

## Applikationsbericht

# Überwachung von BSB-Messsystemen nach DIN/ISO 9000 und GLP

### Vorwort

Der mikrobiologische Abbauprozess gehört zu den wichtigsten Vorgängen in der Abwasser- und Abfallbehandlung sowie Bodenmessungen und muss deswegen in angemessener Weise kontrolliert werden.

Die Überprüfung der dazu benötigten Messeinrichtungen auf korrekte Funktionsweise und das Feststellen einer eventuell vorhandenen Messwertabweichung gehören zu den grundlegenden Aufgaben die bei diesen Arbeiten berücksichtigt werden müssen.

Für diese Systemüberwachung werden hier vier verschiedene Methoden vorgestellt, die nach eigenen Bedürfnissen ausgewählt und kombiniert werden können. Bei der Anwendung der Methoden ist stets die Häufigkeit, die Form und die Dokumentation der Ergebnisse an die einschlägigen Vorschriften wie DIN/ISO 9000 und GLP anzupassen und ein detaillierter Prüfplan zu erarbeiten. Da sich die zeitlichen Abstände der Überprüfungen nach den Einsatzbedingungen der Geräte orientieren, ist es nicht möglich eine allgemeine Verfahrensanweisung dafür zu erstellen. Der zeitliche Ablauf muss für jedes Szenario vom Betreiber in Eigenverantwortung schriftlich festgelegt, kontrolliert und durchgeführt werden.

Die Dokumentation der Ergebnisse ist durch die Vorgaben der DIN/ISO 9000 und der GLP eindeutig geregelt:

Typ und Identifikationsnummer des zu überprüfenden Gerätes sind zusammen mit den Messergebnissen, Datum und Unterschrift der durchführenden Person in ein Logbuch einzutragen, welches jederzeit zur Nachforschung zur Verfügung gehalten werden muss. Es ist aber auch hier unumgänglich, dass vom Betreiber eine konkrete und individuelle Arbeitsanweisung unter Berücksichtigung der genannten Schriften festgelegt wird.

Wird bei den Untersuchungen eine Messwertabweichung oder eine Funktionsuntüchtigkeit des Messsystems festgestellt, so ist dieses zur Bearbeitung an den Hersteller zurück zu senden, da eine Justierung des Messsystems nicht vom Anwender selbst vorgenommen werden kann.

### Messverfahren

Erzeugung eines bekannten Unterdrucks und Abgleich mit der Anzeige

**Messbereich** 0-4000 mg/l BSB,  $\Delta p_{\max} = 142 \text{ mbar} = 14200 \text{ Pa}$

**Messeinrichtung** OxiTop®- Druckmessköpfe

### Zubehör

#### Allgemein:

- Magnetrührplattform
- Thermostatschrank (Temp. =  $20 \text{ °C} \pm 0,5 \text{ °C}$ )
- Probenflaschen braun mit 510 ml Nennvolumen
- Rührstäbchen mit Rührstäbchenentferner
- Überlaufmesskolben  $V = 432 \text{ ml}$  und  $V = 164 \text{ ml}$
- Gummiköcher
- 1l-Messkolben (7 Stück)
- Pipetten  $V = 1 \text{ ml}$
- Pipette  $V = 0,5 \text{ ml}$
- Undurchsichtiger Behälter zum Belüften des Verdünnungswassers ( $V \approx 1,1 \text{ l}$ )

#### Pneumatischer Test:

- OxiTop® PT

### Reagenzien

#### Allgemein:

- Natriumhydroxidplättchen
- N-Allylthioharnstofflösung NTH 600 ( $\beta = 5 \text{ g/l}$ )

#### Tablettenmethode:

- Kalibriertabletten

#### Glutaminsäure-Glucose-Methode

- D(+)-Glucose
- L-Glutaminsäure
- Kaliumhydrogenphosphat
- Dikaliumhydrogenphosphat
- Dinatriumhydrogenphosphat-heptahydrat
- Ammoniumchlorid
- Magnesiumsulfat-heptahydrat
- Calciumchlorid
- Eisen(III)-chlorid-hexahydrat

### Durchführung

#### **1.Schnelltest zur Überprüfung des Messsystems auf Dichtigkeit:**

##### Vorwort:

Die Dichtigkeit des gesamten Messsystems aus Flasche und Messkopf ist von herausragender Bedeutung, da selbst kleinste Undichtigkeiten über die relativ langen Messzeiträume den

Messwert massiv verfälschen können. Aus diesem Grund ist es wichtig in regelmäßigen Abständen die Dichtigkeit des Systems zu überprüfen.

### **Durchführung:**

Befüllen Sie ein Messgefäß zur Hälfte mit ca. 50°C heißem Wasser. Beim Abkühlen auf konstante 20°C muss sich ein stabiler Unterdruck einstellen.

## **2. Pneumatischer Test:**

### **Begriffserklärung:**

Absoluter Druck: Druck der gegen das Vakuum gemessen wird. (Häufigste Anzeige eines Druckmessgerätes)

Differenzdruck: Differenz zwischen dem veränderlichen äußeren Luftdruck und dem absoluten Druck in der Flasche.

### **Vorwort:**

Als Schnelltest zur Funktionsüberprüfung und zur Abschätzung einer eventuell vorhandenen Abweichung der Messwertanzeige hat sich die Überprüfung des Messkopfs mit Hilfe des OxiTop® PT bewährt.

Bei diesem Test wird über die Prüfvorrichtung ein definierter Unterdruck erzeugt, der in abhängig von der Höhe des Messortes über Meeresspiegel definierte Werte erzeugt.

Bei den OxiTop®-Messköpfen von WTW entspricht 1 Digit in der Anzeige einem Differenzdruck von 3,55 hPa zum äußeren Luftdruck. OxiTop®-i Messköpfe besitzen eine eingebaute Routine, die den Benutzer durch die Prozedur leitet.

### **Durchführung:**

Der jeweilige Messkopf wird nach Bedienungsanleitung des OxiTop® PT behandelt. Die Anzeige beim OxiTop®-i führt den Benutzer durch die Prozedur und zeigt an, ob der Messkopf bestanden hat oder nicht. Bei alten OxiTop® Messköpfen muss der erreichte Messwert mit einer Tabelle in der Bedienungsanleitung verglichen werden.

### 3. Kalibriertabletten (Dichtigkeitstest und Kalibrierung):

Eine Möglichkeit, die Systemdichtigkeit zu überprüfen und zugleich die Kalibrierung des Messkopfes durchzuführen, bieten Kalibriertabletten, die eine sauerstoffzehrende Substanz beinhalten und somit einen definierten Unterdruck in der Flasche erzeugen können.

#### **Hinweis:**

Für diese Methode ist auf jeden Fall dest. Wasser zu verwenden und nicht wie in anderen Fällen ein biologisches Verdünnungswasser. Da die Sauerstoffzehrung hier durch eine chemische Substanz und nicht durch Mikroorganismen verursacht wird, können eventuelle biologische Verunreinigungen zu Überbefunden führen. Nur wenn sichergestellt ist, dass der Unterdruck einzig und alleine auf die Kalibriersubstanz zurückzuführen ist, kann eine fachgerechte Kalibrierung vorgenommen werden.

## Durchführung:

- Die Flaschen sind vor dem Einsatz gründlich mit dest. Wasser zu spülen und Verunreinigungen mit einer Bürste zu entfernen.
- Im Beipackzettel der Kalibriertabletten ist das Volumen an dest. Wasser angegeben, welches in die Flasche eingefüllt werden muss. (Meistens 164 ml)

- Im Unterschied zur normalen BSB-Bestimmung wird der Messvorgang am Messkopf schon vor dem Temperieren und dem Aufschrauben auf die Flasche gestartet.

**Hinweis:** Im Programm mancher Messköpfe ist für die Dichtigkeitsprüfung und Kalibrierung mit Hilfe der Tabletten eine eigene Routine hinterlegt. Überprüfen Sie dies anhand der Bedienungsanleitung ihres Messkopfes und verfahren Sie gegebenenfalls so, wie es dort beschrieben steht. Sollte in Ihrem Messkopf keine Routine vorhanden sein, halten Sie sich an die in diesem Applikationsbericht beschriebene Vorgehensweise.

- Aktivieren Sie die Messung und stellen Sie die mit dest. Wasser befüllte Flasche und den **nicht auf die Flasche aufgeschraubten** Messkopf in den Thermostatschrank und lassen Sie beide für ca. 4 Stunden bei  $20\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$  temperieren.

- Nach Ablauf der Vortemperierzeit wird **eine** Kalibriertablette vollständig im dest. Wasser der Flasche aufgelöst. Es ist dabei darauf zu achten, dass die gesamte Tablette in die Flasche eingebracht wird, da die Sauerstoffzehrung der Substanz abhängig von der eingebrachten Menge ist. Sollte eine Tablette nicht mehr vollständig sein, so ist diese zu verwerfen und eine neue, vollständige Tablette zu verwenden.

- Vergewissern Sie sich, dass im Köcher **kein** Absorber eingebracht wurde und verschließen Sie die Flasche fest mit dem Messkopf. Der Köcher muss trotzdem in die Flasche eingesetzt werden, da er auch als Dichtung zwischen Messkopf und Flasche verwendet wird.

- Achten Sie darauf, dass während der Zugabe der Tablette die Temperatur der Flüssigkeit nicht zu stark absinken kann. Am besten wird die Flasche für das Einbringen der Tablette gar nicht aus dem Thermostatschrank entnommen. Sollte die Temperatur der Flüssigkeit nach der Zugabe der Tablette außerhalb des Intervalls von  $15 - 21\text{ °C}$  liegen, muss neu temperiert werden.

- Inkubieren Sie die mit den Messköpfen verschlossenen Flaschen im Thermostatschrank für 5 Tage bei  $20\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ .

- Nach Ablauf der 5 Tage kann der Endwert der Sauerstoffzehrung

am Messkopf abgelesen werden.

- Der Sollwert und die Toleranz der Kalibriertabletten ist chargenabhängig und kann dem Aufkleber der Tabletten-schachtel entnommen werden. Liegt der angezeigte Messwert innerhalb der vorgegebenen Toleranz, so ist die Dichtigkeit des gesamten Messsystems gegeben und die Kalibrierung war erfolgreich.

Sollte er außerhalb liegen, ist das Gerät dem Hersteller zur Überprüfung einzuschicken.

#### **4. BSB-Standardlösung aus Glutaminsäure und Glukose: (Überprüfung der Biologie-Effektivität und Kalibrierung)**

##### **Vorwort:**

Bei dieser Methode wird mit Hilfe einer Glutaminsäure-Glukose-lösung eine Flüssigkeit mit definiertem BSB hergestellt und mit einem biologischen Verdünnungswasser angeimpft und verdünnt. Dieser Test ist vor allen Dingen dazu gedacht, die Effektivität der am Einsatzort vorhandenen Biologie in Bezug auf die Abbauleistung zu überprüfen. Die Mikroorganismen reagieren unterschiedlich auf die abzubauenen Substanzen, so dass die Abbauleistung in Abhängigkeit von Mikrobiologie und Zusammensetzung des Abwassers immer anders ausfällt.

Mit Hilfe eines vorgegebenen Standards an organischem Material kann die Abbauleistung der Mikrobiologie am eigenen Standort überprüft und gegebenenfalls mit den Daten anderer Biologien verglichen werden. Des Weiteren ist auch hier eine Kalibrierung des Messkopfes durch den vorgegebenen BSB-Standard möglich.

##### **Herstellung des beimpften Verdünnungswassers:**

Das Verdünnungswasser wird aus verschiedenen Salzlösungen hergestellt und später mit einer Abwasserprobe mikrobiologisch angeimpft. Da das Verdünnungswasser selbst schon einen geringen BSB-Wert besitzt, muss dieser als Blindprobe bestimmt und vom gemessenen BSB-Wert der Standardlösung abgezogen werden.

Die hier beschriebenen Salzlösungen sind in lichtundurchlässigen Glasflaschen bei 0 – 4 °C ohne Qualitätsverlust ca. 6 Monate haltbar. Vor dem Einsatz sind die Lösungen jedoch auf Niederschläge oder Ausflockungen zu kontrollieren. Werden solche beobachtet, so ist die Lösung zu verwerfen und durch eine frische zu ersetzen.

##### **Hinweis:**

Zur Herstellung aller Lösungen und zum Auffüllen der Messkolben darf nur VE-Wasser verwendet werden, das absolut chlorfrei ist,

da freies Chlor die biologischen Vorgänge massiv behindern kann. Gegebenenfalls muss das Chlor durch Ausblasen mit Luft entfernt werden.

### **Vorarbeiten:**

#### Herstellung der Salzlösungen:

##### 1. Phosphat-Pufferlösung mit pH 7,2

- 8,5 g Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- 21,75 g Dikaliumhydrogenphosphat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )
- 33,4 g Dinatriumhydrogenphosphat-heptahydrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) und
- 1,7 g Ammoniumchlorid ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) in etwa 500 ml Wasser lösen. Auf 1000 ml verdünnen und mischen.

Anmerkung: Der pH-Wert dieser Pufferlösung sollte ohne weitere Einstellung 7,2 betragen.

##### 2. Magnesiumsulfat-heptahydrat, Lösung 22,5 g/l

- 22,5 g Magnesiumsulfat-heptahydrat ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) in Wasser lösen. Auf 1000 ml verdünnen und mischen.

##### 3. Calciumchlorid, Lösung 27,5 g/l

- 27,5 g wasserfreies Calciumchlorid ( $\text{CaCl}_2$ ) ( oder eine äquivalente Menge, wenn das Hydrat verwendet wird (z.B. 36,4 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )) in Wasser lösen, auf 1000 ml verdünnen und mischen.

##### 4. Eisen(III)-chlorid-hexahydrat, Lösung 0,25 g/l

- 0,25 g Eisen(III)-chlorid-hexahydrat ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) in Wasser lösen. Auf 1000 ml verdünnen und mischen.

#### Animpfmaterial:

- Die zum biologischen Animpfen verwendete Abwasserprobe sollte einen CSB von 300 mg/l oder einen TOC von 100 mg/l nicht übersteigen.
- Die Abwasserprobe muss vor dem Animpfen entweder dekantiert oder über einen groben Faltenfilter filtriert werden, damit sie frei von Schwebstoffen ist.

#### Herstellung des Verdünnungswassers und Animpfen.

- Geben Sie in einen 1 l-Messkolben jeweils 1 ml der Salzlösungen Nr. 1 bis 4 und füllen Sie den Kolben bis zur Marke

mit VE-Wasser.

- Überführen Sie diese Lösung in ein etwas größeres undurchsichtiges Gefäß und geben Sie 20 ml des Animpfmaterials dazu.

- Die so erhaltene Lösung ist bei ca. 20°C einige Stunden unter Lichtausschluss zu belüften um die biologische Aktivität in dem neuen Medium anlaufen zu lassen.

- Die Lösung ist am Beginn des jeweiligen Arbeitstages immer frisch anzusetzen und am Ende des Tages zu verwerfen.

### **Herstellung der Standardlösungen für die Messung:**

#### *1. Standardlösung: Verdünnungswasser für Blindwert.*

-In einen 1 l – Messkolben werden 0,5 ml der N-Allylthioharnstofflösung pipettiert und der Rest mit **Verdünnungswasser** bis zur Marke aufgefüllt.

Hinweis:

Wird wie vorgeschlagen, eine 3-fach Bestimmung des Blindwertes durchgeführt, so werden von dieser Lösung ungefähr 1,5 l benötigt.

#### *2. Standardlösung: Glucose-Glutaminsäurelösung.*

- In einen 1 l – Messkolben werden jeweils

150 mg D(+)-Glucose und

150 mg L-Glutaminsäure

eingewogen und mit 0,5 ml der N-Allylthioharnstofflösung versetzt.

Der Kolben wird mit **Verdünnungswasser** bis zur Marke aufgefüllt.

Das Auflösen der Feststoffe dauert einige Zeit und läßt sich durch **geringe** Wärmezufuhr und Durchmischen auf einem Magnetrührer beschleunigen.

### **Messung:**

Es wird empfohlen für beide Standardlösungen jeweils eine 3-fach Bestimmung durchzuführen.



- Messen Sie mit einem Überlaufmesskolben

432 ml der Standardlösung 1 und  
164 ml der Standardlösung 2

ab und geben Sie die Lösungen jeweils in **separate** braune  
Probenflaschen.

Für eine 3-fach-Bestimmung muss dieser Vorgang noch 2-mal  
wiederholt werden.

- Geben Sie in jede Flasche ein Magnetrührstäbchen und setzen  
Sie jeweils den Gummiköcher mit 2 Natriumhydroxidplättchen in  
den Flaschenhals ein.

- Sollte die Temperatur der Flüssigkeiten außerhalb des Intervalls  
von 15-21 °C liegen, so sind die Flaschen vor Beginn der  
Messung zu temperieren.

- Schrauben Sie die Messköpfe fest auf die Flaschen und starten  
Sie die Messung wie im Handbuch der Messköpfe beschrieben.

- Stellen Sie die Flaschen auf die Rührplattform in den  
Thermostatschrank und lassen Sie sie 5 Tage inkubieren.

### **Auswertung:**

- Bilden Sie den Mittelwert der Mehrfachbestimmungen aus den  
BSB-Werten des 5. Tages für beide Standardlösungen.

-Aufgrund der Verdünnung muss der Wert der 2. Standardlösung  
mit dem Faktor 10 multipliziert werden.

- Von diesem Ergebnis muss der Blindwert, der durch den BSB-  
Wert der Standardlösung 1 gegeben ist, abgezogen werden.

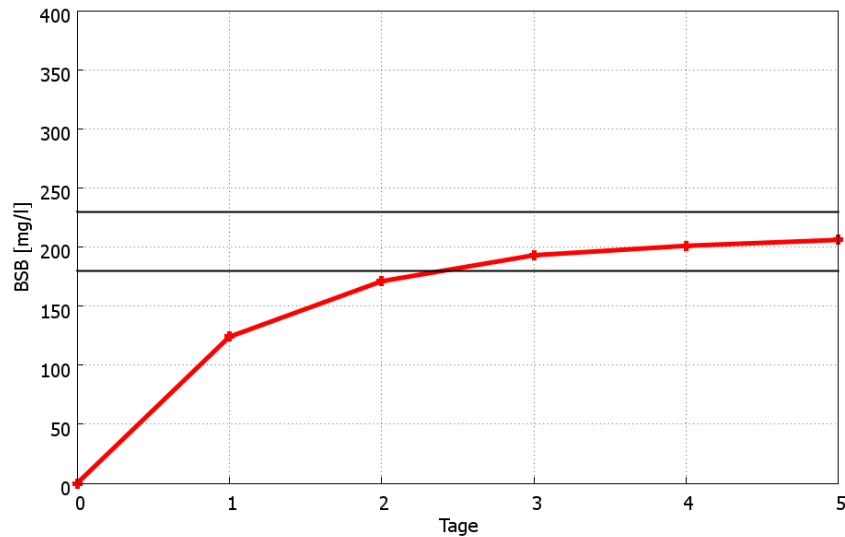
- Das Endergebnis lautet also:

$$[(BSB_5 \text{ Standardlösung } 2) * 10] - (BSB_5 \text{ Standardlösung } 1)$$

Liegt das Endergebnis zwischen 180 und 230 mg/l so ist die  
Effektivität des Abbauprozesses der eingesetzten Biologie  
akzeptabel und die Messköpfe arbeiten einwandfrei.

Die graphische Auswertung der Messdaten führt zu dem nach-  
stehend abgebildeten Diagramm.

Graphische Auswertung als BSB-Diagramm



Wie eindeutig zu erkennen ist, befindet sich der BSB-Wert am 5. Tag innerhalb der vorgegebenen Grenzen von 180 – 230 mg/l

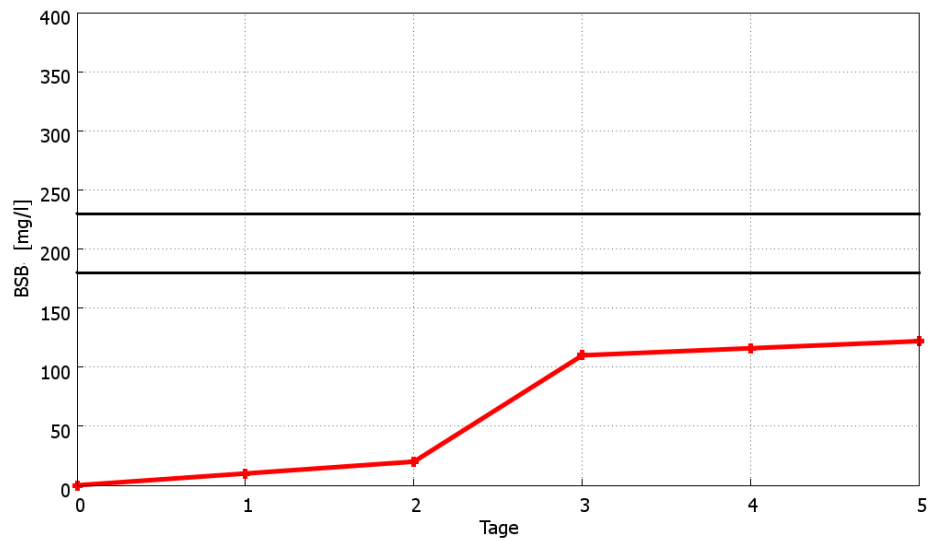
## Interpretation

Werden mikrobiologische Lebewesen in eine für sie unbekannte Umgebung gesetzt, so reagieren sie meistens mit einem Schock auf die neuen Umweltverhältnisse und es lässt sich nicht vorhersagen wie lange sie für die Anpassung an die neuen Lebensumstände benötigen.

Bei der Herstellung von Verdünnungswasser für biochemische Messungen führt dies unter Umständen zu Kurvenverläufen die stark von der idealen Kurvenform abweichen.

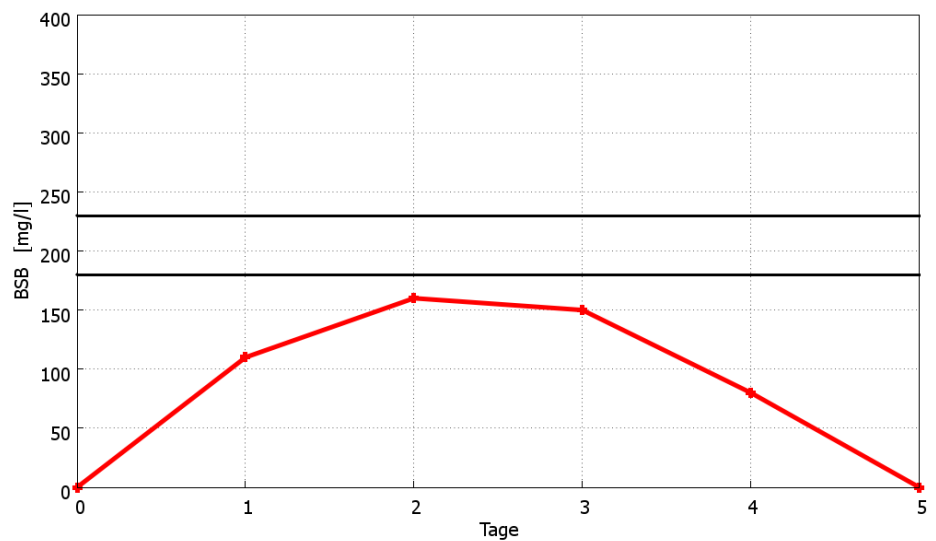
In diesem Fall ist es wichtig die Ergebnisse richtig zu interpretieren um geeignete Maßnahmen zur Fehlerkorrektur ergreifen zu können. Die nachfolgenden Schaubilder dienen hierbei als Entscheidungshilfe und geben Hinweise wie zu verfahren ist.

Nicht angepasste Biologie

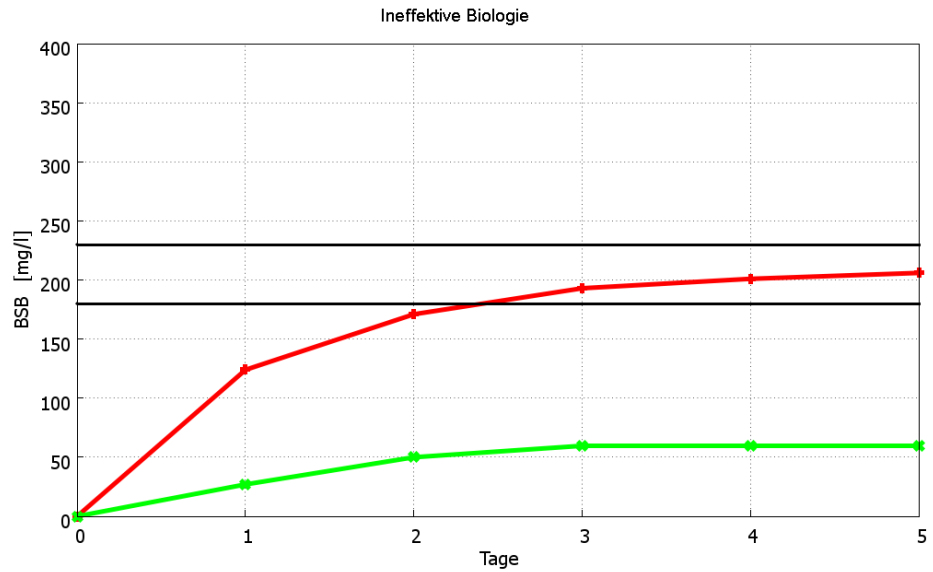


Die Biologie hat sich noch nicht an die neuen Verhältnisse angepasst. Wiederholen Sie die Messung mit dem inzwischen gealterten Verdünnungswasser.

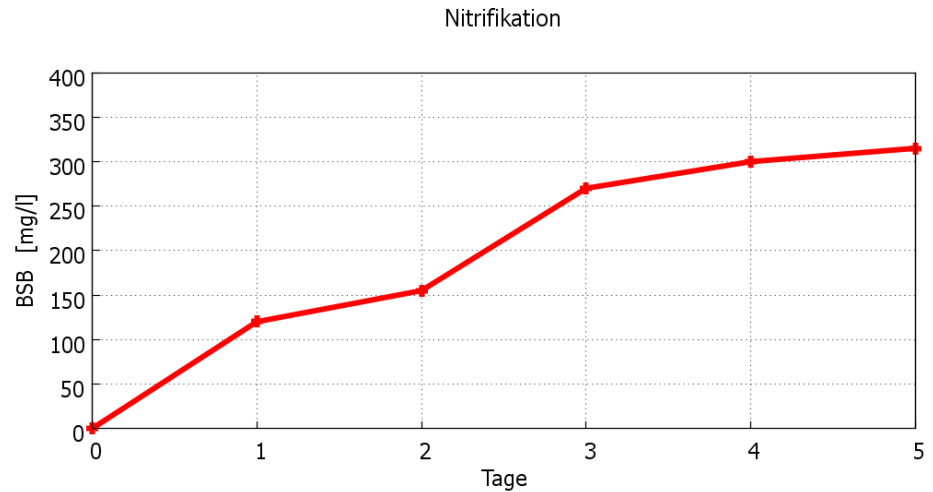
Undichtiges Messsystem



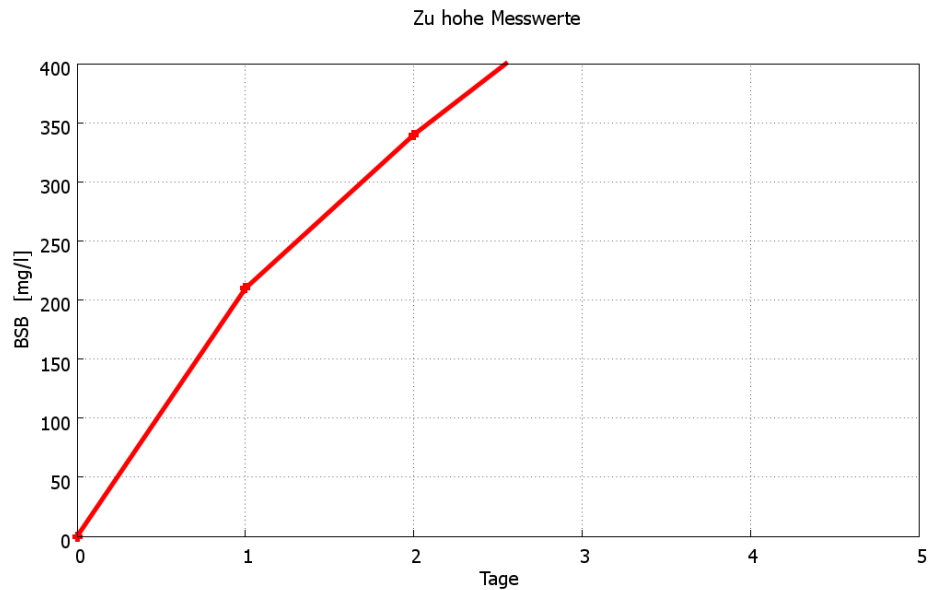
Undichtiges Messsystem. Tauschen Sie den Gummiköcher bzw. die Dichtung am Messkopf aus.



Die obere Kurve zeigt den normalen Verlauf einer BSB-Messung. Bei der unteren Kurve arbeitete die eingesetzte Biologie zu ineffektiv. Möglicherweise wurde sie durch Abwasserbestandteile gehemmt. Führen Sie die BSB-Bestimmung nach dem Applikationsbericht **[hemmende und toxische Stoffe]** aus.



bis ca. 2. Tag: Kohlenstoffoxidation  
ab 2. Tag bis 5. Tag: Kohlenstoff- und Stickstoffoxidation.  
Bei Messungen ohne Nitrifikationshemmstoff bzw. wenn sich der Hemmstoff bereits zersetzt hat und deshalb unwirksam ist.



zu hoher BSB; Probe vorverdünnen oder geringeres Proben-  
volumen einsetzen.

### Literatur

- [1] BSB-Fibel, Grundlagen der Messtechnik, WTW Eigenverlag
- [2] DIN/ISO 9000 ff
- [3] OECD-Grundsätze der GLP, Umweltdirektorat der OECD,  
Paris 1999

### Hinweis

Die Angaben in unseren Applikationsberichten dienen ausschließlich der prinzipiellen Darstellung der Vorgehensweise bei der Anwendung unserer Messsysteme. Besondere Eigenschaften der jeweiligen Probe im Einzelfall oder spezielle Rahmenbedingungen auf Anwenderseite können jedoch eine veränderte Durchführung des Verfahrens oder ergänzende Maßnahmen erforderlich machen oder im Einzelfall dazu führen, dass ein beschriebenes Verfahren für die beabsichtigte Anwendung ungeeignet ist.

Außerdem können besondere Eigenschaften der jeweiligen Probe wie auch spezielle Rahmenbedingungen zu abweichenden Messergebnissen führen.

Die Applikationsberichte wurden mit größtmöglicher Sorgfalt erstellt. Trotzdem können wir für ihre Richtigkeit keine Gewähr übernehmen.

Es gelten unsere Allgemeinen Geschäftsbedingungen in der jeweils aktuellen Fassung.

Haben Sie noch weitere Fragen? Bitte wenden Sie sich an unser Customer Care Center:

**Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG**

Dr.-Karl-Slevogt- Straße 1  
D-82362 Weilheim

Tel: +49 (0)881 / 183-0  
Fax: +49 (0)881 / 183-420

E-Mail: [info.wtw@xylemanalytics.com](mailto:info.wtw@xylemanalytics.com)

Internet: [www.xylemanalytics.com](http://www.xylemanalytics.com)