

## Die mikroskopische Untersuchung von Belebtschlamm in Abwasseranlagen

### Einleitung

In der biologischen Abwasserreinigung werden die im Abwasser enthaltenen organischen Bestandteile durch Mikroorganismen wie Bakterien, Pilze und Protozoen unter Anwesenheit von Sauerstoff abgebaut. Entscheidend hierfür ist die Artenvielfalt der Mikroorganismen, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Stoffwechselleistungen in der Lage sind, verschiedenste Abwasser-Inhaltsstoffe umzuwandeln.

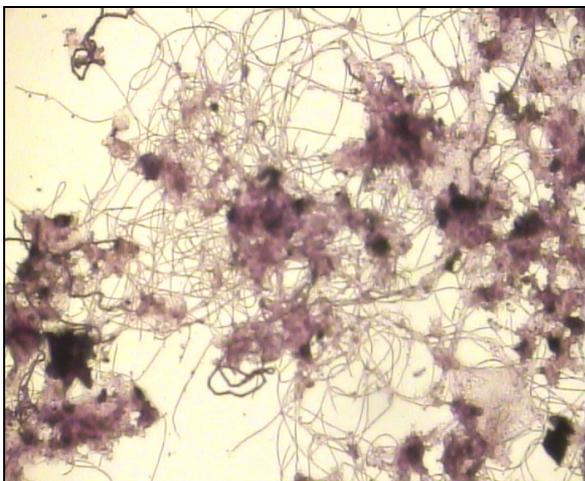
Störungen dieser mikrobiellen Lebensgemeinschaft werden durch qualitative und quantitative Veränderungen indiziert und erlauben vielfach Rückschlüsse auf die Ursachen dieser Veränderungen. Die mikroskopische Überwachung dieser Lebensgemeinschaft ist daher für die Abwasserreinigung außerordentlich wichtig.

### Mikroskopische Darstellungen mit verschiedenen Kontrastierverfahren

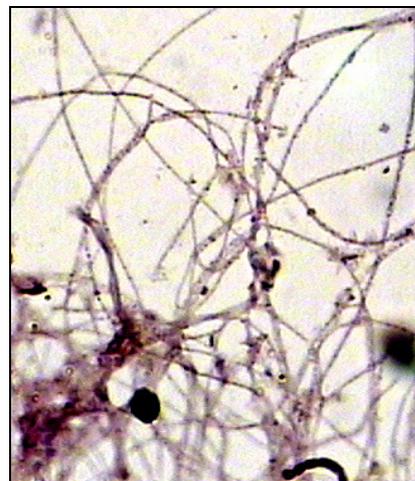
#### 1. Gefärbte Präparate im Hellfeld

Im Hellfeld-Mikroskop können Mikroorganismen und ihre Zellbestandteile durch Einfärben mit hohem Kontrast dargestellt werden. Allerdings bedeutet die Färbung stets einen zusätzlichen Prozeßschritt unter Einsatz von Verbrauchsmaterial.

#### A. Neisser-Färbung



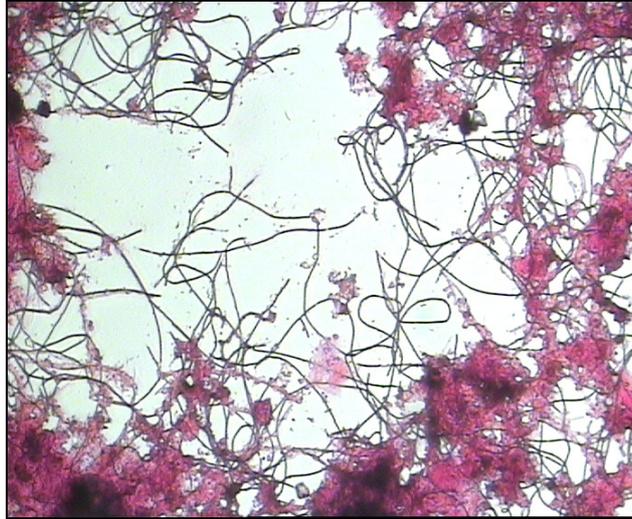
**Abb. 1:** Vergrößerung 400-fach.



**Abb. 2:** Vergrößerung 1000-fach.

Es ist gut zu erkennen, daß Neisser-positive Bakterienzellen deutlich sichtbare, dunkle Granula enthalten (Abb. 2).

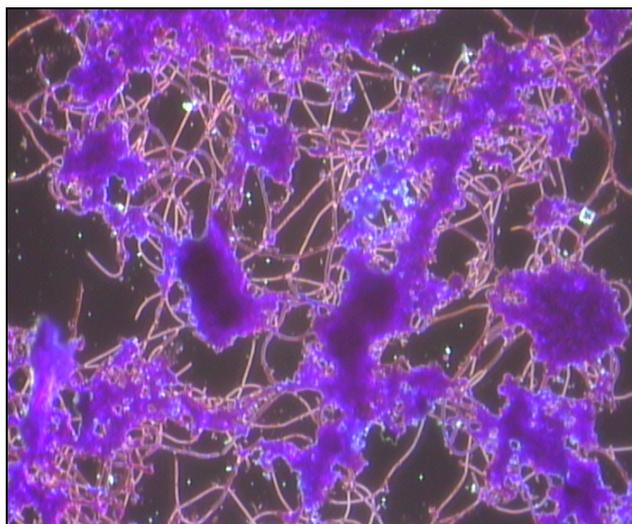
### B. Gram-Färbung



**Abb. 3:** Gram-Färbung, Vergrößerung 400-fach.

Je nach Aufbau ihrer Zellwand werden die Bakterien rot oder dunkelblau angefärbt.

### C. Violett-Färbung



**Abb. 4:** Violett-Färbung im Dunkelfeld. Vergrößerung: 400-fach.

## 2. Ungefärbte Präparate

Im Hellfeld-Mikroskop besteht die Möglichkeit, den Kontrast bei der Darstellung von Mikroorganismen durch Schließen der Aperturblende zu erhöhen. Dabei geht Auflösung durch eine verminderte numerische Apertur verloren, so daß stets ein Optimum gefunden werden muß (Abbn. 5 und 6).

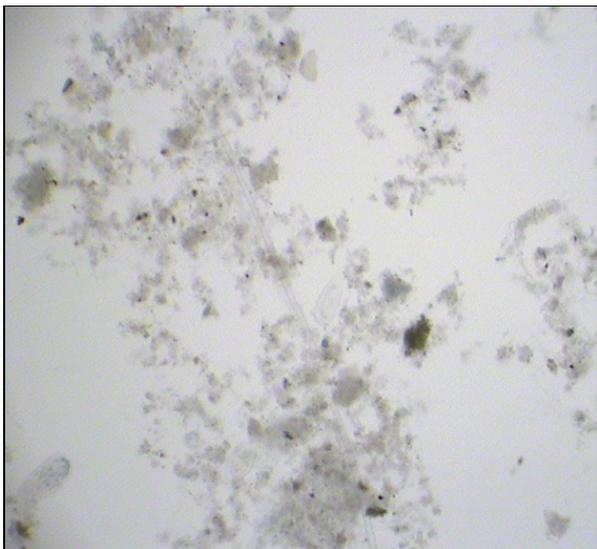


**Abb. 5:** Nematode (links) und Pantoffeltierchen (rechts), Vergrößerung: 100-fach.

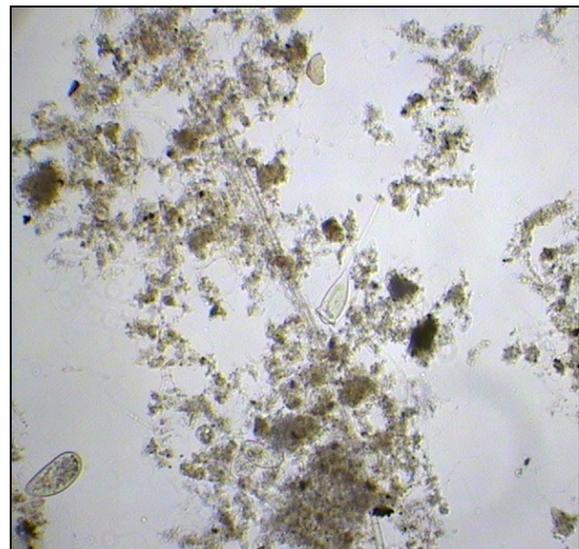


**Abb. 6:** Ausschnitt Abb. 5, Pantoffeltierchen, Vergrößerung: 400-fach.

Den Einfluß der Aperturblende zeigen die Übersichtsdarstellungen der Abbn. 7 und 8 sehr deutlich. Glocken- und Pantoffeltierchen sind bei vollständig geöffneter Aperturblende kaum erkennbar.

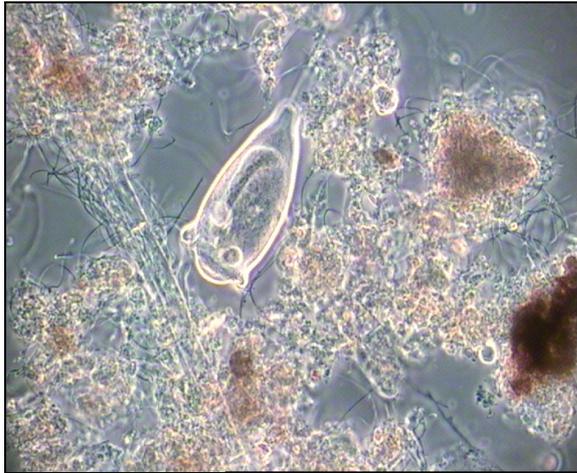


**Abb. 7:** Aperturblende vollständig geöffnet, Vergrößerung: 100-fach.



**Abb. 8:** Wie Abb. 7, Aperturblende weit geschlossen.

Noch kontrastreichere Darstellungen lassen sich allerdings im Phasenkontrast- oder Dunkelfeldbild erreichen (Abbn. 9 und 10).

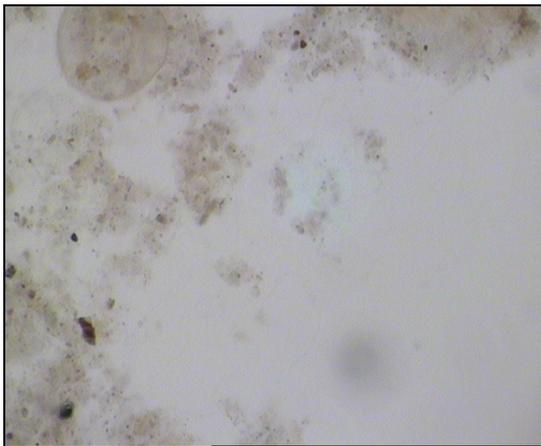


**Abb. 9:** Glockentierchen im Phasenkontrast, Vergrößerung: 100-fach.

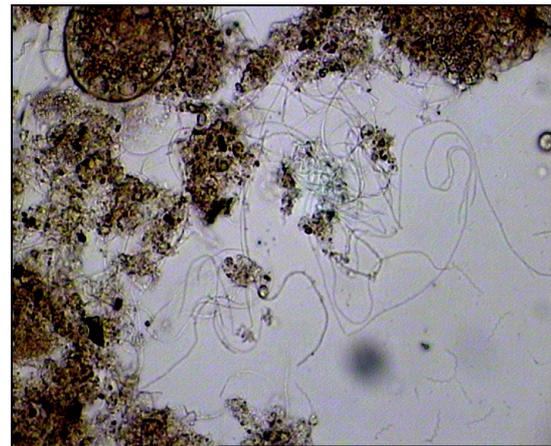


**Abb. 10:** Wie Abb. 9, Dunkelfeld.

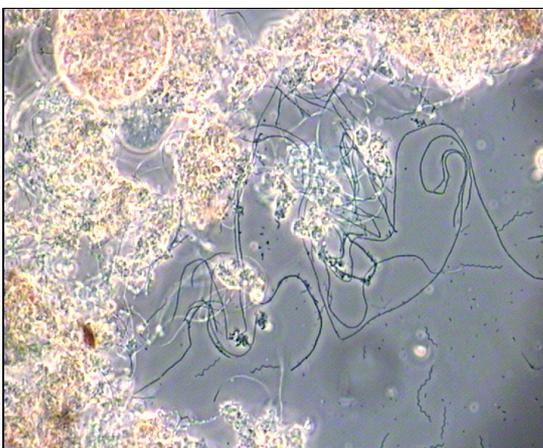
Abbildungen 11 – 14 zeigen die verschiedenen Möglichkeiten der mikroskopischen Darstellung von Fadenbakterien.



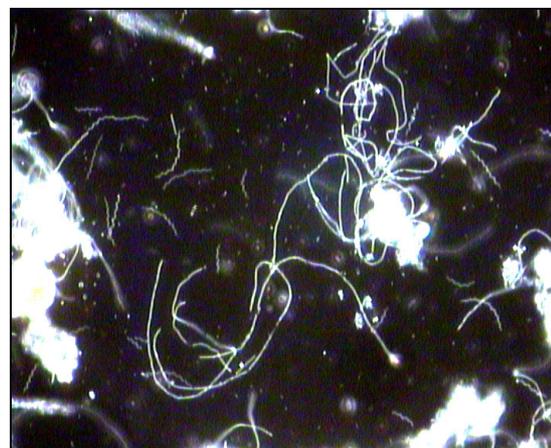
**Abb. 11:** Hellfeld, Aperturblende vollständig geöffnet, Vergrößerung: 400-fach.



**Abb. 12:** Wie Abb. 11, Aperturblende weit geschlossen.



**Abb. 13:** Wie Abb. 11, Phasenkontrast.



**Abb. 14:** Andere Präparatstelle, Dunkelfeld.

Auch hier sind die Fadenbakterien bei vollständig geöffneter Aperturblende praktisch nicht zu sehen. Bei weit geschlossener Aperturblende steigt der Kontrast, die Auflösung wird allerdings sichtbar kleiner, erkennbar an der abnehmenden Bildschärfe.

Der Phasenkontrast liefert eine kontrastreiche Darstellung der Mikroorganismen, ebenso die Dunkelfeldbeleuchtung.

### **Weitere Kontrastierverfahren**

Mittlerweile werden immer öfter Gensonden zur Identifizierung vor allem von Bakterien eingesetzt. Diese Sonden färben sehr spezifisch nur ganz bestimmte Bestandteile des Erbgutes an, wodurch eine direkte und schnelle Bestimmung von Bakterien in der Originalprobe, d. h. ohne die Notwendigkeit einer Kultivierung, möglich ist. Beispielsweise existiert eine ganze Reihe Gensonden, etwa für die den Bläh- und Schwimmschlamm verursachenden Fadenbakterien, für nitrifizierende und denitrifizierende Bakterien und für solche Bakterien, die an der biologischen Phosphat-Entfernung beteiligt sind.

Diese Gensonden werden mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert. Gibt man sie zu einer Probe und finden die Sonden auch ihre Zielbakterien, leuchten diese aufgrund ihrer charakteristischen Fluoreszenz hell im Fluoreszenzbild auf. Hierzu ist allerdings ein Fluoreszenzmikroskop notwendig, zu dem das H 600 BS auf zwei Arten umgebaut werden kann:

- Installation eines HBO-Fluoreszenzilluminators mit Quecksilber-Hochdrucklampe;
- Installation eines LED-Auflicht-Fluoreszenzilluminators.

Während die erste Variante durch die verschiedenen Möglichkeiten zum Einbau von Fluoreszenz-Filtersätzen sehr flexibel einsetzbar, jedoch vergleichsweise teuer ist, ist die zweite Variante zwar weniger flexibel, jedoch deutlich wirtschaftlicher in Anschaffung und Betrieb.

### **Belebtschlamm-Untersuchung mit dem Hund H 600 BS**

Das Hund H 600 BS (Abb. 15) ist ein speziell für die Anforderungen der Belebtschlamm-Untersuchung konfiguriertes Mikroskop. Es beruht auf dem bekannten H 600-Stativ, das aufgrund seiner massiven Bauweise extrem standfest ist und damit ruhiges Mikroskopieren erlaubt. Darüber hinaus steht dem Anwender mit diesem Stativsystem ein großes Zubehörprogramm offen, mit dem er sein Mikroskop jederzeit um weitere Kontrastierverfahren erweitern kann.

Hinzu kommt, daß der breite Stativfuß das Auflegen der Hände erlaubt, so daß zusammen mit den tief angeordneten Knöpfen für Grob- und Feinfokussiertrieb ein bequemes Arbeiten und hohe Ergonomie sichergestellt sind.

Das Präparat wird in den Präparathalter mit seitlichem Federhebel eingelegt und dort sicher gehalten. Der Halter selbst wird mit dem Kreuztisch über einen koaxialen Trieb verschoben. Der Kreuztisch verfügt in beiden Achsen über Kugellager, so daß selbst nach Jahren der Benutzung noch eine leichtgängige Bedienung sichergestellt ist.

Bei einer Tischfläche von 160 mm x 130 mm beträgt der Verschieberegion 76 mm x 52 mm, ist also hervorragend für Standard-Objektträger geeignet.

Die Halogenbeleuchtung (12 V/30 W) ist in den Stativfuß integriert. Ihre Helligkeit kann stufenlos elektronisch geregelt werden. Die Lichtintensität ist ausreichend hoch, um Digitalkameras oder Mikroskopkameras anschließen zu können.

Der binokulare Beobachtungstubus mit seinem Einblickwinkel von 30° ermöglicht die ergonomisch günstige visuelle Betrachtung des mikroskopischen Bildes durch zwei Okulare. Es können Okulare mit 10- oder 12,5-facher Vergrößerung eingesetzt werden. Ebenso sind spezielle Brillenträger-Okulare verfügbar, die ein Mikroskopieren mit aufgesetzter Brille erlauben. Eventuelle Fehlsichtigkeiten werden mit dem an beiden Okularstutzen vorhandenen Dioptrienausgleich korrigiert. Auf die Okulare können Augenmuscheln aufgesteckt werden, die störendes Seitenlicht fernhalten.



**Abb. 15:** Das H 600 BS für die Belebtschlamm-Untersuchung.

Der Objektiv-Revolver kann vier Objektive aufnehmen und ist nach hinten geneigt, so daß der Blick auf das Präparat frei ist. Der Revolver ist kugelgelagert und garantiert damit eine lange Lebensdauer bei gleichbleibender Qualität der Drehbewegung. Für die mikroskopische Untersuchung von Belebtschlamm werden Objektive mit Vergrößerungen 10x, 20x und 40x empfohlen. Lediglich zur Bestimmung fadenförmiger Organismen ist eine 1000-fache Vergrößerung erforderlich, also ein Objektiv 100x mit Ölimmersion.

Die Objektive können sowohl als Hellfeld-, als auch als Phasenkontrast-Objektive gewählt werden. Phasenkontrast-, aber auch Dunkelfeld-Darstellungen lassen die von Natur aus beinahe durchsichtigen Mikroorganismen kontrastreicher erscheinen und ermöglichen so eine leichtere Identifizierung.

Zwischen diesen Kontrastierverfahren kann der Anwender leicht durch Drehen der Ringblenden-Revolverscheibe des eingebauten Kombi-Kondensors (Abb. 16) umschalten. Eine zusätzliche Justage der Phasenkontrast-Einrichtung ist nicht notwendig.



**Abb. 16:** Kombikondensator mit Ringblenden-Revolverscheibe (Pfeil).

### **Bilddokumentation**

Zur Dokumentation, etwa als Beleg für eine bestimmte Situation in der Kläranlage, kann das H 600 BS mit einem trinokularen Tubus ausgerüstet werden. Damit kann das mikroskopische Bild entweder in der Kamera oder visuell beobachtet werden (umschaltbarer 100/100-Tubus) bzw. in beiden Ausgängen gleichzeitig (30/70-Tubus mit fester Lichtaufteilung). Damit besteht die Möglichkeit, verschiedene Kamera-Typen zur Dokumentation anzuschließen:

- CMOS- oder CCD-Kameras mit C-Mount-Anschluß;
- Digitale Spiegelreflex-Kameras (Gehäuse).

Für beide Alternativen stehen spezielle Adapter zur Verfügung. Der erstgenannte Kamera-Typ wird üblicherweise über den USB-Anschluß eines PCs betrieben und mit einer Software zur Bildaufnahme und –auswertung ausgeliefert.

Auf dem PC sind dann – etwa für Besuchergruppen – die Livebilder des Mikroskops darstellbar. Digitale Spiegelreflex-Kameras speichern die Bilddateien üblicherweise auf Speicherkarten, sie werden mittlerweile jedoch auch mit Software zur Fernauslösung und Bildarchivierung ausgeliefert. Die Darstellung eines Livebildes ist über den eingebauten LCD-Monitor nur unzureichend möglich, da er bei montierter Kamera senkrecht nach oben zeigt, allerdings gibt es in den Zubehörprogrammen der jeweiligen Kamera-Hersteller auch Kabel zum Anschluß an einen TV-Monitor (abhängig natürlich vom Funktionsumfang der Kamera).

#### Kontakt:

Helmut Hund GmbH  
Geschäftsbereich Mikroskopie  
Wilhelm-Will-Str. 7  
D-35580 Wetzlar

Tel.: +49 (0) 6441 2004-0  
Fax: +49 (0) 6441 2004-44  
Email: zentrale@hund.de  
Internet: www.hund.de

Ansprechpartner Technik: Dr. Jörg Haus j.haus@hund.de  
Ansprechpartner Vertrieb: Werner Kampe w.kampe@hund.de