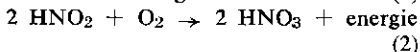
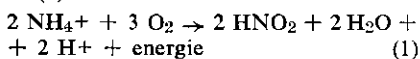


Remming van de nitrificatie bij de BZV-bepaling

1. Inleiding

Onder het biochemisch zuurstofverbruik (BZV_{c+n}) verstaat men de hoeveelheid zuurstof nodig voor de biochemische oxidatie van de in water aanwezige organische en anorganische verbindingen. De BZV omvat de afbraak van de organische stoffen door heterotrofe bacteriën (koolstoftrap) en de nitrificatie door autotrofe bacteriën (stikstoftrap).

Onder nitrificatie verstaan we de omzetting van ammoniak in nitriet en van nitriet in nitraat volgens de reacties (1) en (2).



Voor elk van deze nitrificatiestappen is een andere bacteriesoort nodig. Zo is Nitrosomonas een typische nitrietvormer, terwijl Nitrobacter uitsluitend de vorming van nitraat bewerkstelligt.

In de praktijk wordt het zuurstofverbruik van de eerste vijf dagen (BZV₅) bepaald. In het algemeen zal de nitrificatie in deze periode nog niet optreden. In een aantal gevallen met name bij het effluent van een nitrificerende zuiveringsinstallatie en bij oppervlaktewater in vergevorderde staat van zelfreiniging wordt de zuurstofconsumptie mede beïnvloed door de nitrificatie.

Op grond van een aantal overwegingen verdient de bepaling van uitsluitend de zuurstofconsumptie van de koolstoftrap (BZV_o) de voorkeur. Het totale zuurstofverbruik van de stikstoftrap kan dan berekend worden uit het ammonium- en nitrietgehalte. Men doet dit omdat er geen correlatie bestaat tussen het optre-

den van nitrificatie tijdens de bepaling en in het oppervlaktewater. Het optreden van de nitrificatie maakt bovendien het extrapoleren van het verloop van het zuurstofverbruik onmogelijk. Het is duidelijk dat een effluent met een (BZV₅)_c van bijvoorbeeld 8 mg/l, anders beoordeeld moet worden dan één met een (BZV₅)_{c+n} van gelijke waarde.

Uit de literatuur zijn twee principieel verschillende werkwijzen bekend voor het uitsluiten van de stikstoftrap in de BZV-bepaling.

In de eerste plaats kan men voorafgaande aan de BZV-bepaling eerst de gehele microflora van het afvalwater vernietigen en vervolgens het monster enten met materiaal dat vrij is van nitrificerende bacteriën. Dit geschiedt bij de aanzuurmethode [1], de pasteurisatiemethode [2] en de chloormethode [2]. Bij de aanzuurmethode wordt het monster met zwavelzuur op pH = 2 gebracht en na een reactietijd van ca. 15 minuten geneutraliseerd met natronloog. Het vernietigen van de flora bij de pasteurisatiemethode wordt uitgevoerd door de vloeistof tot 55° C te verhitten. Bij de derde methode doodt men de bacteriën door het monster te chloren.

De reële moeilijkheid ligt hier voornamelijk in de keuze van een geschikt entmateriaal, dat geen nitrificeerders mag bevatten, doch wel voldoende moet zijn aangepast aan het te onderzoeken afvalwater. Hieraan kan niet altijd voldaan worden [4], hetwelk een verklaring kan zijn voor de tegenstrijdigheid in de uitkomsten van deze werkwijzen in de literatuur. Hurwitz c.s. [3] en Mohlmann c.s. [1] concludeerden, dat aanzuren geen nadelige invloed heeft op de koolstoftrap in tegenstelling tot Wood c.s. [4]. Gaffney [5] constateerde dat pasteuriseren de koolstoftrap beïnvloedt, terwijl Wood tot de tegenovergestelde conclusie komt. Bij deze werkwijzen is het voorts niet uitgesloten, dat ook de hoedanigheid van de organische stof wordt veranderd, hetgeen ongetwijfeld onder meer het verloop van de biochemische oxydatie kan beïnvloeden.

In de tweede plaats zijn er werkwijzen, waarbij alleen de biochemische activiteit van de nitrificerende flora tot stilstand gebracht wordt. Mohlmann c.s. [1] en Placak c.s. [6] remden de nitrificatie met zware metalen, zoals koper en chroom. Deze methode is niet aan te bevelen in verband met de nadelige invloed van zware metalen op de heterotrofe bacteriën. Abott [7 en 8] heeft de mogelijkheid onderzocht om methyleenblauw als

remstof te gebruiken, maar zijn resultaten lijken weinig hoopvol.

Meer succes had toepassing van thio-ureum [9] en allylthio-ureum (ATU) [4 en 10]. Hoewel thio-ureum in staat bleek de nitrificatie te verhinderen werd deze methode door Montgomery c.s. [10] verworpen in verband met storing van de zuurstofbepaling volgens Winkler. Volgens zijn bevindingen heeft ATU dit bezwaar niet, indien de Pomeroy-Kirschman-Alsterberg modificatie van de zuurstofbepaling [11] wordt toegepast. Verschillende onderzoekers [4 en 10] constateerden, dat ATU geen invloed heeft op de koolstoftrap. Tenslotte heeft Siddiqui c.s. [12] experimenten verricht over de invloed van ammonium op de nitrificatie. De resultaten van zijn onderzoek leken bijzonder hoopvol.

2. Doel van het onderzoek

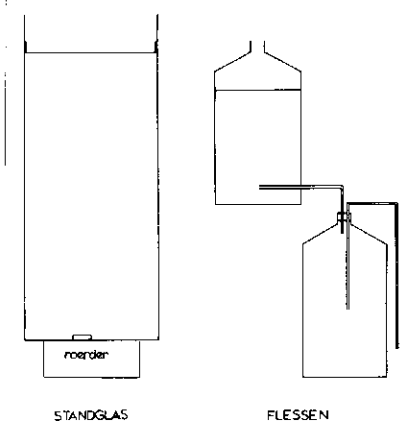
Voor een goede bepaling van het biochemisch zuurstofverbruik met uitsluiting van de nitrificatie mogen de middelen, die gebruikt worden om de nitrificatie te remmen niet tevens het zuurstofverbruik van de koolstoftrap beïnvloeden. Uit het literatuur overzicht blijkt, dat de werkwijzen waarbij vooraf de gehele flora vernietigd wordt, niet geheel aan deze eisen kunnen voldoen. Ditzelfde geldt voor de remming met zware metalen en met methyleenblauw. Toepassing van thio-ureum is minder aantrekkelijk in verband met moeilijkheden bij de bepaling van zuurstof. Het doel van ons onderzoek was nu de ATU en de ammonium (AMM) modificatie nader te bestuderen, aangezien deze methoden het meeste perspectief bieden.

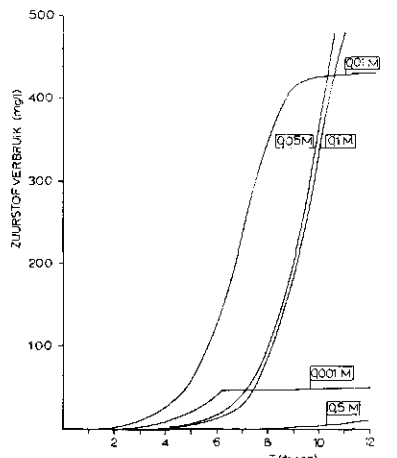
3. Methoden van onderzoek

In dit onderzoek is gebruik gemaakt van de Sapromaat [13], de standglasmethode en van de flessenmethode volgens Orford [14]. De Sapromaat is een automatisch apparaat voor de volumetrische bepaling van het biochemisch zuurstofverbruik. Bij de Sapromaat is het niet mogelijk dagelijks monsters te nemen, teneinde bv. het verloop van het nitraatgehalte te volgen. Bovendien is de Sapromaat bij lage zuurstofverbruiken minder betrouwbaar. Daarom is tevens gewerkt met de standglas- en met de flessenmethode (afb. 1). In het standglas wordt reaeratie voorkomen door de vloeistof af te dekken met een drijvend deksel. Er werd een standglas van 15 l inhoud gebruikt.

Bij de flessenmethode van Orford is gebruik gemaakt van twee flessen van 5 l,

Afb. 1 - De standglas- en flessenmethode.





Afb. 2 - Het zuurstofverbruik door de nitrietvormers in een anorganisch medium bij verschillende ammoniumconcentraties.

die door middel van een hevel met elkaar verbonden zijn. Uit de onderste fles kunnen de monsters voor de verschillende bepalingen getrokken worden.

In het onderzoek is gebruik gemaakt van rioolwater, synthetisch afvalwater, Butterfield medium volgens de modificatie van Pasveer [15] en effluent van een biologische zuiveringsinstallatie. Het synthetisch afvalwater had de volgende samenstelling:

Na ₂ HPO ₄ · 2aq	30	mg/l
MgSO ₄ · 7aq	3	mg/l
FeCl ₃ · 6aq	4	mg/l
KCl	4	mg/l
Toiletpapier	4	mg/l
Zeep (Sunlight)	3	mg/l
Koffiemelk	0,73	ml/l
Ureum	30	mg/l
Pepton	180	mg/l
Gelatine	60	mg/l
Paperol (zetmeel)	120	mg/l

De gebruikte ophopingsculturen van nitriet- en nitraatvormers werden verkregen door nitrificerend effluent in een anorganisch medium te enten volgens de methode van Bock [16].

Het nitraat werd met de salicylzuurmethode bepaald, nitriet volgens de methode van Griess-Romijn en ammoniak met Nessler reagens [17]. De zuurstofbepaling werd uitgevoerd volgens de Winkler methode [17], bij aanwezigheid van ATU werd de Pomeroy-Kirschmann-modificatie [11] gebruikt.

3.1 De invloed van ammonium op de BZV-bepaling

Het is van belang de invloed van ammonium op de afzonderlijke processen in de BZV-bepaling te onderzoeken. Eerst werd het effect van ammonium op de eerste stap van de nitrificatie nagegaan in een oplossing, die geen organische stof bevatte. Het anorganisch medium volgens Bock (pH = 7,5) [16] werd

geënt met nitrietvormers. Het biochemisch zuurstofverbruik onder invloed van verschillende ammoniumconcentraties (0,001 M; 0,01 M; 0,05 M; 0,1 M en 0,5 M) werd gemeten met de Sapromaat.

Uit de resultaten (afb. 2) blijkt, dat het effect van 0,1 en 0,05 M ammonium op de eerste stap van de nitrificatie weinig verschilt. In beide gevallen treedt de nitrificatie ca. 2 dagen later op dan bij 0,01 M ammonium. Tevens valt te constateren, dat 0,1 M ammonium geen volledige stopzetting van de nitrificatie bewerkstelligd. De resultaten van deze experimenten wijzen meer in de richting van een verlenging van de „lag“-fase bij toenemende ammoniumconcentraties, dan in een volledige onderdrukking van de activiteit van de nitrietvormers. In de verdere experimenten hebben we ons beperkt tot de door Siddiqui voorgestelde concentratie van 0,1 M ammonium.

In de tweede plaats werd de invloed van ammonium op de biochemische activiteit van de nitraatvormers onderzocht. Hiertoe werd de invloed van 0,1 M ammonium op de tweede stap van de nitrificatie bij verschillende nitrietconcentraties (0,1 M; 0,05 M en 0,01 M) in vergelijking tot de blanco (0,0 M ammonium) nagegaan. Ook bij dit experiment was het optreden van de koolstoftrap niet mogelijk door de afwezigheid van organische verbindingen. De eerste stap van de nitrificatie werd uitgesloten door alleen met nitraatvormers te enten.

Evenals in de vorige proef werd het zuurstofverbruik van de nitraatvormers in het anorganisch medium (pH = 7,5) met de Sapromaat gemeten (afb. 3).

Het effect van 0,1 M ammonium op de tweede stap van de nitrificatie is het sterkst bij 0,1 M nitriet. 0,1 M ammonium heeft een remmende werking van 50 % in een oplossing, die 0,01 M nitriet bevat. In geen enkel geval is er een volledige stopzetting van de nitraatvorming te zien.

Tenslotte werd de invloed van 0,1 M ammonium op de koolstoftrap onderzocht met rioolwater, waarin geen nitrificerende bacteriën voorkomen. Naast

elkaar is in de Sapromaat het zuurstofverbruik van het rioolwater met en zonder 0,1 M ammonium gemeten. Uit de resultaten (tabel I) blijkt, dat 0,1 M ammonium onder deze omstandigheden de (BZV₅)₀ niet beïnvloedt.

TABEL I - Invloed 0,1 M ammonium op de BZV₅ van rioolwater.

Biochemisch zuurstofverbruik		
dagen	blanco	0,1 M NH ₄ ⁺
1	179	186
2	277	251
3	343	295
4	376	357
5	397	392

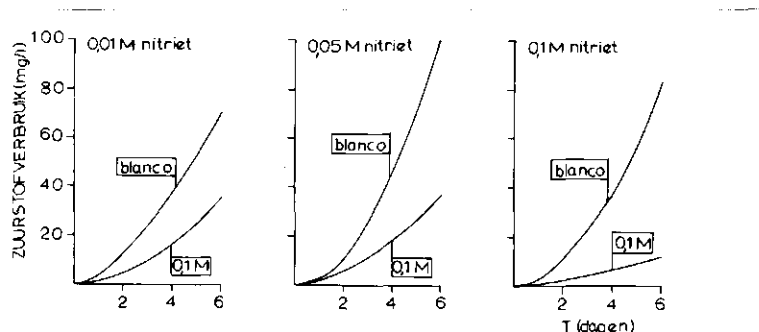
Nadat de invloed van 0,1 M ammonium op de afzonderlijke processen bestudeerd was, hebben we het effect van 0,1 M ammonium op het totale gebeuren in de BZV-bepalingen onderzocht. In de Sapromaat werd het zuurstofverbruik gemeten van het Wagenings rioolwater (verdunding 1 : 9), waaraan we ammonium, nitriet en nitrificerende bacteriën (nitriet- en nitraatvormers) in verschillende combinaties toevoegden. Naast elkaar werden vergeleken het zuurstofverbruik van rioolwater met de toevoegingen:

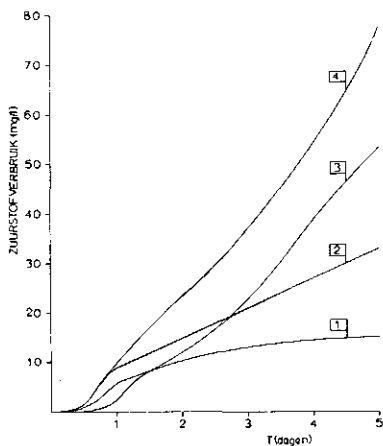
- 54 mg/l NH₄Cl en 69 mg/l NaNO₂ (koolstoftrap);
- 54 mg/l NH₄Cl*, 69 mg/l NaNO₂* en nitrificerende bacteriën (koolstof- en stikstoftrap);
- 0,1 M ammonium en nitrificerende bacteriën (de invloed van 0,1 M ammonium op de koolstoftrap en de eerste stap van de nitrificatie);
- 0,1 M ammonium, 69 mg/l NaNO₂ en nitrificerende bacteriën (de invloed van 0,1 M ammonium op de koolstof- en stikstoftrap).

De resultaten van dit experiment zijn

*) Ammoniumchloride en natriumnitriet zijn hier toegevoegd om verzekerd te zijn van een voldoende hoeveelheid stoffen die genitrificeerd kunnen worden, in een concentratie (0,01 M), die niet stoort.

Afb. 3 - De invloed van 0,1 M ammonium op het zuurstofverbruik door de nitraatvormers in een anorganisch medium bij verschillende nitrietconcentraties.



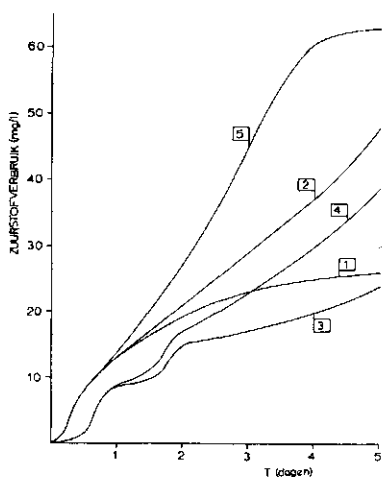


1. rioolwater met 54 mg/l NH_4Cl / 0,01 M nitriet
2. rioolwater met 54 mg/l NH_4Cl en 69 mg/l NaNO_2 en nitrificerende bacteriën
3. rioolwater met 0,1 M ammonium en nitrificerende bacteriën
4. rioolwater met 0,1 M ammonium 69 mg/l NaNO_2 en nitrificerende bacteriën

Afb. 4 - Het effect van 0,1 M ammonium op de $(\text{BZV}_{c+n})_5$ -bepaling.

weergegeven in afb. 4. Onder de omstandigheden bij deze proef heeft 0,1 M ammonium blijkbaar geen invloed op de eerste en de tweede trap van de nitrificatie. In het begin blijft het zuurstofverbruik van rioolwater (afb. 4:3), waarin

Afb. 5 - De invloed van het gehalte aan nitrietvormers op de werking van 0,1 M ammonium.



1. rioolwater
2. rioolwater met 54 mg/l NH_4Cl en 1 ml entmateriaal
3. rioolwater met 0,1 M ammonium en 1 ml entmateriaal
4. rioolwater met 0,1 M ammonium en 4 ml entmateriaal
5. rioolwater met 0,1 M ammonium en 10 ml entmateriaal

de nitrificatie door 0,1 M ammonium onderdrukt zou moeten worden, achter bij het zuurstofverbruik van alleen rioolwater (afb. 4:1). Na enige tijd is het omgekeerde het geval: 0,1 M ammonium onderdrukt de nitrificatie hier niet maar stimuleert die!

Het leek tevens van belang de invloed van de relatieve hoeveelheid entmateriaal op de stopzetting van de nitrificatie te bestuderen. Hiertoe hebben we het zuurstofverbruik van Wagenings rioolwater (verdunning 1:9), met 54 mg/l NH_4Cl , gemeten onder de volgende omstandigheden.

1. rioolwater zonder extra toevoegingen (koolstoftrap);
2. rioolwater met 1 ml entmateriaal (koolstof- en stikstoftrap);
- 3., 4. en 5. rioolwater met 0,1 M ammonium en resp. 1; 4 en 10 ml entmateriaal (de invloed van 0,1 M ammonium op de stikstoftrap bij verschillende hoeveelheden entmateriaal).

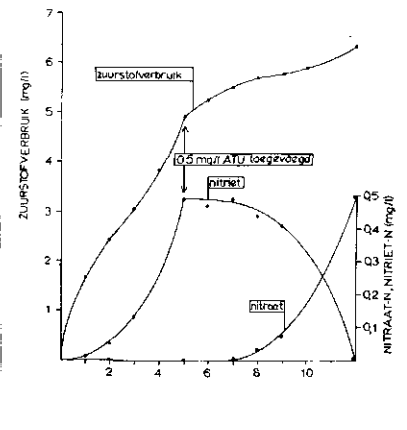
Het was helaas niet mogelijk met de ons beschikbare middelen het aantal nitrificerende bacteriën aanwezig in het entmateriaal vast te stellen. Bij deze proeven werd het entmateriaal (nitrietvormers) steeds uit dezelfde „voorraadoplossing” gehaald.

Uit de resultaten (afb. 5) blijkt, dat 0,1 M ammonium remmend werkt bij aanwezigheid van 1 ml entmateriaal. Met 4 ml entmateriaal blijft het zuurstofverbruik in het begin achter bij het zuurstofverbruik van de niet met nitrificerende bacteriën geënte oplossing, maar na 5 dagen is deze ruimschoots overschreden. Met 10 ml entmateriaal werd geen remming van de nitrietvormers waargenomen.

3.2 De invloed van ATU op de nitrificatie

In navolging van Wood is de invloed van 0,5 mg/l ATU op de nitrificatie onderzocht. Uit verschillende experimenten was gebleken, dat ATU geen invloed heeft op de koolstoftrap van de BZV-bepaling. Om deze reden hebben we het niet noodzakelijk geacht de invloed van ATU op de afzonderlijke processen in de BZV-bepalingen te bestuderen. Met behulp van de standglasmethode werd het zuurstofverbruik en de veranderingen in nitriet- en nitraatgehalten van het organisch Butterfieldmedium (verdunning 1:79) geënt met nitrificerende bacteriën bepaald.

Het nitrietgehalte bleek onmiddellijk te stijgen, terwijl de nitraatconcentratie aanvankelijk constant bleef (afb. 6), waaruit blijkt, dat de activiteit van de nitraatvormers nog niet tot uiting kwam. Na 5 dagen werd 0,5 mg/l ATU toegediend en vanaf dit ogenblik nam het nitrietgehalte niet meer toe, terwijl het nitraatgehalte na enige tijd begon te stijgen. Het allylthio-ureum is dus in staat de eerste stap



Afb. 6 - De invloed van 0,5 mg/l ATU op de eerste en tweede stap van de nitrificatie in Butterfield medium volgens de modificatie van Pasveer.

van de nitrificatie te onderdrukken, maar de tweede niet.

Aan rioolwater werd de invloed van 0,5 mg/l ATU op de koolstoftrap nagegaan.

In tabel II is het zuurstofverbruik van het rioolwater met en zonder ATU opgenomen.

TABEL II - Invloed van 0,5 mg/l ATU op de $(\text{BZV}_5)_c$ van rioolwater.

Biochemisch zuurstofverbruik van rioolwater dagen

dagen	blanco	met 0,5 mg/l ATU
1	179	193
2	277	295
3	343	355
4	376	386
5	397	408

Uit deze resultaten blijkt duidelijk, dat ATU onder deze omstandigheden geen effect heeft op de koolstoftrap.

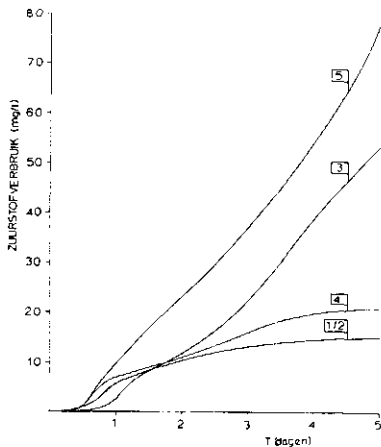
3.3 Vergelijking tussen de AMM en de ATU-methode

Een doeltreffende vergelijking tussen de AMM en de ATU-methode kan alleen gemaakt worden, indien beide methoden onder identieke omstandigheden uitgevoerd worden.

1. In de Sapromaat werd het zuurstofverbruik gemeten van Wagenings rioolwater met 54 mg/l NH_4Cl en 69 mg/l NaNO_2 .

Hiernaast werd de invloed van 0,5 mg/l ATU bestudeerd op het zuurstofverbruik van:

2. rioolwater met 54 mg/l NH_4Cl en nitrificerende bacteriën (de koolstoftrap en de eerste stap van de nitrificatie);
3. rioolwater met 54 mg/l NH_4Cl , 69 mg/l NaNO_2 en nitrificerende bacteriën (de koolstof- en de totale stik-



1. rioolwater met 54 mg/l NH_4/l en 69 mg/l NaNO_2
2. rioolwater met 54 mg/l NH_4/l en nitrificerende bacteriën en 0,5 mg/l ATU
3. rioolwater met 0,1 M ammonium en nitrificerende bacteriën
4. rioolwater met 54 mg/l NH_4/l , 69 mg/l NaNO_2 , nitrificerende bacteriën en 0,5 mg/l ATU
5. rioolwater met 0,1 M ammonium, 69 mg/l NaNO_2 en nitrificerende bacteriën

Afb. 7 - Vergelijking tussen de invloed van 0,5 mg/l ATU en 0,1 M ammonium op het zuurstofverbruik van rioolwater met nitrificerende bacteriën.

stoftrap). Dit werd tevens uitgevoerd met 0,1 M ammonium:

4. rioolwater met 0,1 M ammonium en nitrificerende bacteriën;
5. rioolwater onder toevoeging van 0,1 M ammonium, 69 mg/l NaNO_2 en nitrificerende bacteriën.

Uit de waarnemingen blijkt, dat 0,5 mg/l ATU de eerste stap van de stikstoftrap volledig onderdrukt heeft, terwijl 0,1 M ammonium hiertoe niet in staat was. Zowel ATU als 0,1 M ammonium bleken in deze proef de tweede stap van de nitrificatie niet te kunnen remmen. Eveneens blijkt, dat ATU geen invloed heeft op de koolstoftrap.

Zoals reeds is vermeld, is 0,1 M ammonium bij een relatief hoge concentratie aan nitrificerende bacteriën niet in staat de nitrificatie te onderdrukken. We hebben nagegaan hoe het effect van ATU is onder dezelfde omstandigheden. Hiertoe werd in de Sapromaat het zuurstofverbruik gemeten van rioolwater (verdunding 1:9) met 54 mg/l NH_4Cl onder de volgende omstandigheden:

1. zonder toevoegingen;
2. met 1 ml van een suspensie nitrificerende bacteriën;
3. met 0,1 M ammonium en 4 ml van een suspensie nitrificerende bacteriën;
4. met 0,5 mg/l ATU en 4 ml van een suspensie nitrificerende bacteriën.

Uit dit experiment (afb. 8) blijkt, dat 0,5

mg/l ATU een sterkere remmende werking uitoefent op de nitrificatie dan 0,1 M ammonium.

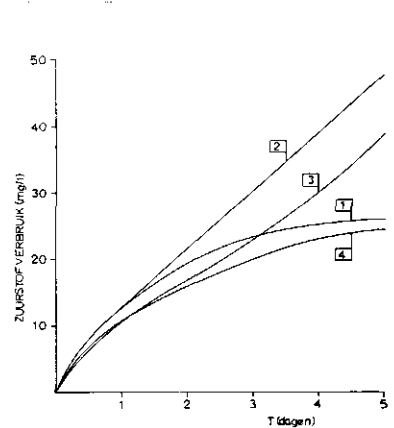
4. Remming van de stikstoftrap onder praktijkomstandigheden

Teneinde deze studie over de remming van de stikstoftrap te completeren zijn een aantal experimenten uitgevoerd met water, waarin het nitrificatieproces reeds aan de gang is. We hebben gewerkt met het effluent van een laagbelaste zuiveringsinstallatie (oxidatiesloot te Otterlo). Het effluent uit Otterlo is gebruikt voor een vergelijking tussen de gebruikelijke BZB₅-bepalingen volgens de ATU-methode en die volgens de AMM-methode. Teneinde het verloop van het zuurstofverbruik te kunnen volgen, werd de proef uitgevoerd volgens de flessenmethode. Er werden monsters onderzocht die op drie verschillende dagen waren genomen (A, B, C). De resultaten zijn niet geheel identiek. In monster A is geen (verdere) nitrificatie opgetreden. Dit werd bevestigd door het constant blijven van het nitriet- en nitraatgehalte. Wel blijkt uit dit experiment duidelijk, dat 0,1 M ammonium een nadelige invloed heeft op de koolstoftrap. Uit de andere experimenten blijkt, dat het resultaat van de bepaling volgens de ammoniummethode steeds lager is dan die van de ATU-methode.

Tenslotte dient vermeld te worden dat bij de monsters B en C de tweede stap van de nitrificatie te verwaarlozen is, gezien de lage beginconcentraties aan nitriet (resp. 0,05 en 0,02 mg/l).

5. Conclusie

Uit dit onderzoek blijkt, dat noch 0,5 mg/l ATU noch 0,1 M ammonium in staat is de nitrificatie volledig te remmen. De remming van de nitrificatie is afhankelijk van het gehalte aan nitrificerende bacteriën. Bij verschillende experimenten bleek 0,1 M ammonium de nitrificatie zelfs te stimuleren! ATU remt de nitrificatie bij hogere gehalten



1. rioolwater met 54 mg/l NH_4/l
2. rioolwater met 54 mg/l NH_4/l en 1 ml entmateriaal
3. rioolwater met 0,1 M ammonium en 4 ml entmateriaal
4. rioolwater met 54 mg/l NH_4/l , 4 ml entmateriaal en ATU

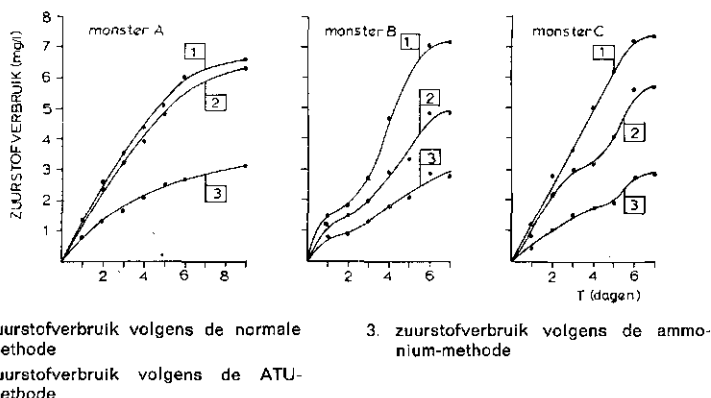
Afb. 8 - Vergelijking tussen de remmende werking van 0,5 mg/l ATU en 0,1 M ammonium op de nitrificatie bij hoge concentraties nitrificerende bacteriën.

aan nitrificeerders dan ammonium. Zowel ammonium als ATU blijken niet in staat te zijn de tweede stap van de nitrificatie, dus de omzetting van nitriet in nitraat te remmen. ATU stoort de koolstoftrap van de BZV-bepaling van effluent niet, maar met 0,1 M ammonium is dit wel het geval. Op grond van het resultaat van deze experimenten dient aan de ATU-methode ter bepaling van de BZV₅ de voorkeur gegeven te worden boven de ammonium-methode.

De heer M. C. M. van Oirschot heeft in het kader van zijn ingenieursstudie aan dit onderzoek meegewerkt.

● slot op pag. 443 (literatuur)

Afb. 9 - Vergelijking tussen de normale methode, de ATU- en de ammonium-methode voor de bepaling van het biochemisch zuurstofverbruik.



1. zuurstofverbruik volgens de normale methode
2. zuurstofverbruik volgens de ATU-methode

3. zuurstofverbruik volgens de ammonium-methode

• slot van pagina 447

Literatuur

1. Mohlmann, F. W., Hurwitz, E., Barnett, G. R. and Kramer, H. *Experience with modified methods for BOD*. Sew. Ind. Wastes, 22 (1950) 31.
2. Sawyer, C. N. and Bradney, L. *Modernization of the BOD test for determining the efficacy of sewage treatment processes*. Sew. Works Journ., 18 (1946) 1113.
3. Hurwitz, E., Barnett, G. R., Beaudoin, R. E. and Kramer, H. P. *Nitrification and BOD*. Sew. Works Journ., 19 (1947) 995.
4. Wood, L. B. and Morris, H. *Modifications to the BOD Test*. J. Proc. Inst. Sew. Purif., (1966) 350.
5. Gaffney, P. E. and Heukelekian, H. *Oxygen demand measurement errors in pure organic compounds nitrification studies*. Sewage Ind. Wastes, 30 (1958) 479.
6. Placak, O. R., Ruchhoff, C. C. and Snap, R. G. *Copper and chromate ions in sewage dilution*. Ind. Engng. Chem., 41 (1949) 2238.
7. Abbott, W. E. *Suppression of nitrification and denitrification during the determination of biochemical oxygen demand*. J. Soc. Chem. Ind., Part I, 67 (1948) 373; Part II, 67, (1948) 424.
8. Abbott, W. E. *The bacteriostatic effect of methylene blue on the BOD test*. Wat. Sew. Works, 95 (1948) 424.
9. Painter, H. A. and Jones, K. *The use of the wide-bore dropping mercury electrode for the determination of rates of oxygen uptake and of oxidation of ammonia by micro-organisms*. J. Appl. Bact., 26 (1963) 471.
10. Montgomery, H. A. C. and Borne, B. J. *The inhibition of Nitrification in the BOD test*. J. Proc. Inst. Sew. Purif. (1966) 357.
11. Pomeroy, R. and Kirschmann, H. D. *Determination of Dissolved Oxygen. Prop. Modification of the Winkler Method*. Anal. Chem., 17 (1945) 715.
12. Siddiqui, R. H., Speece, R. E., Engelbrecht, R. S. and Schmidt, J. W. *Elimination of nitrification in the BOD determination with 0.10 M ammonia nitrogen*. J.W.P.C.F., 39 (1967) 579.
13. Liebmann, H. und Offhaus, K. *Volumetrische BSB-Messungen mit Hilfe des „Sapromaten“, einem neuen Gerät zur Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB₅) und der Toxizität*. Abwassertechnik, 3 (1966) 4.
14. Orford, H. E., Rand, M. C. and Gellman, I. A. *single dilution technique for BOD studies*. Sew. Ind. Wastes, 25 (1953) 284.
15. Pasveer, A. *Research on activated sludge. V. Rate of biochemical oxidations*. Sew. Ind. Wastes, 27 (1955) 783.
16. Bock, E. *Methoden zur Anreicherung und Reinzucht der Nitrifikanten-Anreicherung und Mutantenauslese*. Zentr. Blatt für Bakteriologie, 1e Abteilung, Supplementsheft I (1964) 148.
17. *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung*, Dritte Auflage, Verlag Chemie, Weinheim.