnelle Methode. Ausserdem kann die Intensität der Farbe als Mass für die Menge an Blut in Abwasser angesehen werden.

Farbreaktion

Als Alternative zu dieser Vorgehensweise kann Hämoglobin auch über eine Farbreaktion bestimmt werden. Eine sehr einfache und kostengünstige Variante bieten Teststreifen. Solche Teststreifen, ähnlich wie sie auch zur Bestimmung des pH-Wertes bekannt sind, werden von verschiedenen Herstellern für Medizin- und Laborbedarf angeboten. Die ursprüngliche Verwendung dieser Teststreifen besteht im Nachweis von Blut in Urin. Trotz ihres eigentlichen Verwendungszwecks konnte gezeigt werden, dass diese auch für den Nachweis von Blut in Abwasser eingesetzt werden können. Das Ergebnis kann in wenigen Minuten abgelesen und anhand einer Farbskala beurteilt werden. Als Beispiel ist in *Figur 3* die Farbreaktion auf eine gewöhnliche Abwasserprobe (*a*), eine bluthaltige Abwasserprobe (*b*) und auf verdünntes Rinderblut (*c*) dargestellt. Da immer etwas Blut in Abwasser vorhanden ist, zeigt auch gewöhnliches Abwasser eine schwach positive Reaktion. Das bluthaltige Abwasser zeigt aber eine in signifikantem Mass stärker positive Reaktion, die vergleichbar mit verdünntem Rinderblut ist. Ein Nachteil dieser ansonsten sehr spezifischen Nachweisreaktion ist allerdings die Anfälligkeit

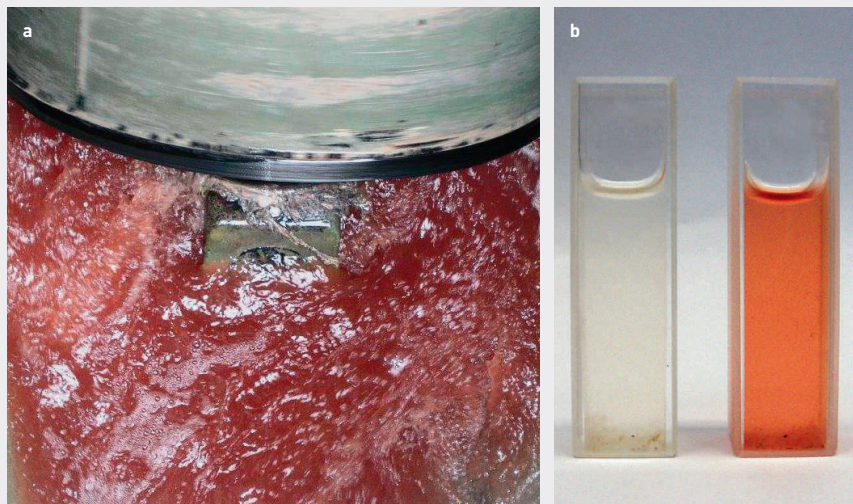


Fig. 1 (a) Stark bluthaltiges Abwasser im Zulauf einer ARA. (b) Gewöhnliches (links) und bluthaltiges Abwasser (rechts) im Vergleich (Quelle: ALT)
(a) Eaux usées contenant un taux important de sang à l'entrée d'une STEP. (b) Comparaison d'eaux usées normales (à gauche) et contenant du sang (à droite)

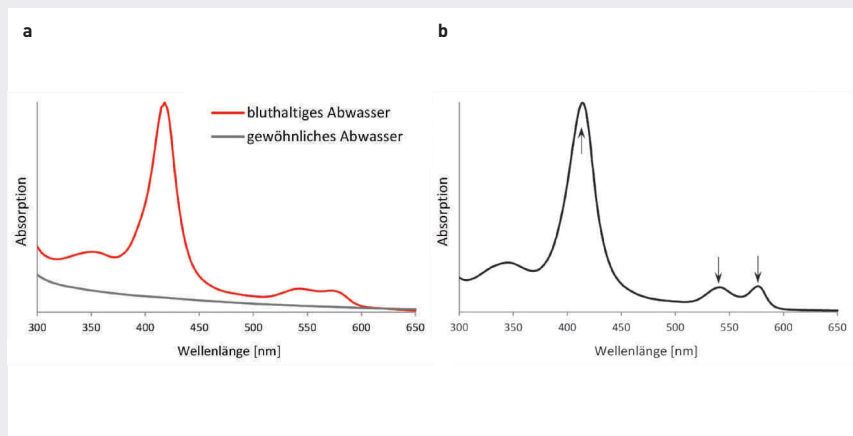


Fig. 2 Spektren von Abwasser und Blut im nahen UV und visuellen Bereich des Lichts. (a) Bluthaltiges Abwasser und gewöhnliches Abwasser. (b) Rinderblut verdünnt in Wasser. Im Spektrum des bluthaltigen Abwassers sind die gleichen Absorptionsbanden erkennbar wie im Spektrum von Rinderblut. Diese Absorptionsbanden bei ca. 414, 540 und 576 nm (Pfeile) kommen durch den Blutfarbstoff Hämoglobin zustande

Spectres d'eaux usées et de sang en UV proches et dans le domaine de la lumière visible.

(a) Eaux usées contenant du sang et normales. (b) Sang de bœuf dilué dans l'eau. Le spectre des eaux usées contenant du sang laisse apparaître les mêmes bandes d'absorption que celui du sang de bœuf. Ces bandes d'absorption à env. 414, 540 et 576 nm (flèches) se forment via l'hémoglobine

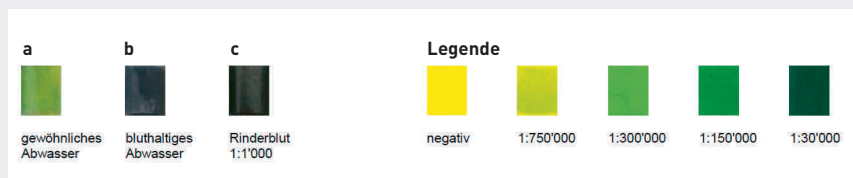


Fig. 3 Farbreaktion auf Teststreifen zum semi-quantitativen Nachweis von Blut. (a) Gewöhnliches Abwasser, (b) bluthaltiges Abwasser, (c) verdünntes Rinderblut 1:1000, Legende: Farbskala zur semi-quantitativen Beurteilung der Blutkonzentration. Angabe als ungefähre Verdünnung von Blut

Réaction colorée sur bandelettes de test pour la détection semi-quantitative de sang. (a) Eaux usées normales, (b) contenant du sang, (c) sang de bœuf dilué 1:1000, légende: Echelle de couleurs pour l'évaluation semi-quantitative de la concentration de sang. Indication d'une dilution approximative du sang

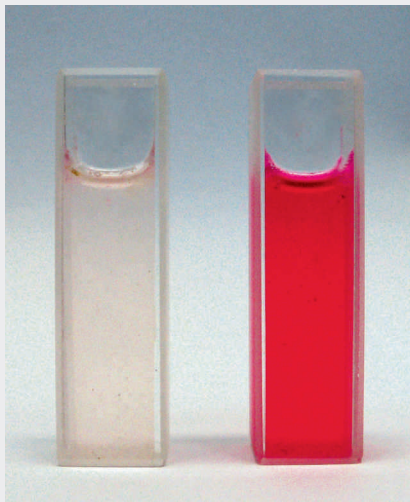


Fig. 4 Vergleich von gewöhnlichem (links) und bluthaltigem Abwasser (rechts) nach dem Kastle-Meyer-Vortest. Das bluthaltige Abwasser zeigt eine positive Reaktion, was an der intensiven rosaroten Farbe (Purpur) erkennbar ist (Quelle: ALT)

Comparaison d'eaux usées normales (à gauche) et contenant du sang (à droite), selon le test préliminaire Kastle-Meyer. Les eaux usées contenant du sang montrent une réaction positive, reconnaissable à la couleur rose intense (pourpre)

auf stark oxidativ wirkende Substanzen wie z. B. Bleichmittel. Im Zweifelsfall ist daher auch ein Test auf Oxidationsmittel sinnvoll.

Die Farbreaktion dieser Teststreifen beruht auf der katalytischen Eigenschaft von Hämoglobin, Peroxide zu reduzieren. Durch diese Reaktion kann ein Farbstoff oxidiert werden, der dadurch seine Farbe ändert.

Kastle-Meyer-Vortest

In der Forensik wird die oben beschriebene Hämoglobin-Reaktion genutzt, um Blutspuren nachzuweisen. Dafür werden die verschiedensten Farbstoffe eingesetzt. Ein häufig verwendeter Farbstoff ist Phenolphthalein. Dieser Farbstoff wird im sogenannten Kastle-Meyer-Vortest benutzt [1]. Dieser Test hat gegenüber den Teststreifen den Vorteil, dass die Reagenzien (Farbstoff und Wasserstoffperoxid) nacheinander der Probe zugegeben werden können. Falsche Positiv-Ergebnisse können erkannt werden, falls eine Farbreaktion bereits nach der Zugabe des Farbstoffs, aber vor der Zugabe von Wasserstoffperoxid erfolgt. Als Beispiel ist in Figur 4 die Anwendung des Kastle-Meyer-Tests auf gewöhnliches und bluthaltiges Abwasser dargestellt. Das bluthaltige Ab-

wasser zeigt eine positive Reaktion, was anhand der intensiven rosaroten Farbe (Purpur) erkennbar ist. Das gewöhnliche Abwasser zeigt nur eine sehr schwach erkennbare Farbreaktion, kann also als negativ eingestuft werden (vergl. Fig. 1b).

Porphyrinprobe

Eine weitere Methode, um Blut nachzuweisen, ist die Porphyrinprobe. Bei diesem Blutnachweis wird einer Probe konzentrierte Schwefelsäure zugegeben [2]. Dadurch werden dem Hämoglobin der Proteinanteil und das Eisen als Zentralatom entfernt, es entsteht Hämatoporphyrin. Dieses Porphyrin ist ein starker Fluorophor und kann durch Anregung mit UV-Licht nachgewiesen werden. Als Beispiel ist in Figur 5 die Anwendung an einer gewöhnlichen Abwasserprobe (a), einer bluthaltigen Abwasserprobe (b) und verdünntem Rinderblut (c) dargestellt.

Die bluthaltigen Proben zeigen eine rote Fluoreszenz, gewöhnliches Abwasser hingegen nicht. Dieser Blutnachweis ist sehr sensitiv und kann in weniger als einer Stunde durchgeführt werden. Ein Nachteil ist allerdings, dass, anders als mit den Teststreifen, keine semi-quantitative Aussage möglich ist.

QUANTITATIVER NACHWEIS

Neben einem rein qualitativen Nachweis ist auch ein quantitativer Nachweis wich-

tig. Aus den Konzentrationen kann über die Abwassermenge auf die Gesamtmenge geschlossen werden. Um die Konzentration an Blut in einer bluthaltigen Abwasserprobe zu bestimmen, wurde auf Methoden der klassischen Abwasseranalytik zurückgegriffen.

Der Chemische Sauerstoffbedarf (CSB) einer Probe kann, verglichen mit Referenzwerten von Blut und Abwasser, zum Abschätzen der Blutkonzentration verwendet werden. Der CSB von reinem Blut wird in der Literatur mit bis zu 375 000 mg l⁻¹ [3] angegeben, derjenige von normal belastetem Abwasser beträgt ca. 600 mg l⁻¹ [4]. Eine bluthaltige Abwasserprobe wies einen CSB von 1360 mg l⁻¹ auf. Wird angenommen, dass der erhöhte CSB durch Blut zustande kommt, kann eine Verdünnung von Blut in Abwasser von ca. 1:490 berechnet werden (s. Anwendungsbeispiel Box 1).

Da der CSB eine sehr unspezifische Methode für Blut darstellt, wurde zusätzlich der Eisengehalt bestimmt. Blut enthält im Vergleich zu Abwasser relativ viel Eisen. Rinderblut weist eine Eisenkonzentration von ca. 500 mg l⁻¹ und Schweineblut ca. 400 mg l⁻¹ auf [5, 6]. Abwasser dagegen, regional unterschiedlich, nur ca. 0,2–3 mg l⁻¹ [7]. Die bluthaltige Abwasserprobe wies einen Eisengehalt von ca. 1,2 mg l⁻¹ auf. Gewöhnliches Abwasser derselben ARA wies einen Eisengehalt

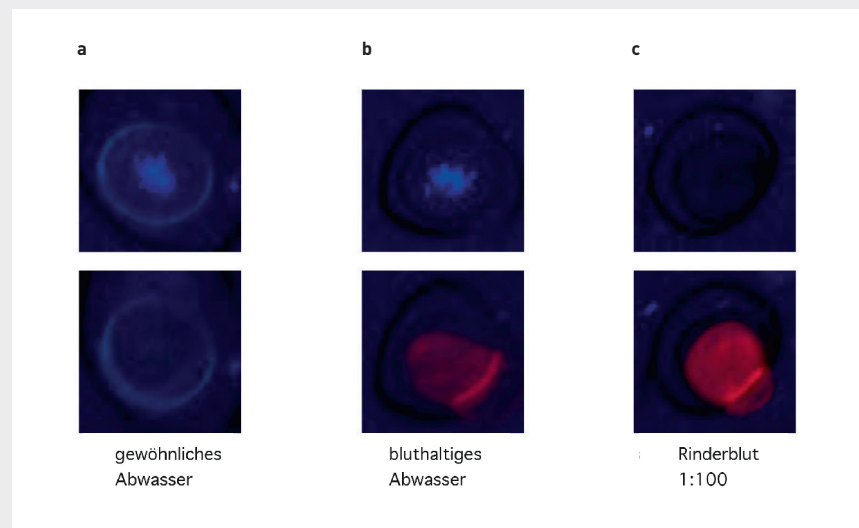


Fig. 5 Anwendung der Porphyrinprobe auf getrocknete Proben, vor (oben) und nach Zugabe von Schwefelsäure (unten), bei Bestrahlung mit UV-Licht (366 nm). (a) Gewöhnliches Abwasser, (b) bluthaltiges Abwasser, (c) Rinderblut 1:100. Der Nachweis von Blut erfolgt über das rot fluoreszierende Hämatoporphyrin (Quelle: ALT)

Application d'un échantillon de porphyrine sur des échantillons séchés, avant (haut) et après l'ajout d'acide sulfurique (bas), lors de l'exposition aux rayons UV (366 nm). (a) Eaux usées normales, (b) contenant du sang, (c) sang de bœuf 1:100. La détection de sang est effectuée à l'aide d'hématoporphyrine rouge fluorescent

BERECHNUNG DER VERDÜNNUNG VON BLUT, MILCH, MOLKE UND GÜLLE IN ABWASSERPROBEN

Verschiedene chemische Parameter einer Probe können, verglichen mit Referenzwerten von Blut, Milch, Molke und Gülle und Referenzwerten von Abwasser, zum Abschätzen der Verdünnung verwendet werden.

$$\text{Verdünnung} = \frac{\text{Referenzwert}_{\text{Analyt}}}{\text{Ergebnis}_{\text{Probe}} - \text{Referenzwert}_{\text{Abwasser}}}$$

Im folgenden Beispiel wird der Chemische Sauerstoffbedarf (CSB) zur Berechnung verwendet.

$$\text{Verdünnung} = \frac{\text{CSB}_{\text{Blut}}}{\text{CSB}_{\text{Probe}} - \text{CSB}_{\text{Abwasser}}}$$

Der CSB von reinem Blut wird in der Literatur mit bis zu 375 000 mg l⁻¹ [3] angegeben, derjenige von normal belastetem Abwasser beträgt ca. 600 mg l⁻¹ [4]. Eine bluthaltige Abwasserprobe wies einen CSB von 1360 mg l⁻¹ auf. Wird angenommen, dass der erhöhte CSB durch Blut zustande kommt, kann eine Verdünnung von Blut in Abwasser von ca. 1:490 berechnet werden.

$$\frac{375\,000\text{ mg l}^{-1}}{1400\text{ mg l}^{-1} - 600\text{ mg l}^{-1}} = 490$$

Box 1

von ca. 0,2 mg l⁻¹ auf. Mit diesen Werten kann, unter der Annahme, dass es sich um Rinderblut handelt, eine Verdünnung von Blut in Abwasser von ca. 1:500 berechnet werden.

Mit diesen Quantifizierungsmethoden können vergleichbare Ergebnisse erzielt werden. Diese Methoden bringen in Kombination den Vorteil, dass die Spezifität für Blut erhöht werden kann. Eine Beurteilung der Ergebnisse sollte immer kritisch erfolgen, da sowohl ein erhöhter CSB als auch ein erhöhter Eisengehalt verschiedene Ursachen haben kann. Ausserdem sollten Erfahrungswerte für die normale Belastung des Abwassers der jeweiligen ARA bekannt sein. Für den Klärwärter ist insbesondere der CSB von Bedeutung, da sich darin neben Blut auch andere in Abwasser von Schlachthöfen enthaltene Stoffe wie Fett und Kot der Tiere widerspiegeln.

MILCH UND MOLKE IN ABWASSER

Molke und Abwasser aus der Käseproduktion oder ungeniessbare Milch aus Landwirtschaftsbetrieben können beabsichtigt oder unbeabsichtigt ins Abwasser gelangen. Ein Beispiel, wie Milch durch Verschütten beim Umfüllen oder Reinigen eines Tankwagens in die Kanalisation gelangen kann, ist in *Figur 6* gezeigt.

Weitaus problematischer für die ARA wird es, wenn die bei der Käseherstellung anfallende Molke einer ganzen Tagesproduktion in die Kanalisation gelangt. Milchbestandteile im Abwasser werden vom Klärwerkpersonal in der Regel durch eine weisse, trübe Färbung im Falle von Milch oder auch über die leicht grün schimmernde Farbe im Falle von Molke erkannt. Im Falle von Sauermolke ist auch ein ungewöhnlich tiefer pH-Wert feststellbar. Ein weiteres Indiz ist der für Molke charakteristische säuerliche Geruch.



Fig. 6 Abwasser aus der Reinigung eines Tankwagens für Milch fliesst in die Kanalisation (Bild: M. Bürkli, ARA Landquart)
Eaux usées issues du nettoyage d'une citerne de lait s'écoulant dans la canalisation (illustration: M. Bürkli, STEP de Landquart)

QUALITATIVER NACHWEIS

Fluoreszenz bei UV-Bestrahlung

Eine Methode, die den Verdacht auf Milch oder Molke erhärten kann, ist die starke Fluoreszenz bei Bestrahlung mit einer UV-Lampe. Die Ursache für die Fluoreszenz liegt an dem in Milch in relativ hoher Konzentration vorkommenden Riboflavin. Riboflavin, auch bekannt als Vitamin B₂, kommt in Milch in einer Konzentration von ca. 1,7 mg l⁻¹ [8] vor und ist eine stark fluoreszierende Substanz. Auch Abwasser zeigt aufgrund von verschiedenen Kontaminanten, wie optischen Aufhellern aus Waschmitteln oder Papier, eine schwache Fluoreszenz. Ein direkter Vergleich der Fluoreszenz von Molke und Abwasser ist in *Figur 7 (a-c)* abgebildet. Diese Fluoreszenz kann bis zu einer Verdünnung von ca. 1:100 beobachtet werden.

Da in Abwasser auch andere fluoreszierende Stoffe enthalten sein können, stellt dies jedoch noch keinen Beweis für Milch oder Molke dar.

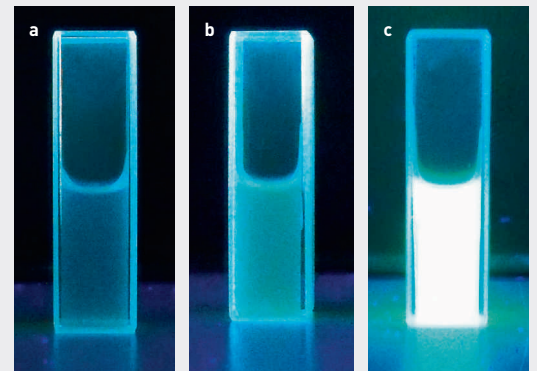


Fig. 7 Fluoreszenz von Molke und Abwasser bei Bestrahlung mit UV-Licht (366 nm). (a) Filtriertes gewöhnliches Abwasser, (b) filtriertes molkehaltiges Abwasser, (c) Molke. Die Fluoreszenz kommt durch das in der Molke enthaltene Riboflavin zustande
(Quelle: ALT)

Fluorescence de lactosérum et d'eaux usées lors de l'exposition aux rayons UV (366 nm). (a) Eaux usées normales filtrées, (b) eaux usées contenant du lactosérum filtrées, (c) lactosérum. La fluorescence est due à la riboflavine contenue dans le lactosérum

Bestimmung von Molkenproteinen

Eine Möglichkeit, um Milch und Molke spezifischer nachzuweisen, bietet die Bestimmung von Molkenproteinen. Bei der Käseproduktion verbleiben die Molkenproteine nach dem Ausfällen des Caseins in der Molke und können aus diesem Grund sowohl in Milch als auch in Molke nachgewiesen werden. In Molke stellt

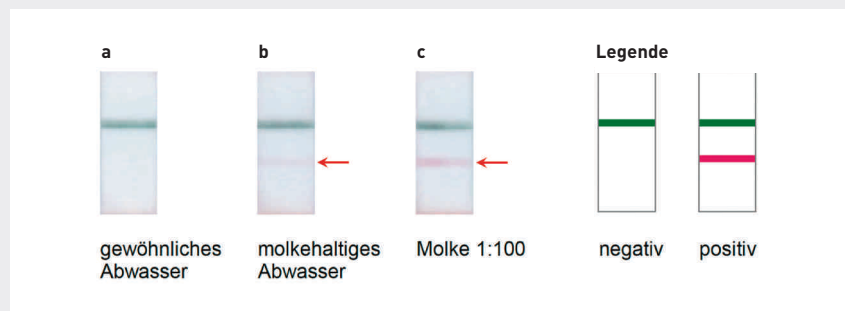


Fig. 8 Immunochromatographie-Teststreifen zum Nachweis von Milch und Molke.

(a) Gewöhnliches Abwasser, (b) molkehaltiges Abwasser, (c) verdünnte Molke 1:100.

Legende: Negatives Ergebnis bei Erscheinen der grünen Kontrolllinie; positives Ergebnis bei Erscheinen der grünen Kontrolllinie und der roten Testlinie

Bandelettes de test d'immunochromatographie pour la détection de lait et de lactosérum. (a)

Eaux usées normales, (b) contenant du lactosérum, (c) lactosérum dilué 1:100. Légende: Résultat négatif avec apparition de la ligne de contrôle verte. Résultat positif avec apparition de la ligne de contrôle verte et de la ligne de test rouge

β -Lactoglobulin das vorherrschende Protein dar und kann z.B. mit Antikörpern in einem Immunoassay nachgewiesen werden. Eine Methode, β -Lactoglobulin nachzuweisen, bieten kommerziell erhältliche Teststreifen. Solche Teststreifen, auch als *Lateral Flow Assays* bezeichnet, basieren auf dem Prinzip der Immunchromatographie. Der ursprüngliche Verwendungszweck dieser Teststreifen liegt im Nachweis von Milchbestandteilen in Lebensmitteln. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass diese Teststreifen auch für Abwasser eingesetzt werden können. Sie sind sehr einfach in der Handhabung und ein Ergebnis liegt innert weniger Minuten vor. Als Beispiel sind in *Figur 8* die Ergebnisse von gewöhnlichem Abwasser (a), einer molkehaltigen Abwasserprobe (b) und von verdünnter Molke (c) abgebildet. Diese Teststreifen weisen je nach Hersteller eine unterschiedliche Nachweisgrenze auf. Bei einer Nachweisgrenze von beispielsweise $2,5 \text{ mg l}^{-1}$ und einem Gehalt an β -Lactoglobulin in Molke von ca. 2500 mg l^{-1} [9] kann dieses in Abwasser bis zu einer Verdünnung von ca. 1:1000 nachgewiesen werden. Ein Nachteil dieser Methode ist, dass ein Nachweis sehr

schnell erfolgen muss, da β -Lactoglobulin in Abwasser innert weniger Stunden abgebaut wird. Eine zusätzliche Bestimmung von Casein könnte im Idealfall dazu genutzt werden, um Milch von Molke zu unterscheiden. Allerdings ist Milch ein weit verbreitetes Lebensmittel und kann deshalb auch in gewöhnlichem Abwasser nachgewiesen werden. Versuche mit Teststreifen haben dann auch gezeigt, dass die Konzentration an Casein in gewöhnlichem Abwasser genügend hoch ist, um die Nachweisgrenze der Teststreifen zu übersteigen. Aus diesem Grund kann diese Methode nicht dazu genutzt werden, um ungewöhnlich hohe Anteile an Milch in Abwasser nachzuweisen oder um Milch von Molke zu unterscheiden.

Enzyme-linked Immunosorbent Assay

Neben Teststreifen werden von diversen Herstellern auch andere antikörperbasierte Testverfahren zum Nachweis von Milch- und Molkenproteinen angeboten. Die am weitesten verbreitete Methode ist der *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Ein ELISA ermöglicht neben einem qualitativen Nachweis auch eine quantitative Bestimmung. Allerdings

sind kommerziell erhältliche Testsysteme teuer. Da der Nachweis von Milch und Molke in Abwasser nicht routinemässig durchgeführt wird, lohnt sich die Anschaffung aufgrund der geringen Haltbarkeit der Reagenzien kaum.

QUANTITATIVER NACHWEIS

Um die Konzentration von Milch und Molke in einer Abwasserprobe abzuschätzen, wurde auch hier auf Methoden der klassischen Abwasseranalytik zurückgegriffen. Dafür wurden die Parameter CSB-, TOC-, Gesamt-Phosphor, gesamter gebundener Stickstoff (TNb) und die Konzentration an Calcium, Kalium und Magnesium von Milch, Molke und Abwasser bestimmt oder aus der Literatur übernommen (*Tab. 1*). Eine molkehaltige Abwasserprobe wies einen CSB von 5635 mg l^{-1} , einen TOC von 1414 mg l^{-1} , einen Gesamt-Phosphor von 38 mg l^{-1} und einen TNb von 202 mg l^{-1} auf. Die Konzentrationen an Calcium, Kalium und Magnesium betragen 135 mg l^{-1} , 107 mg l^{-1} und 28 mg l^{-1} . Werden diese Ergebnisse mit den Referenzwerten von gewöhnlichem Abwasser und unverdünnter Molke verglichen, kann die Verdünnung der Molke in dieser Probe abgeschätzt werden (*s. Anwendungsbeispiel Box 1*). Über den CSB kann eine Verdünnung der Molke in Abwasser von 1:14 berechnet werden. Für den TOC ergibt sich eine Verdünnung von 1:18, für den Gesamt-Phosphor 1:14, für den TNb 1:8. Über die Konzentrationen von Calcium, Kalium und Magnesium kann eine Verdünnung von 1:9, 1:15 resp. 1:13 berechnet werden. Durch die Kombination verschiedener chemischer Parameter kann die Spezifität für Milch und Molke erhöht werden. Da jedoch oft nicht bekannt ist, ob es sich um Milch oder Molke handelt, kann es schwierig sein, akkurate Referenzwerte zu finden. Da für das Klärwerkpersonal insbesondere die Schmutzfracht von Bedeutung ist, kommt auch in diesem Fall dem CSB die grösste Bedeutung zu.

| Probe | CSB [mg l^{-1}] | TOC [mg l^{-1}] | P [mg l^{-1}] | TNb [mg l^{-1}] | Ca [mg l^{-1}] | K [mg l^{-1}] | Mg [mg l^{-1}] |
|----------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Milch | 205 000 [10] | 62 000 | 920 [11] | 5000 [11] | 1200 [11] | 1570 [11] | 120 [11] |
| Molke | 71 000 [12] | 23 000 | 430 [11] | 1300 [11] | 680 [11] | 1290 [11] | 105 |
| Abwasser | 600 [4] | 130 | 7 | 40 | 60 | 20 | 20 |

Tab. 1 Referenzwerte für Milch, Molke, gewöhnliches Abwasser und Ergebnisse einer molkehaltigen Abwasserprobe. CSB, TOC, Gesamt-Phosphor (P), gesamter gebundener Stickstoff (TNb), Calcium- (Ca), Kalium- (K) und Magnesiumgehalt (Mg). Bei Referenzwerten ohne Literaturangabe handelt es sich um eigene Messwerte

Valeurs de référence pour le lait, le lactosérum, les eaux usées normales et résultats d'un échantillon d'eaux usées contenant du lactosérum. DCO, COT, phosphore total (P), total d'azote fixé (TNb), teneurs en calcium (Ca), potassium (K) et magnésium (Mg). Pour les valeurs de référence sans indications bibliographiques, il s'agit de nos propres valeurs de mesure

GÜLLE IN ABWASSER

Gülle in Abwasser könnte beispielsweise von Landwirtschaftsbetrieben mit überfüllter Güllegrube stammen. Gelangt diese Gülle beabsichtigt oder unbeabsichtigt in die Kanalisation, wird dies vom Klärwerkpersonal in der Regel durch die dunkelbraune Farbe, den charakteristisch beissenden Geruch und eventuell anhand von Strohfasern im Rechen festgestellt.

QUALITATIVER NACHWEIS

Gülle unterscheidet sich aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung, abgesehen von den Konzentrationsverhältnissen, kaum von gewöhnlichem Abwasser. Aus diesem Grund wurden für den Nachweis von Gülle biologische Marker gewählt.

Biologische Marker

Solche biologischen Marker sind z. B. Bakterien der Ordnung *Bacteroidales*. Diese Bakterien sind zum Nachweis in der Umwelt insbesondere deshalb geeignet, da sie einen signifikanten Teil der Bakterienflora im Verdauungstrakt von Menschen und Tieren ausmachen [13] und sich nur in einer sauerstofffreien Umgebung vermehren. Erhobene Daten werden deshalb kaum durch eine Vermehrung der Bakterien vor der Probenahme verfälscht [14, 15]. Ausserdem zeigen Bakterien dieser Ordnung wirtsspezifische Unterschiede in der Sequenz der 16S-rRNA auf [16]. Der Nachweis dieser Bakterien beruht auf der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), genauer gesagt auf der Real-Time-quantitative-PCR (qPCR). Diese Methode ermöglicht es, den wirtsspezifischen DNA-Abschnitt, einen Teil des 16S-rRNA-Gens, zu vervielfältigen (amplifizieren) und gleichzeitig die Zunahme dieser DNA über ein Fluoreszenzsignal zu verfolgen. Ist in der daraus resultierenden Amplifikationskurve eine Zunahme erkennbar, kann die Probe als positiv eingestuft werden. Ist keine Amplifikation erkennbar, ist die Probe negativ. Diese molekularbiologische Methode ermöglicht eine Herkunftsbestimmung der Bakterien unabhängig davon, ob die Bakterien bereits abgestorben sind oder nicht. Auf der qPCR basierende Methoden sind teuer, aber hoch spezifisch und sehr sensitiv.

Um Gülle in Abwasser nachzuweisen, wurden zwei verschiedene qPCR-Methoden gewählt. Eine Methode, die spezifisch für Wiederkäuer ist, und eine, die

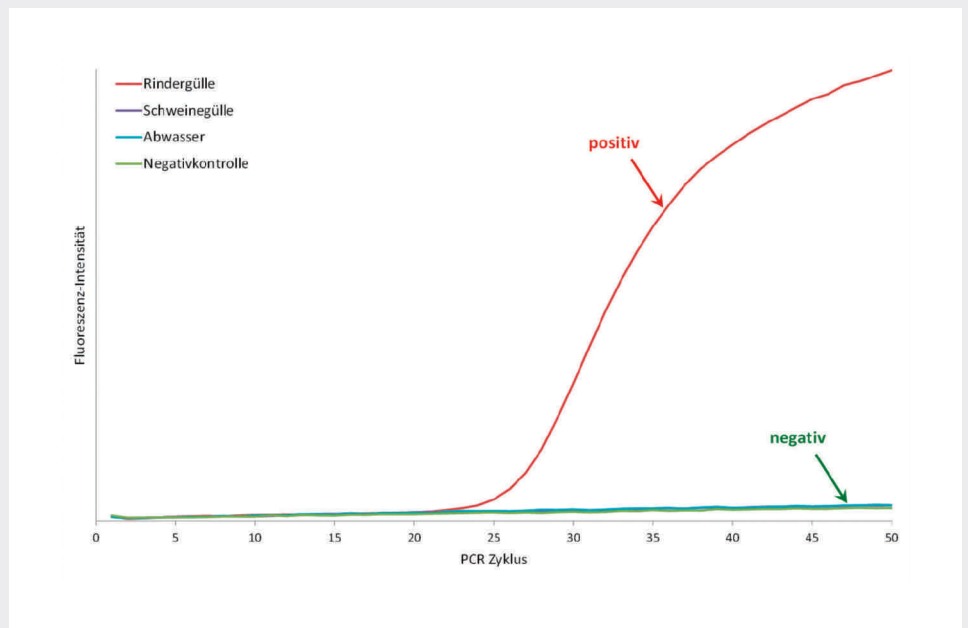


Fig. 9 Amplifikationskurven der qPCR-Reaktion zum Nachweis von Bakterien der Darmflora von Wiederkäuern. Rindergülle zeigt eine positive Reaktion, Schweinegülle und Abwasser sind negativ
 Courbes d'amplification de la réaction qPCR pour la détection de bactéries de la flore intestinale des ruminants. Le lisier de bœuf montre une réaction positive, le lisier de porc et les eaux usées sont négatifs

| Probe | TS [g kg ⁻¹] | CSB [mg l ⁻¹] | TKN [mg l ⁻¹] | NH ₄ ⁺ [mg l ⁻¹] | P [mg l ⁻¹] | Ca [mg l ⁻¹] | K [mg l ⁻¹] | Mg [mg l ⁻¹] |
|---------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|---|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Rohgülle | 46 | 38 500 | 1390 | 680 | 315 | 1450 | 2440 | 325 |
| Dünngülle | 26 | 26 300 | 1180 | 620 | 260 | 1370 | 2270 | 280 |
| Schweinegülle | 10 | 9120 | 1290 | 1010 | 130 | 300 | 1010 | 120 |
| Abwasser | <1 | 600 | 45 | 30 | 7 | 60 | 20 | 20 |

Tab. 2 Zusammenstellung verschiedener Parameter, die zur Charakterisierung von Abwasser, Rindergülle (Roh- und Dünngülle) und Schweinegülle bestimmt wurden. Trockensubstanz (TS), gesamter Kjeldahl-Stickstoff (TKN), Ammoniumgehalt (NH₄⁺), Gesamt-Phosphor (P), Calcium- (Ca), Kalium- (K) und Magnesiumgehalt (Mg)

Synthèse de différents paramètres définis pour la caractérisation des eaux usées, du lisier de bœuf (lisier brut et liquide) et du lisier de porc. Matière sèche (MS), azote total Kjeldahl (TKN), teneur en ammonium (NH₄⁺), phosphore total (P), taux de calcium (Ca), potassium (K) et magnésium (Mg)

spezifisch für Schweine ist. Mit diesen Methoden konnte Rinder- und Schweinegülle in Abwasser nachgewiesen werden. Als Beispiel ist in *Figur 9* die Amplifikationskurve der qPCR-Reaktion zum Nachweis von Rindergülle mit der für Wiederkäuer spezifischen qPCR-Methode abgebildet.

Eine reale Abwasserprobe, in der Gülle vermutet wurde, wurde mit den oben beschriebenen Methoden analysiert. Mittels qPCR konnten in dieser Probe die Bakterien von Wiederkäuern nachgewiesen werden. Die qPCR-Reaktion zum Nachweis von Bakterien der Darmflora von Schweinen war negativ. Da bei der Haltung von Wiederkäuern wie Schafen und Ziegen kaum Gülle anfällt, handelt es sich mit grösster Wahrscheinlichkeit um Rindergülle.

QUANTITATIVER NACHWEIS

Um in güllehaltigen Abwasserproben den Güllegehalt abschätzen zu können, wurden die Trockensubstanz (TS), der CSB, der gesamte Kjeldahl-Stickstoff (TKN), der Ammoniumgehalt (NH₄⁺), der Gesamt-Phosphor (P) und die Elemente Calcium, Kalium und Magnesium von verschiedenen Gülleproben untersucht. In *Tabelle 2* sind die Ergebnisse für Rindergülle, Schweinegülle und Abwasser zusammengefasst dargestellt. Zwei verschiedene Rindergüllen wurden untersucht, die ursprünglich in einem Landwirtschaftsbetrieb angefallene Rohgülle und Dünngülle, deren ungelöste Feststoffe weitgehend abgetrennt wurden. Die Werte für verschiedene Güllesorten können jedoch, je nach Herkunft, Lagerung und Verarbeitung, stark variieren.

In der Literatur werden TS bis zu 110 g kg^{-1} und Stickstoffgehalte bis $18\,000 \text{ mg l}^{-1}$ angegeben [17]. Aus diesen Gründen ist eine genaue Bestimmung der Güllekonzentration durch den Vergleich mit Referenzwerten nicht möglich. Allerdings ist aus diesen Daten gut ersichtlich, dass sich die Konzentrationen signifikant von Abwasser unterscheiden. Insbesondere die TS, der CSB, Stickstoff- und Phosphorgehalt eignen sich gut, um eine güllehaltige Abwasserprobe zu charakterisieren.

Die güllehaltige Abwasserprobe wies eine TS von $3,6 \text{ g kg}^{-1}$ auf, der CSB betrug 3794 mg l^{-1} , der TKN 242 mg l^{-1} und der Gesamt-Phosphor 32 mg l^{-1} . Die Konzentrationen an Calcium, Kalium und Magnesium betragen 250 , 275 und 50 mg l^{-1} . Wird angenommen, dass es sich bei der Gülle in der Probe um Rohgülle handelt, kann, unter Berücksichtigung aller Parameter, im Mittel eine Verdünnung von 1:10 grob abgeschätzt werden (s. *Anwendungsbeispiel Box 1*).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Castelló, A.; Francès, F. et al. (2009): *Active Oxygen Doctors the Evidence*. *Naturwissenschaften*, 96 (2), 303–307
- [2] Wiegand, P.; Rolf, B. (2003): *Analyse biologischer Spuren. Teil I: Funktionelle Blutspurenmorphologie, Körpersekrete, Haare. Detektions- und Nachweismethoden*. *Rechtsmedizin*, 13 (2), 103–113
- [3] Tritt, W.P.; Schuchardt, F. (1992): *Materials Flow and Possibilities of Treating Liquid and Solid Wastes from Slaughterhouses in Germany. A Review*. *Bioresour. Technol.*, 41 (3), 235–245
- [4] Klopp, R. et al. (2007): *Taschenbuch der Stadtentwässerung* (30. Auflage). *Beschaffenheit des Abwassers*. Oldenbourg Industrieverlag, München
- [5] Kraft, W. et al. (2005): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin* (6. Auflage). *Hämatologie*. Schattauer-Verlag, Stuttgart
- [6] Wong, S.Y. (1928): *Colorimetric Determination of Iron and Hemoglobin in Blood*. *J. Biol. Chem.*, 77 (2), 409–412
- [7] Koppe, P.; Stozek, A. (1998): *Kommunales Abwasser: Seine Inhaltsstoffe nach Herkunft, Zusammensetzung und Reaktionen im Kläranlagenprozess einschliesslich Klärschlämme* (4. Auflage). Vulkan-Verlag, Essen
- [8] Haenel, H. (1987): *E. Renner und A. Renz-Schauen: Nährwerttabellen für Milch und Milchprodukte*. 557 Seiten (Loseblattsammlung). Verlag B. Renner, Giessen 1986. *Nahrung*, 31 (1), 1521–3803
- [9] Belitz, H.-D. et al. (2001): *Lehrbuch der Lebensmittelchemie* (5. Auflage). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- [10] Michelbach, S.; Steinriede, H. (2009): *Wasseranalyse. Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB). Dienstleistungsinformation*. *Umwelt- und Fluid-Technik Dr. H. Brombach, Bad Mergentheim*. www.uft-brombach.de/Stadthydrologie.171.0.html
- [11] Souci, S.W. et al. (2008): *Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen* (7. Auflage). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
- [12] Marti, U.; Bisig, W. (2011): *Aus Molke rentabel Biogas produzieren*. *Alimenta*, 15, 23–25. www.alimentaonline.ch/Wissensarchiv/ArtikelDetail/tabid/249/Article/101646/Default.aspx
- [13] Madigan, M.T. et al. (2002): *Brock Biology of Microorganisms* (10. Auflage). Pearson Education, US
- [14] Fiksdal, L. et al. (1985): *Survival and Detection of Bacteroides spp., Prospective Indicator Bacteria*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49 (1), 148–150
- [15] Kreader, C.A. (1998): *Persistence of PCR-Detectable Bacteroides Distasonis from Human Feces in River Water*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64 (10), 4103–4105
- [16] Dick, L.K. et al. (2005): *Host Distributions of Uncultivated Fecal Bacteroides Bacteria Reveal Genetic Markers for Fecal Source Identification*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 (6), 3184–3191
- [17] Schattauer, A.; Weiland, P. (2009): *Biogasgewinnung und -nutzung* (4. Auflage). *Handreichung. Beschreibung ausgewählter Substrate*. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR), Gülzow

> SUITE DU RÉSUMÉ

La détection qualitative du lisier de porc et de bœuf a pu être obtenue grâce à des méthodes de biologie moléculaire. Ces méthodes, qui reposent sur les réactions en chaîne par polymérase, sont onéreuses mais hautement spécifiques. Le lisier ne peut pas être directement quantifié dans les eaux usées, car il ne peut lui-même être défini de manière précise. Une caractérisation et une détermination approximative de la teneur en lisier peut néanmoins être obtenue à l'aide d'une combinaison de demande chimique en oxygène, d'azote total, de phosphore total et de matière sèche.



Vollautomatisches Netzüberwachungssystem
Lecks werden korreliert und grafisch angezeigt,
Wasserverluste und Schäden minimiert

ZONESCAN ALPHA[®] CE

System zur permanenten Lecküberwachung in Wassernetzen

Installation, Verkauf und Service:

VON ARX + PARTNER AG Ingenieurbüro, 5035 Unterentfelden
062 723 04 84, info@vonarxpartner.ch, www.vonarxpartner.ch

Wälli AG Ingenieure, 9410 Heiden
071 898 32 32, (Arbon, Heerbrugg, Horw, Weinfelden u. a.)
heiden@waelli.ch, www.waelli.ch

Martin Gasser Mess- und Ortungstechnik, 4228 Erschwil
061 781 29 76, info@martin-gasser.ch, www.martin-gasser.ch

Benedikt Clopath Kommunaldienste Messtechnik, 7433 Wergenstein
081 661 21 77, clopath@postmail.ch, www.clopath.ch

Gerry Cortese Ricerca Perdite Aqua, 6523 Preonzo
079 533 18 25, gerry.cortese21@gmail.com