



Technische Universität Braunschweig
Institut für Mikrobiologie
Technische Umweltmikrobiologie
Dr. P. Harborth

Praktikum

M28

Technische Mikrobiologie

vom 23.08. - 10.09.2004

Entwicklung von Starterkulturen für die Schnellaktivierung von Biofiltern in Abwasserschächten

vorgelegt von: Stefanie Beck
 Katrin Peter

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	2
1.1	Allgemeine Hintergrundinformationen.....	2
1.2	Ursache der Geruchsbelästigung.....	2
1.3	Entstehung von Schwefelwasserstoff.....	2
1.4	Problem Druckrohrleitung.....	3
1.5	Problemlösungen.....	5
1.5.1	H ₂ S-Präzipitation (Fällung durch Eisensalze).....	5
1.5.2	Einleiten von technischem Sauerstoff.....	5
1.5.3	Das Biofiltersystem.....	5
1.6	Zielsetzung.....	7
2	Material und Methoden.....	7
2.1	Herstellung eines Thiobacillen-Extrakts aus Biofiltermulch.....	7
2.2	Medienzusammensetzung.....	7
2.3	Bestimmung der Zellzahl.....	7
2.4	Sterilfiltration.....	7
2.5	Messung der Schwefelwasserstoffemission in Abwasserschächten.....	7
2.6	Sulfatetest.....	8
2.7	Aktivitätstest.....	8
3	Ergebnisse und Auswertung.....	9
3.1	Anreicherungskulturen.....	9
3.2	Wachstum der Bakterien auf Agarmedium.....	12
3.3	Feldversuche.....	12
3.4	Sulfatetest.....	18
4	Zusammenfassung.....	18
5	Literatur.....	19
6	Anhang.....	19

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Hintergrundinformationen

In den letzten Jahren ist es vermehrt zu Beschwerden über Geruchsbelästigungen durch Abluft aus Abwässerschächten gekommen. Betroffene Anwohner beklagen sich immer häufiger über unangenehme Gerüche. Technische Maßnahmen, wie das Spülen der Kanalleitungen zur Beseitigung von Ablagerungen oder die Reduzierung des Druckleitungsquerschnitts zur Erhöhung der Abwasserpumpenleistung, tragen in den meisten Fällen nicht dazu bei, das Geruchsproblem langfristig zu beseitigen.

Erst die Entwicklung von Biofiltersystemen führte schließlich zu einer Reduktion der Geruchsemission. In derartigen Biofiltern wird der störende Geruch auf biologische Weise durch Mikroorganismen dezimiert.

Viele Biofilter werden jedoch erst gekauft, wenn die unangenehmen Gerüche bereits aufgetreten sind. Der Einbau des Biofilters in das Kanalsystem führt jedoch nicht sofort zu einer Linderung der Geruchsbelästigung, da sich die Mikroorganismen im Filtermaterial erst ansiedeln und vermehren müssen. Die „Anlaufphase“ des Biofilters kann daher bis zu acht Wochen dauern – ein Zeitraum, der den Käufern häufig zu lang ist.

1.2 Ursache der Geruchsbelästigung

Grund der Geruchsbelästigung ist der fäkale Geruch aus Abwässerschächten, dessen Hauptbestandteil Schwefelwasserstoff ist.

Schwefelwasserstoff ist ein unsichtbares Gas, das schon bei wenigen ppm in der Luft den Geruch von faulen Eiern aufweist. Der offizielle MAK-Wert von 10 ppm (maximale Arbeitsplatz-Konzentration; volumenbezogen) wird in den Abwässerschächten häufig überschritten. Hohe Schwefelwasserstoff-Konzentrationen sind lebensgefährlich, da das Gas schnell zur Bewusstlosigkeit führt und Atemlähmung eintritt.

Neben der extremen Geruchsbelästigung kommt es in Abwässerschächten mit hohen Schwefelwasserstoffvorkommnissen zu starken Korrosionen an der Bausubstanz, wofür die mit Sauerstoff gebildete Schwefelsäure verantwortlich ist:

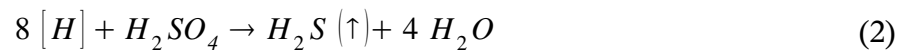


1.3 Entstehung von Schwefelwasserstoff

Bei der Entstehung von Schwefelwasserstoff in Rohrleitungen spielen eine Reihe von Faktoren eine Rolle.

Zunächst gelangt Schwefel gebunden in organischer Form in das Abwasser – zum einen pro Einwohner (~ 800 g / Jahr), zum anderen zusätzlich durch industrielle bzw. gewerbliche Betriebe. Die organischen Verbindungen werden bereits im Abwasser unter Sauerstoffverbrauch von Mikroorganismen abgebaut, so dass eine anaerobe Atmosphäre entsteht. Nur in diesem Milieu wird der gebundene Schwefel dann durch streng anaerob lebende Mikroorganismen, die unter dem Begriff Desulfurikanten zusammengefasst werden zu Sulfid reduziert. Zu den Desulfurikanten zählen mehrere Gruppen streng anaerob lebender Bakterien, z. B. Gram-negative, begeißelte und unbegeißelte Eubakterien, wie die Gattungen *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfomonas* oder *Desulfovibrio*, sowie einige Gram-positive (*Desulfotomaculum*) bzw. gleitende Bakterien (*Desulfonema*) und einige Archaeobakterien (*Archaeoglobus*).

Allgemein gilt für die dissimilatorische Umsetzung des Sulfates folgende allgemeine Reaktionsgleichung:



Hierbei dient der Wasserstoff als Elektronendonator und der Schwefel im Sulfat als Elektronenakzeptor.

Der entstehende Schwefelwasserstoff entweicht aus dem Abwasser in den Gasraum der Kanalisation.

1.4 Problem Druckrohrleitung

Die Desulfurikanten können nur wirksam arbeiten, wenn sämtlicher Sauerstoff im Abwasser verbraucht ist. In der heutigen Zeit werden vermehrt Druckrohrleitungen eingesetzt, in denen leider relativ häufig ein anaerobes Milieu begünstigt wird.

Druckrohrleitungen werden dort verbaut, wo das Abwasser nicht mit dem Gefälle abfließen kann (z. B. zur Überwindung von Höhenunterschieden). Außerdem sind sie preiswerter, da durch eine geringere Einbautiefe der Aufwand und somit die Kosten beim Verlegen geringer sind.

Um nun den Druck zu gewährleisten, der es ermöglicht, das Abwasser gegen das Gefälle zu transportieren, sind die Leitungen auf der gesamten Strecke komplett geschlossen und mit entsprechenden Pumpen ausgestattet. Dadurch wird verhindert, dass Sauerstoff in das Abwasser gelangt, so dass der vorhandene Restsauerstoff durch aerobe Prozesse kontinuierlich abnimmt bis ein anaerobes Milieu vorherrscht, welches von den Desulfurikanten bevorzugt wird.

Die Sauerstoffzehrung des Abwassers steigt mit dessen Aufenthaltsdauer im Kanalsystem.

Demnach ist desto weniger Sauerstoff im Abwasser enthalten, je länger es zur Kläranlage unterwegs ist. Bei Druckrohrleitungen wird das Abwasser im Pumpschacht gesammelt, wobei bereits Sauerstoffzehrung auftritt, und bei Erreichen einer gewissen Füllhöhe in die vollständig geschlossene Leitung gepumpt. Somit stellt sich der anaerobe Zustand relativ schnell ein, und es kommt zur dissimilatorischen Sulfatverwertung.

Aufgrund der Pumpzyklen tritt Schwefelwasserstoff nicht konstant intensiv auf. Das Aufkommen der H_2S -Emission folgt allerdings, über den Verlauf von 24 Stunden gesehen, einem gleich bleibendem Rhythmus, welcher auf der Abwasserproduktion durch den Menschen beruht.

In den Abb. 1 und 2 sind der Abwasserzufluss und die Verweilzeit des Abwassers in einer Druckrohrleitung und eine typische H_2S -Kurve als Tageslinie über der Zeit dargestellt.

Bei Vergleich der H_2S -Kurve mit der Zulaufkurve ist ersichtlich, dass sie umgekehrt miteinander korrelieren: steigt der Zulauf in der Druckrohrleitung, so sinkt der H_2S -Ausstoß. Eine kürzere Verweilzeit in der Druckrohrleitung und erhöhter Zufluss führt zu einer Verminderung der Schwefelwasserstoffproduktion.

Schwefelwasserstoff ist leichter und in Wasser in größeren Mengen löslich als Sauerstoff. Aus diesem Grund neigt es dazu, stärker auszugasen, so dass insbesondere in Bereichen der Kanalisation, in denen es zu Aufwirbelungen des Abwassers kommt, stärkere Belastungen des Gasraums mit Schwefelwasserstoff auftreten.

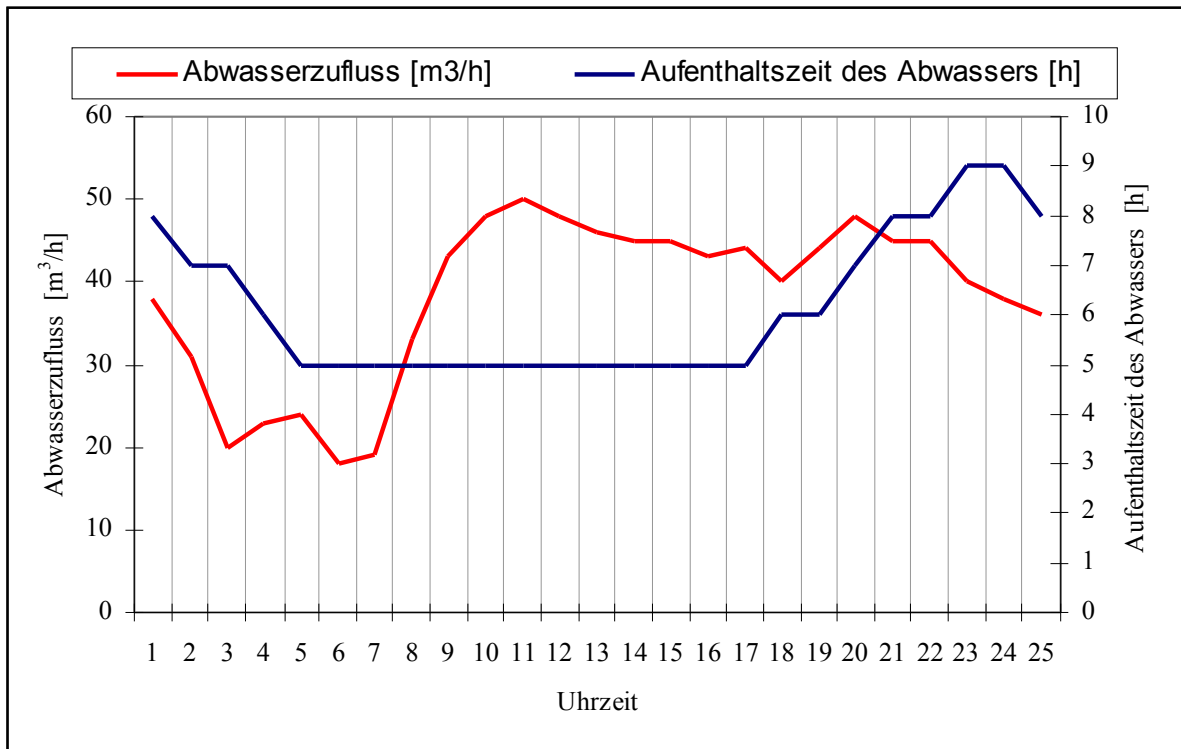


Abb. 1: Beziehung von Abwasserzufluss zur Verweilzeit in einer Druckrohrleitung ^[1]

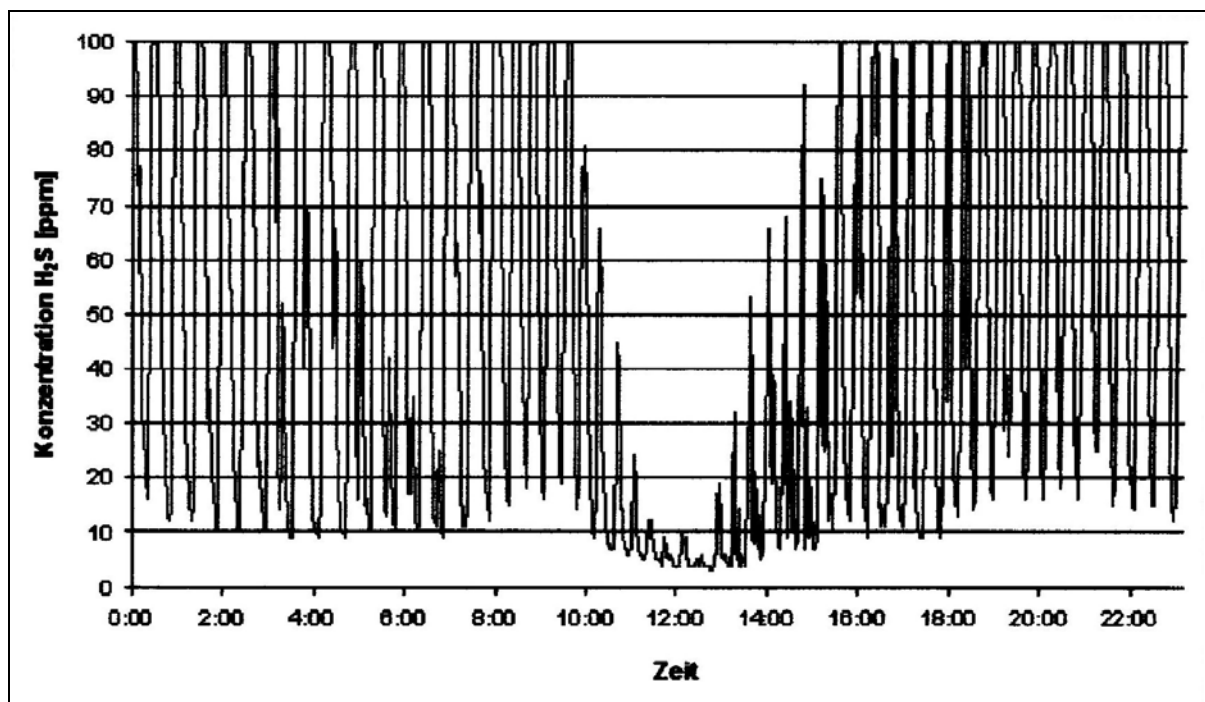


Abb. 2: Schwefelwasserstoff-Konzentration über der Zeit: typischer Tag-Nacht-Rhythmus der H₂S-Emissionen ^[1]

1.5 Problemlösungen

Als Beispiele für den Stand der Technik werden hier drei mögliche Verfahren vorgestellt: die Eisensalzfällung, die Sauerstoffoxidation sowie der Einsatz von Biofiltersystemen.

1.5.1 H₂S-Präzipitation (Fällung durch Eisensalze)

Der Einsatz von Eisensalzen zur Verhinderung von Schwefelwasserstoff-Emissionen hat zum Ziel, das entstehende Sulfid zu binden und somit den Schwefel aus dem Abwasser zu entfernen. Eisen reagiert unabhängig davon in welcher Wertigkeit es vorliegt mit Sulfid zu Eisensulfid (FeS).

Eisensulfid ist ein schwer löslicher Feststoff, der eine Schwarzfärbung des Abwassers verursacht. Die Methode der H₂S-Präzipitation ist relativ einfach, da lediglich konstante Mengen Eisensalze aus Vorratsbehältern entnommen und in das Abwasser geleitet werden müssen. Die Reinigung des Abwassers vom Eisensulfid erfolgt in der Kläranlage.

Ein besonderer Nachteil dieser Technik besteht darin, dass die Eisenlösung konstant und unabhängig vom Abwasseranfall erfolgt. Des Weiteren entstehen Kosten für Pumpvorrichtung, Dosierstoffe sowie zusätzliche Wartung.

1.5.2 Einleiten von technischem Sauerstoff

Das Ziel dieser Methode ist die Oxidierung von Schwefelwasserstoff zu SO₄²⁻. Die Oxidierung erfolgt durch Injektion von technischem Sauerstoff in das Abwasser an der Pumpvorrichtung, wodurch die Bildung eines anaeroben Milieus verhindert werden soll. Alternativ ist die Verlegung von Schläuchen im Rohr möglich, wobei auf der gesamten Länge Sauerstoff durch Pressluft in das Abwasser gelangt.

Nachteilig bei diesem Verfahren ist der hohe Kostenaufwand sowohl durch die Verwendung von technischem Sauerstoff als auch durch die Verlegung der Schläuche im Kanalsystem. Des Weiteren entstehen Kosten aufgrund von zusätzlichem Wartungsaufwand.

Ein weiteres Problem, das durch das Einleiten von Sauerstoff verursacht wird, ist der vorzeitige Beginn der Abwasserreinigung bereits in der Kanalisation vor Erreichen der Kläranlage.

1.5.3 Das Biofiltersystem

Das Biofiltersystem bietet zur Zeit die einfachste und günstigste Variante zur Schwefelwasserstoffbekämpfung.

Der Biofilter ist mit organischem Material gefüllt und soll den Schwefelwasserstoff auf biologische Weise beseitigen.

Der kommerziell erhältliche Topfbiofilter (siehe Abb. 3) wird direkt unter den Gullideckel gehängt. Er hat jedoch die Nachteile, dass das Filtermaterial bei wenig Abwasser und hohen Temperaturen im Sommer austrocknen kann und im Winter die im Filter enthaltenen Mikroorganismen durch starken Bodenfrost absterben. Zudem kann der Filter durch herabgefallenes Laub oder andere Materialien verstopft.

Das von uns genutzte System (Abb. 4) besteht aus säurefestem PE-Kunststoff und ist aus zwei Teilen aufgebaut: Die Unterkammer wird direkt über der Abwasserrinne angebracht und zur Schachtbasis und den Schachtwänden komplett abgedichtet, so dass das Rohgas nur den Filterkörper passieren kann und folglich das Biofiltermaterial passieren muss. Die Unterkammer dient somit als Sammelraum des aus der Abwasserrinne emittierten Schwefelwasserstoffs sowie als Abstandshalter der Oberkammer zum Abwasser.



Abb. 3: Topfbiofiltermodell nach 4 Jahren im Einsatz (Asseverband) ^[1]

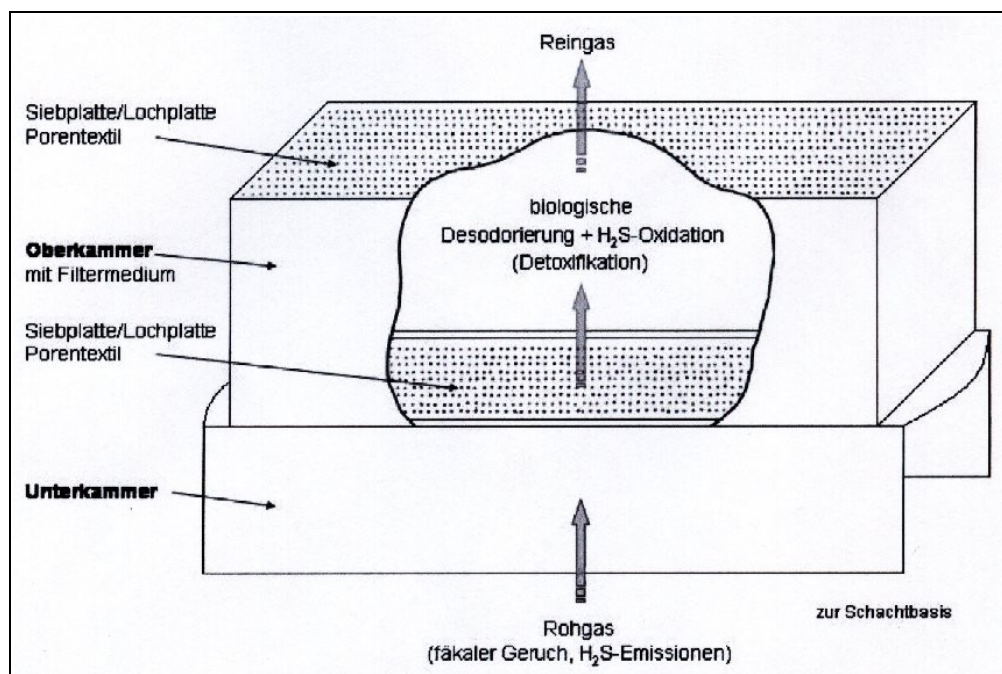


Abb. 4: Aufbauschema unseres Biofilters ^[1]

Die Oberkammer wird direkt auf die Unterkammer aufgesetzt und enthält eine etwa 30 cm hohe Schicht aus Rindenmulch, in dem die Thiobacillen angesiedelt sind. Durch zwei Querwände wird der Mulch gegen Verrutschen beim Filtereinbau gesichert. Ober- und Unterseite der Oberkammer bestehen aus festem feinmaschigem Kunststoffgitter, durch welches das aus dem Abwasserschacht kommende Gas ungehindert durch den Filter hindurchströmen kann.

1.6 Zielsetzung

Der Nachteil bei dem Einsatz von Biofiltersystemen liegt darin, dass vom Einsetzen des Biofilters in den Abwasserschacht bis zum Erreichen seiner maximalen H_2S -Eliminierung sechs bis acht Wochen vergehen können.

Im Rahmen dieses Praktikums sollen Starterkulturen für die Schnellaktivierung von Biofiltern in Abwasserschächten entwickelt werden, die es einem Biofilter nach möglichst kurzer Zeit nach Einbau in den Schacht ermöglichen, die belastigende Schwefelwasserstoff-Gerüche zu beseitigen.

2 Material und Methoden

2.1 Herstellung eines Thiobacillen-Extrakts aus Biofiltermulch

Für die Extraktion der Thiobacillen aus dem Biofiltermulch wurden 10 g Filtermaterial (Feuchtmasse) in 95 ml steriler Natriumpyrophosphat-Lösung (2,8 g/l mit 90 mg/l Nystatin; pH 7,4) gegeben und für 1,5 Stunden bei 100 U/min in einem Überkopfschüttler geschüttelt.

2.2 Medienzusammensetzung

allgemeines Anreicherungsmedium:

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$	12,4 g	oder	Schwefelpulver ca. 3 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,66 g		
KH_2PO_4	2,04 g		
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	0,123 g		
$\text{CaSO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$	0,017 g		
$\text{FeSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	0,006 g		
dest. H_2O	1000 ml		

für acidophile Bakterien: zusätzlich zum allgemeinen Medium Bromphenolblau: 0,004 g
pH auf 4,4 ... 4,6 einstellen

für neutrophile Bakterien: zusätzlich zum allgemeinen Medium Bromkresolgrün: 0,004 g
pH auf 6,9 ... 7,1 einstellen

Agarmedium für neutrophile Bakterien wurde mit zusätzlich 20 g/l Agar angesetzt.

Die Animpfung der Medien erfolgte durch Zugabe von 10 ml Thiobacillen-Extrakt auf 100 ml Medium.

2.3 Bestimmung der Zellzahl

Die Zellzahl wurde nach mikrobiologischer Standardmethode über eine MPN bestimmt.

2.4 Sterilfiltration

Die Sterilfiltration erfolgte nach mikrobiologischer Standardmethode mit einer Vakuum-Saugflasche mit Nutsche und einem Zellulosefilter mit Poren von 0,2 μm .

2.5 Messung der Schwefelwasserstoffemission in Abwasserschächten

Zur Messung des H_2S der ungefilterten Rohluft wird ein H_2S -Messgerät (*Pac III* der Firma Dräger) so an der Unterseite des Biofilters befestigt wurde, dass es sich direkt über dem Abwasser befand. Eine gasdurchlässige Plastikhülle schützt das Messgerät vor Wasser- und Säureschäden. Ein zweites Messgerät wird zur Messung der gefilterten Reinluft oberhalb des Biofilters angebracht. Die Messung der Schwefelwasserstoffemissionen erfolgt über mehrere Stunden. Die Auswertung der aufgenommenen Daten erfolgte mit der Computersoftware *GasVision 4.00* (Firma Dräger).

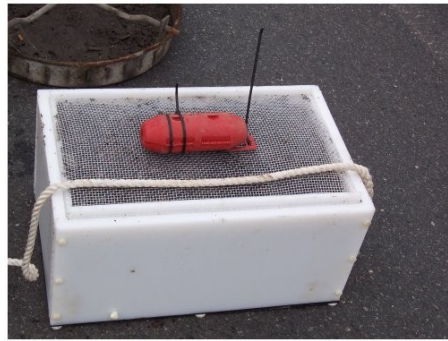


Abb. 5: Umhülltes Messgerät an der Unterseite eines Biofilters

2.6 Sulfattest

Sulfattest wird mit dem *LCK 153 Kit* der Firma Dr. Lange durchgeführt. Aus Biofiltermulch wird die von den Thiobacillen erzeugte Schwefelsäure mit 1 %iger NaCl-Lösung extrahiert. Die Zugabe spezieller Substanzen führt bei Anwesenheit von Sulfat im Extrakt zu einer milchigen Eintrübung der Lösung. Ihre optische Dichte wird nun mit dem *Digital-Photometer LP1G* (ebenfalls von Dr. Lange) gemessen und die Menge an Sulfat berechnet. Die erhaltenen Werte werden auf das Trockengewicht (TS) des Mulches bezogen, dessen Gehalt an Wasser deshalb ermittelt werden muss.

Da der Sulfatgehalt annähernd proportional zum Wachstum der Thiobacillen ist, gibt er einen groben Überblick über den Bewuchs des Biofilters mit diesen Bakterien.

2.7 Aktivitätstest

Je 100 g Filtermaterial wird hierzu in ein Weckglas gefüllt und zusammen mit einem H_2S -Messgerät (*Pac III* der Firma Dräger) verschlossen. Der Test wird durch Einspritzen von



Abb. 6: Aufbau eines Aktivitätstests

Schwefelwasserstoff bis zu einem Wert von 100 ppm gestartet. Anschließend wird derjenige ppm-Wert festgehalten, auf den der Schwefelwasserstoff nach 15 Minuten gesunken ist. Für jede Probe wird der Test acht Mal wiederholt und die drei letzten erhaltenen Werte jeder Probe gemittelt. Zusätzlich wird bei jedem Test in gleicher Weise ein Weckglas ohne Mulch (Lehrprobe) vermessen. Hier wird der Schwefelwasserstoff ermittelt, der alleine durch die Adsorption am Messgerät und der Glaswand des Weckglases verbraucht wird. Somit können Messfehler bei der Durchführung der Tests kontrolliert und vermindert werden.

3 Ergebnisse und Auswertung

3.1 Anreicherungskulturen

Eine Möglichkeit einer Starterkultur bietet ein mit Thiobacillen angereichertes Flüssigmedium. Dieses Anreicherungsmedium würde bei der Bestückung eines Biofilters über den frischen Rindenmulch gegeben und in diesem gleichmäßig verteilt werden. Die Zahl der Thiobacillen im Medium müsste hierbei so hoch sein, dass sie schon bald nach Einsetzen des Biofilters in einen Abwasserschacht zu einer guten Filterleistung führt. Es sollten also in etwa so viele Thiobacillen in den frischen Mulch eingebracht werden, wie in einem eingefahrenen Biofilter vorhanden sind, d. h. 10^4 bis 10^7 Zellen pro Gramm Mulch ^[1].

Jedoch ergibt sich das Problem, dass sich die Thiobacillen nicht gut anreichern lassen, da sie relativ langsam wachsen und keine hohe Zelldichte erreichen.

Thiobacillen sind chemolithoautotroph und oxidieren verschiedene Schwefelverbindungen zu Sulfat.

Möglicherweise hat die Oxidationsstufe dieser Schwefelverbindungen einen Einfluss auf das Wachstum der Bakterien. Deshalb setzten wir Anreicherungsmedien zum einen mit Thiosulfat und zum anderen mit reinem Schwefel als Hauptnährstoffquelle an.

Nach einer Beobachtung von Stefanie Grünke - sie führte zur Zeit unseres M28-Praktikums eine Studienarbeit zum Thema „Biofilter in Abwasserschächten“ durch - wuchsen die Thiobacillen zwar nach dem Animpfen des Mediums mit Extrakt relativ gut. Wurde jedoch von diesem Medium eine Subkultur angefertigt, so verlangsamte sich die Vermehrung der Thiobacillen stark.

Da beim Animpfen des Mediums mit Extrakt stets feine Rindenmulchteilchen aus dem Extrakt übernommen werden, gingen wir in einem weiteren Versuch der Frage nach, ob Rindenmulch im Medium eine Wirkung auf das Wachstum der Thiobacillen hat. Hierfür impften wir Medium mit filtriertem Extrakt an und gaben autoklavierte Mulchstücke hinzu.

Die Thiobacillen wurden aus dem Rindenmulch eingefahrener Biofilter extrahiert. Anschließend wurden je 100 ml Anreicherungsmedium mit 30 ml dieses Extrakts beimpft.

Für jeden Versuchsansatz wurden Anreicherungsmedien mit zwei unterschiedlichen pH-Werten hergestellt. Durch die verschiedenen pH-Werte wurden die Lebensbedingungen der aus dem Altmulch extrahierten Thiobacillen berücksichtigt: Für die neutrophilen Thiobacillen betrug der pH = 6,9 – 7,1; das Medium der acidophilen Thiobacillen hatte einen pH = 4,4 – 4,6.

Im Folgenden werden die beiden Medien als neutrophiles bzw. acidophiles Medium bezeichnet.

Thiobacillen produzieren in ihrem Stoffwechsel aus H_2S und O_2 Schwefelsäure (siehe Formel (1)), wodurch der pH-Wert ihrer Umgebung zunehmend kleiner wird. Den Medien beigefügte Farbindikatoren machten eine visuelle Kontrolle der pH-Änderung während der Inkubation möglich. Hierbei hatte das neutrophile Medium eine grüne und das acidophile eine violette Ausgangsfärbung.

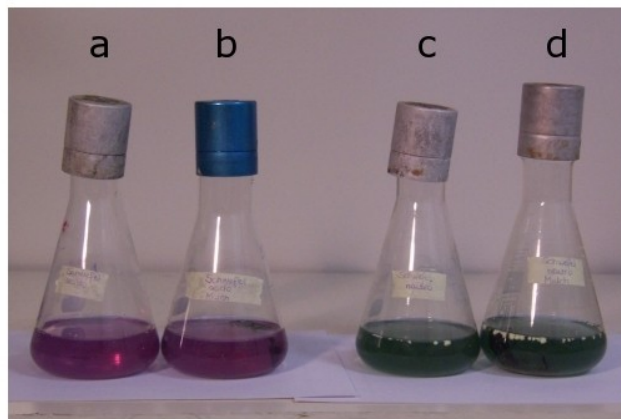


Abb. 7: Frisch angeimpfte Anreicherungsmedien mit Schwefel als Nährstoffquelle

- a) acidophiles Medium ohne Mulch
- b) acidophiles Medium mit Mulch
- c) neutrophiles Medium ohne Mulch
- d) neutrophiles Medium mit Mulch

In Abb. 7 ist die Ausgangssituation des Versuchsansatzes mit Schwefelmedium zu sehen. In den Erlenmeyer-Kolben a) und b) befindet sich das Medium für die acidophilen, in den Kolben c) und d) das für die neutrophilen Thiobacillen. Den Kolben b) und d) wurde jeweils ein Stück autoklavierter Mulch hinzugefügt.

Parallel zu diesem Ansatz wurde ein Versuch mit Thiosulfatmedium durchgeführt. Alle Anreicherungskulturen wurden sechs Tage lang bei 30 °C auf einem Schüttler mit 165 rpm inkubiert.

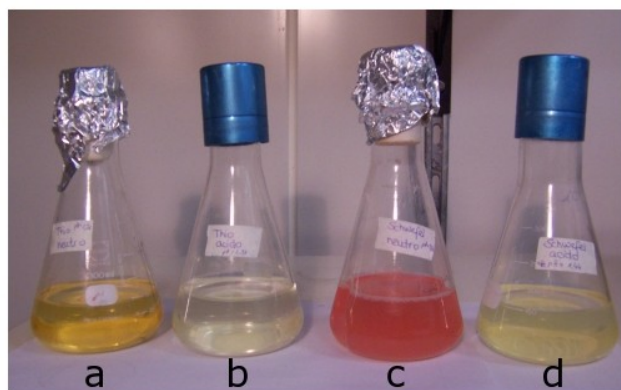


Abb. 8: Anreicherungsmedien ohne Mulch nach sechs Tagen Inkubation

- a) neutrophiles Thiosulfatmedium, pH=2,96
- b) acidophiles Thiosulfatmedium, pH=2,97
- c) neutrophiles Schwefelmedium, pH=1,82
- d) acidophiles Schwefelmedium, pH=1,44

Bereits nach drei Tagen Inkubation waren zwischen den Medien der Versuchsansätze deutliche Unterschiede zu erkennen. Im Durchschnitt hatte das Schwefelmedium einen um 1,1 niedrigeren pH-Wert als das Thiosulfatmedium. Dieser pH-Unterschied vergrößerte sich nach sechs Tagen im Schnitt auf 1,3. Während das Schwefelmedium noch saurer wurde und einen pH = 1,8 - 1,4 erreichte (in Abb. 8 Kolben c) und d)), wuchsen die Bakterien im Thiosulfatmedium nicht weiter, so dass hier ein pH ~ 2,95 beibehalten wurde (in Abb. 8 Kolben a) und b)).

Die Zugabe von Rindenmulch zum Anreicherungsmedium zeigte ebenfalls einen Einfluss auf das Wachstum der Thiobacillen. Im Schnitt waren alle Medien mit Mulchstücken nach drei Tagen um einen pH von etwa 0,2 und nach sechs Tagen um etwa 0,5 saurer als die Kulturen ohne Mulch.

Des Weiteren zeigten sich sowohl in den Schwefel- als auch in den Thiosulfatmedien Unterschiede des Bakterienwachstums in den neutrophilen und acidophilen Medien. Die neutrophilen Bakterien wuchsen kurze Zeit nach dem Animpfen in Anreicherungsmedium stärker als die acidophilen. Nach drei Tagen Inkubation besaßen die neutrophilen Medien im Vergleich zu den acidophilen einen um etwa 0,5 kleineren pH-Wert. Bei weiterer Inkubation verlangsamte sich jedoch das Wachstum der neutrophilen Thiobacillen, während sich das der acidophilen verstärkte. Nach sechs Tagen überstieg der Säuregehalt der acidophilen Medien die Menge an Säure in den neutrophilen Medien im Schnitt um einen pH-Wert von etwa 0,3.

Der Grund für diese Beobachtung liegt in der geringeren Säuretoleranz der neutrophilen Thiobacillen: Ihr weiteres Wachstum würde zu vermehrter Schwefelsäurebildung führen, wodurch der pH-Wert ihrer Umgebung noch mehr gesenkt werden würde. Da sie jedoch neutrophil sind, vertragen sie ein solch saures Milieu nicht und verlangsamen ihr Wachstum bzw. stellen es ein.

Von allen Versuchsansätzen hatte sich nach sechstägiger Inkubation im acidophilen Anreicherungsmedium mit Schwefel und Rindenmulch die meiste Schwefelsäure gebildet: Hier lag der pH-Wert bei pH = 1,29.

Die oben angeführten Beobachtungen lassen vermuten, dass von den Thiobacillen Schwefel als Hauptnährstoffquelle bevorzugt zu werden. Hier produzierten die Bakterien mehr Säure und vermehrten sich demnach schneller. Vermutlich liegt dies an der niedrigeren Oxidationsstufe des reinen Schwefels gegenüber dem Thiosulfat. Aus dem reinen Schwefel könnten die Thiobacillen daher mehr Energie gewinnen als aus anderen Schwefelverbindungen.

Fügt man dem Anreicherungsmedium zusätzlich ein Stück autoklavierten Mulch zu, so scheinen die Bakterien noch besser zu wachsen. Die wachstumsfördernde Substanz ist allerdings völlig unbekannt. Möglicherweise beeinflussen die im Rindenmulch enthaltene Stoffe, z.B. Gerbstoffe, das Gedeihen der Thiobacillen positiv.

Da die Thiobacillen im acidophilen Schwefelmedium mit Mulch am besten wuchsen, überimpften wir diesen Ansatz in 1,4 Liter frisches Medium gleicher Art. Diese Subkultur wurde weitere zwei Tage bis zu einem pH-Wert von pH = 2 inkubiert und anschließend als Starterkultur für einen Biofilter im Feldversuch eingesetzt. Über eine MPN konnte hier eine Zellzahl von $7 \cdot 10^8$ Thiobacillen pro ml Medium ermittelt werden.

3.2 Wachstum der Bakterien auf Agarmedium

Ein weiterer kleiner Versuch bestand darin, Thiobacillen auf Agarmedium zu isolieren. Dies hätte den Vorteil, dass man für eine Anreicherungskultur in Flüssigmedium die Bakterien nicht stets aus einer Mulchextraktion gewinnen müsste, sondern direkt von Kolonien einer Platte beziehen könnte. Allerdings hätte man in diesem Fall keine Mischkultur aus Thiobacillen. Sollten die isolierten

Bakterien jedoch in flüssigem Anreicherungsmedium und später in einem Biofilter gut anwachsen, so ist vielleicht auch eine Reinkultur von Thiobacillen als Starterkultur möglich.

Es wurden zunächst Sterilfiltrationen unterschiedlicher Verdünnungen eines Extrakts angefertigt, welches aus dem Mulch des Biofilters vor dem Haupteingang des Biozentrums hergestellt wurde. Dieser ist sechs Wochen vor der Mulchentnahme eingesetzt worden.

Es können nur die neutrophilen Thiobacillen isoliert werden, denn ein geringer pH-Wert führt zur Verflüssigung des Agars. Um dies auch bei der Schwefelsäurebildung durch die Bakterien zu verhindern, sollten die Kolonien auf Cellulosefiltern, welche nach der Sterilfiltration auf die gegossenen Agarplatten gelegt wurden, wachsen. Die Agarplatten wurden anschließend beschriftet und bei 30 °C inkubiert.

Nach drei Tagen Inkubation wuchsen auf den Filtern kleine gelblich weiße Bakterienkolonien, die nach weiteren zwei Tagen eine Größe von 0,5 bis 1 mm erreichten. Eine Mikroskopie ergab, dass es sich hierbei um kurze unbewegliche Stäbchen handelte, wie es Thiobacillen sind.

Um herauszufinden, ob es sich tatsächlich um Thiobacillen handelte, wurden die Kolonien mit Indikatorlösung leicht überschichtet. Sollten die Bakterien Säure produzieren, würde sich nach weiterer Inkubation die unmittelbare Umgebung der Kolonien verfärben. Es zeigten sich jedoch keine Verfärbungen der Kolonienhöfe.

Da es möglich war, dass die Methode der Überschichtung mit Indikator nicht sensitiv genug war, wurden einige Kolonien in Reagenzgläser mit 5 ml neutrophilem Flüssigmedium überimpft. Doch auch hier zeigte sich nach mehrtägiger Inkubation keine Änderung des pH-Wertes.

Wie sich später nach einer MPN des Extrakts herausstellte, war der Biofilter vor dem Biozentrum kaum mit Thiobacillen bewachsen. Es handelte sich also bei den gewachsenen Kolonien nicht um Thiobacillen. Dies wiederum bedeutet, dass das Agarmedium nicht selektiv genug ist, was wahrscheinlich an dem neutralen pH-Wert liegt.

Aus Gründen des Zeitmangels innerhalb des Praktikums und der sich ergebenden Schwierigkeiten der Identifizierung der Thiobacillen wurde dieser Versuch nicht weiter verfolgt.

3.3 Feldversuche

Um einen mit einer Starterkultur beimpften Biofilter unter realen Bedingungen untersuchen zu können, mussten zwei Abwasserschächte gefunden werden, in denen die H₂S-Emissionen etwa gleich stark sind. In dem einen Abwasserschacht würde ein neu bestückter und beimpfter Biofilter eingesetzt werden, im anderen einen ebenfalls neu bestückten aber unbeimpften Biofilter als Referenz.

Zuerst wurden 6 Wochen lang eingefahrene Gullis in der Straße am Wasserwerk in Wolfenbüttel untersucht (siehe Anhang 1). Von jedem Biofilter der drei Abwasserschächte wurden zunächst Proben aus der untersten Schicht des Rindenmulches entnommen und mit pH-Papier auf ihren Säuregehalt untersucht. Der Mulch war mit einem pH = 5 – 6 bei allen drei Biofiltern nur leicht sauer. Außerdem war auffällig, dass in den Gullis kaum H₂S-Geruch wahrnehmbar war.

Anschließend wurden zwei H₂S-Messgeräte im Gulli 1 angebracht.

Um nun zwei Abwasserschächte mit ähnlichen H₂S-Werten in der Rohluft zu finden, wurde im Gulli 3 ein drittes Messgerät ebenfalls unter dem Biofilter befestigt.

Die Messungen liefen über 48 Stunden. Wie sich danach allerdings herausstellte, zeichnete das Gerät in Gulli 3 aus ungeklärten Gründen keinerlei Werte auf. Deshalb erfolgte die Auswertung nur mit den Daten aus Gulli 1.

Wie aus dem geringen H₂S-Geruch und Säuregehalt der Filtermulches zu erahnen war, zeigt sich bei der Auswertung der aufgenommenen Daten eine nur schwache H₂S-Emission (Abb.9). Die höchsten Werte der Rohluft (rot dargestellt) wurden um 20.37 Uhr aufgezeichnet und betrugen gerade 13 ppm. Die Werte der Reinluft (grün) erreichten maximal 4 ppm.

Wolfenbüttel - Gulli 1

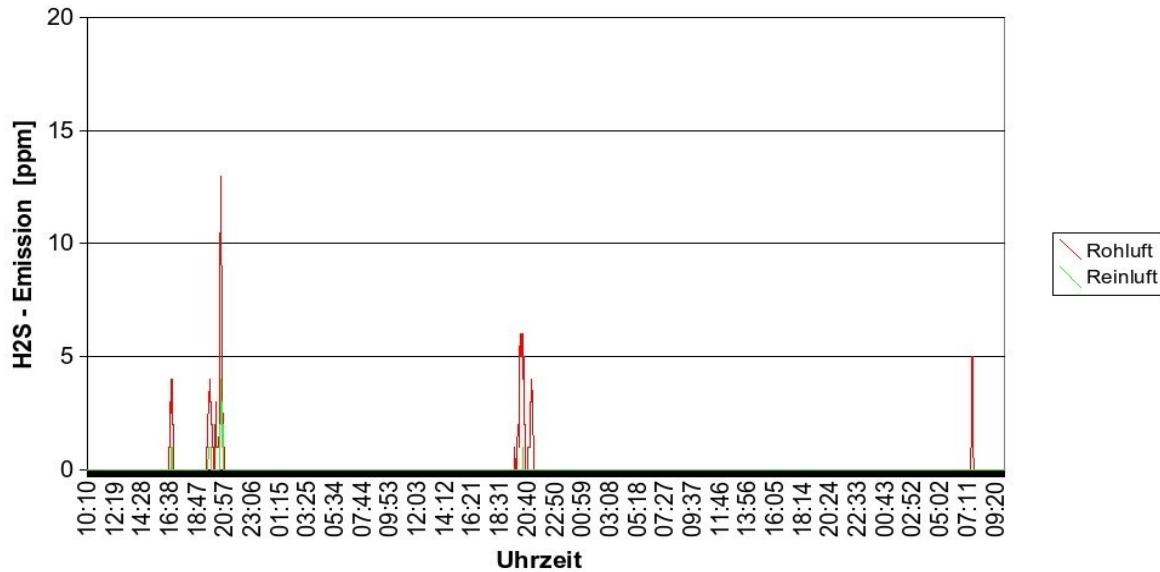


Abb. 9: H₂S-Werte der Rohluft und gefilterten Reinluft von Gulli 1 in Wolfenbüttel

Wenn jedoch schon zu Hauptemissionszeiten eine derart geringe H₂S-Belastung der Rohluft gemessen werden konnte und der relativ hohe pH-Wert des Filtermulches aller drei Biofilter auf nur wenig vorhandene Schwefelsäure schließen lässt, so liegt in den Abwasserschächten in Wolfenbüttel allgemein eine sehr geringe Schwefelwasserstoff-Ausdünstung aus dem Abwasser vor. Auf Grund dieser geringen H₂S-Emission kamen die dortigen Biofilter für Feldversuche nicht in Frage.

Weiterhin haben wir Abwasserschächte in Groß Brunsrode bei Lehre untersucht, welche zum Zeitpunkt der Messungen etwa ein Jahr lang in Betrieb waren (siehe Anhang 2). Hier wurden die Rohluftwerte von Gulli 6 und 7 auf ihre Ähnlichkeit überprüft. Die Messgeräte zeichneten 24 Stunden lang die H₂S-Werte auf:

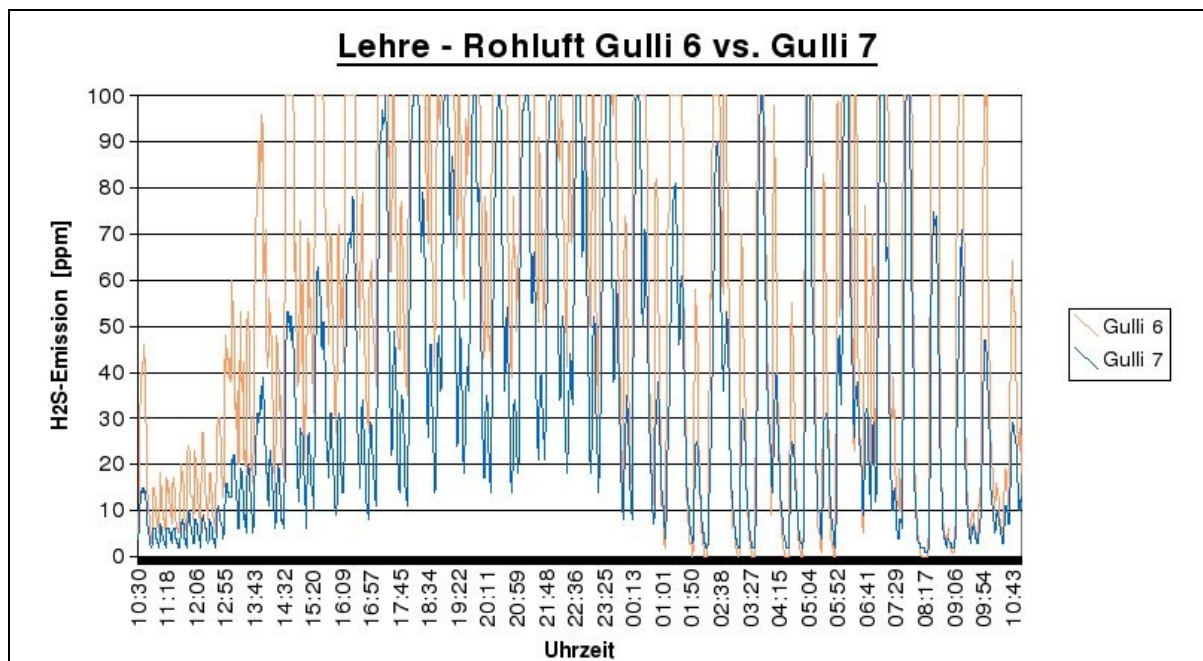


Abb. 10: Vergleich der H₂S-Emissionen in Gulli 6 und 7 in Groß Brunsrode bei Lehre

Wie man in Abb. 10 sehen kann, sind hier die Schwefelwasserstoff-Emissionen des Abwassers wesentlich höher als in Wolfenbüttel. Die Emissionswerte übersteigen oftmals 100 ppm und sind vor allem abends sehr hoch. Gut zu erkennen ist hier das Mittagstief der Ausdünstungen zwischen 10.45 Uhr und 12.45 Uhr, in dem die Werte mit etwa 20 ppm in Gulli 6 bzw. ungefähr 8 ppm in Gulli 7 viel geringer sind.

Jedoch sind hier die H_2S -Emissionen der beiden Gullis sehr verschieden. Betrachtet man die totalen ppm-Werte, wobei die Maximalwerte mit 100 ppm angenommen werden, so ergibt sich eine Differenz von etwa 40%. Dies wird auch in der Grafik deutlich: die Werte von Gulli 7 (blau dargestellt) erreichen gerade 60% der Höhe von Gulli 6 (orange) und die Kurve von Gulli 7 ist damit wesentlich kleiner als die von Gulli 6.

Die große Differenz der beiden benachbarten Gullis bei Lehre machte auch diese Abwasserschächte für einen Feldversuch mit Datenvergleich durch einen Biofilter als Referenz ungeeignet.

Da aber bei Lehre die H_2S -Emissionen allgemein sehr hoch sind, suchten wir nach einer anderen Möglichkeit, beimpfte Biofilter unter realen Bedingungen in Lehre untersuchen zu können.

Die Lösung war eine Unterteilung der Biofilter in drei vollkommen getrennte Kammern. In zwei dieser Kammern konnte beimpftes Material eingefüllt werden. Die dritte Kammer enthielt unbeimpften frischen Mulch. Da die Kammern eines Biofilters in einem Abwasserschacht stets gleichmäßig mit Schwefelwasserstoff begast werden, diente diejenige Kammer mit dem unbeimpften Mulch als Referenz. Die Kontrolle über die Funktion der Starterkulturen eines derart bestückten Biofilters erfolgte mittels Aktivitätstest.

Die Dreiteilung der Biofilter wurde durch die zwei schon bestehenden Trennwände erreicht. Da diese allerdings nicht bis auf den Filterboden reichen, wurden die noch vorhandenen Lücken zwischen den Kammern mit dünnen Holzbrettchen geschlossen.



Abb. 11: Dreiteilung eines Biofilters. Bestückung v.l.n.r.: Altmulch, Frischmulch, Frischmulch + 30% Altmulch

Insgesamt präparierten wir auf diese Weise bei Lehre drei Biofilter mit jeweils unterschiedlichen Befüllungen:

	Gulli 6	Gulli 7	Gulli 8
1. Kammer	Frishmulch	Frishmulch	Frishmulch
2. Kammer	Frishmulch + 10 % Altmulch	Frishmulch + 30 % Altmulch	Frishmulch + 750 ml Medium pH = 2
3. Kammer	Frishmulch + 1 L Extrakt	Altmulch	Frishmulch + 750 ml Medium pH = 4

Tab. 1: Bestückung der Abwasserschächte bei Lehre

Die 1. Kammer eines Biofilters wurde stets mit frischem unbeimpften Mulch befüllt, wodurch ein Vergleich zu den Einfahrverhalten der anderen Kammern möglich wurde.

Aus einem vorhergehenden Versuch war bekannt, dass ein neu bestückter Biofilter, in dem 1/3 Mulch aus einem eingefahrenen Filter untergemengt wurden, innerhalb weniger Stunden auf volle Leistung gebracht werden konnte.

Deshalb vermischten wir in jeweils der 2. Kammer von Gulli 6 und 7 verschiedene Anteile Altmulches mit frischem Mulch. Der oben erwähnte Versuch mit 30% Altmulch sollte hierbei wiederholt werden. Außerdem wurde getestet, ob ein Zusatz von nur 10% Altmulch ebenfalls in kurzer Zeit zu hoher Leistung des Biofilters führt.

Um zusätzlich beurteilen zu können, wie das Verhältnis der Leistung eines eingefahrenen Mulches zu frisch angesetztem Mulch steht, wurde in Gulli 7 die 3. Kammer mit Altmulch bestückt. Sämtlicher Altmulch wurde dem früheren eingefahrenen Biofilter aus Gulli 6 entnommen.

In der 3. Kammer von Gulli 6 wurde der Frishmulch mit 1 Liter Extrakt-Lösung vermengt. Hier sollte die Frage untersucht werden, ob eine Lösung mit von Altmulch extrahierten Thiobacillen ohne weitergehende Anreicherung in Medium als Starterkultur eingesetzt werden könnte. Das Extrakt wurde ebenfalls aus dem ehemaligen Altmulch von Gulli 6 gewonnen. Die im Extrakt enthaltenen Thiobacillen wurden nach Vorschrift mit Extraktionslösung vom eingefahrenen Mulch extrahiert. Zur Entfernung von Mulch-Rückständen wurde das Extrakt gefiltert. Der pH-Wert der Extrakt-Lösung betrug pH ~ 4.

Bei dem Medium, welches wir zum Rindenmulch in Gulli 8 hinzu gaben, handelte es sich um eine Subkultur von Thiobacillen, die aus eingefahrenem Mulch gewonnen wurde (siehe Kapitel 3.1). Das bewachsene Medium - mit reinem Schwefel als Hauptnährstoffquelle - hatte zum Zeitpunkt seiner Verwendung einen pH = 2 und eine Zellzahl von $7 \cdot 10^8$ Thiobacillen pro ml Medium. Nach Zugabe von 750 ml Anreicherungsmedium zu dem Mulch einer Kammer entsprach dies einer angeimpften Bakterienmenge von $6,3 \cdot 10^7$ Thiobacillen pro Gramm Mulch.

Für die 3. Kammer wurde das Anreicherungsmedium vor dem Einbringen in den Mulch mit NaOH auf pH = 4 eingestellt. Diese Maßnahme gewährleistet, dass die natürliche Ansiedlung neutrophiler Bakterien im Biofilter nicht durch ein zu saures Milieu behindert wird.

Die Einflüsse der verschiedenen Starterkulturen auf das Einfahrverhalten der Biofilter wurden über Aktivitätstests untersucht.

Vor dem Einsatz der neu bestückten Biofilter in die Abwasserschächte wurde aus jeder Kammer

Material für die Aktivitätstests zur Bestimmung der Ausgangslage entnommen. Nach dem Einsatz der Filter wurden diese in bestimmten Zeitabständen beprobt, um die Entwicklung des Einfahrens beobachten zu können. Leider war es unserer Gruppe aufgrund der Kürze des Praktikums nur noch möglich, die Aktivitäten der ersten drei Tage von Gulli 6 und 7 zu messen. Von Gulli 8, den wir einige Tage später bestückten, konnten wir nur noch die Proben vom Tag des Einsatzes entnehmen, jedoch nicht messen. Alle folgenden Aktivitätsmessungen wurden freundlicherweise von derjenigen Gruppe des zweiten Praktikumsblocks durchgeführt, die sich ebenfalls mit dem Thema Biofilter beschäftigte.

Leider wurde die Entnahme und Messung der späteren Mulchproben aufgrund von Missverständnissen unregelmäßig durchgeführt, sodass sämtliche in Abbildung ersichtliche Werte nach Tag 3 der Biofiltereinsätze nur als Richtwerte dienen können. Von Gulli 8 existieren nur Aktivitätswerte eines Tages, da die von uns am Tag 0 genommenen Proben nicht gemessen wurden. Hier kann deshalb kein zeitlicher Verlauf der Einfahrverhalten der Medien-Starterkulturen gezeigt werden.

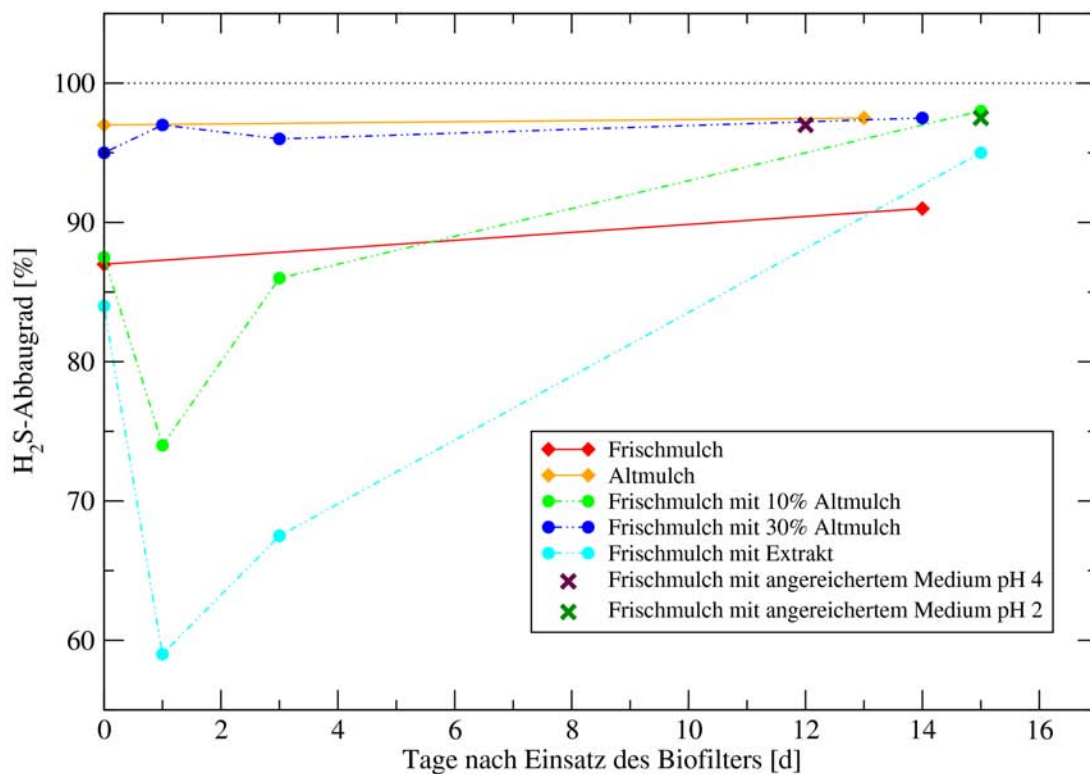


Abb. 12: Ergebnisse der Aktivitätstests

Wie beim eingefahrenen Altmulch zu erwarten, war hier über den gemessenen Zeitraum ein konstant hoher Schwefelwasserstoffabbaugrad zu verzeichnen. Seine Aktivität war von Beginn der Untersuchung an recht groß und änderte sich kaum. Beim Frischmulch dagegen ist deutlich die geringere Aktivität am Tage des Einsatzes zu sehen. Nach 14 Tagen im Einsatz baut er nur zu 90% H₂S ab und hat damit zu diesem Zeitpunkt noch immer die geringste Aktivität aller eingesetzten Mulche.

Der Mulch mit 30% Altmulch zeigt eine ähnlich hohe Aktivität wie der alleinige Altmulch. Dieses Ergebnis unterstützt die Beobachtung vorangegangener Versuche.

Beim Frischmulch versetzt mit Extrakt und beim Frischmulch plus 10% Altmulch sinkt der H_2S -Abbaugrad am zweiten Tag rapide ab, bevor er danach wieder steigt. Nach ca. 14 Tagen haben sie ebenfalls einen H_2S -Abbaugrad von über 94% erreicht. Die Kammer mit 10% Altmulch erreicht nach 15 Tagen sogar die höchste Aktivität von allen getesteten Mulchen. Der Mulch mit dem Extrakt dagegen zeigt nach zwei Wochen die geringste Aktivität nach dem reinen Frischmulch. Weshalb allerdings die Aktivitäten am zweiten Tag so stark gesunken ist, lässt sich nicht genau klären. Durch das Messen der Lehrprobe bei den Aktivitätstests konnten keine methodischen Fehler festgestellt werden. Möglicherweise wurde hier bei der Probenahme ungenügend durchgemischter Mulch entnommen, der wenig Extrakt bzw. Altmulch enthielt. Diese Fehlerquelle ist auch bei allen anderen Ergebnissen zu bedenken.

Die Mulche mit den angeimpften Medien pH 4 bzw. pH 2 weisen nach 12-14 Tagen ebenfalls eine hohe Aktivität auf. Hier kann leider keine Aussage über die bessere Starterkultur von beiden gemacht werden, da nur jeweils eine Probenmessung vorliegt und diese dazu noch an unterschiedlichen Tagen gemacht wurden.

Insgesamt sind die Messwertunterschiede zwischen den einzelnen Mulchbefüllungen der Kammern recht gering, so dass der Aktivitätstest als Kontrollmittel über das Einfahrverhalten des Biofiltermulches möglicherweise nicht sensibel genug ist. Gerade nach etwa 14 Tagen sind die einzelnen Aktivitätsunterschiede so klein, so dass sich klare Ergebnisse der Einfahrverhalten nicht zeigen lassen.

Auch hätte die Anzahl der Probenentnahmen viel größer sein müssen, um den Einfluss der Starterkulturen auf die Biofilter gut untersuchen zu können. Zudem wären dadurch eventuelle Messungenauigkeiten relativiert worden.

Ein weiterer Unsicherheitsfaktor ist die möglicherweise ungleichmäßige Schwefelwasserstoff-Belastung der Gullis 6, 7 und 8 im untersuchten Zeitraum, sodass die Aktivitäten der Mulche aus den Kammern verschiedener Gullis nur grob verglichen werden können.

Die Ergebnisse der Versuche mit den unterschiedlichen Mengen an beigefügtem Altmulch zum Frischmulch deuten an, dass eine Zugabe von 10% Altmulch ausreichend ist, um innerhalb von nur zwei Wochen eine hohe Biofilteraktivität zu erreichen. Außerdem scheint auch die Zugabe von mit Thiobacillen angereichertem Medium (unabhängig von dessen pH-Wert) den Biofilter während einer Einfahrzeit von 14 Tagen voll funktionstüchtig zu machen. Eine Untermengung von Extrakt zum Frischmulch ist dagegen als Starterkultur wahrscheinlich nicht geeignet.

3.4 Sulfattest

Eine schnelle aber ungenaue Möglichkeit zur Bestimmung wie stark ein Biofilter bewachsen ist, bietet der Sulfattest mit dem *LCK 153 Kit* der Firma Dr. Lange.

Für die Tests wurden jeweils Mulchproben aus der untersten Biofilterschicht entnommen.

Zunächst wurden die drei Biofilter in Wolfenbüttel untersucht. Es zeigte sich, dass hier der Sulfatgehalt so gering war, dass er unter der Nachweisgrenze des *LCK 153 Kits* lag, das heißt weniger als $0,2 \text{ mg}_{\text{Sulfat}} / \text{g}_{\text{TS}}$ vorhanden waren. In Anbetracht der dort vorherrschenden geringen Schwefelwasserstoff-Emissionen (siehe Kapitel 3.3) ist dieses Ergebnis nicht verwunderlich. Da hier für die Thiobacillen kaum H_2S als Nährquelle zur Verfügung stand, sind sie kaum gewachsen und bildeten entsprechend wenig Schwefelsäure.

Dagegen lagen die Sulfatwerte der ein Jahr lang eingefahrenen Biofilter in den Abwasserschächten 6 und 7 bei Lehre sehr hoch: In Gulli 6 wurden $5,7 \text{ mg}_{\text{Sulfat}} / \text{g}_{\text{TS}}$ gemessen und in Gulli 7 sogar $34,3 \text{ mg}_{\text{Sulfat}} / \text{g}_{\text{TS}}$. Diese Sulfatmengen zeigen einen guten Bewuchs der Biofilter mit Thiobacillen. Interessanterweise befindet sich im Mulch des Biofilters von Gulli 7 eine wesentlich größere Menge Sulfat als in Gulli 6, obwohl die Messungen des Schwefelwasserstoffs in Gulli 7 eine

geringere Emission zeigten (siehe Kapitel 3.3). Die von uns durchgeführte H₂S-Messung waren in einem Jahresverlauf gesehen zeitlich eine eher punktuelle Aufnahme von Daten. Es liegen leider auch keine Werte vorheriger Messungen vor. Es wäre also möglich, dass zum Zeitpunkt unserer H₂S- Messung zwar in Gulli 7 schwächere Emissionen als in Gulli 6 aufgezeichnet wurden, aber in vorangegangenen Wochen oder Monaten dies umgekehrt gewesen sein könnte. Dies würde die große Menge an Sulfat und damit den starken Bewuchs des Biofilters in Gulli 7 mit Thiobacillen erklären.

4 Zusammenfassung

In unserem Versuch sollten Starterkulturen zur Schnellaktivierung von H₂S-Biofiltern in Abwasserschächten entwickelt werden. Hierzu wurde zunächst die Anreicherung in Kulturmedium von aus eingefahrenen Biofiltern extrahierten Thiobacillen optimiert. Es ergab sich dabei, dass das beste Wachstum der Bakterien in einem Medium mit einem Anfangs-pH = 4,4 – 4,6, reinem Schwefel als Hauptnährstoffquelle und Zugabe von autoklavierten Mulch erreicht wurde. Dieses angereicherte Medium wurde neben einem Extrakt von Thiobacillen und dem Zufügen von Altmulch als Starterkultur in einem Feldversuch getestet. Die Kulturen wurden dazu dem Frischmulch von Biofiltern in den Abwasserschächten bei Lehre beigelegt und über einen Zeitraum von zwei Wochen beobachtet. Die Auswertung zeigte, dass die Zugabe einer angereicherten Thiobacillenkultur nach zwei Wochen zu einer ähnlichen Filteraktivität führte, wie sie bei eingefahrenen Biofiltern vorliegt. Ebenfalls als Starterkultur scheint die Untermengung von 10% Altmulch zu dem frischen Filtermaterial geeignet zu sein. Auch hier konnte nach 14 Tagen eine bereits hohe Aktivität verzeichnet werden. Dagegen ist ein Extrakt von Thiobacillen als Starterkultur eher ungeeignet.

Leider konnte die Funktion der verschiedenen Starterkulturen aufgrund der Kürze des Praktikums nicht eingehender erforscht werden, sodass die erhaltenen Ergebnisse nur als Grundlage für weitere Untersuchungen dienen können.

5 Literatur

[1]

Nieber, M.: Biotechnische Untersuchungen zur Weiterentwicklung und Effizienz von Abwasserschacht-Biofiltern bei der Minimierung von Schwefelwasserstoffemissionen am Abwasserkanal Groß Brunsrode. Braunschweig, 2003.

[2]

<http://www.viamichelin.com/viamichelin/deu/dyn/controller/mapPerformPage?strLocation=Wolfenb%FCttel&strCountry=eur>

[3]

<http://www.viamichelin.com/viamichelin/deu/dyn/controller/mapPerformPage?strLocation=Lehre&strCountry=eur>

6 Anhang

Anhang 1: Lageplan der Abwasserschächte in Wolfenbüttel



Abb. 13: Standort der Gullis 1, 2 und 3 (G1, G2, G3) ^[2]

Anhang 2: Lageplan der Abwasserschächte bei Lehre



Abb. 14: Standort der Gullis 6, 7 und 8 (G6, G7, G8) ^[3]