

DIN EN ISO 14853



ICS 83.080.01

**Kunststoffe –
Bestimmung des vollständigen anaeroben Bioabbaus von
Kunststoff-Materialien in einem wässrigen Medium –
Verfahren mittels Analyse der Biogasentwicklung (ISO 14853:2016);
Deutsche Fassung EN ISO 14853:2017**

Plastics –

Determination of the ultimate anaerobic biodegradation of plastic materials in an aqueous system –

Method by measurement of biogas production (ISO 14853:2016);

German version EN ISO 14853:2017

Plastiques –

Évaluation de la biodégradabilité anaérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux –

Méthode par détermination de la production de biogaz (ISO 14853:2016);

Version allemande EN ISO 14853:2017

Gesamtumfang 38 Seiten

DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 14853:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 61 „Plastics“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 249 „Kunststoffe“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NBN (Belgien) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 054-01-07 AA „Bioabbaubare Kunststoffe“ im DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK).

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 7827	siehe	DIN EN ISO 7827
ISO 11734	siehe	DIN EN ISO 11734

Es wird darauf hingewiesen, dass die Erläuterung der Fußnote f im zweiten Datenblatt in ISO 14853:2016, Anhang D, fehlt. Diese Erläuterung der Fußnote wird bei der nächsten Überarbeitung der ISO 14853 ergänzt.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 7827, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der „leichten“, „vollständigen“ aeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Stoffe in einem wässrigen Medium — Verfahren mittels Analyse des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC)*

DIN EN ISO 11734, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der vollständigen anaeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Verbindungen im Faulschlamm — Verfahren durch Messung der Biogasproduktion*

Deutsche Fassung

Kunststoffe —
Bestimmung des vollständigen anaeroben Bioabbaus von
Kunststoff-Materialien in einem wässrigen Medium —
Verfahren mittels Analyse der Biogasentwicklung
(ISO 14853:2016)

Plastics —
Determination of the ultimate anaerobic biodegradation
of plastic materials in an aqueous system —
Method by measurement of biogas production
(ISO 14853:2016)

Plastiques —
Évaluation de la biodégradabilité anaérobie ultime des
matériaux plastiques en milieu aqueux —
Méthode par détermination de la production de biogaz
(ISO 14853:2016)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 17. Oktober 2017 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	9
5 Reagenzien und Materialien	10
6 Prüfeinrichtung	12
6.1 Laborausstattung	12
6.2 Verwendbare Prüfeinrichtung bei Biogasmessung mittels eines manometrischen Verfahrens	12
6.3 Verwendbare Prüfeinrichtung bei Biogasmessung mittels eines volumetrischen Verfahrens	13
7 Durchführung	13
7.1 Allgemeines	13
7.2 Faulschlamm	13
7.3 Vorbereitung des Inokulums	13
7.4 Vorbereitung von Prüfsuspensionen und Kontrollproben	14
7.5 Inkubation und Gasmessung	15
7.5.1 Allgemeines	15
7.5.2 Manometrische Gasmessung (siehe Anhang A)	15
7.5.3 Volumetrische Gasmessung (siehe Anhang B)	15
7.6 Prüfdauer	16
7.7 Messung des anorganischen Kohlenstoffs	16
7.8 Spezifische Analysen	16
8 Berechnung und Auswertung	17
8.1 Kohlenstoffmenge im Gasraum	17
8.2 Berechnung der Kohlenstoffmenge im Gasraum bei Verwendung eines manometrischen Messverfahrens	17
8.3 Berechnung der Kohlenstoffmenge im Gasraum bei Verwendung eines volumetrischen Messverfahrens	18
8.4 Menge des anorganischen Kohlenstoffs in der Flüssigkeit	18
8.5 Gesamtmenge des in Gas umgewandelten Kohlenstoffs	19
8.6 Menge des Kohlenstoffs im Probematerial	19
8.7 Berechnung des prozentualen Bioabbaus	19
9 Validität der Ergebnisse	19
9.1 Aufrechterhaltung anaerober Bedingungen	19
9.2 Hemmung des Bioabbaus	20
9.3 Validität der Prüfung	20
10 Prüfbericht	20

Anhang A (informativ) Beispiel einer Prüfeinrichtung zum Bestimmen der erzeugten Biogasmenge durch Messen des Gasdruckanstiegs.....	21
Anhang B (informativ) Beispiel einer Prüfeinrichtung zum volumetrischen Bestimmen der erzeugten Biogasmenge	22
Anhang C (informativ) Beispiel für eine Bioabbaukurve	24
Anhang D (informativ) Beispiele für Datenblätter für Prüfungen zur Bestimmung der anaeroben Bioabbaubarkeit	25
Anhang E (informativ) Tabelle mit Wasserdampfdrücken bei verschiedenen Temperaturen	30
Anhang F (informativ) Berechnung der theoretisch möglichen Kohlenstoffdioxidbildung (ThCO ₂) und der theoretisch möglichen Methanbildung (ThCH ₄)	31
Anhang G (informativ) Beispiel für die Bestimmung der Rückgewinnungsrate	32
Anhang H (informativ) Beispiel für ein Verfahrensschema	35
Literaturhinweise.....	36

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 14853:2016 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 61 „Plastics“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 14853:2017 durch das Technische Komitee CEN/TC 249 „Kunststoffe“ übernommen, dessen Sekretariat von NBN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Juni 2018, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Juni 2018 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 14853:2016 wurde von CEN als EN ISO 14853:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Bearbeitung des Dokuments identifizierten Patentrechten sind in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste für Patentanmeldungen (siehe www.iso.org/patents) zu finden.

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 61, *Plastics*, Unterkomitee SC 5, *Physical-chemical properties*.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 14853:2005), die technisch überarbeitet wurde. Sie enthält auch die Technische Berichtigung ISO 14853:2005/Cor.1:2009.

Einleitung

Mit zunehmendem Einsatz von Kunststoffen wird deren Wiederverwertung und Entsorgung zu einem wachsenden Problem. Oberste Priorität sollte stets die Wiederverwertung haben. Eine vollständige Wiederverwertung von Kunststoffabfällen, die hauptsächlich von Verbrauchern stammen, ist jedoch schwierig. Weitere Beispiele für schwer wiederverwertbare Materialien finden sich in der Entsorgung von Fischereigeräten, in der Landwirtschaft eingesetzte Mulchfolien und wasserlösliche Polymere. Diese Kunststoffmaterialien gelangen nicht selten aus geschlossenen Abfallentsorgungsanlagen und -einrichtungen in die Umwelt. Als eine mögliche Option zur Lösung und zur Reduzierung der Umweltauswirkungen werden bioabbaubare Kunststoffe entwickelt. Kunststoffmaterialien, wie Kunststoffprodukte und -verpackungen, die in anaeroben Behandlungsanlagen gegeben werden, sollten potenziell bioabbaubar sein. Es ist daher wichtig, die potenzielle Bioabbaubarkeit solcher Materialien bestimmen zu können und ein quantitatives Maß ihrer Bioabbaubarkeit in anaeroben Umgebungen zu ermitteln.

WARNUNG — Abwasser und Belebtschlamm können potenziell pathogene Organismen enthalten. Es sollten daher geeignete Schutzvorkehrungen für den Umgang damit getroffen werden. Faulschlamm erzeugt entflammbare Gase, die eine Brand- und Explosionsgefahr darstellen. Bei Transport und Speicherung von Faulschlammengen ist besondere Vorsicht und Sorgfalt geboten. Toxische Prüfchemikalien und Chemikalien mit unbekannten Eigenschaften sollten vorsichtig und in Übereinstimmung mit den Sicherheitshinweisen verwendet werden. Beim Umgang mit Druckmesser und Mikroliterspritzen sollte vorsichtig vorgegangen werden, um Stichverletzungen zu vermeiden. Kontaminierte Kanülen sollten auf sichere Art und Weise entsorgt werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Prüfverfahren zur Bestimmung der vollständigen Bioabbaubarkeit von Kunststoffen durch anaerobe Mikroorganismen fest. Die in dieser Internationalen Norm beschriebenen Bedingungen stellen nicht zwingend die Optimalbedingungen zum Erreichen des maximalen Bioabbaugrads dar. Die Prüfung erfordert eine Exposition des Probematerials gegenüber dem Schlamm für eine Dauer von bis zu 90 Tagen, die länger als die normale Retentionszeit (25 bis 30 Tage) in anaeroben Faulbehältern ist, obwohl Faulbehälter an Industriestandorten viel längere Retentionszeiten haben können.

Das Prüfverfahren gilt für folgende Materialien:

- natürliche und/oder synthetische Polymere, Copolymere oder Mischungen daraus;
- Kunststoffmaterialien, die Zusatzstoffe, wie Weichmacher, Farbstoffe oder andere Verbindungen, enthalten;
- wasserlösliche Polymere;
- Materialien, die unter den Prüfbedingungen die im Inokulum enthaltenen Mikroorganismen nicht hemmen. Hemmwirkungen lassen sich mittels einer Inhibitionskontrolle oder eines anderen geeigneten Verfahrens (siehe z. B. ISO 13641) bestimmen. Wirkt das Probematerial hemmend auf das Inokulum, kann eine geringere Prüfkonzentration, ein anderes Inokulum oder ein voradaptiertes Inokulum verwendet werden.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

vollständiger anaerober Bioabbau

Zersetzung einer organischen Verbindung durch Mikroorganismen unter Ausschluss von Sauerstoff, wobei Kohlenstoffdioxid, Methan, Wasser und Mineralsalze weiterer enthaltener Elemente (Mineralisierung) sowie neue Biomasse gebildet werden

3.2

primärer anaerober Bioabbau

Strukturänderung (Transformation) einer chemischen Verbindung durch Mikroorganismen, die den Verlust einer speziellen Eigenschaft bewirkt

3.3

Faulschlamm

Mischung aus stehendem Abwasser und Belebtschlamm, welche in einem anaeroben Faulbehälter unter Luftabschluss bei etwa 35 °C inkubiert wurde, um die Biomasse und den Geruch zu reduzieren und die Entwässerbarkeit des Schlamms zu verbessern

Anmerkung 1 zum Begriff: Faulschlamm besteht aus einer Mischung aus anaeroben gärenden und methanogenen Bakterien, die Kohlenstoffdioxid und Methan produzieren.

3.4

Konzentration gelöster Feststoffe in Faulschlamm

Menge an Feststoffen, die sich durch Filtration oder Zentrifugieren eines bekannten Volumens Belebtschlamm und Trocknung bei etwa 105 °C bis zur Massenkonzanz ergibt

3.5

gelöster organischer Kohlenstoff

DOC

(en: dissolved organic carbon)

in der Wasserphase gelöster organischer Kohlenstoff, der nicht durch ein festgelegtes Trennverfahren, zum Beispiel 15-minütiges Zentrifugieren bei $40\,000\text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$ oder Membranfiltration mit Membranen, deren Porendurchmesser 0,2 µm bis 0,45 µm beträgt, abgetrennt werden kann

3.6

anorganischer Kohlenstoff

IC

(en: inorganic carbon)

in der Wasserphase einer Flüssigkeit gelöster oder dispergierter anorganischer Kohlenstoff, der sich aus dem überstehenden Wasser wiedergewinnen lässt, nachdem der Schlamm sich absetzen konnte

3.7

Trockenrückstand

Menge an Feststoffen, die sich ergibt, wenn eine bekannte Menge des Probematerials bzw. des Inokulums entnommen und bei etwa 105 °C bis zur Massenkonzanz getrocknet wird

3.8

theoretisch erzeugbare Biogasmenge

ThBiogas

theoretisch maximal mögliche Menge an Biogas ($\text{CH}_4 + \text{CO}_2$), das sich beim vollständigen biologischen Abbau einer organischen Verbindung unter anaeroben Bedingungen bildet, berechnet anhand der Molekularformel und angegeben in Milliliter gebildetes Biogas je Milligramm Probematerial unter Normbedingungen

3.9

theoretische Menge an gebildetem Kohlenstoffdioxid

ThCO₂

theoretisch maximal mögliche Menge an Kohlenstoffdioxid, das sich bei der vollständigen Oxidation eines organischen Materials bildet, berechnet anhand der Molekularformel und angegeben in Milligramm Kohlenstoffdioxid je Milligramm Probematerial

3.10

theoretisch erzeugbare Methanmenge

ThCH₄

theoretisch maximal mögliche Methanmenge, die sich bei der vollständigen Reduktion eines organischen Materials bildet, berechnet anhand der Molekularformel und angegeben in Milligramm gebildetes Methan je Milligramm Probematerial

3.11

Lag-Phase

Anlaufphase

in Tagen gemessene Zeit zwischen dem Beginn einer Prüfung und dem Erreichen einer ausreichenden Adaption und/oder Selektion der abbauenden Mikroorganismen sowie einem Anstieg des Grades des Bioabbaus einer chemischen Verbindung oder einer organischen Substanz bis auf etwa 10 % des maximalen Grades des Bioabbaus

3.12

Plateauphase

in Tagen gemessene Zeit vom Ende der Bioabbauphase bis zum Ende der Prüfung

3.13

Bioabbauphase

in Tagen gemessene Zeit vom Ende der Lag-Phase einer Prüfung bis zu dem Zeitpunkt, an dem etwa 90 % des maximalen Grades des Bioabbaus erreicht sind

3.14

maximaler Grad des Bioabbaus

in Prozent gemessener Grad des Bioabbaus einer chemischen Verbindung oder einer organischen Substanz in einer Prüfung, oberhalb dessen während dieser Prüfung kein weiterer Bioabbau stattfindet

4 Kurzbeschreibung

Die Bioabbaubarkeit eines Kunststoffmaterials wird unter anaeroben Bedingungen in einem wässrigen Medium bestimmt. Probematerial mit einer Konzentration von organischem Kohlenstoff (en: organic carbon, OC) von 20 mg/l bis 200 mg/l wird zusammen mit Faulschlamm für eine Dauer von normalerweise nicht mehr als 90 Tagen in einem dichten Behälter bei $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ inkubiert. Vor der Verwendung wird der Faulschlamm gewaschen, sodass er nur noch sehr geringe Mengen an anorganischem Kohlenstoff (en: inorganic carbon, IC) enthält, und so verdünnt, dass die Konzentration der Gesamtfeststoffe 1 g/l bis 3 g/l beträgt. Der Druckanstieg im Gasraum bzw. die Volumenzunahme (je nach verwendetem Verfahren zum Messen der Biogasentwicklung) im Prüfbehälter aufgrund der Bildung von Kohlenstoffdioxid (CO_2) und Methan (CH_4) wird gemessen. Unter den Prüfbedingungen wird eine beträchtliche Menge CO_2 im Wasser gelöst bzw. in Hydrogencarbonat oder Carbonat umgewandelt. Dieser anorganische Kohlenstoff (IC) wird am Ende der Prüfung gemessen. Die Menge des mikrobiologisch gebildeten Kohlenstoffs im Biogas wird anhand der Netto-Biogasbildung und der Netto-IC-Bildung (nach Abzug der Blindwerte) berechnet. Der Grad des Bioabbaus in Prozent wird anhand der Gesamtmenge des in Biogas und IC umgewandelten Kohlenstoffs und der gemessenen oder errechneten Menge des als Probematerial zugegebenen Kohlenstoffs berechnet. Der Verlauf des Bioabbaus kann mittels Zwischenmessungen der Biogasbildung verfolgt werden. Zusätzlich kann die primäre Bioabbaubarkeit durch spezifische Analysen zu Beginn und am Ende der Prüfung ermittelt werden.

Dieses Prüfverfahren dient zum Bestimmen der Bioabbaubarkeit von Kunststoff-Materialien unter anaeroben Bedingungen. Optional kann außerdem die Beurteilung der Rückgewinnungsrate von Interesse sein (siehe Anhang G).

5 Reagenzien und Materialien

5.1 Destilliertes Wasser oder Deionat, frei von toxischen Substanzen, mit einem DOC-Gehalt von weniger als 2 mg/l.

5.2 Prüfmedium, vorbereitet mittels Reagenzien mit anerkannter Analysequalität.

Das Prüfmedium muss die folgenden Bestandteile in der angegebenen Menge enthalten:

Wasserfreies Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	0,27 g
Dinatriumhydrogenphosphat-Dodecahydrat	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	1,12 g
Ammoniumchlorid	NH_4Cl	0,53 g
Calciumchlorid-Dihydrat	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,075 g
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,10 g
Eisen(II)-chlorid-Tetrahydrat	$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,02 g
Resazurin (Redoxindikator)		0,001 g
Dinatriumsulfid-Nonahydrat ^a	$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	0,1 g
Stammlösung von Spurenelementen (optional)		10 ml
Stammlösungen von Vitaminen (optional)	Vitaminlösung Nr. 1	0,5 ml
Wasserfreies Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	0,27 g
	Vitaminlösung Nr. 2	0,5 ml
Mit Wasser (5.1) (sauerstofffrei) auffüllen auf		1 l

^a Natriumsulfid frisch verwenden oder vor der Verwendung waschen und trocknen, um ausreichendes Reduktionsvermögen sicherzustellen. Um streng anaerobe Bedingungen sicherzustellen, wird empfohlen, dem Medium nach dem Ansetzen eine kleine Menge Natriumdithionit zuzugeben, bis es farblos wird. Es dürfen nicht mehr als 10 mg/l verwendet werden, da bei höheren Konzentrationen Hemmwirkungen auftreten können.

Den pH-Wert des Mediums gegebenenfalls mittels verdünnter Mineralsäure oder Alkali auf $7 \pm 0,2$ einstellen.

Um sauerstofffreie Bedingungen sicherzustellen, das Wasser unmittelbar vor der Verwendung etwa 20 min lang mit Stickstoff spülen.

5.3 Spurenelementlösung (optional)

Es wird empfohlen, dem Prüfmedium folgende Spurenelemente zuzusetzen, um den anaeroben Zersetzungsprozess zu verbessern, insbesondere bei Verwendung eines schwach konzentrierten Inokulums:

Manganchlorid-Tetrahydrat	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,05 g
Borsäure	H_3BO_3	0,005 g
Zinkchlorid	ZnCl_2	0,005 g
Kupfer(II)-chlorid	CuCl_2	0,003 g
Dinatriummolybdat-Dihydrat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,001 g
Kobaltchlorid-Hexahydrat	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,1 g
Nickelchlorid-Hexahydrat	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,01 g