

Wasserbeschaffenheit

Bestimmung der vollständigen aeroben biologischen Abbaubarkeit
organischer Stoffe im wässrigen MediumVerfahren mit Kohlenstoffdioxid-Messung
(ISO 9439:1999) Deutsche Fassung EN ISO 9439:2000**DIN****EN ISO 9439**

ICS 07.100.20

Ersatz für
DIN EN 29439:1993-04

Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Carbon dioxide evolution test (ISO 9439:1999); German version EN ISO 9439:2000

Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime en milieu aqueux des composés organiques — Essai de dégagement de dioxyde de carbone (ISO 9439:1999); Version allemande EN ISO 9439:2000

Die Europäische Norm EN ISO 9349:2000 hat den Status einer Deutschen Norm.

Diese Norm ist Bestandteil der Reihe

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung
— Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

und beschreibt das Verfahren

Bestimmung der vollständigen aeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Stoffe im wässrigen Medium — Verfahren mit Kohlenstoffdioxid-Messung (L 23)

Nationales Vorwort

Die Internationale Norm ISO 9439, die vom ISO/TC 147 „Wasserbeschaffenheit“ (Sekretariat: DIN) erarbeitet wurde, wurde von CEN auf Grund der Ergebnisse des Einstufigen Annahmeverfahrens (UAP) ohne Änderungen als Europäische Norm EN ISO 9439 übernommen.

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Die als DIN-Normen veröffentlichten Einheitsverfahren sind beim Beuth Verlag einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Einheitsverfahren in der Loseblatt-Sammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam vom Beuth Verlag GmbH und dem Wiley-VCH-Verlag publiziert. Alle für die Abwasserverordnung (AbwV) — enthalten in der neuen Verordnung zu § 7a des Gesetzes zur Ordnung des Wasserhaushaltes (WHG) über „Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer zur Anpassung des Abwasserabgabengesetzes“ —

Fortsetzung Seite 2
und 22 Seiten EN

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

relevanten Einheitsverfahren sind zusammen mit der AbwV und dem WHG und allen noch fortgeltenden Abwasserverwaltungsvorschriften als Loseblattsammlung „Analyseverfahren in der Abwasserverordnung — Rechtsvorschriften und Normen“ mit dem Ergänzungsband 1 (DIN-Normen) und dem Ergänzungsband 2 (DIN-EN- und DIN-EN-ISO-Normen) vom DIN herausgegeben worden.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel

„Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)	(DIN 38402)
Sensorische Verfahren (Gruppe B)	(DIN 38403)
Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)	(DIN 38404)
Anionen (Gruppe D)	(DIN 38405)
Kationen (Gruppe E)	(DIN 38406)
Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)	(DIN 38407)
Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)	(DIN 38408)
Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)	(DIN 38409)
Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)	(DIN 38410)
Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)	(DIN 38411)
Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)	(DIN 38412)
Einzelkomponenten (Gruppe P)	(DIN 38413)
Schlamm und Sedimente (Gruppe S)	(DIN 38414)
Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)	(DIN 38415)

Außer den in der Reihe DIN 38402 bis DIN 38415 genormten Untersuchungsverfahren liegen eine Reihe Europäischer und Internationaler Normen als DIN-ISO-, DIN-EN- und DIN-EN-ISO-Normen vor, die ebenfalls Bestandteil der „Deutschen Einheitsverfahren“ sind.

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon (0 30) 26 01 – 25 49, oder der Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstraße 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 29439:1993-04 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Titel geändert;
- b) Änderungen hinsichtlich Aufbau, Durchführung und Auswertung des Analyseverfahrens;
- c) Ergänzung des Verfahrens durch Aufnahme des Anhangs D.

Frühere Ausgaben

DIN EN 29439: 1993-04

Deutsche Fassung

Wasserbeschaffenheit

**Bestimmung der vollständigen aeroben biologischen
Abbaubarkeit organischer Stoffe im wässrigen Medium
Verfahren mit Kohlenstoffdioxid-Messung
(ISO 9439:1999)**

Water quality — Evaluation of ultimate aerobic
biodegradability of organic compounds in aqueous
medium — Carbon dioxide evolution test
(ISO 9439:1999)

Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité
aérobie ultime en milieu aqueux des composés organi-
ques — Essai de dégagement de dioxyde de carbone
(ISO 9439:1999)

Diese Europäische Norm wurde von CEN am 11. März 2000 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 Zentralsekretariat 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 Zentralsekretariat mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.

CEN

EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG

European Committee for Standardization

Comité Européen de Normalisation

Zentralsekretariat: rue de Stassart 36, B-1050 Brüssel

Vorwort

Der Text der Internationalen Norm aus dem technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ der internationalen Normungsorganisation (ISO) wurde vom technischen Komitee CEN/TC 230 „Water analysis“ als Europäische Norm übernommen.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Oktober 2000, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Oktober 2000 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen:

Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, die Tschechische Republik und das Vereinigte Königreich.

Anerkennungsnotiz

Der Text der Internationalen Norm ISO 9439:1999 wurde von CEN als Europäische Norm ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Die Anhänge A, B, C und D in dieser Internationalen Norm sind informativ.

Einleitung

Die in dieser Internationalen Norm beschriebenen Voraussetzungen entsprechen nicht immer den optimalen Bedingungen zum Erreichen eines höchstmöglichen Abbaugrades. Mit diesem Testsystem wird das mikrobiell gebildete CO₂ in Abscheidern aufgefangen, die von dem aus dem Reaktionsgefäß ausströmenden Gas passiert werden. Etwas Kohlenstoffdioxid bleibt als gelöstes anorganisches Kohlenstoffdioxid (DIC) im Medium des Testsystems; seine Konzentration kann während des Abbauprozesses ansteigen. Im Verlauf der vollständigen Entfernung des organischen Kohlenstoffs sinkt die DOC-Konzentration und erreicht gegen Ende der Inkubation den Wert Null. Daher ist es notwendig, gegen Ende des Tests anzusäuern, um das biogen erzeugte Kohlenstoffdioxid vollständig messen zu können. Der in den externen Abscheidern gemessene Wert für Kohlenstoffdioxid kann von dem der wirklichen CO₂-Bildung abweichen und die Bildungsgeschwindigkeit kann ebenfalls geringer sein als die Geschwindigkeit, die, basierend auf der CO₂-Entfernung, gemessen wird. Folglich kann es sein, dass die Abbaukurven, die auf dem abgeschiedenen CO₂ beruhen, nicht die wirkliche mikrobiell verursachte Geschwindigkeit repräsentieren. Alternative Abbauverfahren siehe ISO 15462 und besonders ISO 14593, die ebenfalls auf der CO₂-Bildung beruhen, aber nicht diesen Nachteil aufweisen.

WARNUNG — Belebtschlamm und Abwässer können potentiell pathogene Organismen enthalten. Daher sollten geeignete Vorsichtsmaßnahmen ergriffen werden, wenn mit ihnen umgegangen wird. Toxische Prüfsubstanzen und solche mit unbekannten Eigenschaften sollten mit Vorsicht gehandhabt werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren fest zur Bestimmung der vollständigen biologischen Abbaubarkeit einer organischen Substanz in einer vorgegebenen Konzentration in einem wässrigen Medium durch aerobe Mikroorganismen über die Analyse des freigesetzten Kohlenstoffdioxids (CO₂).

Das Verfahren ist auf organische Substanzen anwendbar, die folgende Eigenschaften besitzen:

- a) wasserlöslich unter den Testbedingungen. In diesem Fall kann als zusätzliche Information die DOC-Abnahme (siehe Anhang D) bestimmt werden;
- b) schwer wasserlöslich unter den Testbedingungen. In diesem Fall können besondere Maßnahmen erforderlich sein, um eine gute Dispersion der Prüfsubstanz zu erreichen (siehe z. B. ISO 10634);
- c) nicht flüchtig oder mit einem vernachlässigbaren Dampfdruck unter den Testbedingungen;

ANMERKUNG: Im Falle flüchtiger Stoffe kann z. B. ISO 9408 oder ISO 14593 angewendet werden.

- d) nicht hemmend gegenüber den Mikroorganismen bei der gewählten Testkonzentration.

ANMERKUNG: Ein Hemmeffekt kann, wie in 8.3 beschrieben oder unter Anwendung eines anderen geeigneten Verfahrens (z. B. ISO 8192), ermittelt werden.

2 Begriffe

Für die Anwendung dieser Internationalen Norm gelten die folgenden Begriffe:

2.1 vollständiger aerober biologischer Abbau

Die Zerlegung einer chemischen Verbindung oder eines organischen Materials durch Mikroorganismen in Gegenwart von Sauerstoff in Kohlenstoffdioxid, Wasser und Mineralsalze anderer vorhandener Elemente (Mineralisation) unter Bildung neuer Biomasse.

2.2 Primärabbau

Die strukturelle Veränderung (Transformation) einer chemischen Verbindung durch Mikroorganismen, die zu einem Verlust spezifischer Eigenschaften führt.

2.3 Belebtschlamm

Biomasse, die bei der aeroben Behandlung von Abwasser durch das Wachstum von Bakterien und anderen Mikroorganismen in Gegenwart von gelöstem Sauerstoff entsteht.

2.4 Konzentration der suspendierten Stoffe eines Belebtschlammes

Belebtschlamm-Masse an Feststoffen, die durch Filtration oder Zentrifugation eines bekannten Belebtschlammvolumens und Trocknung bei etwa 105 °C bis zur Gewichtskonstanz erhalten wird.

2.5 gelöster organischer Kohlenstoff (DOC)

Anteil des organischen Kohlenstoffs in einem Wasser, der durch spezielle Phasentrenntechniken nicht entfernt werden kann; dies sind z. B. 15-minütige Zentrifugation bei $40\,000\text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$ oder Membranfiltration durch ein Filter der Porenweite 0,2 µm bis 0,45 µm.

2.6 gesamter anorganischer Kohlenstoff (TIC)

Gesamter anorganischer Kohlenstoff in einem Wasser, der aus Kohlenstoffdioxid und Carbonat stammt.

2.7 gelöster anorganischer Kohlenstoff (DIC)

Anteil des anorganischen Kohlenstoffs in einem Wasser, der durch spezielle Phasentrenntechniken nicht entfernt werden kann; dies sind z. B. 15-minütige Zentrifugation bei $40\,000\text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$ oder Membranfiltration durch ein Filter der Porenweite 0,2 µm bis 0,45 µm.

2.8 theoretisch freigesetzte Menge an Kohlenstoffdioxid (ThCO₂)

Theoretisch höchste Menge an Kohlenstoffdioxid, die bei der vollständigen Oxidation einer chemischen Verbindung gebildet wird.

ANMERKUNG: Sie wird aus der Molekülformel errechnet und in diesem Fall in Milligramm CO₂ je Milligramm oder Gramm Testsubstanz angegeben.

2.9 lag-Phase

Zeit zwischen dem Beginn eines Tests und dem Erreichen einer ausreichenden Adaptation und/oder Selektion der abbauenden Mikroorganismen; dies ist der Fall, wenn eine chemische Verbindung oder ein organisches Material etwa 10 % des maximalen Abbaugrades erreicht hat.

ANMERKUNG: Sie wird üblicherweise in Tagen angegeben.

2.10 maximaler biologischer Abbaugrad

Maximaler biologischer Abbaugrad, den eine chemische Verbindung oder ein organisches Material in einem Test erreicht, über den hinaus in diesem Test kein weiterer biologischer Abbau mehr erfolgt.

ANMERKUNG: Er wird üblicherweise in Prozent angegeben.

2.11 Bioabbauphase

Zeit zwischen dem Ende der lag-Phase eines Tests und dem Erreichen von etwa 90 % des maximalen biologischen Abbaugrades.

ANMERKUNG: Sie wird üblicherweise in Tagen angegeben.

2.12 Plateauphase

Zeit zwischen dem Ende der Bioabbauphase und dem Ende des Tests.

ANMERKUNG: Sie wird üblicherweise in Tagen angegeben.

2.13 Vorexposition

Vorinkubation eines Inokulums in Gegenwart einer chemischen Verbindung oder eines organischen Materials mit dem Ziel, die Potenz dieses Inokulums für den Abbau des Testmaterials durch Adaptation und/oder Selektion der Mikroorganismen zu erhöhen.

2.14 Vorkonditionierung

Vorinkubation eines Inokulums unter den Bedingungen des nachfolgenden Abbautests in Abwesenheit einer chemischen Verbindung oder eines organischen Materials mit dem Ziel, die Durchführung des Tests durch eine Anpassung der Mikroorganismen an die Testbedingungen zu verbessern.

3 Grundlage des Verfahrens

Die biologische Abbaubarkeit organischer Testsubstanzen durch aerobe Mikroorganismen wird in einem statischen wässrigen Testsystem bestimmt. Der Testansatz besteht aus anorganischem Medium, der organischen Prüfsubstanz als nominal einziger Kohlenstoff- und Energiequelle in einer Konzentration von 10 mg/l bis 40 mg/l organischem Kohlenstoff und einem Mischinokulum, das aus einer Abwasserreinigungsanlage oder aus einer anderen Umweltquelle stammt. Der Testansatz wird in Testgefäßen gerührt und mit CO₂-freier Luft bis zu 28 Tagen belüftet (Beispiel siehe Anhang A). Das CO₂, das durch den mikrobiologischen Abbau freigesetzt wird, wird in externen Gefäßen aufgefangen, mit Hilfe eines geeigneten Analysenverfahrens (Beispiel siehe Anhang B) bestimmt, mit der theoretisch freigesetzten Menge (ThCO₂) verglichen und als Prozentwert angegeben.

Bei ausreichend wasserlöslichen Prüfsubstanzen kann die DOC-Abnahme als zusätzliche Information zum vollständigen biologischen Abbau bestimmt werden. Dies kann mit dem hier beschriebenen Verfahren erfolgen oder nach dem im Anhang D aufgeführten, das eine höhere Konzentration an Prüfsubstanz und Inokulum zulässt und somit das Abbaupotential des Tests erhöht. Wenn ein stoffspezifisches Analysenverfahren zur Verfügung steht, kann zusätzliche Information zum Primärabbau erhalten werden.

4 Testumgebung

Die Inkubation muss im Dunkeln oder bei diffuser Beleuchtung erfolgen, bei einer Temperatur, die in einem Bereich zwischen 20 EC und 25 EC liegt und während des Tests um nicht mehr als ± 2 EC schwanken darf.

5 Reagenzien

Nur Reagenzien des Reinheitsgrades „zur Analyse“ verwenden.

5.1 Wasser, destilliert oder deionisiert, mit weniger als 1 mg/l DOC.

5.2 Testmedium

5.2.1 Zusammensetzung

a) Lösung a)

wasserfreies Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	8,5 g
wasserfreies Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4)	21,75 g
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	33,4 g
Ammoniumchlorid (NH_4Cl)	0,5 g
In Wasser (5.1) lösen und auffüllen auf	1 000 ml
Um diese Pufferlösung zu prüfen, wird empfohlen, den pH-Wert zu messen, der bei etwa 7,4 liegen sollte. Wenn dies nicht der Fall ist, sollte eine neue Lösung hergestellt werden.	

b) Lösung b)

22,5 g Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) in Wasser (5.1) lösen und auffüllen auf 1 000 ml.

c) Lösung c)

36,4 g Calciumchlorid-Dihydrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) in genügend Wasser (5.1) lösen und auffüllen auf 1 000 ml.

d) Lösung d)

0,25 g Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) in genügend Wasser (5.1) lösen und auffüllen auf 1 000 ml. Die Lösung kurz vor Gebrauch zubereiten oder einen Tropfen konzentrierter Salzsäure (HCl) hinzufügen, um Niederschläge zu vermeiden.

5.2.2 Herstellung des Testmediums

Für 1 000 ml Testmedium zu etwa 800 ml Wasser (siehe 5.1)

— 10 ml Lösung a);

— je 1 ml der Lösungen b) bis d) geben.

Mit Wasser (siehe 5.1) auf 1 000 ml auffüllen.