



Bericht Nr. 4.61.162

Forschungsvorhaben gefördert von der
Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen

Entwicklung und Erprobung eines sensitiven Verfahrens zur zeitnahen Erfassung der biologischen Aktivität in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen

von

M. Kozariszczuk

M. Hubrich

B. Schmidt

G. Schaule

M. Strathmann

Schlussbericht

Förderkennzeichen: 15411 N

Düsseldorf, Januar 2010

VDEh-Betriebsforschungsinstitut GmbH

VDEh-Betriebsforschungsinstitut GmbH

15411 N / 2

IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für
Wasserforschung gemeinnützige GmbH

Name der Forschungsstelle(n)

AiF-Vorhaben-Nr. / GAG

01.11.2007 - 31.10.2009

Bewilligungszeitraum

Schlussbericht für den Zeitraum: 01.11.2007 bis 31.10.2009

zu dem aus Haushaltsmitteln des BMWA über die



geförderten IGF-Forschungsvorhaben

Forschungsthema: Entwicklung und Erprobung eines sensitiven Verfahrens zur zeitnahen Erfassung der biologischen Aktivität in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen

Düsseldorf, den 31.01.2010

Ort, Datum

Unterschrift der/des Projektleiter(s)
Forschungsstelle 1, BFI

Mülheim a. d. R., den 31.01.2010

Ort, Datum

Unterschrift der/des Projektleiter(s)
Forschungsstelle 2, IWW

VDEh-Betriebsforschungsinstitut GmbH

40237 Düsseldorf, Sohnstraße 65

**IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung gemeinnützige
GmbH**

45476 Mülheim an der Ruhr, Moritzstraße 26

Forschungsvorhaben gefördert von der
Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen

**Entwicklung und Erprobung eines sensitiven Verfahrens zur
zeitnahen Erfassung der biologischen Aktivität in
Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen**

von

Dr. M. Kozariszczyk

Dipl.-Ing. M. Hubrich

Dr. B. Schmidt

Dr. G. Schaule

Dr. M. Strathmann

Schlussbericht

Förderkennzeichen: 15411 N

Bericht Nr. 4.61.162

Zusammenfassung

In der Automobil-, chemischen, stahlerzeugenden und metallverarbeitenden Industrie sind Kühlwasser- und Emulsionskreisläufe ein wichtiger Bestandteil des Gesamtproduktionsprozesses. Das Wachstum von Mikroorganismen in diesen Kreisläufen kann zu Störungen und kostenintensiven Produktionsausfällen führen. Die Folgen des Wachstums von Mikroorganismen sind beispielsweise Biofilmbildung auf Oberflächen, Geruchsbildung sowie Abnahme der Kühl-/Schmierwirkung verbunden mit einer Verschlechterung der Produktqualität. Die Überwachung der mikrobiologischen Aktivität in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen erfolgt üblicherweise durch den Nachweis von Mikroorganismen auf unselektiven Nährböden mittels so genannter Dip-Slide-Tests. Diese erfassen nicht alle vorhandenen Mikroorganismen. Zwischen Probenahme und Vorlage des Ergebnisses liegen bis zu 5 Tage, so dass eine zeitnahe Reaktion nicht möglich ist. Dem entsprechend erfolgt eine zeitverzögerte Bioziddosierung bzw. eine präventive Biozidüberdosierung.

Ziel des Projektes war die Entwicklung eines Messverfahrens zur zeitnahen Bestimmung der biologischen Aktivität im Bereich Kühlwasser- und Emulsionskreisläufe durch Messung des Adenosintriphosphats (ATP)-Gehaltes in den Mikroorganismen.

Im Arbeitsschritt **(AS)1** erfolgten eine repräsentative Detailanalyse von 5 Kühlwässern und von 5 Emulsionen sowie eine Bestandsaufnahme an den entsprechenden betrieblichen Kreisläufen. Basierend auf den Ergebnissen wurde eine Übersicht über die Zusammensetzungen, die Inhaltsstoffe und die Schwankungsbreite der Zusammensetzung von Kühlwässern und Emulsionen erstellt. Hierbei wurden der Einsatz von Dip-Slide-Tests zur Kontrolle der biologischen Aktivität sowie die Verwendung der Biozide Chlor und Brom (Kühlwasser) sowie Formaldehyd abspaltender Verbindungen (Emulsionen) als gängige Praxis ermittelt.

Im **AS 2** wurden zur Überprüfung des Einflusses von Matrixbestandteilen der Kühlwässer und Emulsionen (Emulgatoren, Biozide u. a.) auf das Messverfahren Untersuchungen im Labormaßstab durchgeführt. Hierbei wurde festgestellt, dass die Einflüsse sehr vielschichtig sind und somit Störeinflüsse für die zu untersuchenden Kühlwässer und Emulsionen stets individuell betrachtet werden müssen.

Die Einführung eines Aktivitäts-Index zur Charakterisierung der mikrobiologischen Aktivität in Emulsions- und Kühlwasserkreisläufen, bestehend aus dem Quotienten aus ATP pro Zelle und Gesamtzellzahl, **(AS 3)** ermöglichte eine gute Wiedergabe der biologischen Belastung. Da die Gesamtzellzahl kein Routineparameter ist, wurde ein Belastungs-Index in Anlehnung an die bisher in der Praxis genutzten Schwellenwerte auf Dip-Slide-Basis erstellt. Dieser ermöglicht die Umstellung der bisher in der Praxis verwendeten Schwellenwerte auf das ATP-Messverfahren. Da jeder Kreislauf unterschiedliche Kreislaufparameter und Bakterienarten aufweist, ist jeweils eine separate Anpassung erforderlich.

Im Rahmen von Laborversuchen im **AS 4** wurde das neue Messverfahren mit 4 Kühlwässern sowie 3 Emulsionen anhand von nachgestellten Betriebszuständen erprobt. Bei den Kühlwässern wurde eine gute Übereinstimmung der berechneten biologischen Belastung auf Basis der ATP-Messungen mittels Hygiene-Überwachungssystem und Lu-

minometer ermittelt. Die berechneten biologischen Belastungen bestätigten die gemessenen Trends aus den Veränderungen der Koloniezahl (HPC), Dip-Slide-Tests und Gesamtzellzahl. Die Anwendbarkeit der ATP-Messung in Emulsionen ist möglich und die Messwerte entsprechen den Trends der biologischen Belastung (Gesamtzellzahl, Koloniezahl, Dip-Slide). Je nach Emulsion können sowohl das Hygiene-Überwachungssystem als auch das Luminometer eingesetzt werden.

Im **AS 5** wurde die Probenvorbereitung des ATP-Messverfahrens in Zusammenarbeit mit Geräte- bzw. Chemikalienherstellern optimiert. Hierdurch konnte die Anzahl der „Störadditive“ verringert und die Wiederfindungsraten erhöht werden.

Die betriebliche Demonstration zur Überprüfung der Laborergebnisse (**AS 6**) des neu entwickelten Messverfahrens erfolgte über einen Zeitraum von 9 Monaten an je einem ausgewählten Emulsions- und Kühlwasserkreislauf. Hierbei konnten bei unterschiedlichen Betriebszuständen die positiven Ergebnisse der Laborversuche bestätigt werden.

Der im **AS 7** erstellte Anforderungskatalog für die ATP-Messgerätehersteller berücksichtigt die Ergebnisse der Labor- und Betriebsversuche sowie die Bedürfnisse der industriellen Anwender. Diese sind u. a. eine einfache Handhabung des Messverfahrens, reproduzierbare Probevolumina und lagerstabile Reagenzien.

Zur Umsetzung der Ergebnisse in die betriebliche Praxis und die Umstellung der Überwachung der Kreisläufe von Dip-Slides auf das neue ATP-Messverfahren wurden jeweils eine Applikationsstrategie für einen Emulsions- und Kühlwasserkreislauf (**AS 8**) erstellt. Es ist für jedes System eine separate Applikationserstellung aufgrund von unterschiedlichen Kühlwasser-/Emulsionsinhaltsstoffen, Bakterienarten und Kreislaufparametern erforderlich. Des Weiteren erfolgte aufbauend auf den Ergebnissen die Erstellung einer Kosten-Nutzen-Analyse, die für einen Emulsionskreislauf in einem metallverarbeitenden KMU ein Einsparpotential von 32 % der Betriebskosten ergab.

Durch die Untersuchungen im Rahmen dieses Forschungsvorhabens konnte die betriebliche Anwendbarkeit des ATP-Messverfahrens zur zeitnahen Überwachung der biologischen Aktivität in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen nachgewiesen werden. Mit der Applikationserstellung besteht für die Betriebe die Möglichkeit zur direkten Anwendung der Forschungsergebnisse in der betrieblichen Praxis.

Die Ziele des Forschungsvorhabens wurde damit vollständig erreicht. Im Verlauf der umfangreichen Arbeiten haben sich Ansatzpunkte für eine mögliche Anwendung des neuen ATP-Messverfahrens in weiteren wasserbasierten Systemen wie Abschreckbädern in Härtereien und Schlichten in Gießereien sowie bei der Produktion wasserbasierter Lacke ergeben. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Einsatzgebiete und Anforderungen an die Funktionalität weisen die genannten wasserbasierten Systeme grundlegend andere chemische Zusammensetzungen als die im Forschungsvorhaben untersuchten Emulsionen und Kühlwässer auf.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungen	
1. Einleitung und wissenschaftlich-technische Problemstellung	1
2. Grundlagen und Stand der Technik	2
3. Forschungsziel und Lösungsweg	4
4. Detailanalyse verschiedener Kühlwässer und Emulsionen	5
4.1 Kühlwässer	8
4.2 Emulsionen	9
4.3 Betriebliche Überwachung der biologischen Belastung	10
5. Überprüfung des Einflusses von Matrixbestandteilen von Kühlwässern und Emulsionen	10
6. Einführung eines Aktivitäts-Index zur Charakterisierung der mikrobiologischen Belastung	14
7. Erprobung des neuen Messverfahrens in Laborversuchen	17
7.1 Laborversuche mit ölfreiem Kühlwasser	19
7.2 Laborversuche mit ölhaltigem Kühlwasser	20
7.3 Laborversuche mit Emulsionen	23
7.4 Zusammenfassung der Laborversuche	25
8. Optimierung des ATP-Messverfahrens	26
8.1 Optimierung der ATP-Messung mittels Hygiene-Überwachungssystem (Handgerät)	26
8.2 Optimierung der ATP-Messung mittels Luminometer (Laborgerät)	29
9. Betriebliche Demonstration des neu entwickelten Messverfahrens	31
9.1 Betriebliche Demonstration am Kühlwasserkreislauf	32
9.2 Betriebliche Demonstration am Emulsionskreislauf	34
10. Erstellung eines Anforderungskataloges	37

11.	Erstellung einer Applikationsstrategie	38
12.	Wissenstransfer zu kleinen und mittelständischen Unternehmen	42
13.	Zusammenfassung und Ausblick	43

Schrifttum

Tabellenanhang

Abkürzungen

KMU	Kleine und mittlere Unternehmen
ATP	Adenosintriphosphat
RLU	Relativ light unit
KBE	Koloniebildende Einheiten
GZZ	Gesamtzellzahl

1. Einleitung und wissenschaftlich-technische Problemstellung

In der Automobil-, chemischen, stahlerzeugenden und metallverarbeitenden Industrie sind Kühlwasser- und Emulsionskreisläufe ein wichtiger Bestandteil des Gesamtproduktionsprozesses [1], [4], [7], [28]. Das Wachstum von Mikroorganismen in diesen Kreisläufen kann zu Störungen und kostenintensiven Produktionsausfällen führen [3]. Die Folgen des Wachstums von Mikroorganismen sind beispielsweise Geruchsbildung sowie die Abnahme der Kühl-/Schmierwirkung verbunden mit einer Verschlechterung der Produktqualität [22], [23], [25], [27] und Biofilmbildung auf Oberflächen [2]. Hieraus resultieren in Wärmetauschern ein verringerter Wärmeübergang sowie bei Emulsionen kürzere Standzeiten verbunden mit größeren Abfallmengen und somit erhöhte Kosten für Entsorgung bzw. Neuanatz [8].

Zur Vermeidung eines starken und unkontrollierten Wachstums von Mikroorganismen werden üblicherweise Biozide eingesetzt. So werden in Deutschland ca. 3.500 t/a Biozide (z. B. Chlor-, Bromverbindungen) in offenen Kühlkreisläufen [5], [7] und ca. 40.000 t/a in Emulsionskreisläufen [6], [11] verwendet. Insgesamt ergeben sich Stoffeinsatzkosten von ca. 100 bis 150 Mio. €/a [9], [10], [12], [16]. Aufgrund der Unkenntnis der im Kreislaufsystem ablaufenden biologischen Prozesse wird Biozid in der Regel überdosiert. Die Ergreifung weiterer Maßnahmen erfolgt häufig viel zu spät, da die biologischen Prozesse nicht zeitnah überwacht werden können. Die Ursache dafür liegt in der derzeit gängigen Überwachung der mikrobiologischen Aktivität mittels Koloniezahlbestimmungsmethoden z. B. mit dem Test-Kit „Cult Dip-Slide“. Das Ergebnis des Tests liegt erst nach zwei bis fünf Tagen vor [17], [24]. Da das eingesetzte Biozid auf dem Dip-Slide nicht unwirksam wird, stellt das Ergebnis häufig einen Minderbefund dar. Die Folge ist eine unzureichende Kontrolle des Systems mit dem Risiko der Über- oder Unterdosierung von Bioziden. Eine zeitnahe, aussagekräftige mikrobiologische Messmethode eröffnet Einsparpotential (Biozidkosten, Standzeitverlängerung) und erhöht die Prozess- und Arbeitssicherheit. Des Weiteren werden nicht alle vorhandenen Bakterien über Kultivierungsmethoden wie beispielsweise Dip-Slide erfasst [37].

Ein Ersatz für die bestehende Koloniezahlbestimmungsmethode kann die Messung des Gehaltes an **Adenosin**triphosphat (ATP) darstellen. Der Gehalt an ATP in einem System ist ein Indikator für die mikrobiologische Aktivität aller Mikroorganismen.

Vorteile der ATP-Messung liegen:

- in der zeitnahen Messung (Messdauer ca. 5 Minuten),
- in den zu erwartenden geringen Kosten (geschätzte Gerätekosten < 3.000 €, Kosten pro Test < 2,5 €) und

- in der zu erwartenden hohen Praxistauglichkeit.

Zurzeit existiert kein Verfahren, das o. g. Vorteile für eine zeitnahe und genaue Ermittlung der biologischen Aktivität in Kühlwasser und Emulsionen aufweist.

Die Hauptvorteile für KMU bei einem Einsatz des ATP-Messverfahrens sind in der Senkung der Stoffeinsatzkosten durch verringerten Biozideinsatz, der Verlängerung der Standzeiten von z. B. Emulsionen sowie der Sicherung einer konstanten und guten Oberflächenqualität der Produkte zu sehen. Die Verringerung der Entsorgungsmenge und somit der Entsorgungskosten ist ein weiterer Vorteil.

Die Erfahrungen der Forschungsstellen, VDEh-Betriebsforschungsinstitut GmbH (BFI) und IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung gemeinnützige GmbH auf dem Gebiet der Mikrobiologie und dem Einsatz von Emulsionen in der stahl- und metallverarbeitenden Industrie wurden im Forschungsvorhaben miteinander verknüpft. Die in der interdisziplinären Zusammenarbeit entstandenen Synergien wurden genutzt, um ein sensitives Verfahren zur zeitnahen Erfassung der biologischen Aktivität in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen zu entwickeln.

2. Grundlagen und Stand der Technik

Gängige Praxis der Überwachung des mikrobiologischen Zustandes ist bei vielen Prozesswässern z. B. in der Eisen- und Stahlindustrie der Einsatz von Kultivierungsverfahren [12], [14], [16], [23]. Es handelt sich um bewährte Methoden, welche neben anderen ihren Platz bei der Auswahl der geeigneten Monitoringmethoden im Rahmen eines Hygienemanagements haben sollten. Hygiene in der Produktion mit der Anwendung von Hygienemanagementkonzepten wie HACCP, GMP, FMEA sind heute nicht mehr nur auf die Pharma- und Lebensmittelproduktion beschränkt [34], [35]. Hygiene in allen Produktionsbereichen wird Fehler verringern und Kosten einsparen. Im Rahmen der Einführung prozessorientierter Monitoringkonzepte sind geprüfte und geeignete Nachweismethoden notwendig [31], [32]. Neben den z. B. in der Lebensmittelindustrie erprobten Methoden:

- Messung der Atmungsaktivität der Mikroorganismen,
- Quantifizierung der enzymatisch aktiven Bakterien,
- Messung der Änderung der Leitfähigkeit (Impedanz-Methode),
- Chemolumineszenz- und Biolumineszenzverfahren,

sind wenige neue Messmethoden in der Entwicklung [36], [37]. So werden beispielsweise im Rahmen eines Forschungsvorhabens der deutschen gesetzlichen Unfallversicherung verschiedene kultivierungsabhängige und -unabhängige Verfahren zur mikrobiolo-

gischen Untersuchung von Kühlschmierstoffen erprobt. Ziel des Projektes ist die Entwicklung einer Methode auf der Grundlage der so genannten real-time-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis und zur Quantifizierung von Mykobakterien [37].

Die Methoden aus der Lebensmittelindustrie werden mit Bezug auf den Produktionsprozess angepasst [34]. Für den Bereich der Kühlwässer und Emulsionen sind diese Methoden prinzipiell anwendbar. Bekannt ist, dass sich die Quantifizierung der enzymatisch aktiven Bakterien seit ca. 10 Jahren bewährt hat. Allerdings sind die Gerätekosten mit 50.000 € bis 100.000 € sehr hoch. Die Kosten für die Messung einer Probe betragen bis zu Hunderten von Euro. Auch die Messung der Atmungsaktivität der Mikroorganismen erfordert Gerätekosten (Gaschromatograph) von ca. 60.000 €. Die Messung der Änderung der Leitfähigkeit (Impedanz-Methode) setzt voraus, dass die Bakterien sich verändern und die Matrix sich über einen langen Zeitraum hinweg kaum ändert. Beides sind Voraussetzungen, die bei Kühlwässern und Emulsionen nicht zutreffen [18].

Bei den gängigen Verfahren zur Erfassung der biologischen Belastung von Kühlwässern, wird nur ein Teil der Bakterien durch Kultivierungsmethoden (z.B. Dip-Slide Tests, HPC) oder anhand bestimmter Enzyme (z.B. Esterase) erfasst [19], [20] und nachgewiesen, **Bild 1**. Mittels Bestimmung der Gesamtzellzahl (Ermittlung der Bakterienzahl

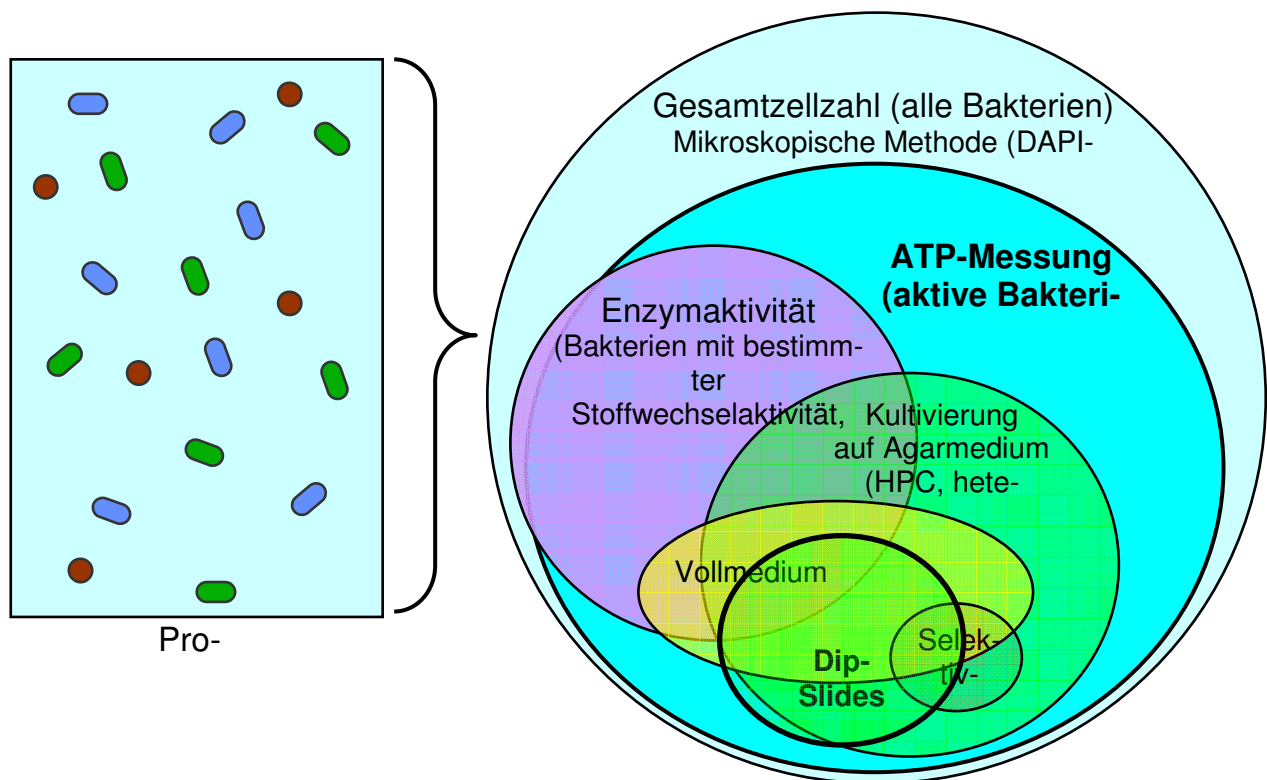


Bild 1: Methoden zur Beurteilung der biologischen Belastung

durch Anfärben und anschließender Auszählung unter einem Mikroskop) werden alle Bakterien erfasst. Diese Methode erlaubt jedoch keine Aussage über die Aktivität der Bakterien, da sowohl lebende als auch tote Bakterien erfasst werden.

Eine praxistaugliche, kostengünstige, sensitive Methode ist die ATP-Bestimmung (Chemolumineszenzverfahren). Sie beruht auf der Messung des universell in allen Zellen vorkommenden Moleküls Adenosintriphosphat (ATP) [33]. Für die meisten in Zellen ablaufenden Prozesse wird für chemische, osmotische oder mechanische Arbeit Energie benötigt. Diese Energie muss bereitgestellt werden. Dies geschieht über das Molekül ATP [29], [30]. Die Bindungen der drei Phosphatreste sind sehr energiereiche chemische Bindungen. Die Phosphate sind über so genannte Phosphoanhydrid-Bindungen (Säureanhydrid-Bindungen) miteinander verbunden. Werden diese Bindungen durch Enzyme hydrolytisch gespalten, entsteht das Adenosindiphosphat (ADP) bzw. das Adenosinmonophosphat (AMP). Dabei werden jeweils etwa 32,6 kJ/mol oder 64,3 kJ/kg Energie frei. Diese freiwerdende Energie ermöglicht die Arbeitsleistungen in den Zellen [33].

Das ATP-Messverfahren misst den Energiegehalt in Mikroorganismen. Hierzu werden alle Mikroorganismen chemisch aufgeschlossen und durch Zugabe des Enzyms Luziferase zum Fluoreszieren angeregt. Mit dem Luminometer erfolgt die Messung der Lichtintensität, die in direkter Relation zur biologischen Belastung steht. Vorteile der Messung des Energiegehaltes in Bakterien (ATP-Messverfahren) gegenüber den anderen Verfahren sind:

- zeitnahe Messung (Messdauer beträgt ca. 5 Minuten),
- geringere Kosten (geschätzte Gerätekosten < 3.000 €, Kosten pro Test < 2,5 €) gegenüber Alternativverfahren, Handgeräte sind auf dem Markt erhältlich,
- erwartete hohe Praxistauglichkeit,
- technisch einfach – geringe Personalschulung notwendig und
- erfolgreiche Anwendung in anderen Industriezweigen (Lebensmittel- und Pharma-Industrie).

3. Forschungsziel und Lösungsweg

Ziel des Projektes war die Entwicklung des ATP-Messverfahrens zur zeitnahen Bestimmung der biologischen Aktivität im Bereich Kühlwasser- und Emulsionskreisläufe. Hierzu wurde folgender Lösungsweg gewählt:

- AS1: Detailanalyse verschiedener Kühlwässer und Emulsionen; Messung der eingesetzten Biozide, mikrobiologischen Aktivität, Temperatur, Chlorid- und Nitritkonzentration und des pH-Wertes zur Bestimmung der Schwankungsbreite (BFI, IWW).
- AS2: Überprüfung des Einflusses von Matrixbestandteilen von Kühlwasser und Emulsionen (Emulgatoren, Biozide u. a.) in Laborversuchen auf das Messverfahren - Bestimmung möglicher Wechselwirkungen mit den Chemikalien des neuen Messverfahrens - Festlegung der Einsatzgrenzen des Messverfahrens (IWW).
- AS3: Einführung eines Aktivitäts-Index zur Charakterisierung der mikrobiologischen Aktivität in Emulsions- und Kühlkreisläufen – der Aktivitäts-Index wird über das Verhältnis von ATP-Konzentration und mikrobiologischer Aktivität definiert (IWW).
- AS4: Erprobung des neuen Messverfahrens in Laborversuchen mit betrieblichen Emulsions- und Kühlwasserproben – Bestimmung von mikrobiologischer Aktivität, Aktivitäts-Index, pH, Nitritkonzentration (BFI, IWW).
- AS5: Optimierung des ATP-Messverfahrens in Zusammenarbeit mit Geräte- und Chemikalienherstellern - Anpassung der Komponenten und des Verfahrensablaufs (IWW).
- AS6: Betriebliche Demonstration des neu entwickelten Messverfahrens zur Überprüfung der Laborergebnisse an ausgewählten Emulsions- und Kühlwasserkreisläufen, Ermittlung betrieblicher Einflüsse (Staub, Wärme, Erschütterung) auf die Praxistauglichkeit des Messverfahrens (BFI, IWW).
- AS7: Erstellung eines Anforderungskataloges für die Gerätehersteller basierend auf der Zusammenfassung der Ergebnisse (BFI, IWW).
- AS8: Erstellung der Applikationsstrategie für das neue Messverfahren (BFI, IWW).
- AS9: Ergebnis-Dokumentation und –Transfer (BFI, IWW).

4. Detailanalyse verschiedener Kühlwässer und Emulsionen

Im ersten Schritt wurde die Bestandsaufnahme und Detailanalyse (Zusammensetzungen und Betriebsbedingungen) von 3 ölfreien und 2 ölhaltigen Kühlwasserkreisläufen sowie von 5 Emulsionskreisläufen aus 5 Betrieben erfasst. Die genannten Kühlwässer und Emulsionen stellten einen repräsentativen Querschnitt dar, so dass auf zusätzliche Bestandsaufnahmen verzichtet werden konnte.



Kühlturm



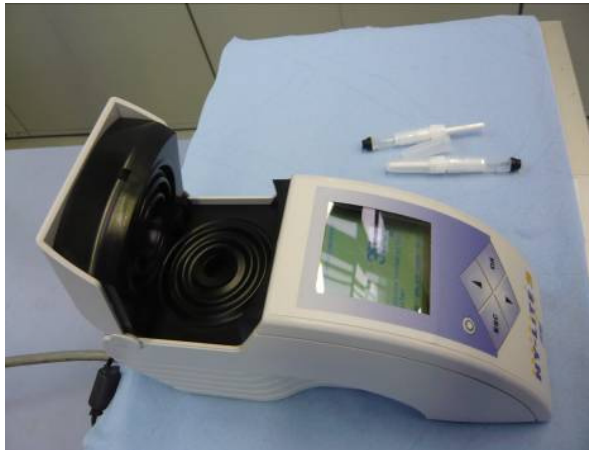
Mechanische Bearbeitung mit Emulsion

Bild 2: Betriebliche Kühlwasser- und Emulsionssysteme

Die Zusammensetzung der Kühlwässer und Emulsionen sowie die zugehörigen Betriebsbedingungen wurden kategorisiert, **Tabelle 1** und **2**. Des Weiteren wurden Hersteller von Emulsionen (Rhenus Lub) und Additiven (Ashland, Lubrizol, Thor) direkt oder über Institutionen wie z. B. das Kühlschmierstoffforum kontaktiert, um Informationen in Bezug auf Emulsionskomponenten zu vervollständigen, **Tabelle 3** und **4**. Zur Erfassung der betriebsbedingten Schwankungsbreite der Emulsions- und Kühlwasserzusammensetzungen wurde im Rahmen der Detailanalyse der mikrobiologische Zustand von der Fst. 2 (IWW) mittels folgender Parameter ermittelt:

- Gesamtzellzahl,
- Koloniezahl (mit Dip-Slide Test und HPC),
- ATP Gehalt.

Bei den anschließend durchgeführten ATP-Messungen in den Kühlwässern und Emulsionen wurde ein ATP-Handgerät (Hygiene-Überwachungssystem) und ein ATP-Laborgerät (Luminometer) eingesetzt, **Bild 3**.



ATP-Handgerät mit Pens
(Hygiene-Überwachungssystem)

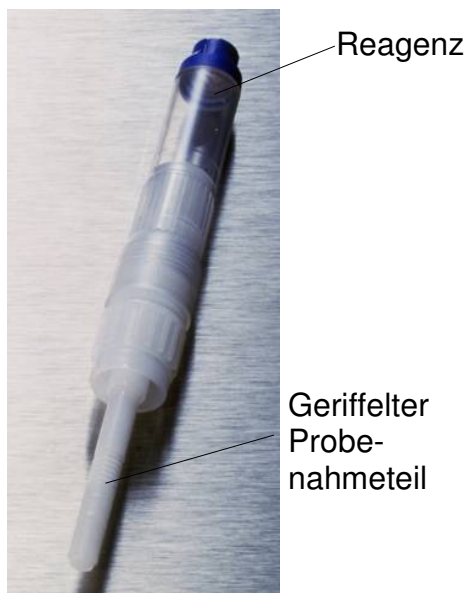


ATP-Laborgerät (Luminometer)

Bild 3: ATP Hand- und Laborgerät

Im Vergleich zum Hygiene-Überwachungssystem besitzt das Luminometer eine höhere Auflösung. Die Handhabung der Messgeräte stellt sich wie folgt dar. Beim **Hygiene-Überwachungssystem** wird ein Pen mit seinem geriffelten Ende in das Kühlwasser getaucht und die im Pen enthaltenen Reagenzien der Probe zugeführt. Die Probe wird geschüttelt und der Gesamt-ATP-Gehalt im Hygiene-Überwachungssystem gemessen,

Bild 4.



Pen vor Probenahme



Messung im ATP-Handgerät

Bild 4: ATP-Messung mit dem Handgerät (Hygiene-Überwachungssystem)

Das **Laborgerät** (Luminometer) erfordert eine umfangreichere Probenvorbereitung. Hierbei wird die Probe filtriert. Mikroorganismen, Partikel und ggf. Fett und Öl verbleiben auf dem Filter. Durch Zugabe einer Reagenz wird das ATP aus dem Filtrerrückstand ex-

trahiert und anschließend im Laborgerät bestimmt. Hierbei wird das in den Zellen gebundene ATP gemessen, **Bild 5**.



Bild 5: Probenvorbereitung zur Messung mit dem Laborgerät (Luminometer)

Parallel zur Bestimmung der biologischen Belastung erfolgte im BFI die Bestimmung folgender Parameter:

- chemische Zusammensetzung,
- Temperatur,
- Chloridkonzentration,
- Nitritkonzentration,
- pH-Wert.

Weiterhin wurden folgende relevante Betriebsdaten vom BFI ermittelt:

- Emulsionsinhaltsstoffe (z. B. Biozide),
- Kühlwasserinhaltsstoffe (z. B. Härtestabilisatoren, Korrosionsschutz, Inhibitoren, Biozide),
- Biozideinsatzmengen,
- Dosierintervalle der Biozide,
- Standzeiten,
- Pflegemaßnahmen (z. B. Filtration),
- eingesetzte Überwachungsverfahren (z. B. Dip-Slide-Tests) und
- Volumina der Kreisläufe.

4.1 Kühlwässer

Es zeigte sich, dass für gleiche Verfahren, wie z. B. das Gießen von Metall innerhalb eines Unternehmens unterschiedliche oxidierende Biozide (z. B. Chlor-Brom bzw. Was-

serstoffperoxid) und nicht oxidierende Biozide (verschiedene Thiazolinverbindungen) in abweichenden Intervallen eingesetzt wurden. Weit verbreitet ist der Einsatz von Natriumhypochlorid und Chlor-Brom-Tabletten als oxidierende Biozide bzw. Thiazolinverbindungen als nichtoxidierende Biozide sowie Phosphonsäureverbindungen als Stabilisatoren und Dispergatoren. Je nach Unternehmen gelten für die maximal zulässige biologische Belastung unterschiedliche betriebsinterne Grenzen zwischen 10^4 und 10^6 koloniebildende Einheiten (KBE)/ml (Bestimmung per Dip-Slide). Die Systemvolumen der Kühlwasserkreisläufe betragen zwischen 18 m^3 und 3.300 m^3 mit Volumenströmen von bis zu $5.500 \text{ m}^3/\text{h}$, **Tabelle 1**.

Die untersuchten Kühlwasserproben wiesen geringe bis erhöhte biologische Belastungen auf. Während bei den ölfreien Kühlwässern die biologische Belastung zwischen 10^3 KBE/ml und 10^4 KBE/ml lag, betrug diese bei den ölhaltigen Kühlwässern 10^5 KBE/ml bis 10^6 KBE/ml. Der pH-Wert lag im Bereich von 7,5 bis 8,6. Die gemessenen Kühlwassertemperaturen und Leitfähigkeiten betragen zwischen 18°C und 40°C bzw. $1.360 \mu\text{S}/\text{cm}$ und $1.600 \mu\text{S}/\text{cm}$ in Abhängigkeit von Jahreszeit und Prozess. Die ölfreien Kühlwässer wiesen geringe organische Belastungen zwischen $10 \text{ mg}/\text{L}$ und $50 \text{ mg}/\text{L}$ TOC auf, während die TOC-Konzentration der ölhaltigen Kühlwässer $50 \text{ mg}/\text{L}$ bis $100 \text{ mg}/\text{L}$ betrug.

4.2 Emulsionen

Bei der spanenden Bearbeitung (Drehen, Bohren, Fräsen) und Umformprozessen (Walzen, Ziehen) wurden Emulsionen mit einem durchschnittlichen Ölgehalt von 3 %, bei schwerer Bearbeitung (z. B. Schleifen) bis 10 % eingesetzt. Zur Minimierung der biologischen Belastung werden unterschiedliche Pflegemaßnahmen wie z. B. die Entfernung von Feststoffen (Schmutz, Schwebstoffe, Abrieb) durch Filtration, Magnetabscheidung und Zentrifugation eingesetzt, **Tabelle 2**. Je nach Produktionsprozess und biologischer Belastung wurden nicht oxidierende Biozide in der Dosis von 0,05 bis 0,2 %, bezogen auf das Emulsionsvolumen zugegeben. Bei den Bioziden handelt es sich primär um Formaldehyd abspaltende bzw. Isothiazolin-Verbindungen. Die Bioziddosierung erfolgt oftmals produktionsunabhängig wöchentlich bis monatlich und wird als Stoßdosierungen ausgeführt. Bei Bedarf erfolgt die Dosierung von Fungiziden zur Pilzbekämpfung. In einem metallbearbeitenden Betrieb variieren die Biozideinsatzmengen zwischen 0,1 % und 1,6 % bei einem Systemvolumen zwischen 3 m^3 und 200 m^3 .

Bei den Emulsionen konnte eine biologische Belastung zwischen 10^5 KBE/ml bis 10^6 KBE/ml ermittelt werden. Die Gesamtzellzahlen (GZZ) betragen bis zu 10^9 Zellen/ml. Auffällig war bei Emulsion 3, dass trotz einer GZZ von 10^7 Zellen/ml nur 10^2 KBE/ml per HPC bzw. keine biologische Belastung per Dip-Slide nachgewiesen werden konnte.

Dies war auf die Konservierung der Emulsion mit hohen Biozidmengen während eines längerfristigen Betriebsstillstandes zurückzuführen. Die pH-Werte der Emulsionen lagen im alkalischen Bereich zwischen 8,7 und 9,1. Die Emulsionen wiesen Temperaturen zwischen 20 °C und 30 °C bzw. und Leitfähigkeiten zwischen 3.400 µS/cm und 6.200 µS/cm auf. Die KW-Gehalte der Emulsionen betragen 3.300 mg/ bis 6.400 mg/L in Abhängigkeit vom Produktionsprozess.

4.3 Betriebliche Überwachung der biologischen Belastung

In den untersuchten Kühl- und Emulsionskreisläufen erfolgt die Überwachung der biologischen Aktivität i.d.R. einmal wöchentlich mittels Dip-Slide Test durch den Betrieb bzw. monatlich durch den Kühlwasser- bzw. Emulsionschemikalienlieferanten. Hierbei wurden in den Kühlwasserkreisläufen spezielle Analysen durchgeführt und neben der Koloniezahl der Gehalt an Pilzen, Hefen und speziellen Bakterien (Schleimbildner, Sulfat-reduzierer) ermittelt. In Emulsionskreisläufen wurden zusätzlich folgende Parameter gemäß berufsgenossenschaftlicher Richtlinie BGR 143 [17] ermittelt:

- pH-Wert,
- Leitfähigkeit,
- Temperatur,
- Nitrit,
- KW-Gehalt,

und eine optische sowie sensorische Charakterisierung der Probe (Geruch, Färbung) durchgeführt. Diese ermöglichten einen indirekten Rückschluss auf eine erhöhte biologische Aktivität.

5. Überprüfung des Einflusses von Matrixbestandteilen von Kühlwässern und Emulsionen

An der Forschungsstelle 2 (IWW) wurden im Berichtszeitraum im Rahmen des Arbeitsschritts 2 Untersuchungen zum Einfluss typischer Inhaltsstoffe (Biozide, Dispergatoren etc.) in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen sowie die Etablierung und Validierung der ATP-Messmethode durchgeführt. Kalibrierungsmessungen wurden mit den beiden im Rahmen des Projekts beschafften ATP-Messgeräten (Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer) durchgeführt. Hierbei war es zunächst erforderlich, ein standardisiertes Messprotokoll zu erstellen, um reproduzierbare Werte zu erhalten. Außerdem wurde der anwendbare Messbereich der Geräte ermittelt. Dabei zeigte sich, dass die verwendeten ATP-Messgeräte und die verschiedenen zur Erprobung eingesetzten ATP-Rea-

genzien dazu geeignet sind, ATP in den relevanten Konzentrationsbereichen nachzuweisen, **Bild 6**.

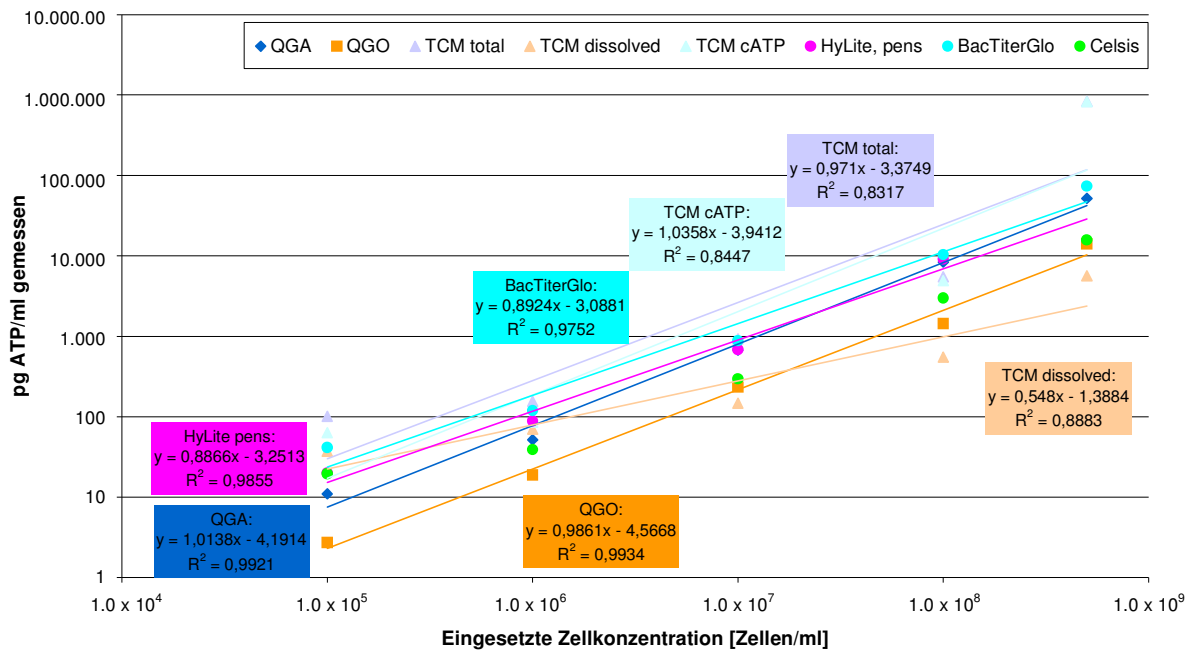


Bild 6: Linearität der eingesetzten ATP-Messverfahren

Bei den Validierungsmessungen wurden festgestellt, dass die Lumineszenz-Messreaktion für die ATP-Bestimmung empfindlich auf methodische Abweichungen reagiert. Mess- und Inkubationszeiten müssen daher standardisiert werden.

Zur Beurteilung des **Einflusses der möglichen Additive** wurden zunächst in Zusammenarbeit mit der Fa. Ashland eine Auswahl der typischen und häufig eingesetzten Additivgruppen aufgestellt und repräsentative Substanzen ausgewählt. Insgesamt wurden 21 Produkte hinsichtlich ihres Einflusses auf die ATP-Messung getestet, **Tabelle 5** und **6**.

Im Ergebnis wurde festgestellt, dass die untersuchten Additive einen Einfluss auf die Enzymreaktion der ATP-Messung haben, **Bild 7**. Es wurden Wiederfindungsraten zwischen 30 % und 153 % ermittelt. Bei 15 der 21 untersuchten Stoffe lag die Wiederfindungsraten zwischen 80 % und 120 %. Es wurde ferner festgestellt, dass die verschiedenen eingesetzten ATP-Messverfahren (Merck HyLite, Aqua-Tools QGA, Promega BacTiter) unterschiedlich auf die Additive reagieren.

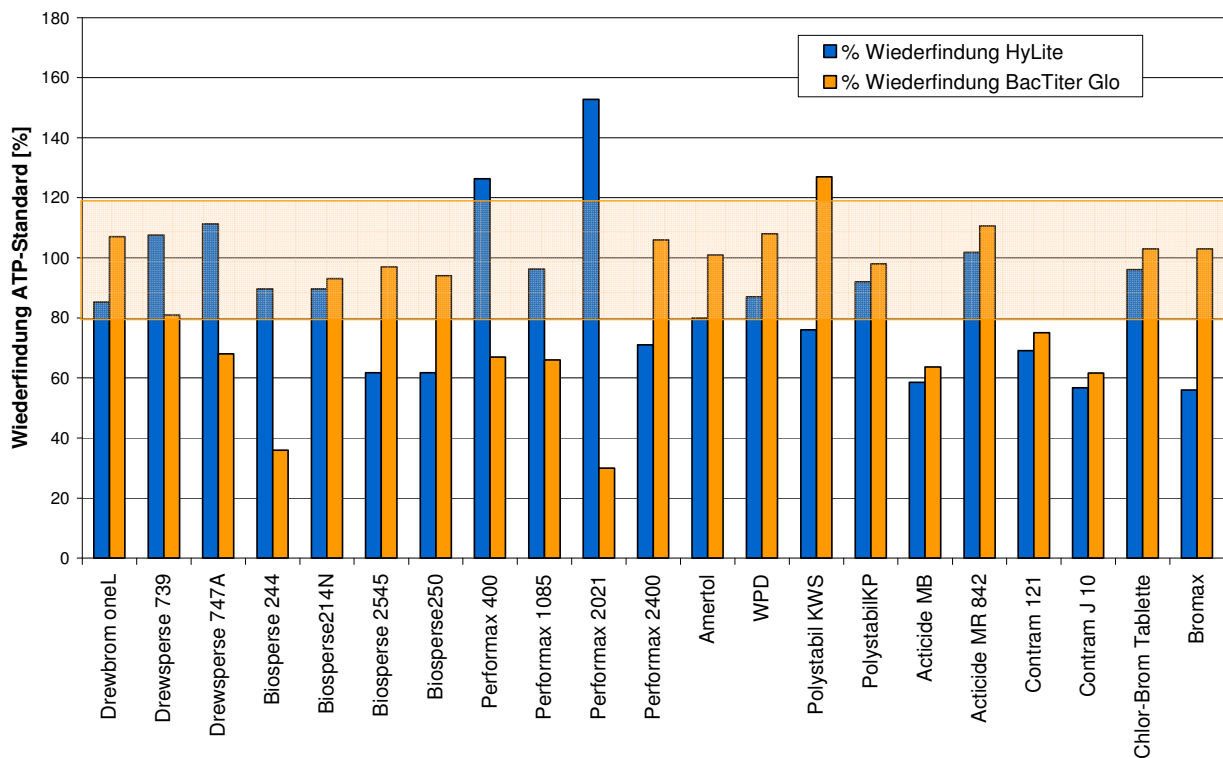


Bild 7: Auswirkung ausgewählter Additive auf die ATP-Messreaktion

Zusätzlich wurde der **Einfluss des pH-Werts** der untersuchten Probe auf die ATP-Messreaktion untersucht, da einige der eingesetzten Additive den pH-Wert verändern können und Schwankungen des pH-Werts im Betrieb von Kühl- und Emulsionskreisläufen auftreten können, **Bild 8**. Die unterschiedlichen RLU-Werte für die 4 untersuchten

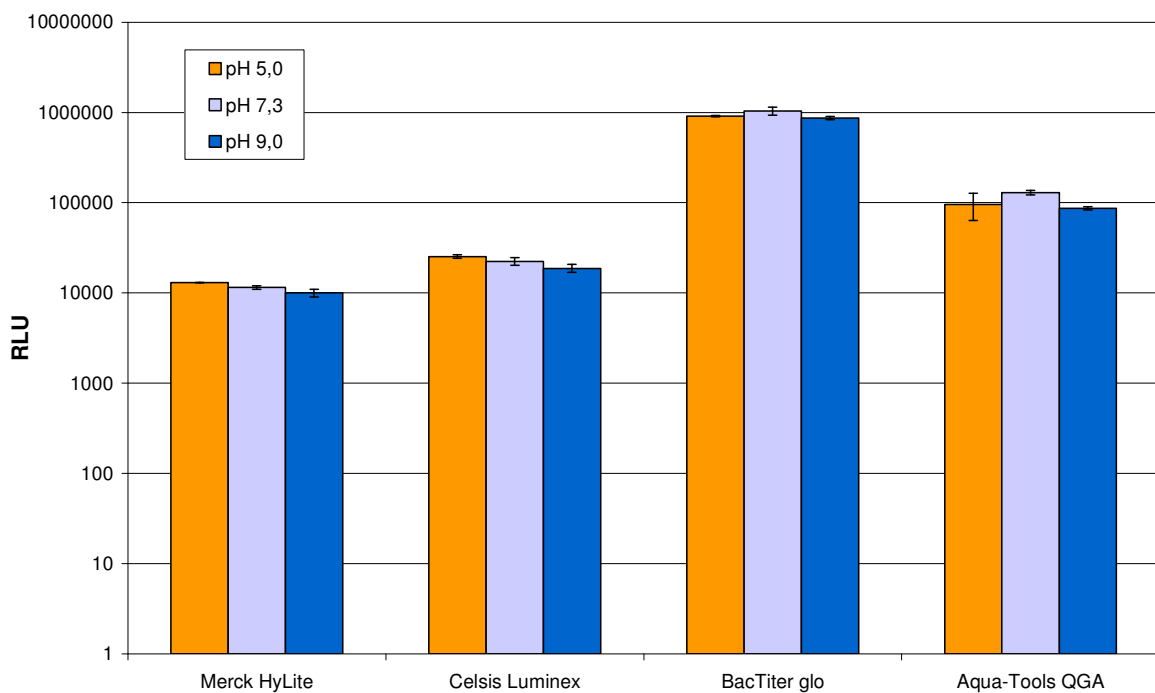


Bild 8: Auswirkung des pH-Werts der Probe auf die ATP-Messreaktion

ATP-Messkits sind auf die unterschiedlichen Reagenzien und die Empfindlichkeiten der verwendeten Messgeräte zurückzuführen. Zu betrachten sind jeweils die Abweichungen bei den 3 untersuchten pH-Werten je Messkit. Hierbei wurde eine nur geringe Beeinflussung der Messwerte innerhalb der methodischen Schwankung der Messverfahren festgestellt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die ATP-Messreagenzien in den verwendeten Kits entsprechend gepuffert sind und sich daher bei der Enzymreaktion ein einheitlicher pH-Wert einstellt.

Bei Kenntnis der im Kühlwasser oder Kühlschmierstoff eingesetzten Additive ist es daher möglich, ein ATP-Messverfahren auszuwählen, welches nur geringfügig durch die Wasserinhaltsstoffe gestört wird. Es ist somit möglich, die ATP-Bestimmung zum Monitoring der mikrobiellen Aktivität in Kühlwässern und Kühlschmiermitteln einzusetzen. Hierzu ist aber eine Kenntnis der verwendeten Additive nötig. Außerdem konnte durch eine Optimierung der ATP-Messverfahren die Beeinflussung der ATP-Messung durch Additive reduziert werden (siehe hierzu: Arbeitspunkt „Optimierung des ATP-Messverfahrens“, Kapitel 8).

Für die Überprüfung des Störeinflusses bei der ATP-Messung von realen Proben aus Kühl- und Emulsionskreisläufen wurden auf Basis der dargestellten Ergebnisse zur ATP-Methode Aufstockungsversuche durchgeführt. Hierdurch sollte der Einfluss der Matrixkomponenten auf die ATP-Bestimmung ermittelt werden. Wie exemplarisch an einem Beispiel gezeigt, **Bild 9**, hat die Probenmatrix einen Einfluss auf die ATP-Messwerte.

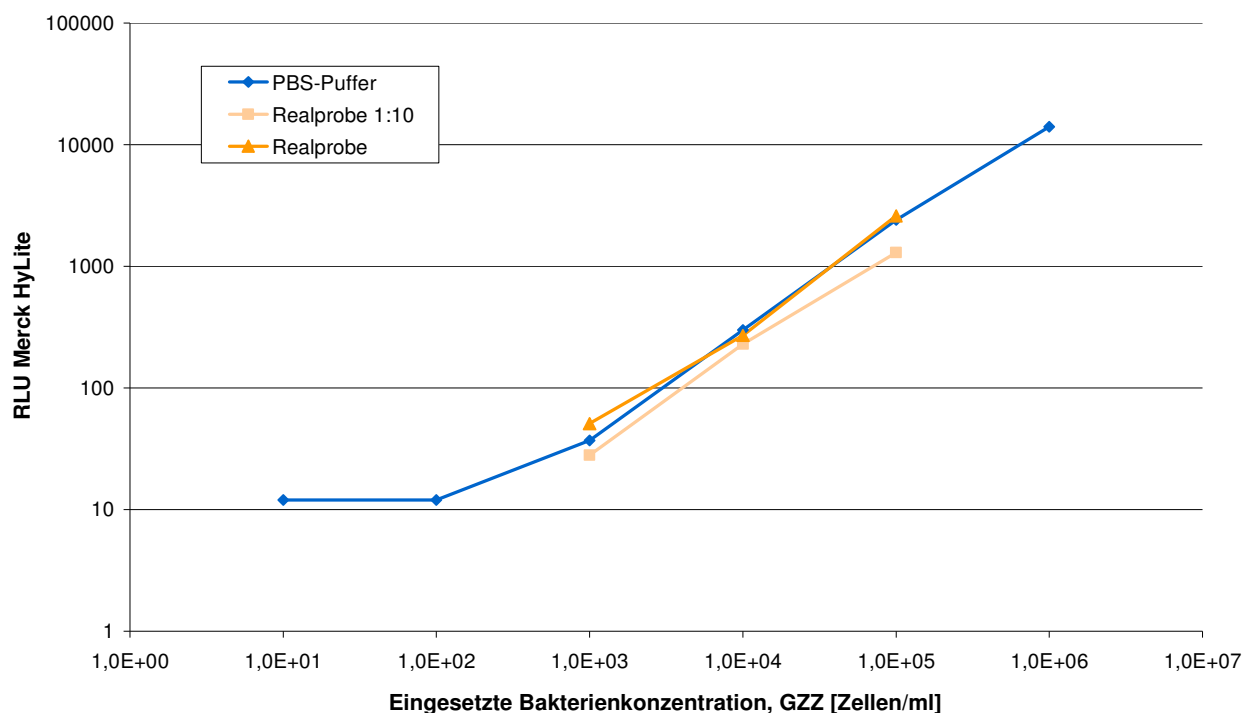


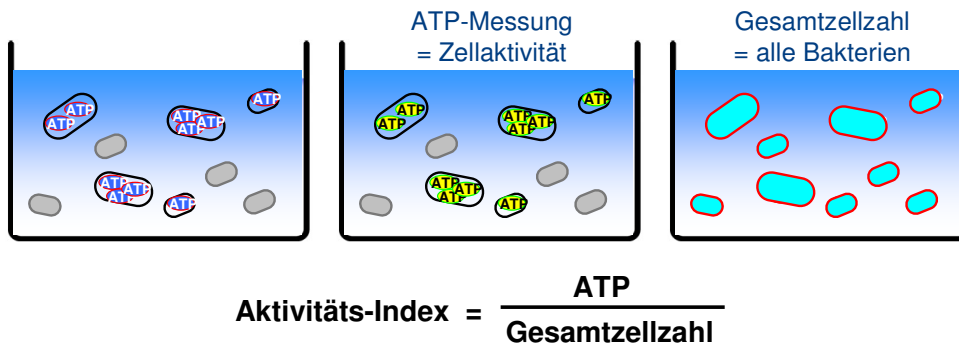
Bild 9: Aufstockungsversuch einer realen Probe aus einem Industriebetrieb mit *P. fluo rescens*

Die Beeinflussung ist im Rahmen der methodischen Messwertschwankungen als gering einzustufen. Im dargestellten Fall lässt sich die mikrobiologische Kontamination im linearen Messbereich von ca. 10^3 bis 10^5 Zellen/ml auch in Gegenwart der Probenmatrix bestimmen.

6. Einführung eines Aktivitäts-Index zur Charakterisierung der mikrobiologischen Belastung

Zur Einstufung der biologischen Belastung und der Möglichkeit eines Vergleiches verschiedener Zustände von Emulsionen und Kühlwässern sollte ein so genannter **Aktivitäts-Index** eingeführt werden (**Bild 10**).

Beurteilung der Aktivität der Bakterien durch den Quotienten ATP pro Zelle (ATP/Gesamtzellzahl) → **Aktivitäts-Index**



Berücksichtigt wird:

- Anteil der lebenden Zellen
- physiologischer Zustand (Ernährungszustand, Stoffwechsellistung, etc.)

Bild 10: Schematische Darstellung zur Bestimmung des Aktivitäts-Index

Dieser Index sollte sich an den bisher in der Praxis eingesetzten „Ampel-artigen“ Konzentrationsbereichen mittels Dip-Slide Test zur Definition von Normalzustand (grün), Warnbereich (gelb) und Handlungsbedarf (rot) orientieren.

Im Berichtszeitraum erfolgten am IWW eine Korrelation der Gesamtzellzahl- und ATP-Ergebnisse aller untersuchten Proben aus der Bestandsaufnahme und den Alterungsversuchen sowie eine Bestimmung des daraus berechneten ATP-Aktivitäts-Index. Die Bilanzierung des ATP-Gehalts pro Zelle ergab Werte zwischen 0,03 und 3,4 fg ATP/Zelle. In der Literatur wird von durchschnittlich 1 fg ATP/Zelle ausgegangen, dies hängt aber vom physiologischen Zustand der Bakterien (Nährstoffangebot, Stress durch Biozidzugabe, etc.) ab.

Aus praktischen Gesichtspunkten hat sich dieser Aktivitäts-Index als nicht geeignet erwiesen, um eine mikrobiologische Kontamination von Kühl- und Emulsionskreisläufen zu

bewerten. Dies liegt zum einen daran, dass die Gesamtzellzahl in der Praxis nicht routinemäßig bestimmt wird.

Aus diesem Grund wurde abweichend vom bzw. in Ergänzung zum im Antrag beabsichtigten Aktivitäts-Index ein „**Belastungs-Index**“ definiert. Es erfolgte hierzu eine Korrelation der Dip-Slide- und ATP-Ergebnisse aller untersuchten Proben aus der Bestandsaufnahme und den Alterungsversuchen, um eine Transponierung der bisherigen Dip-Slide-Aktivitätsbereiche in einen ATP-Belastungs-Index, **Bild 11**, zu ermöglichen. Die Eignung des Belastungs-Index wurde anhand von Praxisdaten aus Probenanalysen, Laborversuchen und betrieblicher Demonstration überprüft (AS 1 und AS 4). Zusätzlich erfolgte eine Bilanzierung der ATP-Aktivität über das Verhältnis von ATP-Konzentration und Gesamtzellzahl (mikrobiologische Belastung durch Bakterien), um die physiologische Aktivität der Bakterien zu beurteilen.

DipSlides	Status	ATP
< 10 ⁵ KBE/ml	OK	?
10 ⁵ – 10 ⁶ KBE/ml	Warnbereich	?
> 10 ⁶ KBE/ml	akuter Handlungsbedarf	?

Bild 11: Problem der Umsetzung der in der Praxis bestehenden Ampelbereiche

Im Ergebnis wurde für die untersuchten Kühlwasser- und Emulsionskreisläufe eine Korrelation zwischen den Dip-Slide-Ergebnissen und den ATP-Messungen hergestellt. Dies ermöglichte im Einzelnen eine Umsetzung der Dip-Slide-Richtwerte (< 10⁵ KBE/ml, 10⁵ bis 10⁶ KBE/ml, > 10⁶ KBE/ml) in einen ATP-Index. Zwei Beispiele für eine solche Umsetzung sind in **Bild 12** und **Bild 13** gezeigt.

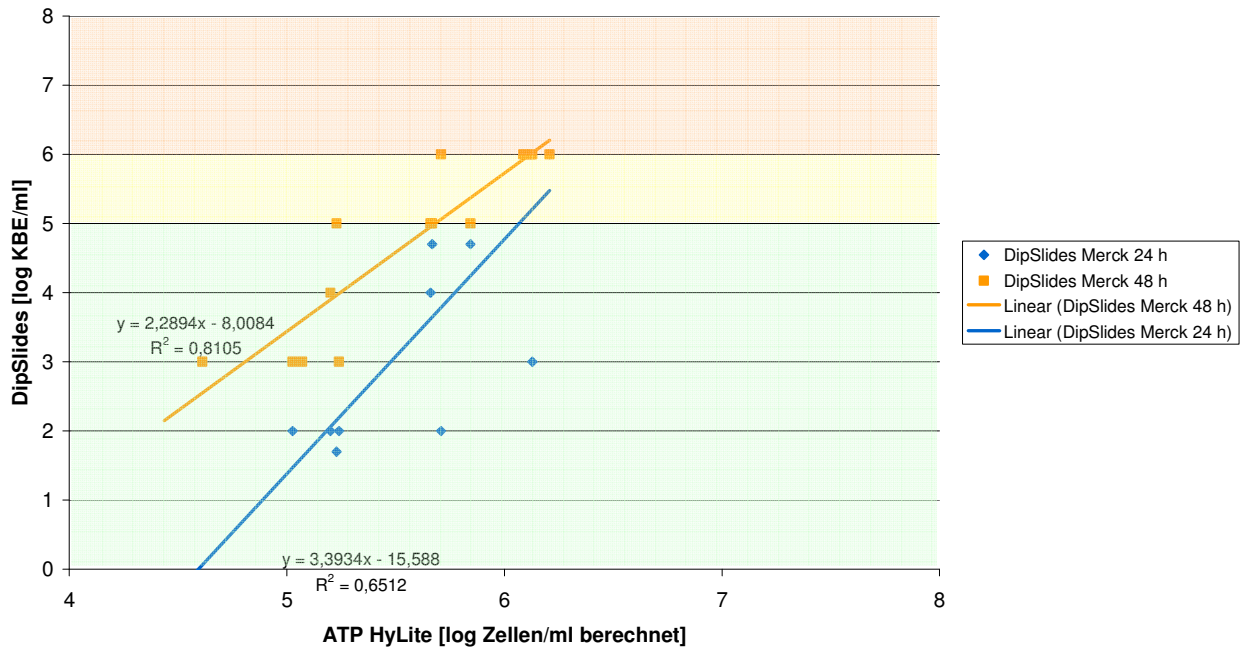


Bild 12: Umsetzung der Dip-Slide-Ampel in einen ATP-Belastungsindex am Beispiel eines Kühlwassers

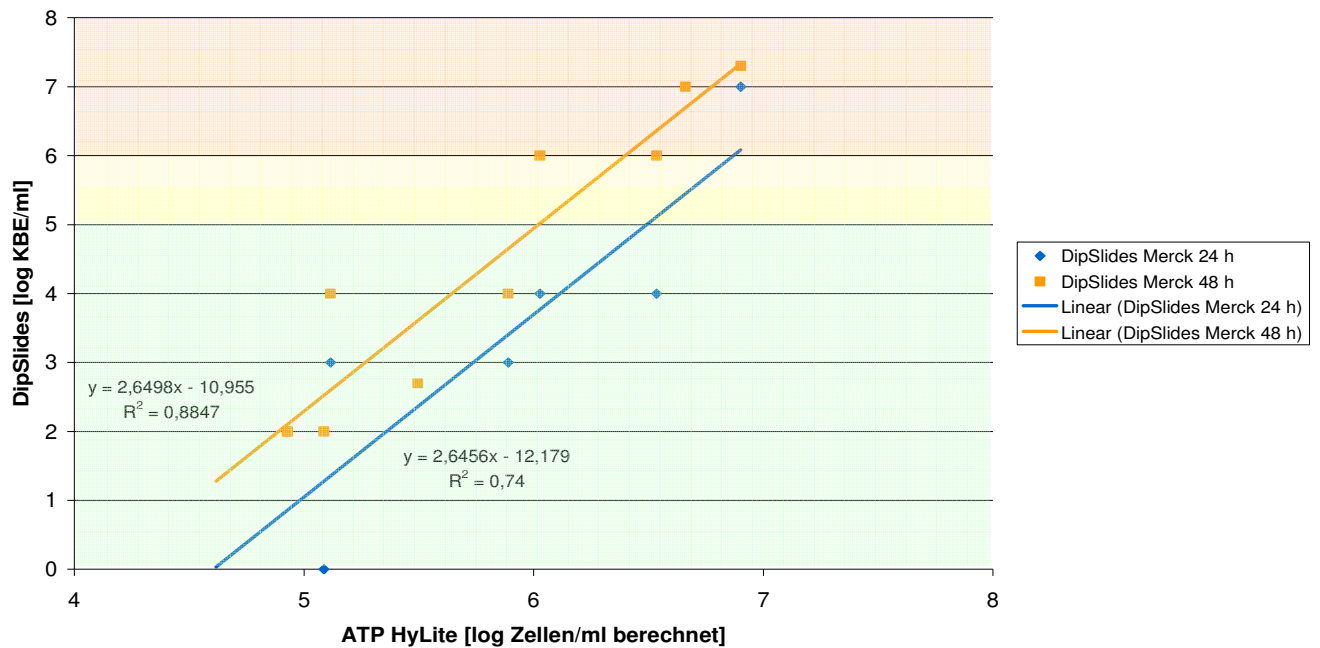


Bild 13: Umsetzung der Dip-Slide-Ampel in einen ATP-Belastungsindex am Beispiel einer Emulsion

Es hat sich dabei gezeigt, dass diese Erstellung eines ATP-Belastungs-Index nur systembezogen erfolgen kann. In Abhängigkeit von der bakteriellen Biozönose und des physiologischen Zustandes sowie der Wasserinhaltsstoffe ist insbesondere das Ergebnis der Dip-Slide Test sehr systemspezifisch. Der mittels Dip-Slide erfasste Anteil der mikrobiellen Belastung kann dabei in der Praxis zwischen ca. 1 % und 80 % der Ge-

samtzellzahl schwanken. Die mittels ATP-Messung ermittelte Aktivität erfasst im Gegensatz alle in der Probe vorhandenen aktiven Zellen, wobei hierbei auch eine Abhängigkeit der mikrobiologischen Aktivität von den jeweiligen Lebensbedingungen besteht. Eine Umsetzung der Dip-Slide-Grenzwerte in einen ATP-Belastungs-Index wurde im Rahmen der Bestandsaufnahme, der Laborversuche und der betrieblichen Demonstration jeweils exemplarisch durchgeführt und hat sich dabei als praktikabel erwiesen.

7. Erprobung des neuen Messverfahrens in Laborversuchen

In systematischen Laborversuchen des BFI wurden

- 2 ölfreie Kühlwässer,
- 2 ölhaltige Kühlwässer und
- 3 Emulsionen

in der BFI-Versuchsanlage zur Simulation von betrieblichen Bedingungen über einem Zeitraum von 6 Wochen gezielt „gealtert“ und biologisch belastet, **Bild 14**. Hierbei wurden folgende betriebliche Bedingungen nachgestellt:

- intensiver Luftkontakt (Verdüsen),
- Eintrag von Nährstoffen (Zugabe Nährlösung),
- Hydrauliköleinbruch (Zugabe Polyethylenglykol),
- pH-Wert-Schwankungen (pH-Einstellung),
- Eindickung (Anhebung der Leitfähigkeit durch Zugabe von NaCl-Lösung),
- Temperaturschwankungen,
- Bioziddosierung.

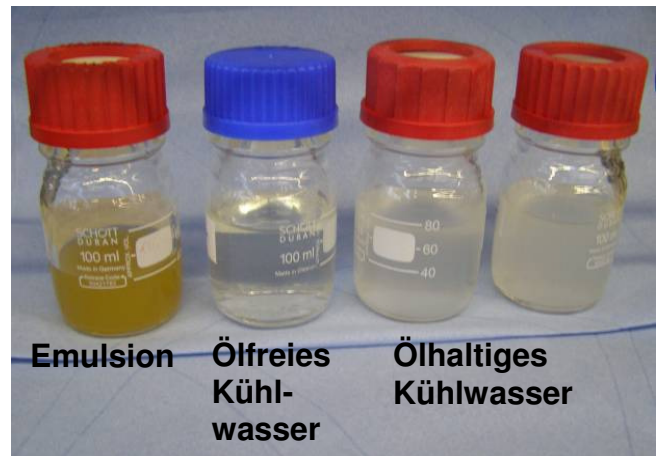


Bild 14: BFI-Laborversuchsanlage zur Alterung von Emulsionen und Kühlwässern mit Proben

Zur Bestimmung des Einflusses o. g. betrieblicher Bedingungen auf die Emulsionen und Kühlwässer wurden folgende Parameter erfasst: pH-Wert, Nitritkonzentration, ATP-Gehalt (Messung mit Hygiene-Überwachungssystem (Handgerät, **Bild 15**) und Labor-Luminometer), Gesamtzellzahl, Gesamtkoloniezahl, Dip-Slides, **Tabelle 7**.

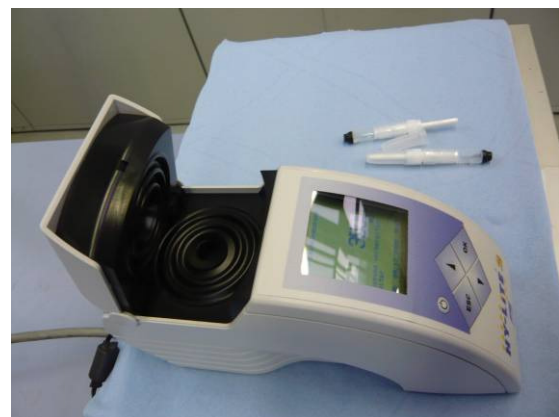


Bild 15: ATP-Messung in Proben aus der BFI-Laborversuchsanlage mit dem Hygiene-Überwachungssystem

7.1 Laborversuche mit ölfreiem Kühlwasser

Bei der Erprobung des neuen ATP-Messverfahrens wurden für das **ölfreie Kühlwasser I** die Betriebszustände Temperaturverringerung, Eindickung (Anhebung der Leitfähigkeit) und Eintrag von Organik nachgestellt, **Bild 16**.

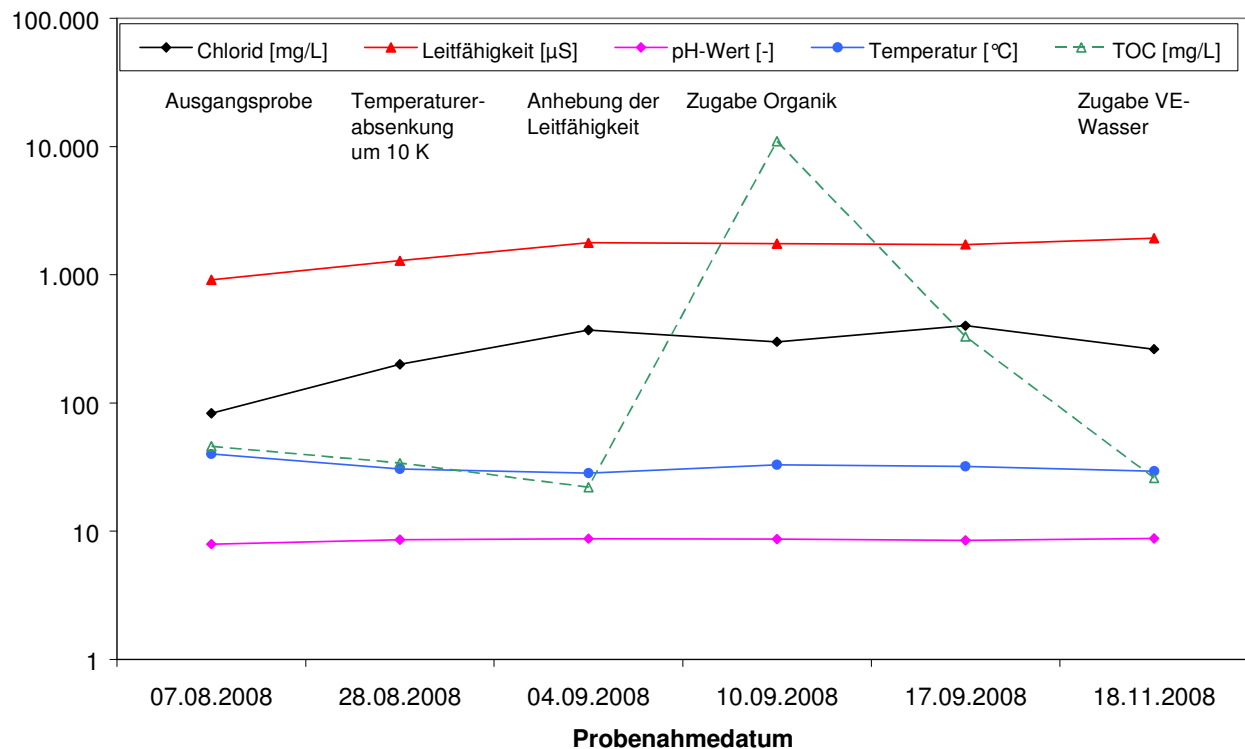


Bild 16: Kühlwasserveränderungen bei der Untersuchung der Auswirkung verschiedener Betriebszustände auf die biologische Belastung und ATP-Messung (ölfreies Kühlwasser I)

Die betriebliche Kühlwasserprobe (Ausgangsprobe) wies eine geringe bis mittlere biologische Belastung auf (GZZ: 10^6 Zellen/ml; HPC 10^4 KBE/ml, Dip-Slide I/II 10^3 KBE/ml bis 10^4 KBE/ml). Bei Anwendung des neuen Messverfahrens mit dem Hygiene-Überwachungssystem bzw. deren Luminometer wurde eine um Faktor 10 höhere biologische Aktivität im Vergleich zum Dip-Slide Test ermittelt (4×10^5 KBE/ml bzw. $2,7 \times 10^5$ KBE/ml). In den Versuchen zeigte sich, dass die Temperatur bei ölfreien Kühlwässern keinen Einfluss auf die ATP-Messung besitzt. Im Versuch wurde die Temperatur von 40°C auf 30°C verringert, was zu einem Anstieg der GZZ und der KBE/ml gemessen mit HPC und Dip-Slide Test I um eine log Stufe führte. Beim Dip-Slide Test II blieb der Wert konstant bei 10^4 KBE/ml. Die berechnete biologische Aktivität, gemessen mit dem Hygiene-Überwachungssystem, verringerte sich von 4×10^5 KBE/ml auf 1×10^5 KBE/ml. Die Erhöhung der Leitfähigkeit um $500 \mu\text{S/cm}$ auf $1.700 \mu\text{S/cm}$ führte zu keiner Änderung. Im nächsten Schritt wurde der Eintrag von Organik in den Kühlkreislauf durch die Zugabe von Methanol nachgestellt und der TOC-Gehalt des Kühl-

wassers um 10.000 mg/l erhöht. Dies führte zu einem geringfügigen Anstieg der berechneten biologischen Aktivität von 1,0 auf 1,3 10^5 KBE/ml, **Bild 17**.

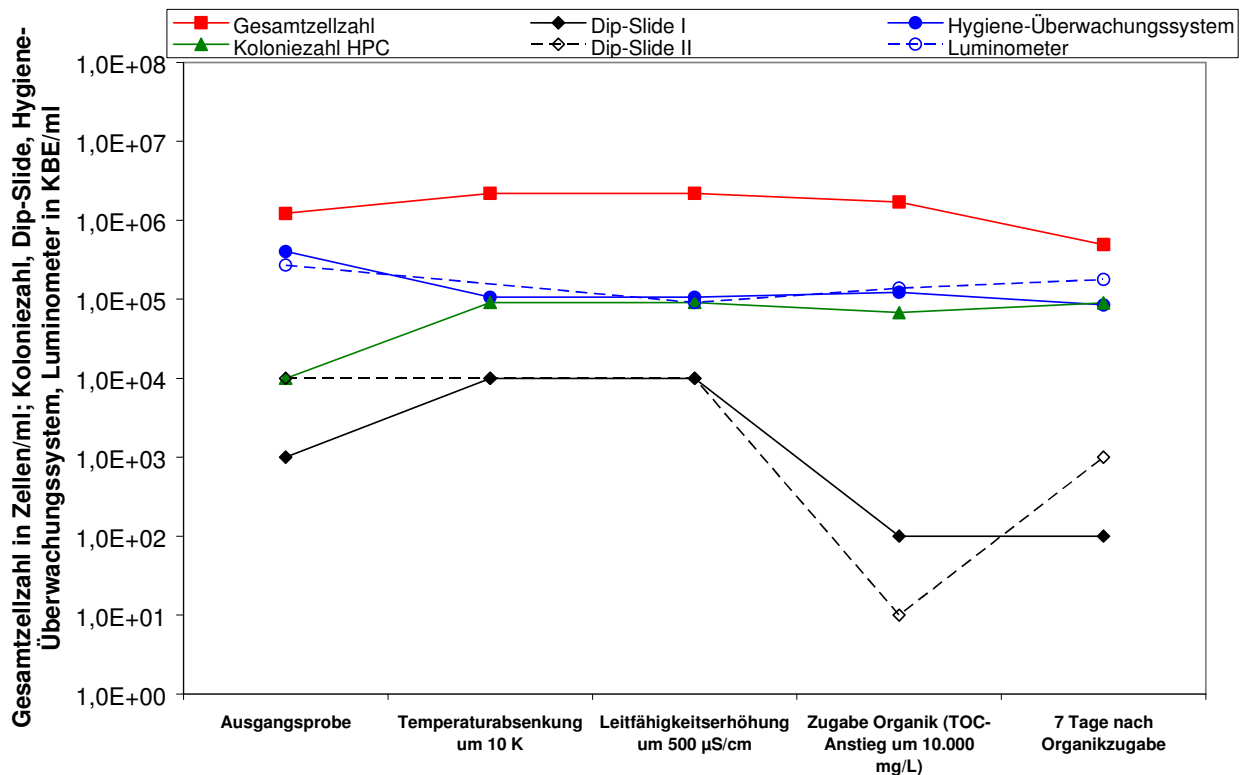


Bild 17: Auswirkung verschiedener Betriebszustände auf die biologische Belastung und ATP-Messung (ölfreies Kühlwasser I)

Im Gegensatz hierzu war bei Anwendung der Dip-Slide Tests eine Verringerung der biologischen Belastung von 2 bzw. 3 log Stufen auf 10^2 KBE/ml (Dip-Slide Test I) bzw. 10^1 KBE/ml (Dip-Slide Test II) festzustellen. Nach 7 Tagen war eine Abnahme der GZZ von 1×10^6 auf 5×10^5 Zellen/ml festzustellen. Parallel hierzu nahm bei Messung mit dem Hygiene-Überwachungssystem die berechnete biologische Aktivität von $1,3 \times 10^5$ KBE/ml auf $8,9 \times 10^4$ KBE/ml ab. Die Werte des Luminometers blieben nahezu konstant. Per Dip-Slide Test konnten 10^2 KBE/ml (Dip-Slide Test I) bzw. 10^3 KBE/ml (Dip-Slide Test II) ermittelt werden.

Wie die Versuche gezeigt haben, konnte sowohl mit dem Hygiene-Überwachungssystem als auch mit dem Luminometer in ölfreien Kühlwässern die biologische Belastung gemessen werden. Die Messwerte der beiden Geräte wiesen nur geringe Abweichungen (1/3 log Stufe) auf.

7.2 Laborversuche mit ölhaltigem Kühlwasser

Mit dem ölhaltigen Kühlwasser I wurde im ersten Schritt ein Anstieg der Kühlwassertemperatur um 10 K auf 30 °C nachgestellt. Die Messungen per Dip-Slide Tests zeigten

keine Veränderung und blieben bei 10^4 bzw. 10^5 KBE/ml. Die Gesamtzellzahl blieb ebenfalls konstant bei $1,5 \times 10^7$ Zellen/ml. Es war jedoch eine Abnahme der biologischen Aktivität anhand der Messung mit dem Hygiene-Überwachungssystem und dem Luminometer messbar. Die berechnete biologische Aktivität verringert sich von $8,6 \times 10^6$ KBE/ml auf $2,7 \times 10^5$ KBE/ml bzw. $3,5 \times 10^6$ KBE/ml auf $5,0 \times 10^5$ KBE/ml. Die Zugabe eines nicht oxidierenden Biozides und eines Dispergators führten zu einer Abnahme der Gesamtzellzahl und der biologischen Belastung (Dip-Slide Test I) um eine log Stufe, **Bild 18**.

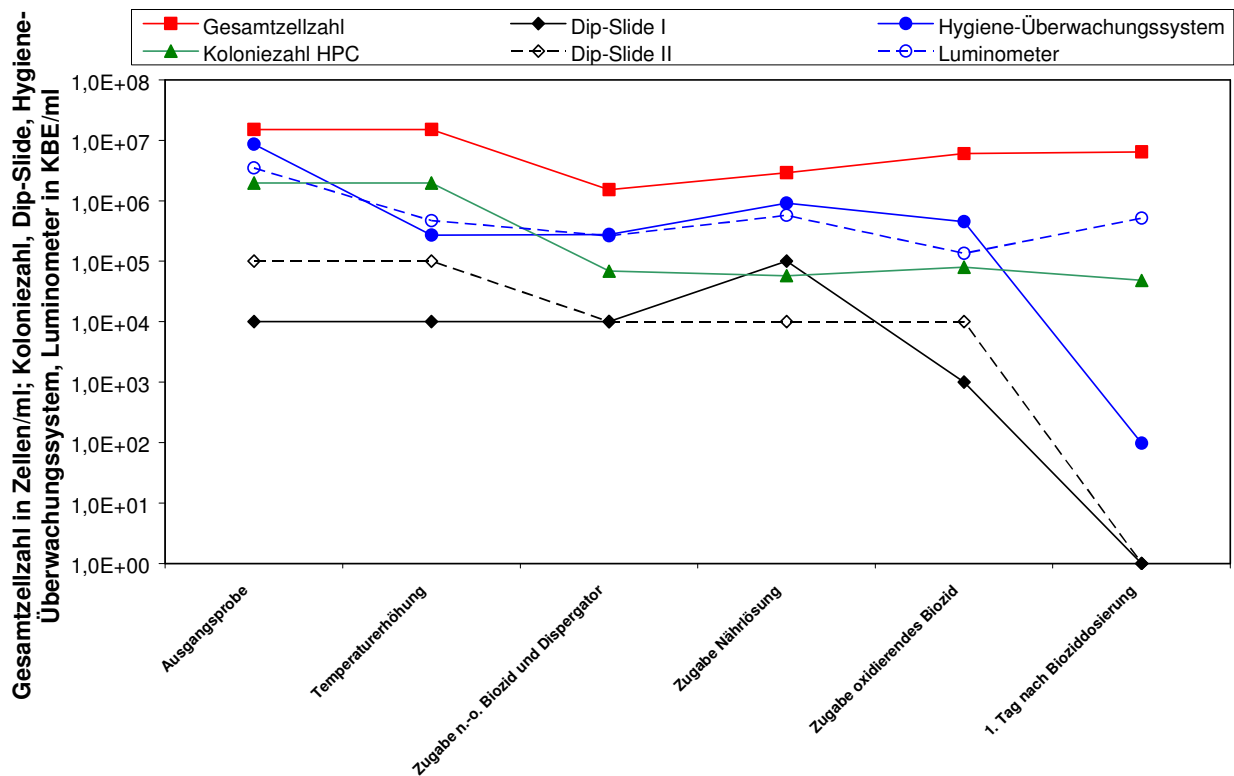


Bild 18: Auswirkung der Zugabe eines nicht-oxidierenden (n.o.) und eines oxidierenden Biozides auf die biologische Belastung und die ATP-Messung (öhlhaltiges Kühlwasser I)

Eine signifikante Abnahme der biologischen Aktivität wurde nicht festgestellt. Die tägliche Dosierung einer CASO-Nährlösung bewirkte eine Verdopplung der GZZ auf $2,9 \times 10^6$ Zellen/ml. Parallel hierzu konnte ein Anstieg der biologischen Belastung von 10^4 bzw. 10^5 KBE/ml beim Dip-Slide Test I festgestellt werden. Die genannten Trends wurden durch ATP-Messung mittels Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer bestätigt. Die anhand des ATP-Gehaltes berechneten biologischen Aktivitäten wiesen einen Anstieg um den Faktor 2 bzw. 3 auf. Die Zugabe eines oxidierenden Biozides führte am Dosiertag zu einer deutlichen Abnahme der biologischen Belastung von 10^5 auf 10^3 KBE/ml (Dip-Slide Test I) nach 3 Stunden. Mittels Dip-Slide Test II konnte keine Veränderung der KBE festgestellt werden. Im Gegensatz hierzu zeigten die berechneten

biologischen Aktivitäten aus der ATP-Messung eine Abnahme um den Faktor 2 bzw. 6 auf 4×10^5 KBE/ml (Hygiene-Überwachungssystem) bzw. 1×10^5 KBE/ml (Luminometer). Rund 24 h nach der Bioziddosierung konnten bei Anwendung der Dip-Slide Tests keine biologische Belastung nachgewiesen werden. Bei Einsatz des Hygiene-Überwachungssystems konnte dieser Trend bestätigt und eine signifikante Verringerung der berechneten biologischen Aktivität auf 9×10^1 KBE/ml ermittelt werden. Im Gegensatz hierzu ergab die Messung mit dem Luminometer einen Anstieg der biologischen Aktivität um den Faktor 4 auf 5×10^5 KBE/ml. Als Ursache hierfür wird die unterschiedliche Probenvorbereitung bei Anwendung des Hygiene-Überwachungssystems und des Luminometers gesehen.

Im Rahmen der Versuche wurde der **Einfluss von Hydrauliköl** auf die ATP-Messung untersucht, da in der betrieblichen Praxis ein ungewollter Eintrag von Hydrauliköl durch Leckagen in Kühlwasserkreisläufen nicht auszuschließen ist. Die tägliche Zugabe von Hydrauliköl über einen Zeitraum von 7 Tagen führte zu einer deutlichen Verringerung der GZZ um eine log Stufe auf 2×10^5 Zellen/ml, **Bild 19**.

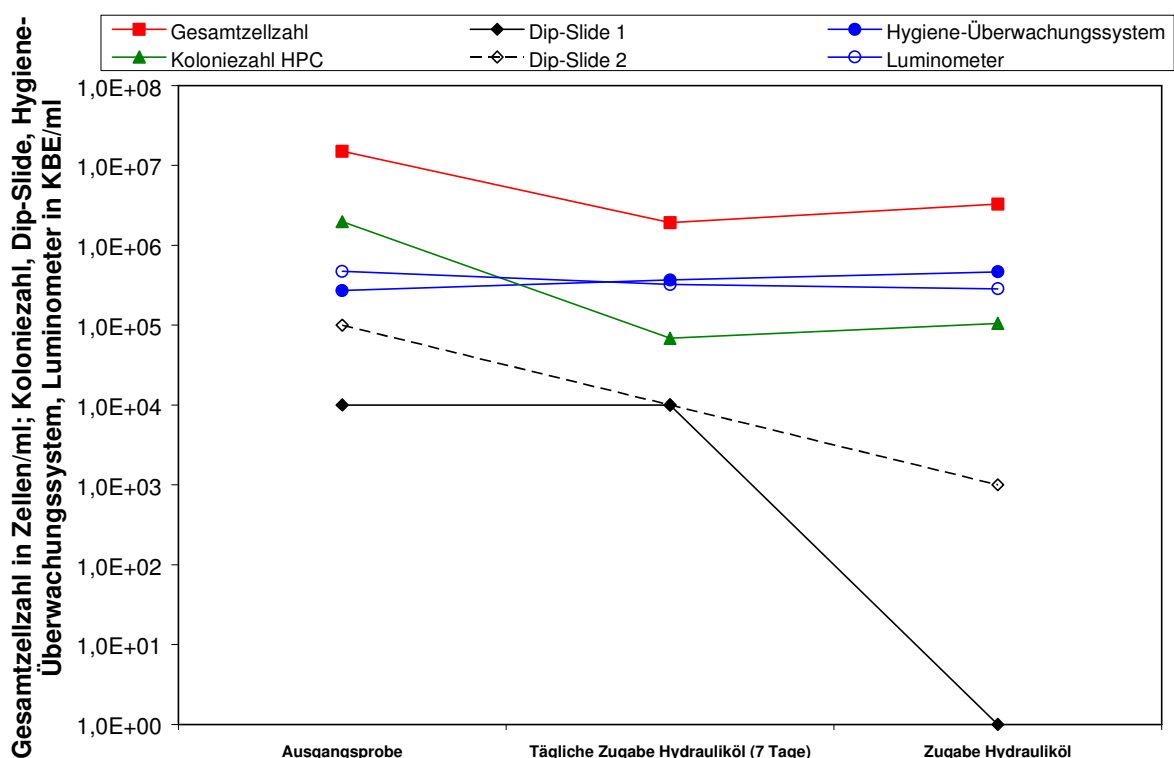


Bild 19: Auswirkung eines Hydrauliköleinbruchs auf die biologische Belastung und ATP-Messung (öhlhaltiges Kühlwasser)

Parallel hierzu verringerte sich die Anzahl der mittels HPC bestimmten KBE/ml signifikant um 1,5 log Stufen auf 10^5 KBE/ml bzw. bei Anwendung des Dip-Slide Tests II auf 10^4 KBE/ml. Im Gegensatz hierzu war mittels Dip-Slide Tests I keine bzw. mittels ATP-Messung nur eine geringfügige Änderung der berechneten KBE/ml feststellbar. Auch die

Simulation eines größeren Hydrauliköleinbruchs führt zu keiner signifikanten Veränderung der Werte. Diese lagen zwischen 2×10^5 KBE/ml und 5×10^5 KBE/ml. Während die GZZ und die Messung mit HPC nur geringfügige Ansteige der Werte aufwiesen, sank der Gehalt an KBE/ml (Dip-Slide Test II) weiter von 10^4 KBE/ml auf 10^3 KBE/ml. Es wurde vermutet, dass das Hydrauliköl zu einer Hemmung des Bakterienwachstums auf den Nährböden der Dip-Slides führte. **Laborversuche mit Emulsionen**

Im Rahmen der Versuche wurden 3 **Emulsionen** untersucht. **Emulsion I** stammte aus dem Bereich der spanenden Bearbeitung. Die Emulsion wies eine hohe biologische Belastung auf. Per Dip-Slide Test wurden jeweils 10^7 KBE/ml ermittelt. Betrieblich wird ein maximaler Wert von 10^4 KBE/ml angestrebt bzw. maximal 10^6 KBE/ml vom Emulsionslieferanten als zulässig angegeben. Die Messungen mit dem Hygiene-Überwachungssystem und dem Luminometer lagen in der gleichen Größenordnung und ergaben biologische Aktivitäten von 5×10^6 KBE/ml. Zur Simulation einer erhöhten Betriebstemperatur durch Witterungseinflüsse wurde die Emulsionstemperatur um 10 K auf 30 °C erhöht. Dies führte zu keiner Veränderung der Ergebnisse per Dip-Slide Test, Gesamtzellzahl und Hygiene-Überwachungssystem. Im Gegensatz hierzu konnte eine Abnahme der biologischen Aktivität per Luminometer um eine halbe log Stufe auf 10^7 KBE/ml sowie per HPC um eine log Stufe auf 10^6 KBE/ml ermittelt werden. Im Rahmen des Produktionsprozesses kommt es zum Austrag von Öl mit den bearbeiteten Werkstücken. Hierdurch wurde eine regelmäßige Nachdosierung von Öl (das so genannte „nachscharfen“) erforderlich. Zur Nachstellung dieses Betriebsvorgangs und zur Untersuchung des Einflusses auf die ATP-Messung wurde der Ölgehalt (Kohlenwasserstoff-Gehalt) von 3.300 mg/L auf 5.300 mg/L erhöht. Der Anstieg des Ölgehaltes führte zu einer Erhöhung der biologischen Aktivität von $4,5 \times 10^6$ KBE/ml auf 1×10^7 KBE/ml (Hygiene-Überwachungssystem) bzw. von $8,6 \times 10^6$ KBE/ml auf $1,6 \times 10^7$ KBE/ml (Luminometer). Die Messungen mittels Dip-Slides, HPC und die Gesamtzellzahl zeigten im Gegensatz hierzu keine signifikanten Veränderungen. Im Anschluss wurde ein „Umkippen“ der Emulsion, d.h. ein rapider pH-Wert Abfall simuliert. Hierzu wurde der pH-Wert von 8 auf 2 durch Zugabe von Salzsäure gesenkt. Hierbei traten große Unterschiede in den gemessenen biologischen Aktivitäten mittels Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer auf. Während die Messung mit dem Hygiene-Überwachungssystem einen unveränderten Wert von 7×10^7 KBE/ml ergab, konnte eine deutliche Abnahme der biologischen Aktivität von $1,7 \times 10^7$ auf $9,5 \times 10^5$ KBE/ml mit dem Luminometer ermittelt werden. Diese ging einher mit dem Absinken der Gesamtzellzahl auf $5,8 \times 10^4$ Zellen/ml bzw. der gemessenen biologischen Belastung (Dip-Slides, HPC) auf null. Auch nach Anhebung des pH-Wertes auf 7 blieb die mit dem Hygiene-Überwachungssystem gemessene biologische Aktivität nahezu konstant. Im Gegensatz hierzu verringerte sich die mit dem Luminometer gemessene biologische Aktivität weiter um fast eine log Stufe auf

$1,5 \times 10^5$ KBE/mL. Bei Einsatz von Dip-Slide-Tests und HPC konnte keine biologische Belastung nachgewiesen werden, **Bild 20**.

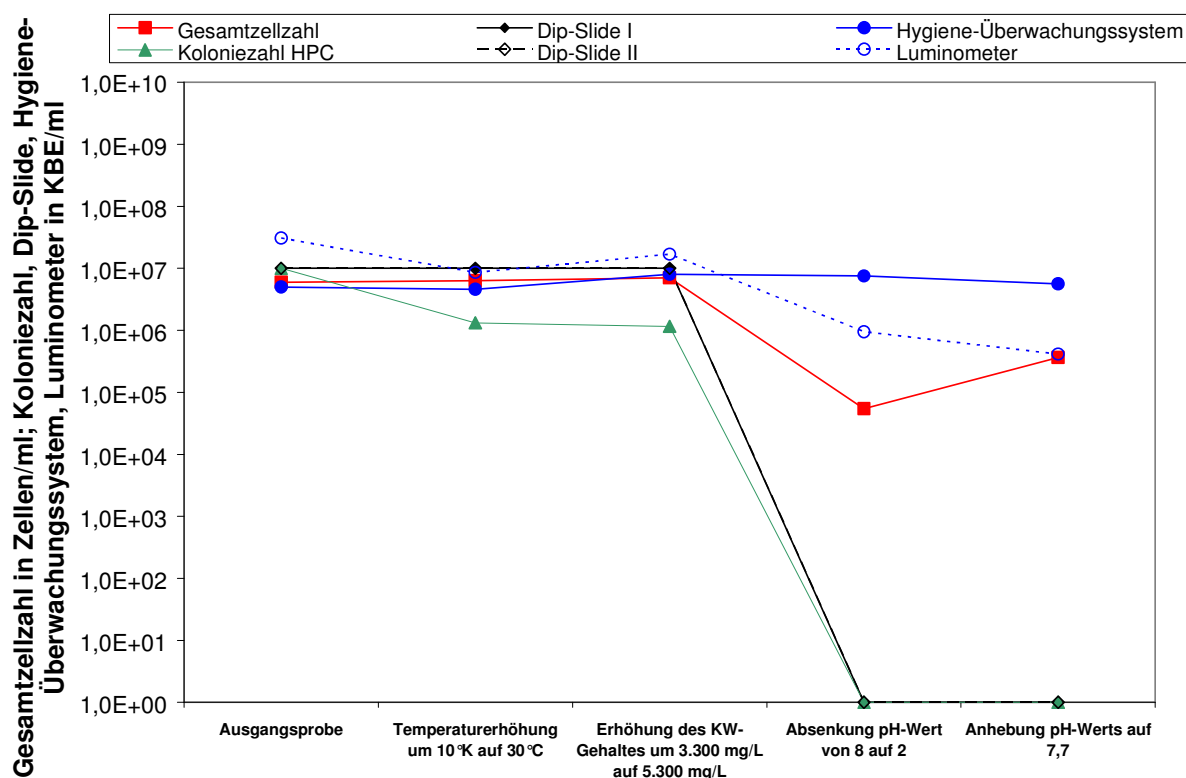


Bild 20: Auswirkung einer pH-Absenkung auf die biologische Belastung und die ATP-Messung in einer Emulsion (Emulsion I)

Anhand der **Emulsion II** wurde überprüft, ob die gemessenen Unterschiede zwischen Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer in Emulsion I emulsions- oder verfahrensspezifische Ursachen besitzen. Hierzu wurde in der Emulsion II der Eintrag von Nährstoffen durch die Zugabe einer Nährlösung sowie eine Bioziddosierung und ihre Auswirkungen auf die biologische Belastung nachgestellt. Emulsion II stammte aus einem metallumformenden Betrieb, und wies eine hohe biologische Belastung mit 10^6 KBE/ml (Dip-Slide) und einer Gesamtzellzahl von 3×10^9 Zellen/ml auf. Die Messung der biologischen Aktivität ergab eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse zwischen Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer ($4,2$ bzw. $5,6 \times 10^6$ KBE/ml). Die gute Übereinstimmung der Messergebnisse bestand auch weiterhin nach der Bioziddosierung. Des Weiteren folgten die ermittelten biologischen Aktivitäten tendenziell den Ergebnissen der Dip-Slide und HPC Messung. So konnte nach 3 Stunden bzw. 24 Stunden nach der Bioziddosierung eine Abnahme der biologischen Aktivität ermittelt werden. Diese verringerte sich von $5,8 \times 10^6$ KBE/mL auf 7×10^5 KBE/mL bzw. $1,3 \times 10^5$ KBE/mL. Per Dip-Slide wurden ausgehend von 10^7 KBE/mL über 10^4 KBE/mL (nach 3 Stunden) auf 10^3 KBE/mL (nach 24 Stunden) gemessen. Die per ATP-Messung ermittelten biologischen Aktivitäten lagen nach der Bioziddosierung rund 2 log Stufen

oberhalb der gemessenen Dip-Slide Werte. Ursache hierfür ist die Hemmung des Bakterienwachstums auf dem Nährboden der Dip-Slides, **Bild 21**.

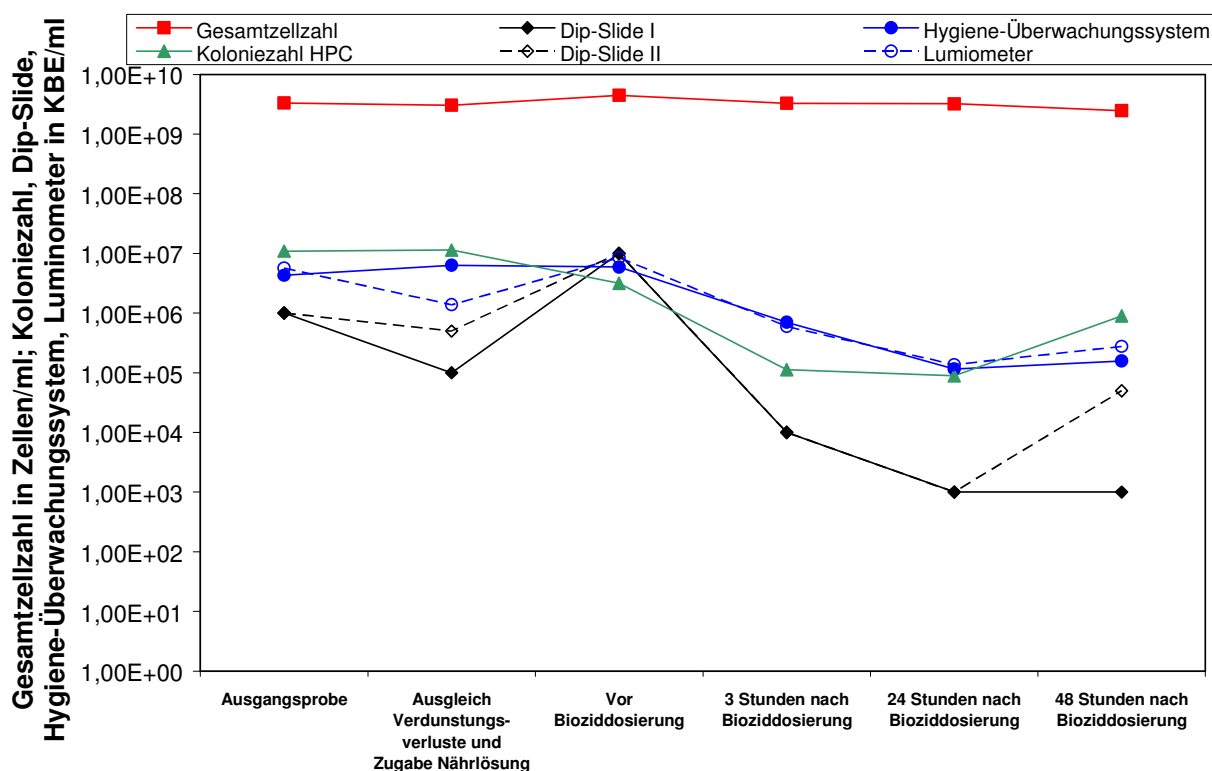


Bild 21: Auswirkung einer Bioziddosierung auf die biologische Belastung und ATP-Messung in einer Emulsion (Emulsion II)

Bei der Untersuchung der **Emulsion III** konnte trotz kontinuierlicher Zugabe von Nährstoffen keine Erhöhung der biologischen Aktivität gegenüber dem Ausgangszustand gemessen werden. Ursache hierfür war die Konservierung der Emulsion durch Zugabe von Biozid aufgrund von längerfristigen Betriebsstillständen. Dem entsprechend wurde die Emulsion III nicht weiter betrachtet.

7.4 Zusammenfassung der Laborversuche

Die Laborversuche haben gezeigt, dass die ATP-Messung in ölfreien und ölhaltigen Kühlwässern sowie Emulsionen möglich ist. Bei der Untersuchung der **ölfreien und ölhaltigen Kühlwässer** konnte keine negative Beeinflussung der ATP-Messung durch Kühlwasserinhaltsstoffe nachgewiesen werden. Die berechneten biologischen Belastungen, basierend auf den ATP-Messungen mit dem Hygiene-Überwachungssystem und dem Luminometer, zeigten eine gute Übereinstimmung, d.h. Abweichungen kleiner einer halben Log-Stufe. Des Weiteren konnten Änderungen der mikrobiologischen Aktivität in Folge einer Änderung am System (Nährstoffe, Biozid, pH, Temperatur, etc.) mittels ATP-Messung gut detektiert und verfolgt werden.

Die Anwendbarkeit der ATP-Messung in **Emulsionen** konnte in den Laborversuchen nachgewiesen werden. Die Änderung der mikrobiologischen Aktivität in Folge einer Änderung am System (Nährstoffe, Biozid, pH, Temperatur, etc.) konnte mittels ATP-Messung gut detektiert und verfolgt werden. Je nach Emulsionstyp waren beide Messgeräte (Hygiene-Überwachungssystem, Luminometer) bzw. nur das Luminometer (Laborgerät) sinnvoll einsetzbar. So konnten in der Emulsion I nur mit dem Luminometer aussagekräftige, und dem Trend folgende biologische Aktivitäten ermittelt werden, während die Messwerte des Hygiene-Überwachungssystems nahezu konstant blieben. Im Gegensatz hierzu war in der Emulsion II eine Messung und Trenderkennung mit beiden Geräten möglich. Die hierbei ermittelten Abweichungen zwischen den Messgeräten waren gering und lagen unter einer halben log-Stufe. Mögliche Ursachen für die Abweichungen der ATP-Messungen in Emulsion I lagen in der unterschiedlichen Probenaufbereitung für das Hygiene-Überwachungssystem und das Luminometer. Während beim Hygiene-Überwachungssystem die Gesamtprobe gemessen wird, erfolgen beim Luminometer ein Filtrationsschritt und die anschließende ATP-Messung aus dem Filtrerrückstand. Durch den Filtrationsschritt wurde der Anteil der Störstoffe verringert. Eine weitere mögliche Ursache für den konstanten Messwert beim Hygiene-Überwachungssystem ist die Oberflächenspannung der Emulsion. Je nach Oberflächenspannung und eingesetztem Öl wird die Spitze des Pens unterschiedlich gut benetzt. Die Ergebnisse aus den Untersuchungen des Einflusses von Kühlwasser- bzw. Emulsionsinhaltsstoffen auf die Reagenzien des ATP-Messverfahrens und die Erfahrungen aus den Laborversuchen bilden die Grundlage für die Optimierung der ATP-Messung.

8. Optimierung des ATP-Messverfahrens

Auf der Grundlage der Ergebnisse aus den AS1, 2, 4 und 6 erfolgte eine Optimierung der ATP-Messmethode. Diese beinhaltete zunächst Vergleichsuntersuchungen verschiedener kommerzieller ATP-Messkits auf deren Tauglichkeit für unterschiedliche Probenmatrizes. Außerdem wurde insbesondere die Probenvorbereitung als ein Schritt mit Optimierungspotential das ATP-Messverfahren untersucht. Ferner wurden weitere Untersuchungen zur Erkennung möglicher Schwachstellen der kommerziellen ATP-Kits durchgeführt, um entsprechende Optimierungsvorschläge in den Anforderungskatalog (AS7) einzubringen.

8.1 Optimierung der ATP-Messung mittels Hygiene-Überwachungssystem (Handgerät)

Bei den Untersuchungen zur Tauglichkeit der verschiedenen ATP-Messverfahren wurde festgestellt, dass das einfache Messverfahren des Hygiene-Überwachungssystems

(Merck HyLite) mittels „ATP-Pens“ störanfälliger in Bezug auf die Reproduzierbarkeit des Probenvolumens und auf Wechselwirkungen mit Matrixkomponenten ist (siehe auch **Bild 7**). Neben der Beeinflussung durch die Probenmatrix bei der ATP-Messreaktion zeigten die ATP-Pens Probleme bei der praktischen Handhabung. Insbesondere das Hereindrücken des Probenstiftes sowie die Aufnahme einer gleich bleibenden Probenmenge, **Bild 22**, erwiesen sich als schwierig.

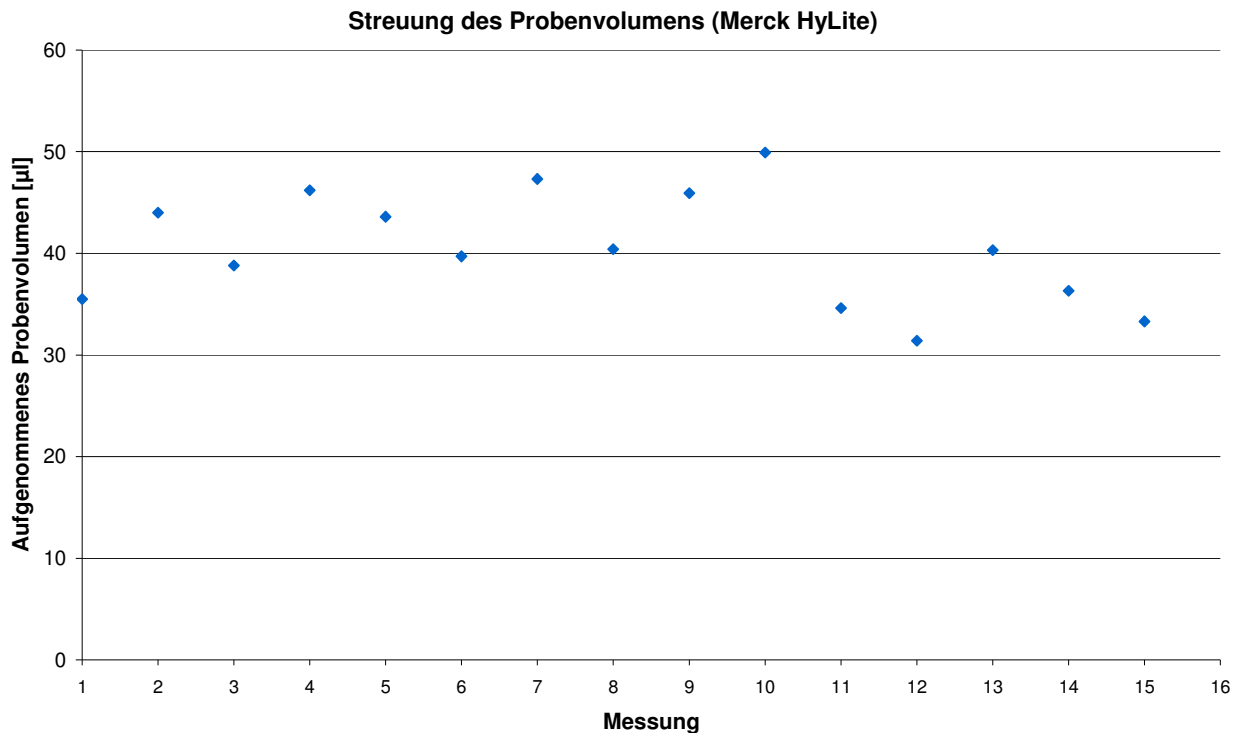


Bild 22: Streuung des aufgenommenen Probenvolumens beim Hygiene-Überwachungssystem (ATP-Handgerät)

Da das ATP-Pen-System in Kombination mit dem Hygiene-Überwachungssystem (Hand-Messgerät) eine hohe Praxistauglichkeit besitzt, sollte hier eine Optimierung des ATP-Pens erfolgen. Die zuvor genannten Schwachpunkte wurden daher mit dem Hersteller diskutiert. Im Laufe des Projekts erfolgte daraufhin eine Modifikation des ATP-Pens. Der Standard HyLite-Pen sowie der modifizierte HyLite plus-Pen sind in **Bild 23** vergleichend dargestellt. Beim neuen ATP-Pen „HyLite plus“ kann bei Bedarf eine Vorverdünnung der Probe mit einem im Pen vorgelegten Puffer erfolgen, um Störeinflüsse durch Matrixkomponenten zu minimieren. Außerdem wurde die Handhabbarkeit verbessert. Eine Überprüfung der Matrixeinflüsse von Additiven beim modifizierten ATP-Pen im Vergleich zu den bereits im AS2 (Kapitel 5) untersuchten Einflüssen bestätigte die gewünschte Verbesserung des ATP-Pens. Hierbei wurde die Wiederfindung eines ATP-Standards in Gegenwart der Additive, welche in AS2 die stärkste Störung der ATP-Messung zeigten, vergleichend mit den modifizierten ATP-Pens untersucht. Nur bei 2 der 8 untersuchten Additive zeigte sich mit den HyLite plus-Pens noch eine deutliche

Störung der ATP-Messung. Im Falle der 6 anderen Additive konnte durch die Verwendung der modifizierten ATP-Pens eine deutlich verbesserte Wiederfindung erzielt werden. Eine erhöhte ATP-Wiederfindung konnte auch bei der Messung von Realproben beobachtet werden, **Bild 24**.



Bild 23: Optimierter HyLite plus-Pen (rechts) im Vergleich zum Standard-HyLite-Pen (links)

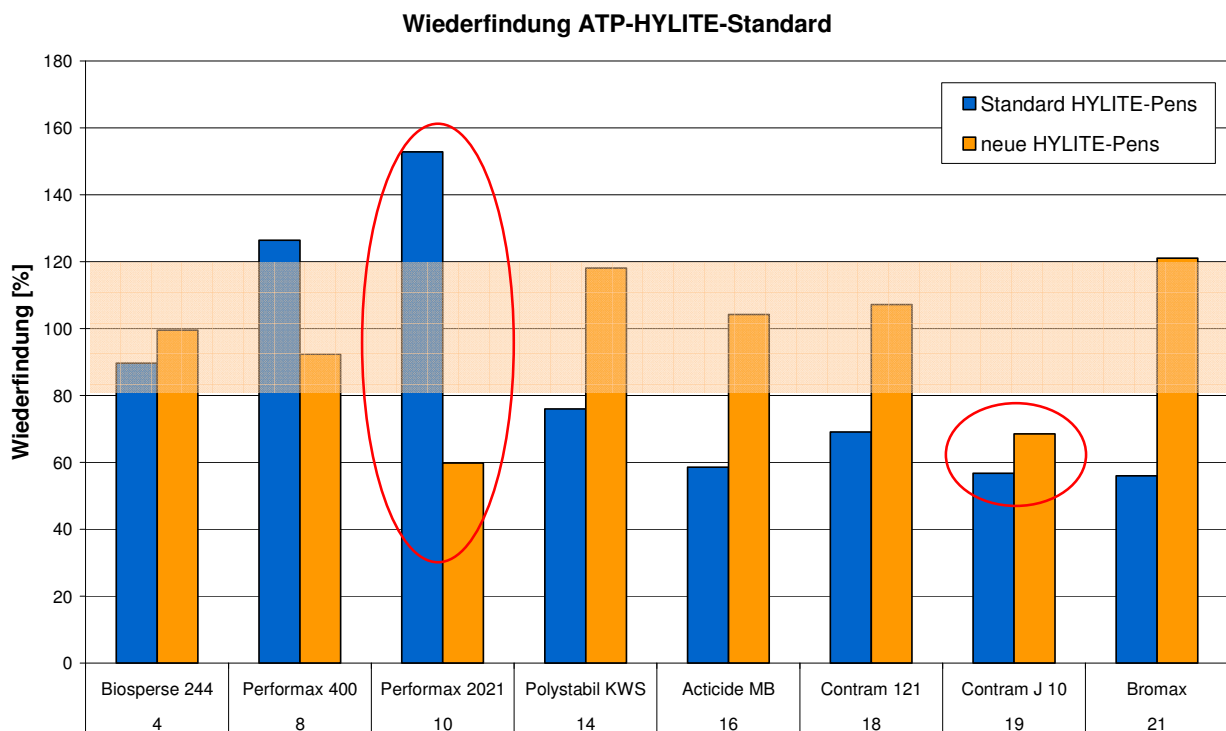


Bild 24: Einfluss von Additiven auf die ATP-Messung bei Verwendung von Standard HyLite-Pens und modifizierten HyLite plus-Pens

Für die Messungen mit dem Laborgerät in Kombination mit den Aqua-Tools ATP-Bestimmungskits zeigte sich in den Vorversuchen ebenfalls eine Beeinflussung der ATP-Messung durch die Probenmatrix bzw. durch eingesetzte Additive. Bei dem ursprünglich eingesetzten QGA-Kit erfolgt eine Probenvorbereitung mittels Filtration durch einen Spritzenvorsatzfilter, um gelöste Störstoffe sowie freies ATP zu entfernen (siehe auch **Bild 5**). Dieser Kit ist vom Hersteller für die Messung von ATP in Wasserproben vorgesehen. Als Alternative wurde der QGO-Kit eingesetzt, welcher für die Messung in Gegenwart von organischen Störstoffen geeignet sein soll. Beide Kits (QGA und QGO) unterscheiden sich durch die verwendeten Reagenzien, aber beide werden entsprechend dem in **Bild 5** gezeigten Schema eingesetzt.

8.2 Optimierung der ATP-Messung mittels Luminometer (Laborgerät)

Da auch mit dem QGO-Kit keine störungsfreie ATP-Messung in Gegenwart von Additiven möglich war, erfolgte eine detaillierte Erörterung der Probleme bei der Messung von Kühlwasser- und Emulsionsproben mit dem Vertreter der Kits (Aqua-Tools, Frankreich). Im Projektverlauf wurde von Aqua-Tools ein modifizierter ATP-Kit „QGO-M“ entwickelt und auf den Markt gebracht, welcher den angesprochenen Problemen Rechnung trägt. Das Schema der Probenvorbereitung ist in **Bild 25** gezeigt.

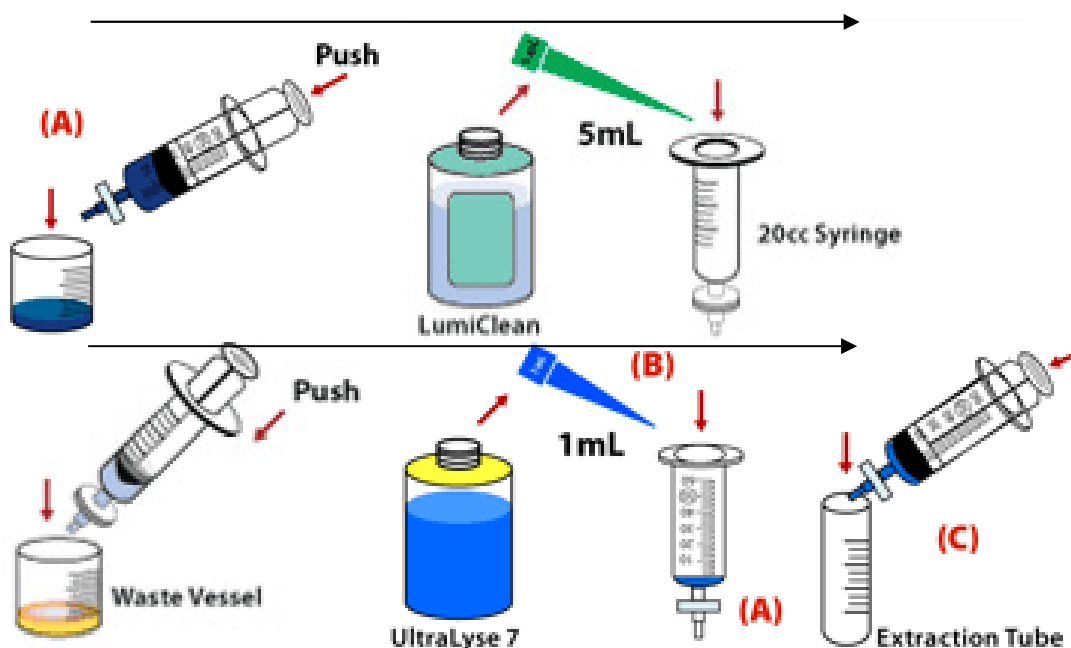


Bild 25: Probenvorbereitung bei Verwendung des QGO-M-Kits

In Ergänzung zum Filtrationsschritt zur Entfernung von gelösten Störstoffen wird hier zusätzlich ein Waschschriff mit einem organischen Lösungsmittel eingeführt, um auf dem Filter verbliebene Störsubstanzen wie z.B. Fette, Öle und an Oberflächen oder Partikel adsorbierte Additive zu entfernen. Die Problematik des Störeinflusses von Matrixkompo-

zenten der Kühlwasser- und Emulsionsproben lies sich dadurch deutlich verringern, **Bild 26**.

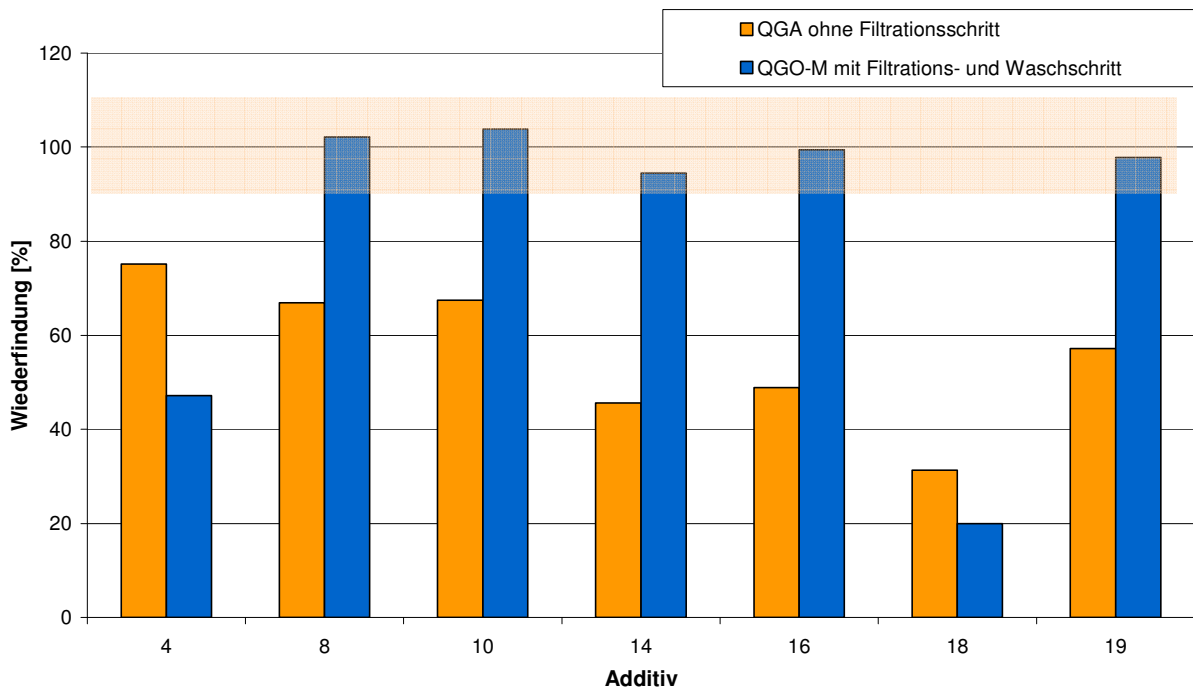


Bild 26: Einfluss von Additiven auf die ATP-Messung bei Verwendung des QGA-Kits bzw. des optimierten QGO-M-Kits (Aqua-Tools)

Zur Überprüfung wurde die Wiederfindung eines ATP-Standards in Gegenwart der Additive, welche in AS2 die stärkste Störung der ATP-Messung zeigten, vergleichend mit dem QGA-Kit (ohne Filtration eingesetzt) und dem QGO-M-Kit (Filtration + Waschschrift) untersucht. Nur bei 2 der 7 untersuchten Additive zeigte sich bei der Messung mit dem QGO-M-Kit noch eine deutliche Störung der ATP-Messung. Im Falle der 5 anderen Additive konnte durch die Verwendung des modifizierten QGO-M-Kits eine deutlich verbesserte Wiederfindung erzielt werden. Eine erhöhte ATP-Wiederfindung konnte auch bei der Messung von Realproben beobachtet werden, **Bild 27**.

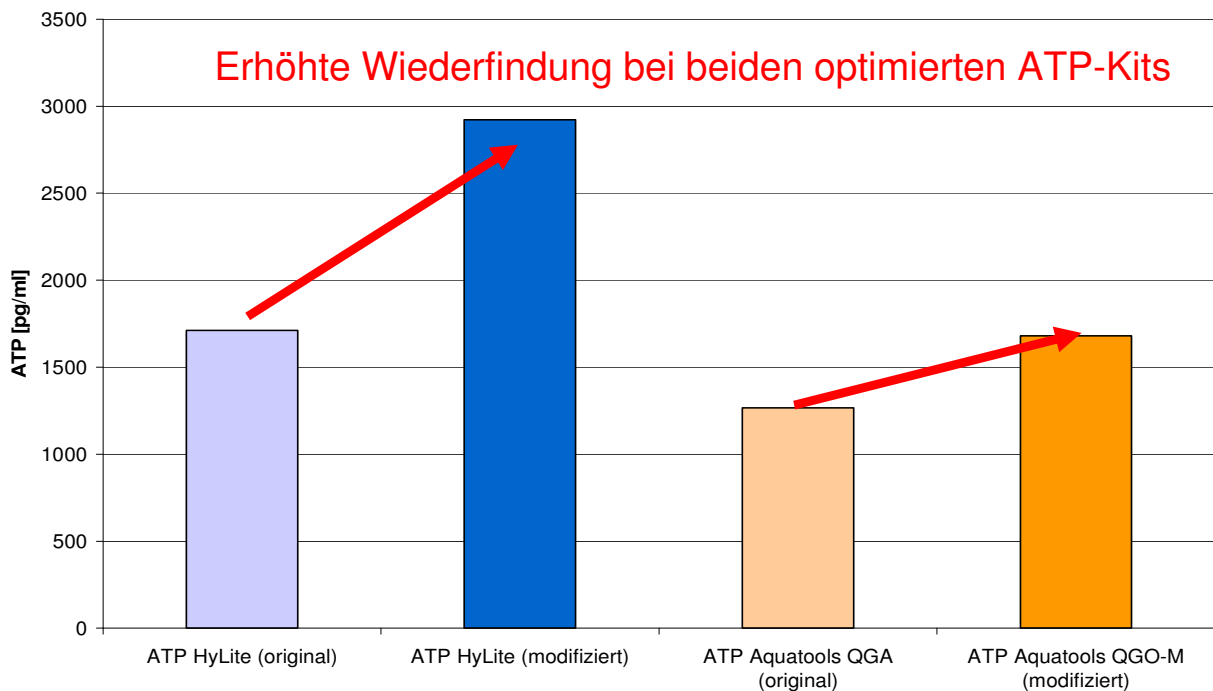
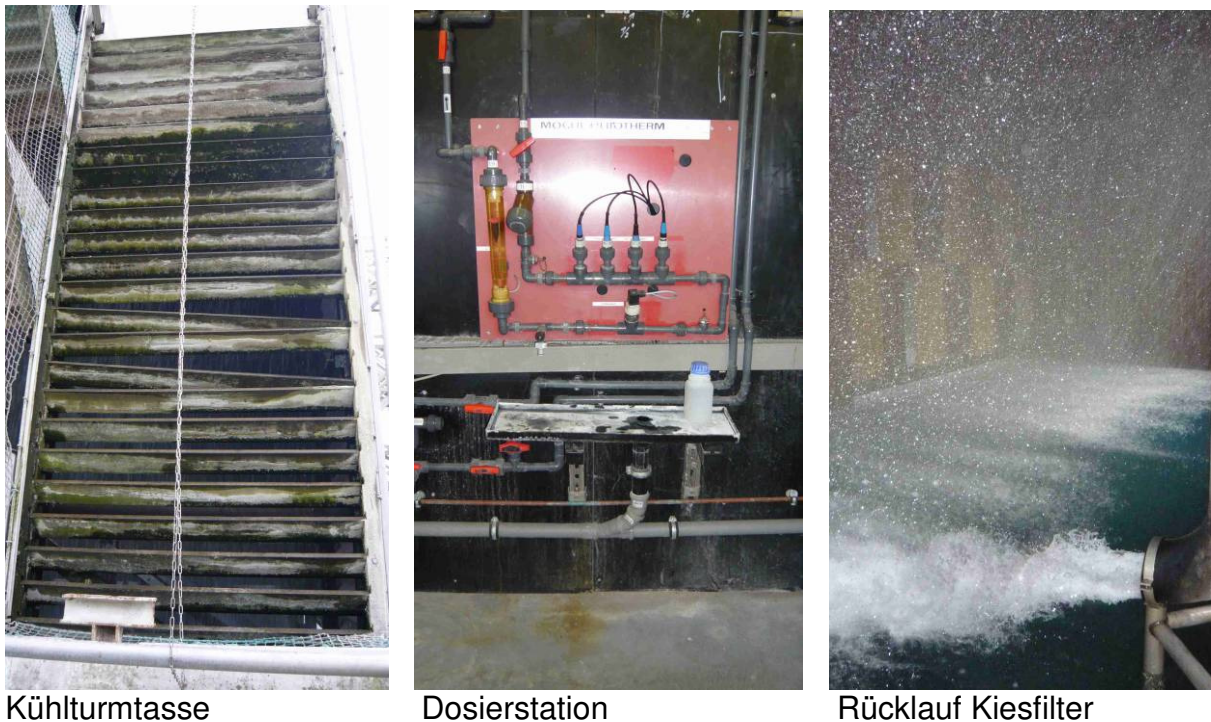


Bild 27: Einfluss des Einsatzes der optimierten ATP-Messverfahren bei der Untersuchung einer realen Probe

9. Betriebliche Demonstration des neu entwickelten Messverfahrens

In betrieblichen Demonstrationen wurde das ATP-Messverfahren über einen Zeitraum von 9 Monaten an einem Kühlwasserkreislauf, **Bild 28**, und einem Emulsionskreislauf erprobt. Schwerpunkt der Arbeiten bildete die Untersuchung der Betriebseinflüsse wie z. B. Bioziddosierungen und schwankende Zusammensetzungen auf das neue ATP-Messverfahren. Es wurden insgesamt 21 Proben bei unterschiedlichen Betriebszuständen, beispielsweise vor bzw. nach einer Bioziddosierung und an unterschiedlichen Stellen des Kreislaufes entnommen. Während in der Fst 2 (IWW) die mikrobiologischen Größen (Gesamtzellzahl, Gesamtkoloniezahl, ATP-Messung, Dip-Slides, Aktivitätsindex) untersucht wurden, erfolgte durch die Fst 1 (BFI) die Bestimmung der chemischen und physikalischen Größen (Temperatur, Chloridkonzentration, Nitritkonzentration, pH-Wert). Das IWW führte parallel zur Messung mit dem Hygiene-Überwachungssystem Messungen mit dem Luminometer durch.



Kühlturmtasse

Dosierstation

Rücklauf Kiesfilter

Bild 28: Probenahmestellen bei betrieblicher Demonstration im Kühlwasserkreislauf

9.1 Betriebliche Demonstration am Kühlwasserkreislauf

Bei dem untersuchten Kühlwasserkreislauf mit einem Systemvolumen von 3.300 m³ handelt es sich um einen offenen Kühlkreislauf zur indirekten Kühlung ohne Produktkontakt (ölfreies Kühlwasser). Im Kühlwasserkreislauf traten sporadisch hohe biologische Belastungen bis zu 10⁶-10⁷ KBE/ml auf. Im Kühlkreislauf werden ein oxidierendes Biozid (4 x Dosierungen/Woche), Härtestabilisatoren sowie bei Bedarf ein nicht oxidierendes Biozid und Algizid eingesetzt. Die Überwachung der biologischen Belastung des Kühlwasserkreislaufes erfolgt anhand einer wöchentlichen Bestimmung der Koloniebildenden Einheiten mittels Dip-Slide Test durch den Betrieb. Des Weiteren führt der Kühlwasserchemikalienlieferant eine monatliche Analyse der Gesamtkeimzahl durch und spezifiziert die vorliegenden Bakterien (z.B. Sulfatreduzierer, Schleimbildner). Zur Entfernung von Schwebstoffen wird ein Kiesfilter eingesetzt.

Zur Ermittlung einer möglichen Ungleichverteilung der biologischen Belastung bedingt durch Totzonen (Kühlturmtassen-Ecken) und Biofilmen (Kiesfilter-Material), wurden an folgenden Positionen Proben genommen: Dosierstation, Ecke der Kühlturmtasse und im Ablauf des Kiesfilters.

Es konnte keine Ungleichverteilung der biologischen Belastung im Kühlsystem festgestellt werden. Die Zusammensetzung des Kühlwassers variierte nur begrenzt. Die Leitfähigkeit und der pH-Wert schwankten zwischen 1.500 µS/cm und 1.600 µS/cm bzw.

zwischen 7,3 und 8 während die Kühlwassertemperatur zwischen 17°C und 24°C betrug, **Bild 29**.

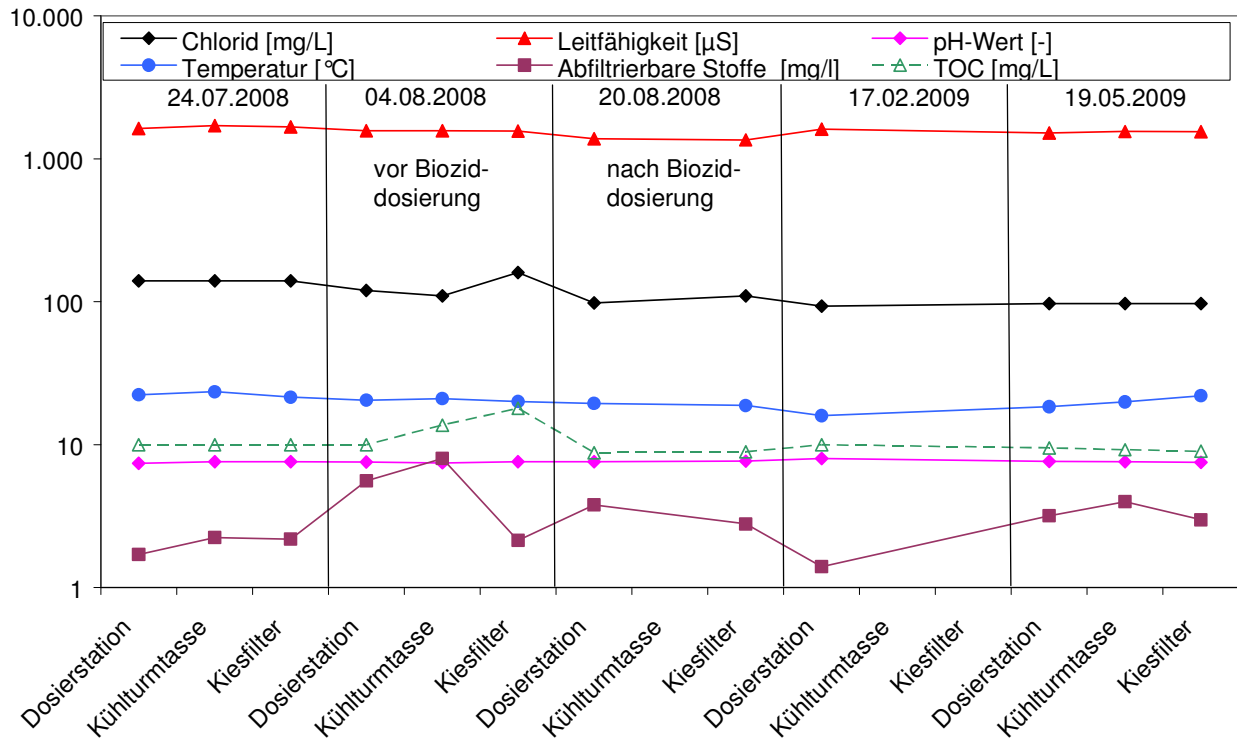


Bild 29: Schwankungsbreite der Kühlwasserzusammensetzung bei der betrieblichen Demonstration

Die Gesamtzellzahl des Kühlwassers schwankte zwischen $1,6 \times 10^5$ Zellen/ml und $2,3 \times 10^6$ Zellen/ml. Die Koloniezahl (HPC) lag vor der Bioziddosierung bei $3,8 \times 10^5$ KBE/ml und nach der Dosierung bei $2,9 \times 10^3$ KBE/ml. Mittels Dip-Slides wurde vor der Biozidzugabe eine biologische Belastung von 1×10^5 KBE/ml und nach der Biozidzugabe eine biologische Belastung von 1×10^3 KBE/ml ermittelt. Es konnte keine signifikante Wechselwirkung der Kühlwasserinhaltsstoffe mit den Reagenzien der ATP-Messung festgestellt werden. Die ATP-Messwerte und die daraus berechnete biologische Belastung des Kühlkreislaufs entsprachen den erwarteten Trends, d.h. Abnahme der biologischen Belastung nach Dosierung des oxidierenden Biozides. Anhand der ATP-Messung wurde nach der Bioziddosierung eine biologische Belastung des Kühlwasser mit $3,5 \times 10^5$ KBE/ml gemessen, während per Dip-Slide keine biologische Belastung nachgewiesen werden konnte, **Bild 30**.

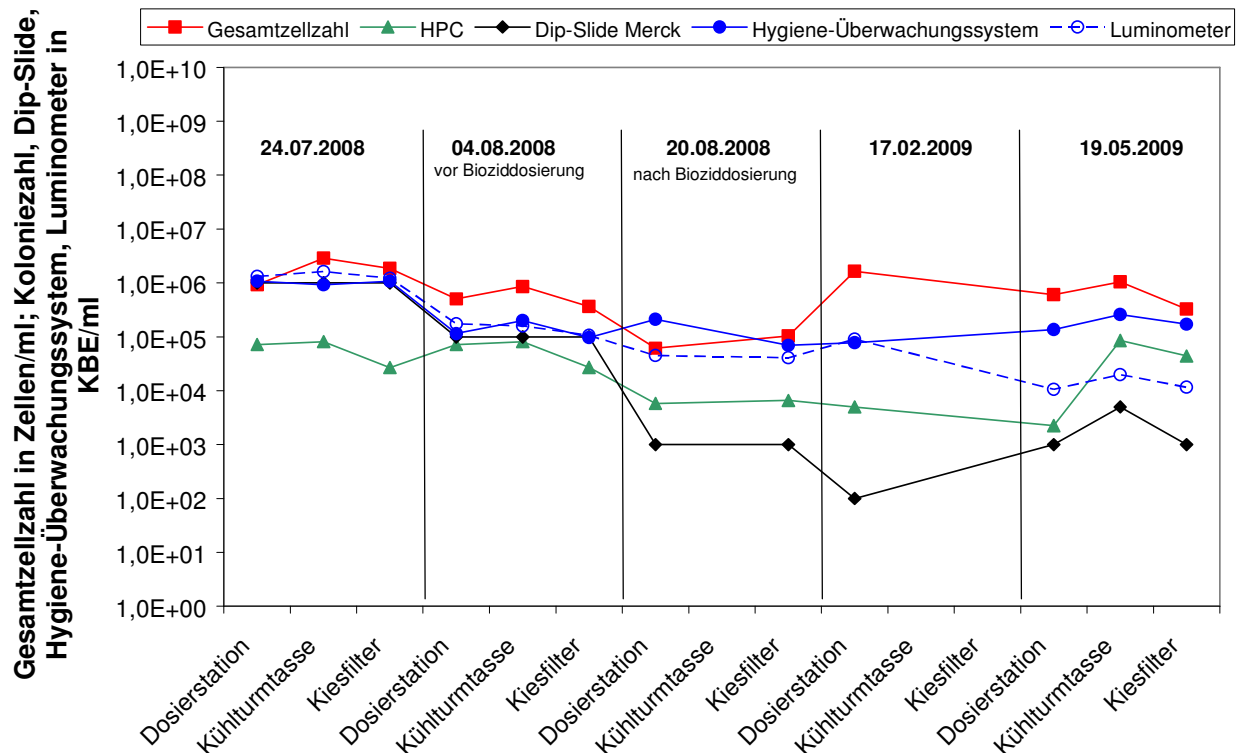


Bild 30: Biologische Belastung des Kühlwassers während der betrieblichen Demonstration

Des Weiteren konnte nach der Bioziddosierung eine Abweichung zwischen den gemessenen ATP-Werten des Hygiene-Überwachungssystems ($3,5 \times 10^5$ Zellen/ml) und des Luminometers ($2,7 \times 10^4$ Zellen/ml) festgestellt werden. Ursache hierfür sind die unterschiedlichen Probevorbereitungen.

9.2 Betriebliche Demonstration am Emulsionskreislauf

Der betrachtete Emulsionskreislauf besaß ein Systemvolumen von 20 m³. Die Emulsion wurde zur Kühlung und Spanabfuhr während der mechanischen Bearbeitung eingesetzt. Die Emulsion fließt durch teilweise offene Kanäle, die durch Gitterroste abgedeckt sind. Hierbei erfolgt der Eintrag von Verschmutzungen in die Emulsion. Trotz Pflegemaßnahmen in Form einer Zentrifuge bzw. eines Bandfilters (Entfernung der groben/feinen Feststoffe) und einem Beruhigungsbecken mit Skimmer (Entfernung des Fremdöls) entstehen hohe biologische Belastungen von bis zu 10^6 - 10^7 KBE/ml, die zu Geruchsbelästigungen führen. Zur Überwachung der biologischen Belastung wird wöchentlich die Gesamtkoloniezahl mittels Dip-Slide Test durch den Betrieb ermittelt. Des Weiteren führt der Emulsionshersteller monatlich eine Analyse der chemischen Zusammensetzung der Emulsion sowie der biologischen Belastung (Mikroorganismen, Pilze, Hefen) durch.

Im Rahmen der betrieblichen Demonstration erfolgte die Bestimmung der Parameter zur Emulsionsüberwachung in Anlehnung an BGR 143 [17]:

- pH-Wert,
- Leitfähigkeit,
- Temperatur,
- Nitrit,
- Konzentration (KW-Gehalt),
- biologische Belastung (Dip-Slide Test).

Darüber hinaus wurden die Gesamtzellzahl und die Koloniezahl (HPC) bestimmt. Die Analysen zeigten, dass die Emulsionszusammensetzung stark variierte, **Bild 31**.

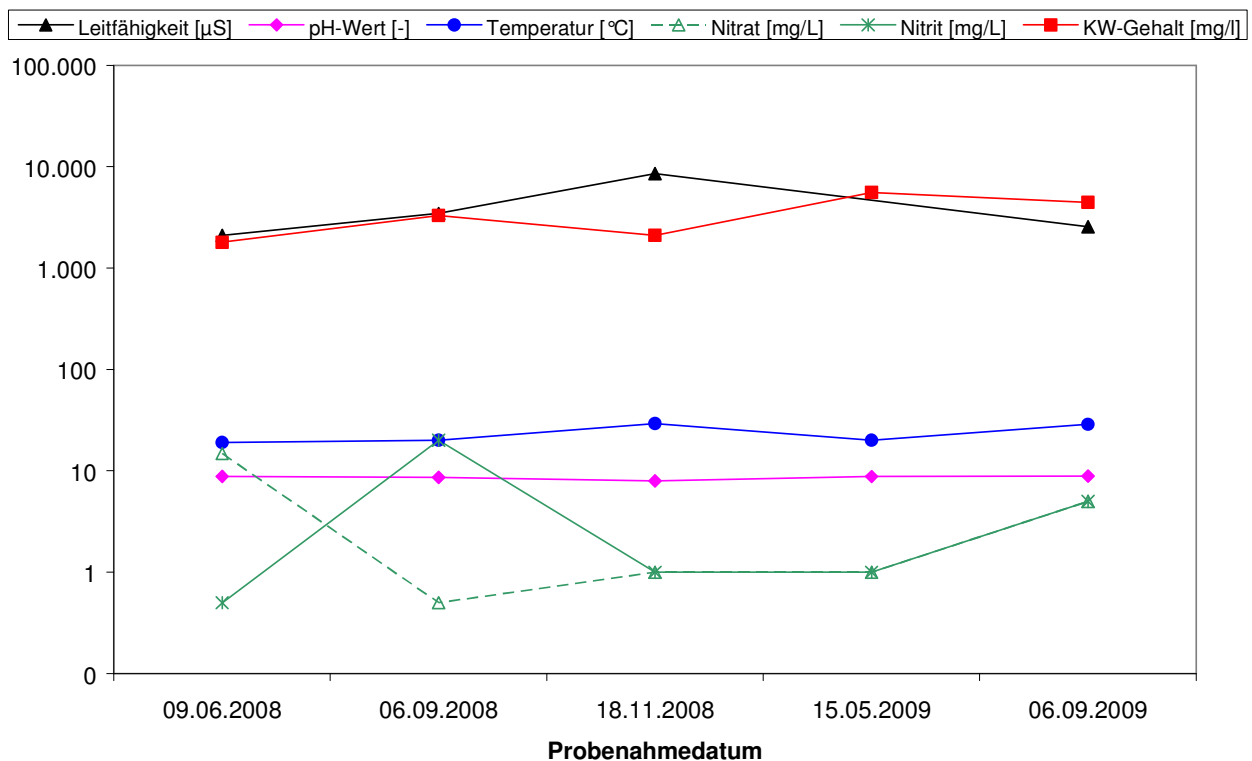


Bild 31: Schwankungsbreite der Emulsionszusammensetzung bei der betrieblichen Demonstration

So lag der KW-Gehalt zwischen 1.800 mg/l und 5.500 mg/L bei Leitfähigkeiten zwischen 2.100 $\mu\text{S/cm}$ und 8.500 $\mu\text{S/cm}$. Der pH-Wert schwankte im Bereich zwischen 7,9 und 8,8. Die Emulsionstemperatur variierte zwischen 19 $^{\circ}\text{C}$ und 29 $^{\circ}\text{C}$. Auffällig ist ein hoher Nitrit-Gehalt von 14,8 mg/l am 09.06.2008, da i.d.R der Nitrit-Gehalt unter 5 mg/l lag.

Die biologische Belastung betrug 10^7 KBE/ml (Dip-Slide) bei den ersten zwei Probenahmen (09.06.2008, 06.09.2008). Die berechneten biologischen Belastungen, basierend auf der Messung mittels Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer lagen in der gleichen Größenordnung zwischen 4×10^7 KBE/ml und 5×10^6 KBE/ml. Die Gesamtzellzahl betrug 3 bzw. 6×10^6 Zellen/ml, **Bild 32**. In der Literatur wird ein durchschnittlicher ATP-Gehalt pro Zelle mit 1 fg angegeben, so dass die berechnete biologische Belastung maximal gleich der Gesamtzellzahl sein kann. Wie die Untersuchungen gezeigt haben, unterliegt der ATP-Gehalt pro Zelle je nach Zustand des Emulsionssystems (Nährstoffzugabe, Bioziddosierung) starken Schwankungen im Bereich von 0,15 bis 1,49 fg ATP pro Zelle. Hieraus resultiert, dass die berechnete biologische Belastung, basierend auf der Messung mittels Hygiene-Überwachungssystem, oberhalb der Gesamtzellzahl liegt.

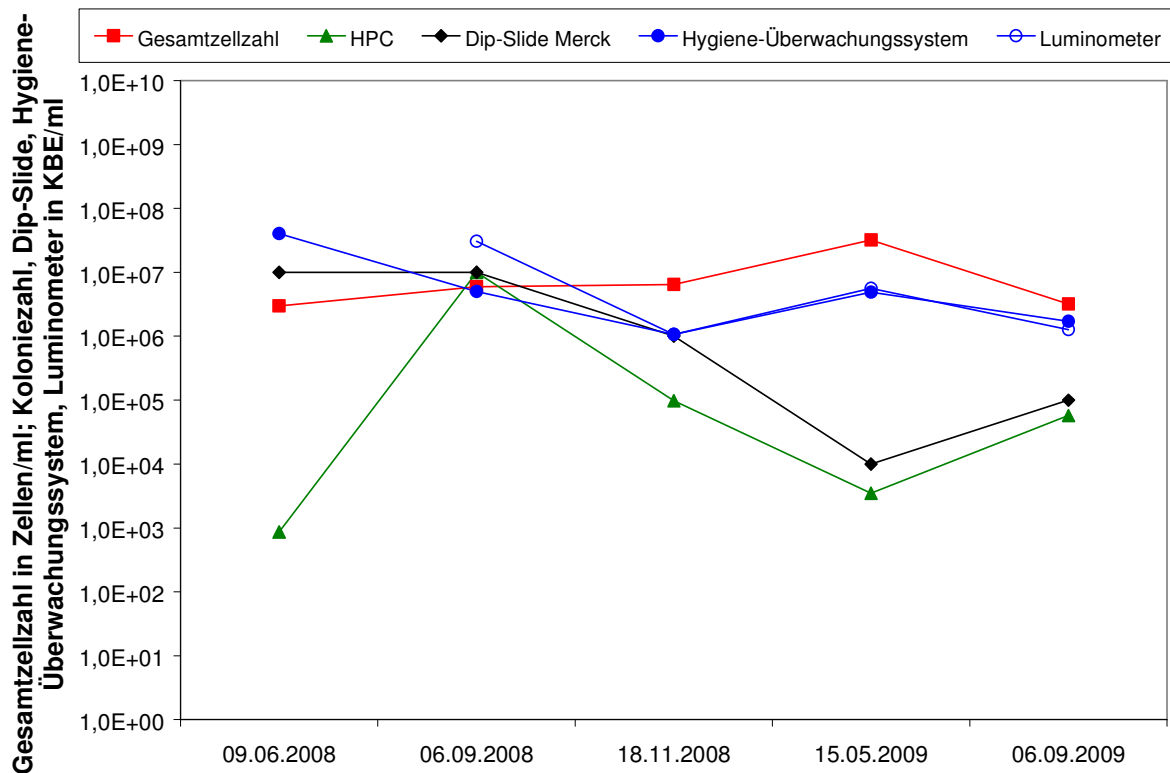


Bild 32: Biologische Belastung der Emulsion während der betrieblichen Demonstration

Bei den folgenden Probenahmen am 18.11.2008 und 15.05.2009 konnte eine kontinuierliche Abnahme der biologischen Belastung per Dip-Slide bzw. HPC auf 10^4 KBE/ml bzw. $3,5 \times 10^4$ KBE/ml beobachtet werden. Im Gegensatz hierzu stieg die Gesamtzellzahl kontinuierlich auf 3×10^7 Zellen/ml. Die anhand der Hygiene-Überwachungssystem- bzw. Luminometer-Messung berechneten Werte entsprachen den Änderungen der biologischen Belastung (Dip-Slide, GZZ) am 18.11.2008. Bei der Probenahme am 15.05.2009 wurde im Gegensatz zum Dip-Slide und HPC ein Anstieg der biologischen

Belastung auf $5,6 \times 10^6$ KBE/ml gemessen. Ursache hierfür waren erhöhte Bioziddosierungen, um die Emulsion während wiederkehrender auftragsbedingter Anlagenstillstände zu konservieren. Bei Dosierung der im Normalbetrieb üblichen Biozidmengen (06.09.2009) wurde eine biologische Belastung von 10^5 KBE/ml per Dip-Slide und HPC ermittelt. Die berechneten biologischen Belastungen betragen 1,2 bzw. $1,7 \times 10^6$ KBE/ml. Die berechneten Werte basierend auf der Messung mittels Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer wiesen während der betrieblichen Demonstration eine hohe Übereinstimmung (Abweichung $< \frac{1}{2}$ log Stufe) auf. Ausnahme war die Probenahme am 06.09.2009, bei der die Abweichung eine $\frac{3}{4}$ log Stufe betrug.

10. Erstellung eines Anforderungskataloges

Basierend auf den Ergebnissen und Erfahrungen aus den Arbeitsschritten 1, 2, 4, 5 und 6 ergaben sich Randbedingungen für den praxistauglichen und zuverlässigen Einsatz der ATP-Messverfahren. Dies umfasst zum einen Anforderungen an die verwendeten Messgeräte und zum anderen an die eingesetzten ATP-Messkits und Reagenzien:

- Tragbares robustes Gerät für den Einsatz vor Ort in z.B. Stahl-Werken,
- Einfache Handhabung (wenige Arbeitsschritte, auch durch ungelernte Mitarbeiter anwendbar),
- Probenvorbereitung bzw. Messverfahren, welches den Einfluss von Störstoffen minimiert,
- Reagenzien, welche eine geringe Beeinflussung durch Störstoffe zeigen,
- Lagerstabile Reagenzien,
- Reproduzierbares Probenvolumen, unabhängig von:
 - Viskosität
 - Oberflächenspannung
 - Ölgehalt
 - Erschütterung und
- Ideal: Online-Messgerät.

Die Punkte „Tragbares robustes Gerät“ sowie eine einfache Gerätehandhabung werden vom Hygiene-Überwachungssystem (Handmessgerät) des Merck HyLite-Systems bereits erfüllt. Das im Projekt eingesetzte und empfindlichere Luminometer (Labormessgerät) ist hierbei deutlich im Nachteil. Es hat sich aber gezeigt, dass die höhere Empfindlichkeit des Laborgerätes für die Messung der mikrobiologischen Aktivitäten in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen nicht notwendig ist.

Eine Anpassung von ATP-Reagenzien Kits bzw. der Probenvorbereitung hinsichtlich der Vermeidung von Störeinflüssen durch die Probenmatrix (z.B. Additive) hat bereits exemplarisch im Laufe des Projekts stattgefunden (HyLite plus-Pen, Merck und QGO-M-Kit, Aqua-Tools).

Bezüglich eines Online-Messgeräts wurde im Projektverlauf die Notwendigkeit einer entsprechenden Entwicklung bei den Geräteherstellern dargestellt. Mit den getesteten Luminometern und der offline ATP-Messung ist ein Monitoring von verschiedensten Kreisläufen auch bei einer größeren Probenanzahl durch eingewiesene Mitarbeiter möglich.

11. Erstellung einer Applikationsstrategie

Basierend auf den Ergebnissen der vorausgegangenen Arbeitsschritte wurden beispielhaft Applikationen für den Kühlwasser- und Emulsionskreislauf erstellt. Die Applikationen stellen eine Möglichkeit zur Übertragung der betrieblichen Grenzwerte basierend auf Dip-Slide Messung und den gemessenen Werten des Hygiene-Überwachungssystems dar. Anhand der Applikationen können gemessene Lumineszenzen (Lichtintensität gemessen als relativ light units (RLU)) bzw. die ATP-Werte (Zeitbedarf der Messung < 5 Minuten) interpretiert und eine Aussage über den Kühlwasserzustand getroffen werden. Im Folgenden sind die betrieblichen Grenzwerte für die biologische Belastung, basierend auf der Dip-Slide Messung, und den ermittelten Messwerten des ATP-Handgerätes (Hygiene-Überwachungssystem) dargestellt.

Betrieblicher Grenzwert [KBE/ml]	biologische Belastung	Kühlwasserzustand/Maßnahme	Ampelfarbe	Messwert Hygiene-Überwachungssystem [RLU]
<10 ⁴	sehr schwach bis schwach	normal/keine	grün	< 2.200
10 ⁴ -10 ⁵	schwach bis mäßig	unterer Warnbereich/verstärkte Kontrolle	gelb	2.200 - 3.800
10 ⁵ -10 ⁶	mäßig bis stark	oberer Warnbereich/Bioziddosierung	orange	3.800 - 5.400
>10 ⁶	sehr stark	Kritisch/akuter Handlungsbedarf (Bioziddosierung)	rot	> 5.400

Ein betrieblicher Ablauf zur Anwendung der ATP-Messung könnte wie folgt aussehen. Aus dem Kühlkreislauf wird eine Probe entnommen und anschließend direkt im Hygiene-Überwachungssystem (Handgerät) gemessen. Je nach Höhe des Messwertes befindet sich die biologische Belastung im grünen, gelben, orangen oder roten Bereich. Bei

einem Messwert unter 2.200 RLU liegt eine sehr schwache bis schwache Belastung vor ($< 10^4$ KBE/ml). Es sind keine Maßnahmen erforderlich. Bei Messwerten zwischen 2.200 RLU und 3.800 RLU ist eine schwach bis mäßige biologische Belastung (unterer Warnbereich) festzustellen, die im Bereich von 10^4 KBE/ml und 10^5 KBE/ml liegt. Bei Messwerten zwischen 3.800 RLU und 5.900 RLU (oberer Warnbereich) liegt eine mäßig bis starke biologische Belastung vor (10^5 KBE/ml und 10^5 KBE/ml). In diesen Fall kann z.B. durch eine gezielte Bioziddosierung eine Überschreitung des zulässigen Grenzwertes für die biologische Belastung vermieden werden. Bei Messwerten oberhalb von 5.400 RLU besteht ein akuter Handlungsbedarf, der eine sofortige Bioziddosierung erfordert. Hierbei muss eine höhere Biozidmenge dosiert werden als bei einer Dosierung im oberen Warnbereich. Die genaue Biozidmenge bei einer Dosierung im Warnbereich ist empirisch zu ermitteln. Basierend auf den Messwerten und den betrieblichen Grenzwerten wurde die in **Bild 33** dargestellte Applikation erstellt.

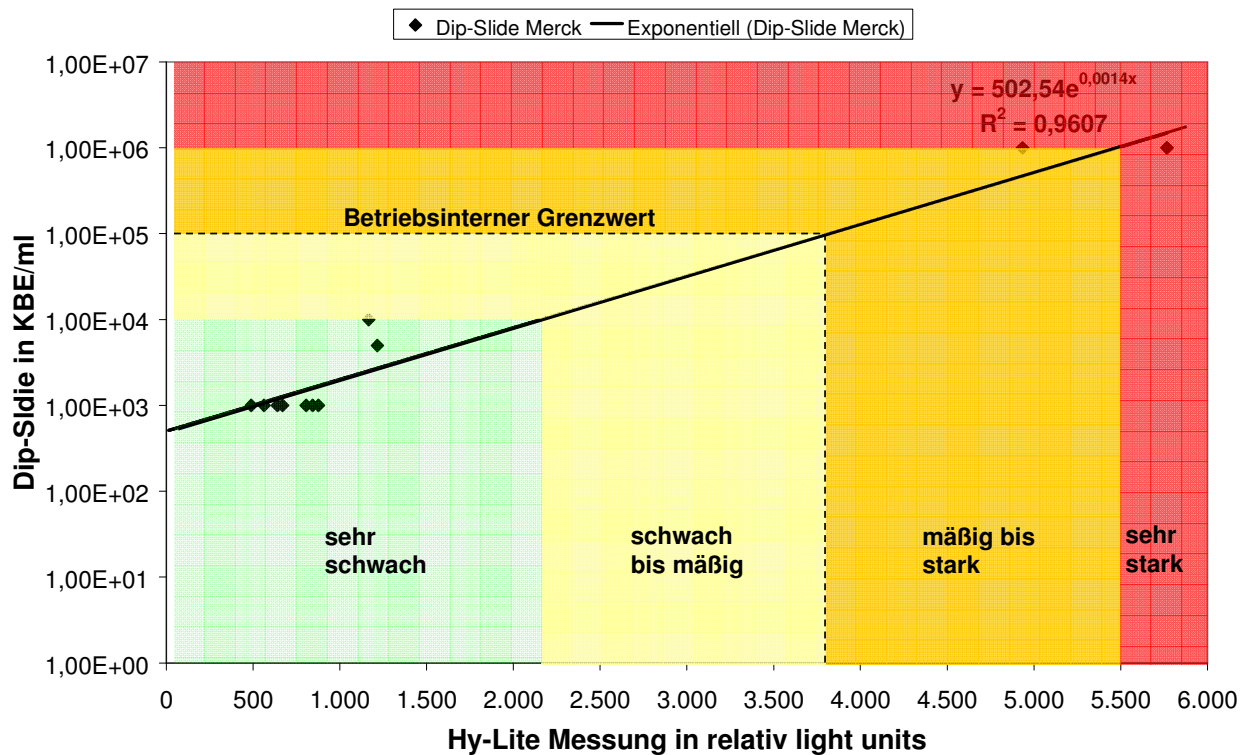


Bild 33: Beispielhafte Applikation für einen betrieblichen Kühlkreislauf (ölfreies Kühlwasser)

Im Vergleich zum Kühlwasser lagen die gemessenen RLU-Werte in der betrieblichen Emulsion um den Faktor 5 höher. Ursache hierfür waren die unterschiedlichen Inhaltsstoffe von Kühlwässern und Emulsionen.

Betrieblicher Grenzwert [KBE/ml]	biologische Belastung	Kühlwasserzu-stand/Maßnahme	Ampel-farbe	Messwert Hygiene-Überwachungssys-tem [RLU]
$<10^4$	niedrig bis mittel	normal/keine	grün	<13.000
10^4-10^6	erhöht	Warnbereich/verstärkte Kon-trolle, ggf. Bioziddosierung	gelb	13.000 – 25.000
$>10^6$	hoch	kritisch/Handlungsbedarf (Bioziddosierung)	rot	> 25.000

Bei einem Messwert unter 13.000 RLU liegt eine niedrige bis mittlere Belastung vor ($< 10^4$ KBE/ml). Es sind keine Maßnahmen erforderlich. Bei Messwerten zwischen 13.000 RLU und 25.000 RLU ist eine erhöhte biologische Belastung festzustellen, die im Bereich von 10^4 KBE/ml und 10^6 KBE/ml liegt. In diesen Fall kann z.B. durch eine gezielte Bioziddosierung eine Überschreitung des zulässigen Grenzwertes für die biologische Belastung vermieden werden. Bei Messwerten oberhalb von 25.000 RLU besteht ein akuter Handlungsbedarf, der eine sofortige Bioziddosierung erfordert, **Bild 34**. Hierbei muss eine höhere Biozidmenge dosiert werden als bei einer Dosierung im Warnbereich. Die genaue Biozidmenge bei einer Dosierung im Warnbereich ist empirisch zu ermitteln.

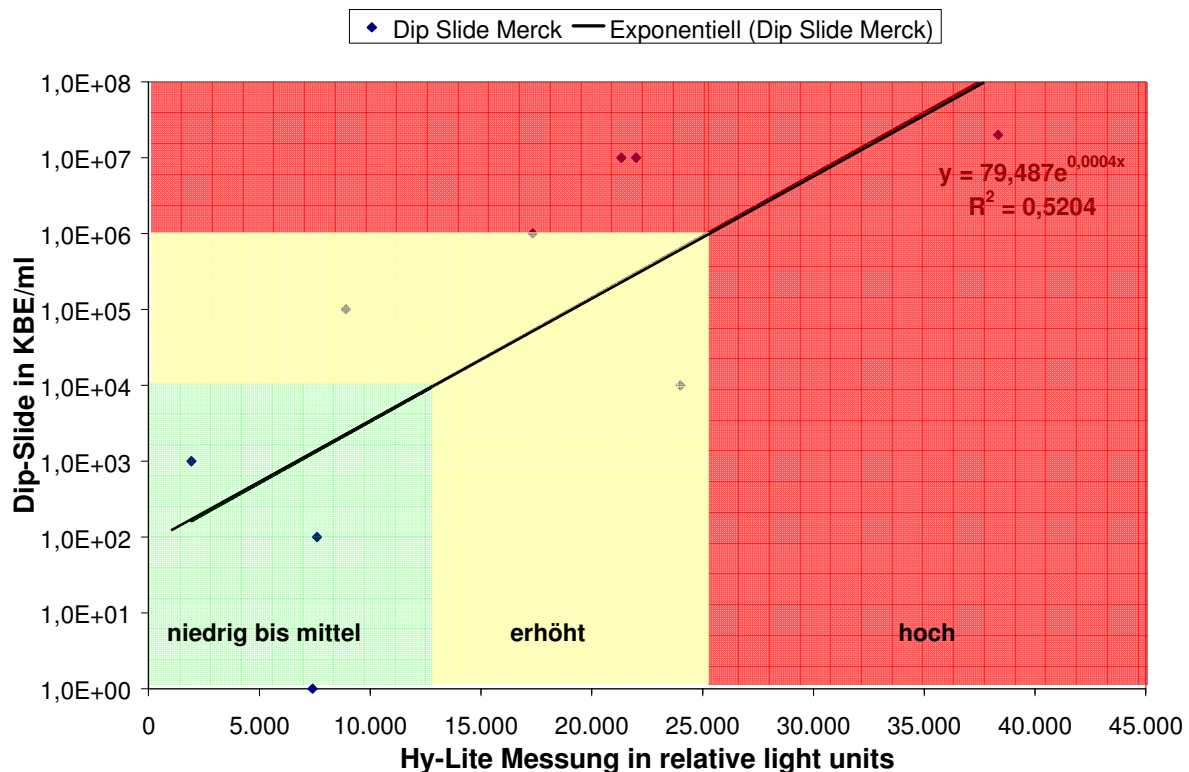


Bild 34: Beispielhafte Applikation für einen betrieblichen Emulsionskreislauf

Basierend auf den Ergebnissen der vorangegangenen Arbeitsschritte, insbesondere der betrieblichen Demonstration ergeben sich folgende Schritte für die Applikationserstellung an einem unbekanntem Kreislauf:

- Ermittlung bzw. Definition der betrieblichen Vorgaben/Grenzwerte,
- Parallelmessung Dip-Slide – ATP/RLU sowie Gesamtzellzahl und HPC und
- Erfassung der unterschiedlichen Betriebszustände über einen Zeitraum von 2 - 3 Monaten.

Es ist eine separate Applikationserstellung für jeden Kreislauf erforderlich. Dies wird insbesondere an den demonstrierten Applikationen der ölfreien Kühlwässer II und III im Rahmen der betrieblichen Demonstration deutlich.

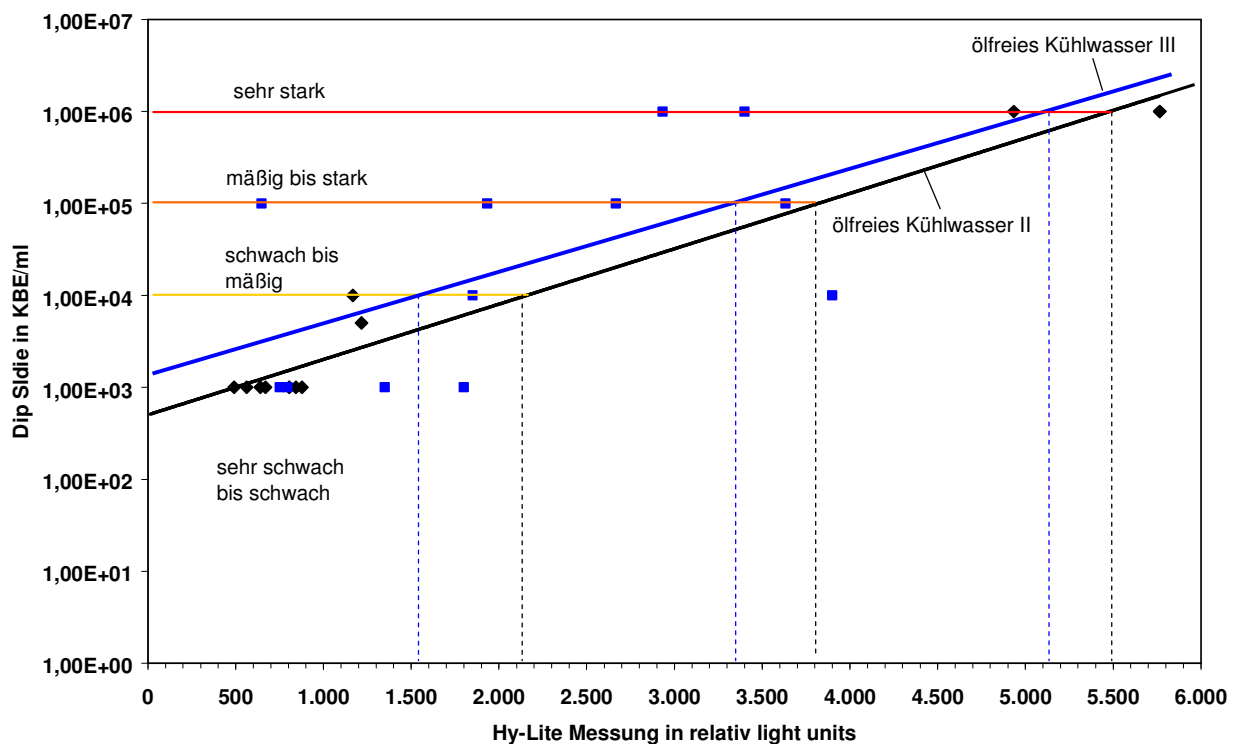


Bild 35: Vergleich der Applikationen der ölfreien Kühlwässer II und III

In beiden Kühlkreisläufen werden die gleichen Kühlwasserbehandlungskemikalien eingesetzt. Unterschiede bestehen in den Systemvolumina, Volumenstrom und die Verwendung von Holz- anstelle von Kunststofflamellen in den Kühltürmen. So beginnt der Bereich der schwach bis mäßigen biologischen Belastung beim ölfreien Kühlwasser III bereits bei rund 1.500 RLU, während dieser beim ölfreien Kühlwasser II erst bei 2.200 RLU erreicht wird. Dies hat direkte Auswirkungen, zu welchem Zeitpunkt Maßnahmen zur Minimierung der biologischen Aktivität ergriffen werden müssen.

Zur Betrachtung der Wirtschaftlichkeit der ATP-Messung wurde von einem KMU-typischen Emulsionskreislauf mit einem Systemvolumen von 20 m³ und einer Emulsionsstandzeit von 6 Monaten ausgegangen. Die Messung der biologischen Belastung (Dip-Slide) und die Bioziddosierung erfolgt wöchentlich. Für die Entsorgung der verworfenen

Altemulsion und den Emulsionsneuansatz werden Kosten in Höhe von 3.400 € bzw. 4.800 € veranschlagt. Hierbei wurde der Personalaufwand zur Reinigung des Emulsionskreislaufs und zum Ansetzen der neuen Emulsion nicht berücksichtigt. Die Gesamtkosten für das Emulsionssystem betragen somit 23.800 €/a. Durch Einsatz der ATP-Messung kann eine zeitnahe bedarfsgerechte Bioziddosierung erfolgen, wodurch eine Verringerung des Biozidverbrauchs und eine Erhöhung der Emulsionsstandzeit auf 12 Monate erwartet wird. Hierdurch ließe sich eine Verringerung der Gesamtkosten für den Emulsionskreislauf um 32 % auf 16.100 € erzielen. Die Investition für das ATP-Messgerät (3.500 €) und die Pens (300 €) würde sich bereits im 1. Jahr amortisieren.

12. Wissenstransfer zu kleinen und mittelständischen Unternehmen

Die Verbreitung der Forschungsergebnisse wird durch die intensive Zusammenarbeit mit Anwendern und Messgeräteherstellern sowie die praxisnahe Untersuchung betrieblicher Kühlwässer und Emulsionen und die betriebliche Demonstration des Messverfahrens sichergestellt. Die Forschungsergebnisse wurden zeitnah mit Anwendern (Betreiber Emulsionskreisläufe, Anlagenbauunternehmen, Messgerätehersteller) im Rahmen der Sitzungen des projektbegleitenden Ausschusses am 14.08.2008, 03.03.2009 und 01.10.2009 diskutiert. Die Ergebnisse des Forschungsvorhabens wurden und werden durch Publikationen in Fachzeitschriften, durch Vorträge auf Fachtagungen und Seminaren sowie im Rahmen von Messeteilnahmen veröffentlicht. Erfolgt bzw. geplant sind:

- Publikationen:
 - Stahl & Eisen - 2010
 - Stahl Jahrbuch 2010
 - Filtrieren und Separieren - 2010
- Vorträge:
 - Fachvortrag beim 18. Deutschen Kühlschmierstoff-Forum, Bad Nauheim (IWW) – 12/2008
 - VDEh-Fachausschuss Gewässerschutz - 2010
 - VDEh-Chemikerausschuss - 12/2009
 - BFI-Kolloquium 2010 (BFI)
 - Präsentationen bei Fa. Ashland (Kühlwasserbehandler) und Fa. Berthold (ATP-Messgerätehersteller) für Anwendungstechniker im Außendienst 2010
- Einbringung in Richtlinien:
 - Einbringung der Ergebnisse des Forschungsvorhabens in neue BG-Richtlinie zur Kühlschmierstoffüberwachung durch IWW - 2010

- Ergänzungen im Einspruchsverfahren bei Erstellung einer neuen ASTM für den Umgang mit Kühlschmierstoffen durch IWW - 2009

13. Zusammenfassung und Ausblick

In der Automobil-, chemischen, stahlerzeugenden und metallverarbeitenden Industrie sind Kühlwasser- und Emulsionskreisläufe ein wichtiger Bestandteil des Gesamtproduktionsprozesses. Das Wachstum von Mikroorganismen in diesen Kreisläufen kann zu Störungen und kostenintensiven Produktionsausfällen führen. Die Folgen des Wachstums von Mikroorganismen sind beispielsweise Biofilmbildung auf Oberflächen, Geruchsbildung sowie Abnahme der Kühl-/Schmierwirkung verbunden mit einer Verschlechterung der Produktqualität. Die Überwachung der mikrobiologischen Aktivität in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen erfolgt üblicherweise durch den Nachweis von Mikroorganismen auf unselektiven Nährböden mittels so genannter Dip-Slide-Tests. Diese erfassen nicht alle vorhandenen Mikroorganismen. Zwischen Probenahme und Vorlage des Ergebnisses liegen bis zu 5 Tage, so dass eine zeitnahe Reaktion nicht möglich ist. Dem entsprechend erfolgt eine zeitverzögerte Bioziddosierung bzw. eine präventive Biozidüberdosierung.

Ziel des Projektes war die Entwicklung eines Messverfahrens zur zeitnahen Bestimmung der biologischen Aktivität im Bereich Kühlwasser- und Emulsionskreisläufe durch Messung des ATP-Gehaltes in den Mikroorganismen. Ausgangspunkt für die sich anschließenden Arbeiten war die Detailanalyse repräsentativer Kreisläufe. Es wurden insgesamt an 3 ölfreien bzw. 2 ölhaltigen Kühlwasserkreisläufen sowie 5 Emulsionskreisläufen Bestandsaufnahmen durchgeführt. **(AS 1)**. Basierend auf den Ergebnissen wurde eine Übersicht über die Zusammensetzungen, Inhaltsstoffe und die Schwankungsbreite der Zusammensetzung von Kühlwässern und Emulsionen erstellt. In den Kühlwasserkreisläufen und in den Emulsionskreisläufen erfolgt der Einsatz von Dip-Slide-Tests zur Kontrolle der biologischen Aktivität. Diese werden durch chemische und biologische Analysen der Kühlwasserchemikalien – bzw. Emulsionslieferanten ergänzt. Gängige Praxis ist die Verwendung der Biozide Chlor und Brom in Kühlwasserkreisläufen sowie von Formaldehyd abspaltenden Verbindungen in Emulsionen. Während die Dosierung der Biozide in den Kühlwasserkreisläufen überwiegend dreimal wöchentlich erfolgt, wird diese in den Emulsionskreisläufen ein Mal wöchentlich durchgeführt. Die Systemvolumen der Kühlwasserkreisläufe betragen zwischen 18 m³ und 3.300 m³ bzw. zwischen 3 m³ und 200 m³ Systemvolumen in den Emulsionskreisläufen.

Im Anschluss **(AS 2)** wurde der Einfluss von 21 Matrixbestandteilen der Kühlwässer und Emulsionen auf das ATP-Messverfahren im Labormaßstab untersucht. Bei den untersuchten Matrixbestandteilen handelt es sich um unterschiedliche Einzelstoffe und Gemi-

sche aus den Gruppen der oxidierenden bzw. nichtoxidierenden Bioziden, Härtestabilisatoren, Korrosionsinhibitoren sowie Dispergatoren. 15 der 21 Matrixbestandteile hatten einen vernachlässigbaren Einfluss auf die ATP-Messung. Bei ihnen konnte eine hohe Wiederfindungsrate zwischen 80 % und 120 % ermittelt werden. Bei 6 Matrixbestandteilen aus den Gruppen der nichtoxidierenden Bioziden, oxidierenden Bioziden, Korrosionsinhibitoren und Stabilisatoren konnten Wiederfindungsraten zwischen 30 % und 153 % ermittelt werden. Es wurde festgestellt, dass die Einflüsse sehr vielschichtig sind und somit Störeinflüsse für die zu untersuchenden Kühlwässer und Emulsionen stets individuell betrachtet werden müssen.

Zur Beurteilung der biologischen Belastung wurde der so genannte Aktivitäts-Index eingeführt (**AS 3**). Dieser setzt sich aus dem Quotienten des ermittelten ATP pro Zelle und der Gesamtzellzahl zusammen und ermöglichte eine gute Beurteilung der biologischen Belastung. Dieser Aktivitäts-Index sollte sich an den bisher in der Praxis eingesetzten „Ampel-artigen“ Konzentrationsbereichen zur Definition von Normalzustand (grün), Warmbereich (gelb) und Handlungsbedarf (rot) orientieren. Die Bereiche werden vom physiologischen Zustand der Bakterien (Nährstoffangebot, Stress durch Biozidzugabe, etc.) beeinflusst. Da die Gesamtzellzahl kein Routineparameter in der betrieblichen Analytik ist, wurde ein Belastungs-Index in Anlehnung an die bisher in der Praxis genutzten Schwellenwerte auf Dip-Slide-Basis erstellt. Dieser ermöglicht die Umstellung der bisher in der Praxis verwendeten Schwellenwerte auf das ATP-Messverfahren. Da jeder Kreislauf unterschiedliche Kreislaufparameter und Bakterienarten aufweist, ist jeweils eine separate Anpassung erforderlich.

Basierend auf den Ergebnissen der Detailanalyse wurden 4 ölhaltige bzw. ölfreie Kühlwässer sowie 3 Emulsionen für Laborversuche ausgewählt (**AS 4**). Diese dienen zur Überprüfung der Anwendbarkeit des ATP-Messverfahrens unter nachgestellten betrieblichen Bedingungen. Hierbei wurden in der BFI-Versuchsanlage über einem Zeitraum von 6 Wochen unterschiedliche Bedingungen wie beispielsweise intensiver Luftkontakt durch Verdüsen, Eintrag von Nährstoffen durch Zugabe einer Nährlösung bzw. ein Hydrauliköleinbruch durch Zugabe von Polyethylenglykol und eine Bioziddosierung eingestellt. Wie die Versuche gezeigt haben, konnte sowohl mit dem Hygiene-Überwachungssystem als auch mit dem Luminometer in ölfreien und ölhaltigen Kühlwässern die biologische Belastung gemessen werden. Die Messwerte der beiden Geräte differierten i.d.R. nur um 1/3 log Stufe. Die Ergebnisse der ATP-Messung korrelierten mit den biologischen Aktivitäten, die mittels Gesamtzellzahl, HPC und Dip-Slide gemessen wurden. Eine Ausnahme bildete die ATP-Messung nach einer Bioziddosierung. Während 24 h nach der Bioziddosierung per Dip-Slide-Tests keine biologische Belastung nachgewiesen werden konnte, ergab die Messung mit dem Hygiene-Überwachungs-

systems eine berechnete biologische Aktivität auf 9×10^1 KBE/ml bzw. die Messung mit dem Luminometer eine berechnete biologischen Aktivität von 5×10^5 KBE/ml. Ursache hierfür war die unterschiedliche Probenvorbereitung bei Anwendung des Hygiene-Überwachungssystems und des Luminometers. Während mit dem Hygiene-Überwachungssystem der Gesamt-ATP-Gehalt gemessen wird, erfolgt mit dem Luminometer die Bestimmung des gebundenen ATPs. Des Weiteren führt das Biozid zu einer Wachstums- hemmung der noch vorhandenen Mikroorganismen auf dem Dip-Slide. Die Anwendbar- keit der ATP-Messung in Emulsionen konnte ebenfalls nachgewiesen werden. Die ATP- Messwerte entsprachen den Trends der biologischen Belastung (Gesamtzellzahl, Kolo- niezahl, Dip-Slide). Je nach Emulsion können sowohl das Hygiene-Überwachungs- system als auch das Luminometer eingesetzt werden.

Durch eine gemeinsame Optimierung der Probenvorbereitung des ATP-Messverfahrens mittels Hygiene-Überwachungssystem und Luminometer in Zusammenarbeit mit Geräte- bzw. Chemikalienherstellern (**AS 5**) konnte die Anzahl der „Störadditive“ von 6 auf 2 ver- ringert und die Wiederfindungsraten auf 90% bis 110% erhöht werden. Als störende Matrixbestandteile konnten Dibromocyanoacetat bzw. hohe Formaldehydgehalte ermit- telt werden. Zur Verbesserung der Messung mit dem Hygiene-Überwachungssystem wurde ein neuer Pen („HyLite plus“) entwickelt und die Probenvorbereitung angepasst. Diese umfasst eine Vorverdünnung der Probe mit einem im Pen vorgelegten Puffer zur Minimierung der Störeinflüsse durch Matrixkomponenten. Beim Luminometer erfolgt e- benfalls eine Ergänzung der Probenvorbereitung durch einen zusätzlichen Waschschr- itt mit einem organischen Lösungsmittel. Hierdurch werden die auf dem Filter verbliebenen Störsubstanzen wie z.B. Fette, Öle und an Oberflächen oder Partikel adsorbierte Additi- ve entfernt.

Zur Überprüfung der Laborergebnisse wurde im Anschluss eine betriebliche Demonstra- tion des neu entwickelten ATP-Messverfahrens an je einem ausgewählten Kühlwasser- und Emulsionskreislauf über einen Zeitraum von 9 Monaten mit 21 Probenahmen durchgeführt (**AS 6**). Bei dem untersuchten Kühlwasserkreislauf mit einem Systemvolu- men von 3.300 m^3 handelt es sich um einen offenen Kühlkreislauf zur indirekten Küh- lung ohne Produktkontakt (ölfreies Kühlwasser). Im Kühlwasserkreislauf traten spora- disch hohe biologische Belastungen bis zu 10^6 - 10^7 KBE/ml auf. Im betrachteten Emul- sionskreislauf wurden hohe biologische Belastungen von bis zu 10^6 - 10^7 KBE/ml, bei wö- chentlicher Bioziddosierung, beobachtet. Der Emulsionskreislauf besitzt ein Systemvo- lumen von 20 m^3 und dient zur Kühlung und Spanabfuhr während der mechanischen Bearbeitung. In der betrieblichen Demonstration konnten die positiven Ergebnisse der Laborversuche bestätigt werden.

Auf Grundlage der Ergebnisse der Labor- und Betriebsversuche sowie unter Berücksichtigung der Bedürfnisse der industriellen Anwender wurde ein Anforderungskatalog zur Anwendung des ATP-Messverfahrens in der betrieblichen Praxis für die ATP-Messgerätehersteller erstellt (**AS 7**). Dieser beinhaltet u. a. eine einfache Handhabung des Messverfahrens, reproduzierbare Probevolumina und lagerstabile Reagenzien sowie die Forderung nach einem tragbaren robusten Gerät für den Einsatz vor Ort wie beispielsweise in Stahl-Werken. Die Anforderungen „tragbares robustes Gerät“ sowie eine einfache Gerätehandhabung werden vom Hygiene-Überwachungssystem (Handmessgerät Merck HyLite) bereits erfüllt. Das im Projekt eingesetzte und empfindlichere Luminometer (Labormessgerät) ist aufgrund seiner Größe und seines Gewichtes für den betrieblichen Einsatz weniger geeignet. Des Weiteren hat sich im Projektverlauf gezeigt, dass die höhere Empfindlichkeit des Luminometers für die Messung der mikrobiologischen Aktivitäten in Kühl- und Emulsionskreisläufen nicht notwendig ist. Eine Anpassung von ATP-Kits bzw. der Probenvorbereitung hinsichtlich der Vermeidung von Störeinflüssen durch die Probenmatrix (z. B. Additive) hat bereits exemplarisch im Laufe des Projekts stattgefunden (HyLite plus-Pen, Merck und QGO-M-Kit, Aqua-Tools).

Zur Umsetzung der Ergebnisse in die betriebliche Praxis und die Umstellung der Überwachung der Kreisläufe von Dip-Slide-Tests auf das neue ATP-Messverfahren wurden jeweils eine Applikationsstrategie für einen Emulsions- und Kühlwasserkreislauf erstellt (**AS 8**). Das beispielhafte Vorgehen zur Erstellung einer Applikation an einem unbekanntem Kreislauf umfasst die Ermittlung bzw. Definition der betrieblichen Vorgaben/Grenzwerte sowie die Parallelmessung der mikrobiologischen Aktivität mit Dip-Slide-Tests und ATP/RLU sowie der Gesamtzellzahl und HPC über einen Zeitraum von 2 - 3 Monaten zur Erfassung der unterschiedlichen Betriebszustände. Es ist für jedes System eine separate Applikationserstellung aufgrund der unterschiedlichen Kühlwasser- bzw. Emulsionsinhaltsstoffe, Bakterienarten und Kreislaufparameter erforderlich.

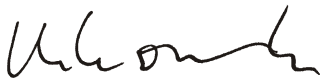
Durch die Untersuchungen im Rahmen dieses Forschungsvorhabens konnte die betriebliche Anwendbarkeit des ATP-Messverfahrens zur zeitnahen Überwachung der biologischen Aktivität in Kühlwasser- und Emulsionskreisläufen nachgewiesen werden. Durch eine individuelle Applikation besteht für die Betriebe die Möglichkeit zur direkten Anwendung der Forschungsergebnisse in der betrieblichen Praxis. Auf Grundlage der Ergebnisse erfolgte die Erstellung einer Kosten-Nutzen-Analyse anhand eines KMU-typischen Emulsionskreislaufes aus dem Bereich der Metallverarbeitung mit einem Systemvolumen von 20 m³. Es wird erwartet, dass durch Einsatz des ATP-Messverfahrens eine bedarfsgerechte und zeitnahe Bioziddosierung erfolgt, die eine Erhöhung der Emulsionsstandzeit von 6 auf 12 Monate ermöglicht. Hierdurch ergibt sich ein Einsparpotential von 32 % (16.100 €), ohne Berücksichtigung des einzusparenden Personalaufwands zur

Reinigung des Emulsionskreislaufs und zum Neuansatz der Emulsion. Die Investition für das ATP-Messgerät (3.500 €) und die Pens (300 €) würde sich bereits im 1. Jahr amortisieren.

Die Ziele des Forschungsvorhabens wurden damit vollständig erreicht. Im Verlauf der umfangreichen Arbeiten haben sich Ansatzpunkte für eine mögliche Anwendung des neuen ATP-Messverfahrens in weiteren wasserbasierten Systemen wie Abschreckbädern in Härtereien und Schlichten in Gießereien sowie bei der Produktion wasserbasierter Lacke ergeben. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Einsatzgebiete und Anforderungen an die Funktionalität weisen die genannten wasserbasierten Systeme grundlegend andere chemische Zusammensetzungen als die im Forschungsvorhaben untersuchten Emulsionen und Kühlwässer auf, was bei der weiteren Forschung und Entwicklung sowie der Applikation zu beachten ist.

Danksagung

Das Forschungsvorhaben (AiF-FV-Nr. 15411 N) wurde über die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen „Otto-von-Guericke“ e.V. (AiF) aus den Haushaltsmitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie (BMWi) gefördert. Dafür sei an dieser Stelle herzlich gedankt. Außerdem danken wir allen am Projekt beteiligten Firmen für die tatkräftige Unterstützung.



Dr. M. Kozariszczuk



Dr. B. Schmidt



Dipl.-Ing. M. Hubrich



Dr. G. Schaule



Dr. M. Strathmann

Schrifttum

- [1] Fembacher, L.: Mikrobiologische Belastung in Verdunstungsrückkühlwerken (VRKW), Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 2007
- [2] N.N.: Entwurf BREF: Integrierte Vermeidung und Verminderung der Umweltverschmutzung – Referenzdokument über die Anwendung von best verfügbaren Techniken bei industriellen Kühlsystemen, Europäische Kommission, 2001
- [3] N.N.: VDI-Richtlinie 3397 Blatt 1: Kühlschmierstoffen für spanende Fertigungsverfahren, 2007
- [4] Bartz, W.J.; Expert-Parxis Lexikon Tribologie plus, expert Verlag, 2000
- [5] N.N.: Synthesebericht Antifouling und Kühlwasser, Internationale Kommission zum Schutz des Rheins, Bericht Nr. 312, 2002
- [6] N.N.: Firmeninformation, Lubrizol Deutschland GmbH, www.lubrizol.com, 2009
- [7] Grabbe, R.: Einsatz von Bioziden in Kühlschmierstoffen, Korrosionsschutz- und Reinigungsbädern, Vortrag zur Fachverband Industrielle Teilereinigung-Fachausschuss-Sitzung, 2006
- [8] Kiechle, A.: Kostenanalyse beim Einsatz von Kühlschmierstoffen, Gesellschaft für Tribologie e.V.: Tribologie Fachtagung 1999
- [9] N.N.: VKIS - VSI - IGM Stoffliste für Kühlschmierstoffe nach DIN 51385 für die Metallbearbeitung, 2007
- [10] N.N.: Commission Regulation (EC) No 1451/2007, 2007
- [11] Warfolomeow, I.: Ergebnisbericht zum Wirksamkeitsnachweis ausgewählter Biozide in wassergemischten Kühlschmierstoffen gegenüber Mykobakterien – insbesondere *M. immunogenum*, 2009
- [12] N.N.: Keimbelastung wassergemischter Kühlschmierstoffe –Fachausschuss „Maschinenbau, Fertigungssysteme, Stahlbau (FAMFS), BG-Information 762, 2006

- [13] N.N.: Firmenschrift Houghton-Kühlschmierstoffe für die Metallbearbeitung, 2002
- [14] N.N.: Leitfaden zur Anwendung umweltverträglicher Stoffe, Teil vier: Produktspezifische Strategie für Kühlschmierstoffe für die Hersteller und Anwender gewässerrelevanter chemischer Produkte, Umweltbundesamt Berlin, 2003
- [15] N.N.: Pflegebedürftig –Kühlschmierstoffe/Biostoffe, Vereinigung der Metallberufsgenossenschaften, 2002
- [16] Merschbrock, E.: Automatische Kühlschmierstoffpflege – Der Weg zur Standzeitverlängerung und Kosteneinsparung in der Metallbearbeitungsbranche, Tribologie + Schmierungstechnik 50. Jahrgang, expert Verlag, 6/2003
- [17] N.N.: Tätigkeiten mit Kühlschmierstoffen, Berufsgenossenschaftliche Regel für Sicherheit und Gesundheit bei der Arbeit BGR 143, Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften, 2006
- [18] N.N.: Firmenschrift Drew: Grundlagen der industriellen Wasserbehandlung, 1999
- [19] Kelly, S.; Wesselman, J.C.; Askins, C.W.: Microbiological Control Program Application to Continuous Casters Mold Cooling Water, AISTech 2004
- [20] Passman, F.J.; Eachus, A.C.: Mycobacteria and Metalworking Fluids- A U.S. Perspective, AISTech 2004
- [21] Passman, F.J.; Metalworking Fluid Microbes – What we need to know to successfully understand cause and effect relationships, Tribology Transaction 2008
- [22] Kwang, K.; Kook-Wha, Koh: Biological Activities in Metalworking Fluid Systems, AISTech 2004
- [23] N.N.: VDI-Richtlinie 3397 Blatt 2: Pflege von Kühlschmierstoffen für die Metallbearbeitung, 2005
- [24] N.N.: Dip-Slides: Einmal Eintauchobjektträger zur Keimzahlbestimmung in wässrigen Medien, Süddeutsche Metallberufsgenossenschaft, 2000

- [25] N.N.: Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Metallindustrie: Berufsgenossenschaftliche Information für Sicherheit und Gesundheit bei der Arbeit, BGI 805, Maschinebau und Metallberufsgenossenschaft, 2001
- [26] N.N.: Technische Regeln für biologische Arbeitsstoffe: TRBA 400: Handlungsanleitung zur Gefährdungsbeurteilung bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen, 2001
- [27] N.N.: Keimbelastung wassergemischter Kühlschmierstoffe – Handlungsbuch nach Biostoffverordnung: Berufsgenossenschaftliche Information für Sicherheit und Gesundheit bei der Arbeit, BGI 762, 2001
- [28] Schmidt, B.; Reichardt, et al: Stainless Steel Cold Rolling with Emulsion, EUR 20934, ISBN 92-894-7464-5, European Coal and Steel Community, 2002
- [29] Karl, D.M. (1993): Total microbial biomass estimation derived from the measurement of particulate adenosin-5`-triphosphate. In KEMP, P.F.SHERR, B.F., SHERR, E.B. COLE, J.J. (Eds) Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis, Boca Raton. P. 359-368
- [30] Fairbanks, B.C., Woods, L.E., Bryant, R.J., Cole, C.V., Coleman, D.C.(1984): Limitations of ATP estimates of microbial biomass. Soil Biol. Biochen. 16, p. 549-558
- [31] [Jewson, D.H., Dokulil, M.: Adenylate energy charge measurement in freshwater microbial studies. J. Ecol. 70, S. 595-606, 1982
- [32] Karl, D.M.: Cellular nucleotide measurement and application in microbial ecology. Microbiol. Rev. 44, S.739- 796, 1980
- [33] Stanley, P.E.: Extinction of adenosine triphosphate from microbial and somatic cells. Meth. Enzymol. 133, S. 14-22, 1986
- [34] N.N.: Gesellschaft Deutscher Chemiker. Hygiene in der Produktion, Veranstaltung der DECHEMA, 16. und 17.11.2005, Frankfurt am Main.
- [35] Kricka L.J.: Clinical and biochemical applications of luciferases and luciferins, Anal Biochem. 175 (1): S. 14-21,1988

- [36] N.N.: Vermeidung von Biofilmbildung in Stoff- und Wassersystemen durch optimierte Prozessführung in Altpapier verarbeitenden Produktionsanlagen. PTS Forschungsbericht zum AiF Forschungsvorhaben 13669, 1.11.2005
- [37] N.N: Mikrobiologische Untersuchung von Kühlschmierstoffen mittels kultivierungsabhängiger und -unabhängiger Verfahren, Projekt FFP0280 der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, 2007

Tabellenhang

Tabelle 1: Daten der Kühlwassersysteme

	Ölhaltiges Kühlwasser I	Ölhaltiges Kühlwasser II	Ölfreies Kühlwasser I	Ölfreies Kühlwasser II	Ölfreies Kühlwasser III
Prozess	Gießen von Ne-Metall	Gießen von Ne-Metall	Kühlung eines Wärmeofens	Abwärmeabfuhr aus einem chemischen Prozess über Wärmetauscher	Abwärmeabfuhr aus einem chemischen Prozess über Wärmetauscher
Systemvolumen [m ³]	2.300	2.000	18	2.700 m ³	3.300 m ³
Umwälzmenge [m ³ /h]	650 (max.: 1.800)	550 (max.: 1.1000)	140	4.500 m ³	5.500 m ³
Pflegemaßnahmen	Kiesfilter	Kiesfilter	keine	Kiesfilter	Kiesfilter
Eingesetzte Additive	Natriumoelat	Terpolymere Phosphonsäuren Phosphorsäure Polymergemisch	Alkalissalze von Molybdän Phosphonocarbonsäure Polycarbonsäure	Glykoside (Chloro)methylisothiazolin Phosphorsäure Methylalkohol Sodium Formaldehyde Bisulfite	Glykoside (Chloro)methylisothiazolin Phosphorsäure Methylalkohol Sodium Formaldehyde Bisulfite
Betriebliche Grenzwerte [KBE/ml]	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵
Überwachung biologischen Belastung	1 x wöchentlich: Dip-Slide 1 x monatlich: Laboranalyse durch Kühlwasserchemikalienlieferanten	1 x wöchentlich: Dip-Slide 1 x monatlich: Laboranalyse durch Kühlwasserchemikalienlieferanten	1 x wöchentlich: Dip-Slide 1 x monatlich: Laboranalyse durch Kühlwasserchemikalienlieferanten	1 x wöchentlich: Dip-Slide 1 x monatlich: Laboranalyse durch Kühlwasserchemikalienlieferanten	1 x wöchentlich: Dip-Slide 1 x monatlich: Laboranalyse durch Kühlwasserchemikalienlieferanten
Art der Bioziddosierung	kontinuierliche Zugabe von Chlor-Brom (Tabletten) Stoßdosierung mit anorganischen Biozid (alle 14 Tage)	Zeitintervall, Zugabe (jeweils Mo/Mi/Fr Mittag) Stoßdosierung mit anorganischen Biozid (alle 14 Tage Mo)	kontinuierliche Zugabe von Chlor-Brom (Tabletten)	4 x Woche Stoßdosierung	4 x Woche Stoßdosierung
Chemische Zusammensetzung der Biozid	Chlor-Brom Chlormethylisothiazolon Methylisothiazolon	Chloraldehyd	Chlor-Brom Triazolderivate	Chlorbleichlauge (Natriumhypchlorid)	Chlorbleichlauge (Natriumhypchlorid)

Tabelle 2: Daten der Emulsionssysteme

	Emulsion I	Emulsion II	Emulsion III	Emulsion IV	Emulsion V
Prozess	Schneiden von Rohren	Zerspanende Bearbeitung	Zerspanende Bearbeitung	Entgraten von Rohren	Schleifen
Systemvolumen [m ³]	18	K.A	K.A	18	20
Umwälzmenge [m ³ /h]	3	K.A	K.A	4	5
Überwachte chemische Parameter	ph-Wert Ölgehalt Nitrit-Gehalt	ph-Wert Ölgehalt Nitrit-Gehalt	ph-Wert Ölgehalt Nitrit-Gehalt	ph-Wert Ölgehalt Nitrit-Gehalt	ph-Wert Ölgehalt Nitrit-Gehalt
Pflegemaßnahmen	Bandfilter Magnetabscheider Zentrifuge Skimmer	K.A	K.A	Bandfilter	Bandfilter Magnetabscheider
Eingesetzte Additive	Tetramethyldec-5-in-4,7-diol Ethanolamin 2-Aminmoethanol	geschwefelte Fettsäure-ester Emulgatoren	Polyethylen Fettsäuren Tallöl Karbonsäuresalze Jodcarbamate	Tetramethyldec-5-in-4,7-diol Ethanolamin 2-Aminmoethanol	Polyethylen Fettsäuren Tallöl Karbonsäuresalze
Betriebliche Grenzwerte [KBE/ml]	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁶
Überwachung der biologischen Belastung	Dip-Slide Tests (Montags, 48 h ausbrüten), Messung Standardparameter Emulsion*, Probenahmen auch durch KSS-Hersteller	Dip Slids-Bestimmung (Bakterien 48h, Pilze 72h bei 30°C)	Dip Slids-Bestimmung (Bakterien 48h, Pilze 72h bei 30°C)	Dip-Slide Tests (Montags, 48 h ausbrüten), Messung Standardparameter Emulsion*, Probenahmen auch durch KSS-Hersteller	Dip Slids-Bestimmung (Bakterien 48h, Pilze 72h bei 30°C)
Art der Bioziddosierung	Stoßdosierung mit Konservierungsmittel	Stoßdosierung mit Konservierungsmittel	Stoßdosierung mit Konservierungsmittel	Stoßdosierung mit Konservierungsmittel	Stoßdosierung mit Konservierungsmittel
Chemische Zusammensetzung Biozid	3-3 Methylenebis[5-methyloxazolidin] Ethan-1-2-diol	Trimethyl-HHT (Hexahydrotriazin) BIT (Buthyl-Isothiazolinon)**	Trimethyl-HHT (Hexahydrotriazin) OIT (Octyl-Isothiazolinon)**	3-3 Methylenebis[5-methyloxazolidin] Ethan-1-2-diol	nicht oxidierendes Biozid, formaldehydabspalter

Tabelle 3: Übersicht der gängigsten Kühlwasserinhaltsstoffe

Gruppe	Funktion	Inhaltsstoff
Korrosionsinhibitoren		<ul style="list-style-type: none"> • Phosphate (organische Phosphate), • Polyphosphate • Polymere • Zink
Härtestabilisatoren		<ul style="list-style-type: none"> • Polyphosphate • Organische Phosphonate • Polymere • Pololester
Dispergatoren		<ul style="list-style-type: none"> • Copolymere in Verbindung mit Tensiden
Oxidierende Biozide	Auf Chlorbasis	<ul style="list-style-type: none"> • Natriumhypochlorid • Chlor • Calciumhypochlorid
	Auf Brombasis	<ul style="list-style-type: none"> • Natriumhypobromid • 1-Brom-3-Chlor-5,5-Dimethyl-2-imidazolidinon (BCDHM)
	Sonstige	<ul style="list-style-type: none"> • Ozon • Wasserstoffperoxid • Peressigsäure • Kaliummonopersulfat
Nichtoxidierende Biozide	Quaternäre Ammoniumverbindungen (QAV)	<ul style="list-style-type: none"> • Alkylmethylbenzylammoniumchlorid
	Isothiazolinone	<ul style="list-style-type: none"> • 5-Chlor-2-methyl-isothiazolin-3-on • 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on
	Sonstige	<ul style="list-style-type: none"> • 2,2-Dibrom-3-nitrilo-propionamide • Methylen(bis)thiocyanate • Triazinderivate • Dodecylguanidinhypochlorid • Organische Bromverbindungen

Tabelle 4: Übersicht der gängigsten Biozide in Emulsionen

Gruppe	Funktion	Inhaltsstoff
Formaldehyd-Depots O-Formale Harnstoffderivate N-Formale und verwandte Verbindungen	Biozid	<ul style="list-style-type: none"> • Benzylalkoholmono(poly)hemiformal • 1,6-Dihydroxy-2,5-dioxahexan • Bis(hydroxymethyl)harnstoff • 1,3,5-substituierte Hexahydrotriazine, • 3,3'-Methylen-bis(5-methyloxazolidin), • 5-Ethyl-3,7-dioxa-1-azabicyclo [3.3.0]-octan, • 1,3-Dimethylol-5,5'-dimethylhydantoin)
heterocyclische Verbindungen	Biozid	<ul style="list-style-type: none"> • 1,2-Benzisothiazol-3(2H)-on • 5-Chlor-2-methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-on (CMI) / 2-Methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-on (MI)
Heterocyclische Verbindungen mit überwiegend fungizider Wirkung	Fungizid	<ul style="list-style-type: none"> • Pyridin-2-thiol-1-oxid, Na-Salz • (Natriumpyrithion) • 2-n-Octyl-2,3-dihydro-isothiazol-3-on • 2-(Methoxycarbonylamino)-benzimidazol
Phenoxyalkohole	Biozid	<ul style="list-style-type: none"> • 2-Phenoxyethanol • 1-Phenoxy-2-propanol/ • 2-Phenoxy-1-propanol
Carbamate	Biozid Fungizid	<ul style="list-style-type: none"> • 3-Iod-2-propinyl-butylcarbamate • Quaternäre Ammoniumverbindungen

Tabelle 5: Ausgewählte Kühlwasserinhaltsstoffe zur Untersuchung möglicher Wechselwirkungen zwischen der ATP-Messung und Kühlwasserinhaltsstoffen

Typ	Inhaltsstoff
Oxidierendes Bi-ozid	Natriumhypochlorid
	Bromchlorid
	Natriumhydroxid
Nichtoxidierendes Biozid	Dipropylenglykohl
	Carbamat
	Triazine
	2-Methyl-4-isothiazolin-3-on
	1,2-Benzisothiazolin-3-on
	Dipropylenglykohl
	2,2-di.Brom.3.nitrilpropinamid
	Didecyldimethylammoniumchlorid
	CoCo-Alkoniumchlorid
	Isopropanol
Alkohol C10-C12 (etoxlyiert, propoxyliert)	
Korrosionsschutz	Glutaraldehyd
	Methanol
	Magensiumnitrat
	5-Chloro-2-Methyl-4-Isouthiazolin-3-eins Gemisch
	Keine gefährlichen Stoffe
	Di Natirum Molybdate
	Kaliumdihydrogenorthophosphat
	Kaliumhydroxid (Ätzkali)
	Natriumtolyltriazole
	Natriumtolyltriazol
Korrosionsschutz (+ Stabilisator)	Tetrakaliumpyrophosphat
	Kaliumhydroxid
Stabilisator	2-Phosphonbutan-1,2,4-tricarbonensäure
	modifiziertes Natriumpolyacrylatt
	Polyacrylsäure
	Polymaleinsäure
	2-Phosphon-butan-tricarbonensäure
	Polymaleinsäure
Biodispergator	Natriumoleat

Tabelle 6: Eingesetzte Additive für die Untersuchung des Matrixeinflusses auf die ATP-Messung

Nr.	Bezeichnung	Hersteller	Funktion	Typische Einsatzkonzentration	Testkonzentration (Produkt) [mg/l]
1	Drewbrom one L	Ashland	Biozid, oxidierend	10 - max. 20 ppm	20
2	Drewperse 739	Ashland	Biodispersgator, neutrales Tensid	50 - max. 200 ppm	200
3	Drewperse 747A	Ashland	Stabilisator	10 - max. 50 ppm	50
4	Biosperse 244	Ashland	Biozid, nicht oxidierend	20 - max. 100 ppm	100
5	Biosperse 214N	Ashland	Biozid, nicht oxidierend, Quatern, Ammoniumsalz	50 - max. 150 ppm	150
6	Biosperse 2545	Ashland	Biozid, nicht oxidierend	85 - max. 400 ppm	400
7	Biosperse 250	Ashland	Biozid, nicht oxidierend	50 - max. 200 ppm	200
8	Performax 400	Ashland	Korrosionsschutz Molybdat	75 - 125 ppm	125
9	Performax 1085	Ashland	Stabilisator	10 - max. 140 ppm	140
10	Performax 2021	Ashland	Korrosionsschutz und Stabilisator	25 - max. 70 ppm	70
11	Performax 2400	Ashland	Korrosionsschutz, Phosphonat	80 - max. 300 ppm	300
12	Amertol 1130	Ashland	Korrosionsschutz Phosphat (hexametaphosphat)	3 - max. 30 ppm	30
13	WPD 11-166	Ashland	Korrosionsschutz (Buntmetallinhibitor)	5 - max. 50 ppm	50
14	Polystabil KWS	Ashland	Stabilisator	max. 150 ppm	150
15	Polystabil KP	Ashland	Stabilisator	max. 150 ppm	150
16	Acticide MB	THOR	Biozid, nicht oxidierend	0,40%	4000
17	Acticide MR 842	THOR	Biozid, nicht oxidierend	0,40%	4000
18	Contram 121	Lubrizol	Biozid, nicht oxidierend	0,15%	1500
19	Contram J 10	Lubrizol	Biozid, nicht oxidierend	0,10%	1000
20	Chlor-Brom-Tablette	Ashland	Produkt enthält ca. 40% Aktivhalogene	freies Halogen max. 1 ppm	2,5
21	Bromax	Ashland	Biozid, oxidierend	10 - max. 20 ppm	20

Tabelle 7: Zusammensetzung ausgewählter Emulsionen für die Laborversuche

Probe	Leitfähigkeit [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	pH-Wert [-]	Temperatur [$^{\circ}\text{C}$]	TOC [mg/L]	KW-Gehalt [mg/l]	Gesamt- zellzahl [Zellen /ml]	Kolonie- zahl HPC [KBE/ml]	Dip-Slide Test [KBE/ml]	Berechnete biologische Belas- tung basierend auf der Mes- sung mit dem	
									Hygiene- Überwachungs- system [Zellen/ml]	Luminometer [Zellen/ml]
Kühlwasser I	1.300	8,50	40,0	46	46	1,2E+06	5,5E+02	1,0E+03	4,0E+05	2,7E+05
Kühlwasser II	1.570	7,55	20,5	10	92	5,0E+05	1,0E+03	1,0E+04	4,6E+05	1,7E+05
Ölhaltiges Kühlwasser I	1.429	8,59	31,6	43	400	1,5E+07	2,0E+06	1,0E+04	2,7E+05	4,7E+05
Ölhaltiges Kühlwasser II	1.421	8,59	19,7	71	400	2,9E+07	1,6E+05	1,0E+06	4,5E+06	3,1E+06
Emulsion I	3.460	8,70	20,0	34.000	3.300	6,0E+06	1,0E+07	1,0E+04	5,0E+06	3,1E+07
Emulsion II	3.540	8,90	27,7	65.300	6.400	1,1E+07	1,8E+02	0,0E+00	2,7E+04	2,9E+04
Emulsion III	6.190	9,06	29,3	42.500	4.100	3,3E+09	1,1E+07	1,0E+06	4,3E+06	5,7E+06

Bericht Nr. 4.61.162 / 592.80

Alle Rechte, auch das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des BFI ist es auch nicht gestattet, diesen Bericht oder Teile daraus auf photomechanischem oder anderem Wege zu vervielfältigen.