

Applikationsbericht

BSB-Messung: Bestimmung der leichten biologischen Abbaubarkeit von Chemikalien nach OECD 301F (manometrische Respirometrie)

Messverfahren	Respirometrie, Differenzdruckmessung
Messbereich	0-100% biologische Abbaubarkeit; Druck: 500-1350 hPa
Messeinrichtung	<u>Druckmessköpfe</u> Hinweis: Die verwendeten Druckmessköpfe müssen die Möglichkeit bieten den Differenzdruck auszugeben. Dies ist nicht bei allen Systemen der Fall. Bitte informieren Sie sich vor der Messung beim Hersteller Ihres Gerätes über diese Möglichkeit. <u>pH-Meter:</u> - Mindestauflösung der pH-Messwertanzeige: 0,01 <u>pH-Messkette:</u> - Membran: Zylinder-, Kugel- oder Kegelmembran -Diaphragma: Ringspalt- oder Lochdiaphragma
Zubehör	<ul style="list-style-type: none">- Magnetrührplattform für Probenflaschen- Probenflaschen braun mit 510 ml Nennvolumen (min. 4Stück)- Rührstäbchen mit Rührstäbchenentferner- Thermostatschrank (Temp. = 20 °C± 1°C oder selbst festgelegte Temperatur)- Gummiköcher- Undurchsichtiger Behälter zum Belüften der biologischen Impflösung (V ≈ 1 l)- Filter oder Dekanter- Laborwaage- Belüftungspumpe mit Fritte- evtl. Zentrifuge zum Aufarbeiten einer Schlammprobe- Variable Pipetten mit V = 20 ml und weiteren Aufsätzen je nach Bedarf- 1000 ml Messkolben (7 Stück)

Reagenzien

- Natriumhydroxidplättchen
- 0,1 M NaOH-Lösung
- 0,1 M HCl-Lösung
- HCl Konz
- NaEDTA
- Kaliumdihydrogenphosphat
- Dikaliumhydrogenphosphat
- Dinatriumhydrogenphosphat-dihydrat
- Ammoniumchlorid
- Magnesiumsulfat-heptahydrat
- Calciumchlorid
- Eisen(III)-chlorid-hexahydrat
- evtl. Hilfsstoffe um Testsubstanz wasserlöslich zu machen
- Technische Pufferlösungen pH 7,00 und 10,00

Beschreibung des Messverfahren

Die auf ihre biologische Abbaubarkeit zu überprüfende Substanz wird in einem mikrobiell angeimpften Verdünnungswasser gelöst und für 28 Tage bei konstanter Temperatur inkubiert. Durch die von den Bakterien verursachten Zersetzungs Vorgänge wird die Testsubstanz in der Messlösung oxidiert, wobei ein Teil des Sauerstoffs aus der Gasphase der Messflasche verbraucht wird. Das dabei entstehende Kohlendioxid wird durch ein Absorptionsmittel (meistens NaOH-Plättchen) gebunden und somit aus der Gasphase der Flasche entfernt. Der sich so langsam aufbauende Unterdruck ist direkt proportional zum verbrauchten Sauerstoff und somit eine charakteristische Kenngröße für die Abbauleistung der eingesetzten Mikrobiologie. Durch Berechnung des theoretisch zu erwartenden Sauerstoffverbrauchs für die Oxidation der gesamten eingesetzten Testsubstanz, kann die Abbauleistung der Mikroorganismen im beobachteten Zeitraum als Prozentwert des theoretischen vollständigen Abbaus angegeben werden. Sollte die Berechnung des theoretischen Sauerstoffbedarfs nicht möglich sein, kann immer noch das weniger aussagekräftige Verhältnis von real gemessenem Sauerstoffverbrauch zum CSB der Messlösung als biologische Abbaubarkeit angegeben werden. Diese Angabe muss jedoch speziell durch den Zusatz „ x% des CSB“ gekennzeichnet werden.

Anforderungen an das Deionat bzw. Destillat zum Ansetzen des Verdünnungswassers

Zum Ansetzen des Verdünnungswassers eignet sich nur deionisiertes oder destilliertes Wasser, welches frei von toxischen Substanzen wie z.B. Kupfer oder Lösungsmitteln ist. Solche toxischen Verunreinigungen können sowohl schon im Rohwasser vorhanden sein aus dem das Deionat bzw. Destillat hergestellt wird, als auch durch den Verarbeitungsprozess wie z. B. die Filtrierung durch einen Ionenaustauscher in das Verdünnungswasser eingebracht werden. Bei stark streuenden Werten und ungewöhnlich niedrigen Abbauraten sollte deswegen

im Zweifelsfall auch das Wasser mit geeigneten analytischen Methoden untersucht werden.

Des Weiteren darf der Anteil an organischem Kohlenstoff im Verdünnungswasser nicht höher als 10% des durch die Testsubstanz eingebrachten organischen Kohlenstoffgehaltes sein.

Um die Einhaltung dieses Grenzwerts zu kontrollieren, empfiehlt es sich eine Messung nach der LC-OCD Methode (Liquid Chromatography - Organic Carbon Detection) durchzuführen. In jedem Fall sollte für jede Testserie immer Wasser derselben Prozesscharge verwendet werden.

Begriffserklärungen

Testsubstanz:

Substanz deren biologische Abbaubarkeit getestet werden soll.

Verdünnungswasser:

Salzlösung welche nach angegebener Rezeptur hergestellt wird und dazu dient, die osmotischen Verhältnisse für die Mikroorganismen einzustellen. Diese Lösung wird zum Verdünnen aller Ansätze benötigt.

Animpfmaterial:

Lösung welche aus verschiedensten Quellen wie Belebtschlamm oder Oberflächenwasserproben hergestellt werden kann und welche die für den Abbau nötigen Mikroorganismen beinhaltet.

Messlösung: Mischung aus Verdünnungswasser, Animpfmaterial und Stammlösung, welche in die Messflaschen gefüllt wird und an der die eigentliche Messung stattfindet.

Stammlösung: Lösung der Testsubstanz in Verdünnungswasser welche dazu dient einen homogenen Eintrag der Testsubstanz in die Messlösung zu gewährleisten.

Blindlösung:

Lösung aus Verdünnungswasser und Animpfmaterial welche dazu dient, die Sauerstoffaufnahme durch eventuell vorhandene organische Verunreinigungen aus dem Animpfmaterial rechnerisch kompensieren zu können und auch als Medium für vollkommen unlösliche Substanzen dient.

Vorarbeiten

Animpfmaterial:

Das biologische Animpfmaterial kann aus verschiedensten Quellen gewonnen werden. Eine Schlammprobe aus der biologischen Stufe einer Kläranlage ist dabei ebenso denkbar wie eine Probe aus einem Oberflächengewässer.

Wichtig ist dabei nur, dass die Probe während des Transportes und bei längeren Verweilzeiten ausreichend belüftet wird.

Bei der Verwendung von Schlämmen ist zusätzlich darauf zu achten, dass diese vor dem Animpfen filtriert oder dekantiert werden müssen um sie weitestgehend von organischem Material zu befreien, welches den Messwert verfälschen könnte.

Bei dem hier empfohlenen Ansatz von 1 l Messlösung der 20 ml Animpfmaterial enthält, darf die Konzentration an organischen Materialien in der **Animpflösung** nicht mehr als 1,5 g/l betragen.

Sollten Ansätze anderer Zusammensetzung verwendet werden, ist die Konzentration an organischen Materialien auf 30 mg/l in der **Messlösung** zu begrenzen.

Ist dies nach dem Filtrieren oder Dekantieren nicht eindeutig gewährleistet, so ist eine Trocknung des Schlammes und die Auswaage des Feststoffanteils vorzunehmen und das Animpfmaterial vor Zugabe in die Messlösung entsprechend den Vorgaben mit Verdünnungswasser zu verdünnen.

In [1] wird eine Vielzahl von Behandlungsmöglichkeiten für unterschiedlichste Quellen von biologischem Animpfmaterial wiedergegeben.

Insbesondere für die Behandlung beim Verdacht auf hemmende oder toxische Stoffe, für die Aufkonzentrierung und Verdünnung, für die Waschung, Zentrifugierung, Homogenisierung und Konditionierung von Schlämmen auf die Einsatzbedingungen werden hier konkrete Verfahrensanweisungen gemacht. Sollte Ihr Animpfmaterial aufgrund seiner Beschaffenheit (z.B. zu dickflüssig, verunreinigt oder nicht an die Verhältnisse bei der Messung angepasst) eine bestimmte Vorbehandlung benötigen, so entnehmen Sie die Verfahrensanweisung bitte aus dieser Literatur.

Konditionierung der Biologie:

Um die Mikroorganismen an die osmotischen Verhältnisse in der Messlösung zu gewöhnen, kann es notwendig sein, sie vor dem Einsatz zu konditionieren. Dies geschieht durch das Herstellen einer Lösung im Konzentrationsbereich von ca. 3-5 g Animpfmaterial auf 1 Liter Verdünnungslösung. Diese Mischung wird 5-7 Tage in einem undurchsichtigen Gefäß belüftet und kann anschließend als nunmehr konditionierte Animpflösung direkt zum Animpfen der zur Messung verwendeten Verdünnungslösung benutzt werden.

Wird für diesen Ansatz Schlamm verwendet, so ist die Lösung vor dem Animpfen noch einmal um den Faktor 5 zu verdünnen, um sicherzustellen, dass der Feststoffeintrag in die Messlösung auf jeden Fall unter 30 mg/l liegt. In diesem Fall kann die Bestimmung der Trockenmasse entfallen, da durch die hohe

Verdünnung der Feststoffgehalt schon entsprechend reduziert wurde.

Die Konditionierung kann in bestimmten Fällen auch dazu dienen die Genauigkeit des gesamten Verfahrens zu steigern, falls größere statistische Abweichungen bei der Auswertung bemerkt werden.

Ansatz des Verdünnungswassers:

Für den Ansatz des Verdünnungswassers werden vier Salzlösungen benötigt.

Hinweis:

Benutzen Sie zur Herstellung der folgenden Salzlösungen nur Wasser welches die oben genannten Anforderungen erfüllt und Reagenzien von analytischer Qualität.

Lösung 1: Phosphat-Pufferlösung mit pH 7,4

-8,5 g Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)
-21,75 g Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4)
-33,4 g Dinatriumhydrogenphosphat-dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) und
-0,5 g Ammoniumchlorid (NH_4Cl)

in einen mit ca. 500 ml Wasser gefüllten 1000 ml Messkolben geben und anschließend durch leichtes Schütteln vermischen. Bis zur Eichmarke auffüllen und nochmals schütteln.

Anmerkung: Der pH-Wert dieser Pufferlösung sollte ohne weitere Einstellung $7,4 \pm 0,2$ betragen.

Lösung 2: Calciumchlorid, Lösung 27,5 g/l

-27,5 g wasserfreies Calciumchlorid (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 einen mit ca. 500 ml Wasser gefüllten 1000 ml Messkolben geben und anschließend durch leichtes Schütteln vermischen. Bis zur Eichmarke auffüllen und nochmals schütteln.

Lösung 3: Magnesiumsulfat-heptahydrat, Lösung 22,5 g/l

-22,5 g Magnesiumsulfat-heptahydrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

in einen mit ca. 500 ml Wasser gefüllten 1000 ml Messkolben geben und anschließend durch leichtes Schütteln vermischen. Bis zur Eichmarke auffüllen und nochmals schütteln.

Lösung 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 einen mit ca. 500 ml Wasser gefüllten 1000 ml Messkolben geben und anschließend durch leichtes Schütteln vermischen. Bis zur Eichmarke auffüllen und nochmals schütteln.

Anmerkung: Um die Langzeitstabilität der Lösung 4 zu gewährleisten, sollte ein Tropfen konzentrierte HCl oder 0,4 g NaEDTA zugegeben werden.

Für die Herstellung des Verdünnungswassers wird ein 1000 ml Messkolben zunächst mit ca. 800 ml Wasser befüllt, 10 ml der Lösung 1 zupipettiert und diese Lösung zunächst durch sanftes Schütteln vermischt. Anschließend werden jeweils 1 ml der Lösungen 2-4 zugegeben und der Messkolben bis zur Eichmarke mit Wasser befüllt.

Stammlösung der Testsubstanz:

Die Testsubstanz sollte, wenn möglich, vor der Zugabe in die Messlösung in einer Stammlösung gelöst werden, um einen homogenen Eintrag in die Messlösung zu gewährleisten.

Besonders bei der Überprüfung von Feststoffgemischen in denen die Konzentration der Testsubstanz gering ausfällt, ist auf beste Homogenisierung vor der Herstellung der Stammlösung zu achten. Des Weiteren müssen alle anderen Inhaltsstoffe in einem Gemisch separat auf ihre biologische Abbaubarkeit getestet werden, um zu gewährleisten, dass der Sauerstoffverbrauch nur durch den Abbau der Testsubstanz zustande kommt.

Emulgatoren und andere Zusatzstoffe welche die Löslichkeit der Testsubstanz garantieren, können verwendet werden, wenn sie weder biologisch abbaubar noch toxisch für die Biologie sind und keine weiteren Beeinträchtigungen des Messvorgangs bewirken, wie z.B. extremes Aufschäumen oder Überhitzung durch exotherme Reaktionen.

Von der Verwendung von festen Trägersubstanzen für zu testende Feststoffe wird abgeraten, bei öligen Testsubstanzen kann der Einsatz solcher Hilfsmittel aber angebracht sein.

In jedem Fall muss bei der Verwendung eines Zusatzstoffes ein weiterer Ansatz der Testreihe zugefügt werden, welcher nur den Zusatzstoff in angeimpften Verdünnungswasser enthält. Werden mehrere Zusatzstoffe verwendet, so ist jeder Einzelne zu überprüfen. Die Zusatzstoffe sind nur zulässig, wenn sie in diesen Blindwerten keine Abbaubarkeit zeigen.

Mit Hilfe der zulässigen Mischmethoden wird eine wässrige (mit Verdünnungswasser) Stammlösung der Testsubstanz von

ca. 1-10 g/l Konzentration hergestellt, wobei dieser Wert nur als grobe Vorgabe zu verstehen ist, da z.B. in Abhängigkeit der Löslichkeit der Testsubstanz auch kleinere Werte möglich sein können.

Sollte von der Testsubstanz nur eine geringe Menge zur Verfügung stehen, so sind entsprechend kleine Mengen einer Stammlösung anzusetzen.

Auf jeden Fall muss aber die genaue Konzentration der Testsubstanz in der Stammlösung bekannt sein.

Sollte die Testsubstanz auch mit erlaubten Hilfsmitteln in Wasser vollkommen unlöslich sein, so ist nach den Angaben im Abschnitt „Vorgehensweise bei vollkommener Unlöslichkeit der Testsubstanz“ zu verfahren.

Berechnung des theoretischen Sauerstoffbedarfs ThSB

Der theoretische Sauerstoffbedarf kann nur berechnet werden wenn die chemische Zusammensetzung der Testsubstanz bekannt ist.

Sollte diese nicht bekannt sein, so ist der CSB der Testsubstanz zu bestimmen [2] und die beschriebenen Berechnungen mit diesem Wert statt dem ThSB durchzuführen. In diesem Fall ist das Ergebnis unbedingt als „x % CSB“ zu kennzeichnen.

Für eine Substanz der Gestalt $C_c H_h Cl_{cl} N_n Na_{na} O_o P_p S_s$ berechnet sich der ThSB nach den unten angegebenen Formeln, wobei die großen Buchstaben für die jeweiligen chemischen Elemente stehen und die kleinen Indexbuchstaben für die Anzahl der Atome in einem Molekül der Testsubstanz. Sollte eine Atomart nicht in Ihrem Molekül vorhanden sein, so ist der Wert seines Indexes auf null zu setzen.

M steht für die molare Masse der Testsubstanz in $\frac{g}{mol}$.

Die Angaben in den eckigen Klammern stellen die Einheiten der Werte dar und sind der Vollständigkeit halber aufgeführt. Die Einheit des ThSB ist als mg Sauerstoff pro mg eingesetzter Testsubstanz zu interpretieren.

Für die Oxidation ohne Nitrifikation gilt:

$$ThOD = \frac{16 \left[\frac{g}{mol} \right] \cdot \left(2c + \frac{1}{2}(h - cl - 3n) + 3s + \frac{5}{2}p + \frac{1}{2}na - o \right) \cdot \left[\frac{mg}{mg} \right]}{M \left[\frac{g}{mol} \right]}$$

Für die Oxidation mit Nitrifikation gilt:

$$ThOD = \frac{16 \left[\frac{g}{mol} \right] \cdot \left(2c + \frac{1}{2}(h-cl) + \frac{5}{2}n + 3s + \frac{5}{2}p + \frac{1}{2}na - o \right) \cdot \left[\frac{mg}{mg} \right]}{M \left[\frac{g}{mol} \right]}$$

Wählen Sie die Formel entsprechend des zu erwartenden Abbauprozesses.

Durchführung

Es muss 1 Liter einer Messlösung bestehend aus Animpfmaterial, Stammlösung und Verdünnungswasser hergestellt werden, wobei die genaue Konzentration der Testsubstanz in der Messlösung berechnet werden muss.

Berechnen Sie anhand der Konzentration der von Ihnen hergestellten Stammlösung das Volumen welches von dieser Lösung in einen 1000 ml Messkolben pipettiert werden muss, um eine Konzentration von 100 mg/l Testsubstanz in der Messlösung herzustellen.

Beispiel:

Die Vorgabe lautet: in der Messlösung soll eine Konzentration von 100 mg/l Testsubstanz in einem 1000 ml Messkolben hergestellt werden.

⇒ c=100 mg/l und V=1 l

Mit der Formel $c = \frac{m}{V}$ ergibt sich für die Masse m

$$m = c * V = 100 \text{ mg/l} * 1 \text{ l} = 100 \text{ mg} = 0,1 \text{ g.}$$

Es muss also 0,1 g der reinen Testsubstanz in die Messlösung gegeben werden.

Die Testsubstanz liegt aber in der Stammlösung vor; somit ist das entsprechende Volumen der Stammlösung in den Kolben der Messlösung zu pipettieren.

Hat Ihre Stammlösung z.B. eine Konzentration von c= 5 g/l so ergibt sich:

$$c = \frac{m}{V} \Rightarrow V = \frac{m}{c} = \frac{0,1g}{5 \frac{g}{l}} = 0,02l = 20ml$$

In diesem Fall müssten Sie also 20 ml der Stammlösung in den 1 l Messkolben pipettieren um nach dem Auffüllen eine Konzentration von 100 mg/l an Testsubstanz in der Messlösung zu erhalten.

Legen Sie ca. 500 ml Verdünnungswasser in einem 1 l Messkolben vor und pipettieren Sie die berechnete Menge an Stammlösung dazu.

Geben Sie anschließend 20 ml des Animpfmateri als dazu und füllen Sie den Kolben bis einige cm unter der Markierung mit Verdünnungswasser auf.

Messen Sie den pH-Wert der Lösung.

Gegebenenfalls ist der pH-Wert mit einigen Tropfen einer 0,1 M NaOH-Lösung bzw. 0,1 M HCl-Lösung auf einen Wert von $\text{pH } 7,4 \pm 0,2$ einzustellen. Füllen Sie anschließend den Kolben bis zur Eichmarke mit Verdünnungswasser auf.

Da für jeden Messdurchgang eine Doppelbestimmung der Messlösung empfohlen wird, muss die angesetzte Messlösung auf 2 Messflaschen aufgeteilt werden.

Befüllen Sie zwei Messflaschen mit jeweils 300ml der Messlösung. Dieses Volumen wurde gewählt, damit bei verschlossener Flasche über der Messlösung noch ein ausreichend großes Gasvolumen vorhanden ist.

Hinweis:

Sollte der **abiotische Abbau** der Testsubstanz untersucht werden, muss die Messlösung vor dem Inkubieren mit einer für Mikroorganismen toxischen Substanz wie z.B. Kupferionen in ausreichender Konzentration versetzt werden. Hierbei empfiehlt es sich natürlich, schon beim Ansetzen der Messlösung auf das Animpfmateri als zu verzichten.

Um eine eventuelle Sauerstoffaufnahme durch den Abbau von organischen Stoffen im Animpfmateri als bei der Berechnung berücksichtigen zu können, muss eine Blindlösung angesetzt werden. Auch hier empfiehlt sich die Doppelbestimmung.

Legen Sie in einem 1 l Messkolben 20 ml des Animpfmateri als vor und füllen Sie ihn bis einige cm unter der Markierung mit Verdünnungswasser auf.

Es ist absolut wichtig, dass an dieser Stelle das gleiche Animpfmateri als in der gleichen Menge wie bei der Beimpfung der Messlösung verwendet wird, da die Konzentration an Mikroorganismen und an organischen Verunreinigungen nicht bekannt ist. Dieser Blindwert wird von der Sauerstoffaufnahme der Messlösung abgezogen und muss den Sauerstoffverbrauch der in der Messlösung enthaltenen organischen Substanzen aus

dem Animpfmateriale möglichst genau wiedergeben.

Messen Sie nun den pH-Wert der Blindlösung.
Gegebenenfalls ist der pH-Wert mit einigen Tropfen einer 0,1 M NaOH-Lösung bzw. 0,1 M HCl-Lösung auf einen Wert von $\text{pH } 7,4 \pm 0,2$ einzustellen. Füllen Sie anschließend den Kolben bis zur Marke mit Verdünnungswasser auf.

Befüllen Sie zwei Messflaschen mit je 300 ml der Blindlösung.

Geben Sie in den Hals jeder der 4 Messflaschen einen mit 2-3 NaOH-Plätzchen bestückten Gummiköcher und schrauben Sie die Messköpfe auf die Flaschen.

Inkubieren Sie die so präparierten Messflaschen bei $20 \pm 1^\circ\text{C}$ für 28 Tage.

Hinweis:

Andere Messtemperaturen können nach Bedarf eingestellt werden, müssen aber während der Messung innerhalb eines Intervalls von $\pm 1^\circ\text{C}$ konstant gehalten werden. Die OECD Guideline 301 gibt einen Temperaturbereich von $20 - 24^\circ\text{C}$ vor, letztlich beschränkt aber der Betriebstemperaturbereich der Messköpfe (siehe technische Daten) den Einsatz. Bei WTW Messköpfen liegt der zulässige Einsatzbereich zwischen $+5^\circ\text{C}$ und $+50^\circ\text{C}$.

Vorgehensweise bei vollkommener Unlöslichkeit der Testsubstanz

Ist die Testsubstanz auch durch Zugabe von Hilfsmitteln nicht zu einer wässrigen Lösung zu verarbeiten, so ist sie direkt in ein angeimpftes Verdünnungswasser als Messlösung einzuwiegen. Auch hier empfiehlt sich eine Doppelbestimmung der Messwerte.

Stellen Sie wie in den vorigen Abschnitten beschrieben ein angeimpftes Verdünnungswasser her und berechnen Sie die nötige Einwaage der Testsubstanz um die geforderte Konzentration von 100 mg/l Testsubstanz in den 300 ml der Messlösung zu erreichen. Auch hier ist der mögliche Feststoffeintrag durch Schlamm auf maximal 30 mg/l in der Messlösung zu begrenzen.

Legen Sie in zwei Messflaschen jeweils 300 ml der Blindlösungen vor.

Geben Sie die genau abgewogene Menge der Testsubstanz direkt in die Messflasche.

Bei verunreinigten Testsubstanzen ist auch hier auf eine vorherige Homogenisierung zu achten.

Verschließen Sie die Messflasche mit einem geeigneten Deckel

und stellen Sie durch mehrmaliges Schütteln sicher, dass die Testsubstanz vollkommen von der Messlösung aufgenommen wurde, und keine Reste an den Wänden der Flasche kleben bleiben.

Setzen Sie auch hier einen doppelten Blindwert an.

Geben Sie in jeden Flaschenhals einen mit 2-3 NaOH-Plättchen bestückten Gummiköcher und schrauben Sie den Messkopf auf die Flasche.

Inkubieren Sie die so präparierten Messflaschen bei $20 \pm 1^\circ\text{C}$ für 28 Tage.

Hinweis:

Andere Messtemperaturen können nach Bedarf eingestellt werden, müssen aber während der Messung innerhalb eines Intervalls von $\pm 1^\circ\text{C}$ konstant gehalten werden. Die OECD Guideline 301 gibt einen Temperaturbereich von $20 - 24^\circ\text{C}$ vor, letztlich beschränkt aber der Betriebstemperaturbereich der Messköpfe (siehe technische Daten) den Einsatz.

Bei WTW Messköpfen liegt der zulässige Einsatzbereich zwischen $+5^\circ\text{C}$ und $+50^\circ\text{C}$. (0°C bis 55°C bei OxiTop®-IDS)

Auswertung

Sollte sich über die gesamte Zeit kein Unterdruck in der Messflasche eingestellt haben, so ist von einer mikrobiellen Toxizität der Testsubstanz auszugehen. Sollte dies nicht plausibel sein, so ist die Dichtigkeit des Messsystems zu überprüfen

Wie eingangs unter Messeinrichtung erwähnt muss der Messkopf als Messwert den Differenzdruck ausgeben können, aus dem sich der Sauerstoffverbrauch berechnen lässt. Nur dadurch ist es möglich den Sauerstoffverbrauch direkt auf die eingewogene Menge an Testsubstanz zu beziehen.

Der Sauerstoffverbrauch (Masse m_{O_2}) wird aus dem gemessenen Differenzdruck (Δp) nach folgender Formel berechnet.

$$m_{\text{O}_2} = \frac{\Delta p * V * M}{R * T}$$

Dabei ist

V = Volumen der über der Messlösung stehenden Gasphase.
Bei Verwendung der braunen Standardmessflaschen berechnet sich das Volumen nach:

V = Flaschenvolumen – Volumen der Messlösung

$$= 0,510 \text{ l} - 0,3 \text{ l} = 0,21 \text{ l}$$

Sollten Sie eine andere Messflasche verwenden so ist das Volumen der Gasphase entsprechend zu berechnen.

M = Molare Masse des Sauerstoffs = 32 g/mol

R = Universelle Gaskonstante = $8,314472 \frac{\text{J}}{\text{mol} * \text{K}}$

T = Absolute Temperatur bei der Messung

Der hier empfohlenen Inkubationstemperatur von 20°C entspricht die absolute Temperatur 293,15 K.

Sollten Sie eine andere Inkubationstemperatur gewählt haben so ist die absolute Temperatur nach folgender Formel zu berechnen.

$$T = \nu + 273,15 \text{ K} \quad \text{mit } \nu = \text{Temperatur in } ^\circ\text{C}$$

Berechnen Sie nun mit der angegebenen Formel für jeden gemessenen Differenzdruck die Masse des verbrauchten Sauerstoffs.

Berechnen Sie anschließend den Mittelwert aus beiden Sauerstoffverbrauchswerten der Blindlösungen.

$$b_m = \frac{b_1 + b_2}{2}$$

Aus den Sauerstoffverbrauchswerten für die Messlösungen werden keine Mittelwerte berechnet sondern es wird aus beiden jeweils ein BSB-Wert ermittelt und daraus 2 verschiedene Abbaubarkeiten berechnet die beide als Ergebnis angegeben werden.

Der BSB berechnet sich nach folgender Formel:

$$BSB = \frac{A}{m_{\text{Testsubstanz}}}$$

Der BSB [mg/mg] ist hier als mg Sauerstoff pro mg eingesetzter Testsubstanz zu verstehen.

A = korrigierte Sauerstoffaufnahme der Messlösung:

$$A = m_{\text{O}_2} - b_m$$

m_{O_2} = Sauerstoffverbrauchswert der Messlösung

b_m = Mittelwert des Sauerstoffverbrauchs der Blindlösungen in [mg]

$m_{\text{Testsubstanz}}$ = Masse der Testsubstanz in der Messflasche in [mg]

$$m_{\text{Testsubstanz}} = c_{\text{Messlösung}} * V_{\text{MF}}$$

Mit

$c_{\text{Messlösung}}$ = Konzentration der Testsubstanz in der Messlösung
(hier 100 mg/l)

V_{MF} = Volumen der Messlösung in der Messflasche (hier 300 ml)

Berechnen Sie für jeden der beiden durch die Doppelbestimmung erhaltenen Sauerstoffverbrauchswerte einen BSB.

Sie erhalten also einen BSB_1 und einen BSB_2 , die gleichberechtigt nebeneinander stehen, solange sie der Bedingung genügen

$$|BSB_1 - BSB_2| < 0,1 * (BSB_1 + BSB_2)$$

Ist diese Bedingung nicht erfüllt, muss die Messung wiederholt werden.

Die biologische Abbaubarkeit D berechnet sich nach der Formel:

$$D = \frac{BSB}{ThSB} * 100 [\%]$$

Berechnen Sie für jeden der beiden BSB-Werte die biologische Abbaubarkeit. Die beiden Abbauwerte werden gleichberechtigt nebeneinander als Ergebnis angegeben.

Hinweis zur Stichhaltigkeit der Messung

Die Sauerstoffaufnahme der Blindlösung bewegt sich üblicherweise im Bereich von 20-30 mg/l und sollte in 28 Tagen einen Wert von 60 mg/l nicht übersteigen. Werte die darüber liegen sollten mit kritischem Blick auf die Vorgehensweise und die Daten überprüft werden. Im Zweifelsfall ist eine intensivere Aufbereitung des Animpfmateri als nach [1] zu empfehlen. Sollte der pH-Wert nach der Messung außerhalb des Bereiches von pH 6-8,5 liegen und gleichzeitig die Abbaubarkeit unter 60% betragen, so ist der Test mit einer geringeren Konzentration der Testsubstanz in der Messlösung zu wiederholen.

Ein absoluter Sauerstoffverbrauch von über 900 mg ist bei einem Messdurchgang in einer Flasche nicht zu überschreiten. Sollte der ThSB für die eingewogene Substanzmenge diesen Wert überschreiten, ist eine geringere Menge zu verwenden.

Literatur

[1] OECD Guideline for testing of Chemicals, Ready Biodegradability, 301F Manometric Respirometry, paragraphs 9 to 15, 1992

[2] Deutsche Einheitsverfahren für Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung ; Band 6 G-H ; Abschnitte H41 , H43 , H44 , H45 ; VCH

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
/ 183-100

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

E-Mail: TechInfo@xylemanalytics.com

Internet: <http://www.xylemanalytics.com>