

ICS 83.080.01; 13.030.99

**Bestimmung der vollständigen Bioabbaubarkeit von
Kunststoff-Materialien in wässriger Phase unter denitrifizierenden
Bedingungen –
Verfahren mittels Messung der Druckzunahme**

Determination of the ultimate anoxic biodegradability of plastic materials in an aqueous system –
Method by measurement of pressure increase

Zur Erstellung einer DIN SPEC können verschiedene Verfahrensweisen herangezogen werden:
Das vorliegende Dokument wurde nach den Verfahrensregeln einer Vornorm erstellt.

Gesamtumfang 28 Seiten

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	8
5 Geräte und Materialien	8
6 Vorbereitung.....	11
7 Durchführung der Versuche	13
8 Berechnung und Auswertung	15
9 Gültigkeit der Ergebnisse	18
10 Prüfbericht.....	19
Anhang A (informativ) Versuchsplanung — Berechnung der maximal zulässigen Einwaage der Prüfsubstanz und der Mindest-Nitratkonzentration	20
Anhang B (informativ) Beispiele für Abbaukurven	23
Anhang C (informativ) Berechnung des produzierten anorganischen Kohlenstoffs und Erstellung einer Kohlenstoffbilanz	25
Literaturhinweise	28

Vorwort

Dieses Dokument (DIN SPEC 7700) wurde vom Arbeitsausschuss NA 054-01-07 AA „Bioabbaubare Kunststoffe“ im DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK) erarbeitet.

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

Eine DIN SPEC nach dem Vornorm-Verfahren ist das Ergebnis einer Normungsarbeit, das wegen bestimmter Vorbehalte zum Inhalt oder wegen des gegenüber einer Norm abweichenden Aufstellungsverfahrens vom DIN noch nicht als Norm herausgegeben wird.

Zur vorliegenden DIN SPEC wurde kein Entwurf veröffentlicht.

Erfahrungen mit dieser DIN SPEC sind erbeten

- vorzugsweise als Datei per E-Mail an fnk@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter <http://www.din.de/stellungnahme> abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK), Burggrafenstraße 6, 10787 Berlin.

Einleitung

Die biologische Abbaubarkeit einer chemischen Substanz hängt sehr stark von den Umweltbedingungen ab. Eine wesentliche Voraussetzung dafür, auf welchen Stoffwechselwegen ein Abbau von Bakterien durchgeführt werden kann, ist die An- oder Abwesenheit von Sauerstoff. Es gibt derzeit bereits einige Prüfverfahren zur Untersuchung der Bioabbaubarkeit von Polymeren unter aeroben Bedingungen und nur wenige zur anaeroben Abbaubarkeit. Kaum Beachtung fand jedoch bislang die Abbaubarkeit unter anoxischen (denitrifizierenden) Bedingungen. Der Begriff „anoxisch“ wurde von Ingenieuren geprägt und bezeichnet Bedingungen, unter denen eine Denitrifikation stattfinden kann. Es ist also wenig oder kein Sauerstoff ($< 0,1 \text{ mg/l}$), jedoch Nitrat ($> 0,1 \text{ mg/l NO}_3^- \text{-N}$) vorhanden. Bei der heterotrophen Denitrifikation, beispielsweise im Denitrifikationsbecken einer Kläranlage, wird Nitrat zu Stickstoff reduziert und organisches Substrat gleichzeitig zu CO_2 oxidiert. In der Natur können anoxische Bedingungen u.a. im Hypolimnion von eutrophen Seen oder im Sediment am Übergang zwischen aerober und anaerober Zone auftreten.

Ein neuer Verwertungsweg für bioabbaubare Polymere außerhalb der Kompostierung wäre z. B. die Zugabe von Abfallbiopolymeren als zusätzliche Kohlenstoffquelle für die Denitrifikationsstufe einer Kläranlage. Um zu prüfen, ob die Verwertung eines Polymers dafür möglich ist, muss die biologische Abbaubarkeit unter anoxischen (denitrifizierenden) Bedingungen ermittelt werden. Selbst wenn ein Stoff aerob gut abbaubar ist, muss dies nicht auch für anoxische Bedingungen gelten.

Weiter ist zu unterscheiden zwischen biologisch abbaubaren Polymeren, die wasserlöslich und solchen, die nicht wasserlöslich sind.

Die wasserlöslichen und biologisch abbaubaren Polymere könnten gezielt und kontinuierlich der Denitrifikationsstufe als Festsubstrat zugesetzt werden, das schnell umgesetzt wird und so die Zugabe einer externen flüssigen Kohlenstoffquelle wie z. B. Ethanol oder Essigsäure ersetzen kann. Eine Prüfung ihrer aeroben Abbaubarkeit, ihrer Wasserlöslichkeit und gegebenenfalls Dispergierbarkeit lässt sich nach DIN EN 14987 (Kunststoffe — Bewertung der Entsorgbarkeit in Kläranlagen — Prüfplan für Endabnahme und Spezifikationen) vornehmen. In Ergänzung dazu erfolgt die spezielle Prüfung auf ihren Einsatz als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation hier in dieser Vornorm. Solange diese bioabbaubaren Polymere als Festsubstanz vorliegen, muss dafür Sorge getragen werden, dass sie im Denitrifikationsbecken verbleiben, um betriebliche Störungen in den weiteren Stufen der Kläranlage zu vermeiden.

Die wasserunlöslichen und biologisch abbaubaren Polymere werden als Festsubstanzen diskontinuierlich in einen speziell gestalteten Denitrifikationsreaktor eingebracht, wo sie durch geeignete Prozessführung weitgehend verbleiben. Durch bakterielle Aktivität induziert, geben sie kontinuierlich Kohlenstoff für die Denitrifikation ab, in einem je nach ihren Abmessungen (Oberflächen/Volumenverhältnis) lang andauernden Prozess des anoxischen Abbaus. Die spezielle Prüfung auf ihren Einsatz als wasserunlösliche Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation wird in dieser Vornorm beschrieben.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren fest, mit dem durch Messung der Menge des produzierten Stickstoffs und des gebildeten Kohlendioxids am Ende der Prüfung die vollständige anoxische Bioabbaubarkeit von Kunststoffen aus organischen Verbindungen bestimmt wird.

Die Prüfsubstanz wird einem Inokulum ausgesetzt, das aus einem Denitrifikationsbecken einer Kläranlage entnommen wird. Die Prüfung erfolgt unter definierten Bedingungen im Labor.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 38405-9, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Anionen (Gruppe D) — Teil 9: Photometrische Bestimmung von Nitrat (D 9)*

DIN 38406-5, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Kationen (Gruppe E) — Bestimmung des Ammonium-Stickstoffs (E 5)*

DIN 38409-2, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H) — Bestimmung der abfiltrierbaren Stoffe und des Glührückstandes (H 2)*

DIN 38409-7, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H) — Teil 7: Bestimmung der Säure- und Basekapazität (H 7)*

DIN EN 1484, *Wasseranalytik — Anleitungen zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC)*

DIN EN 26777, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung von Nitrit — Spektrometrisches Verfahren*

DIN EN ISO 10523, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Werts*

DIN EN ISO 14851, *Bestimmung der vollständigen aeroben Bioabbaubarkeit von Kunststoff-Materialien in einem wässrigen Medium — Verfahren mittels Messung des Sauerstoffbedarfs in einem geschlossenen Respirometer*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

ISO 10210, *Plastics — Methods for the preparation of samples for biodegradation testing of plastic materials*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

vollständiger anoxischer Bioabbau

Zersetzung einer organischen Verbindung zu Kohlenstoffdioxid, Wasser und mineralischen Salzen jeglicher sonstiger vorliegender Elemente (Mineralisierung) sowie neuer Biomasse durch Mikroorganismen in Gegenwart von oxidierten Stickstoffverbindungen (Nitrat, Nitrit) und in Abwesenheit von Sauerstoff

3.2
abfiltrierbare Stoffe
volumenbezogene Masse der im Wasser enthaltenen ungelösten Stoffe, die unter bestimmten Bedingungen abfiltriert und im Anschluss an ein festgelegtes Trocknungsverfahren ausgewogen werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Abfiltrierbare Stoffe werden auf das Volumen der Wasserprobe, in der sie bestimmt wurden, bezogen und in g/l angegeben.

[QUELLE: DIN 38409-2:1987-03, 3.1, modifiziert — Definition gekürzt, Zusatzinformationen in Anmerkung]

3.3
gelöster anorganischer Kohlenstoff
DIC

(en: Dissolved Inorganic Carbon)
der Teil des anorganischen Kohlenstoffs in Wasser, der durch ein festgelegtes Phasentrennverfahren, beispielsweise durch Zentrifugation bei $40\,000\text{ ms}^{-2}$ für 15 min oder durch Membranfiltration mit Membranen, deren Porendurchmesser $0,2\text{ }\mu\text{m}$ bis $0,45\text{ }\mu\text{m}$ beträgt, nicht abgetrennt werden kann

[QUELLE: DIN EN ISO 14852:2004-10, 3.4]

3.4
Lag-Phase

Verzögerungsphase
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

[QUELLE: DIN EN ISO 14855-1:2013-04, 3.7]

3.5
Grad des Bioabbaus bezogen auf die Stickstoffproduktion

gemessener Grad des Bioabbaus einer chemischen Verbindung oder einer organischen Substanz in einer Prüfung, berechnet aus dem Quotienten der Menge des tatsächlich produzierten Stickstoffs und der theoretischen maximalen Menge an Stickstoff

Anmerkung 1 zum Begriff: Er wird angegeben in Prozent.

3.6
Grad des Bioabbaus bezogen auf den Kohlenstoff

gemessener Grad des Bioabbaus einer chemischen Verbindung oder einer organischen Substanz in einer Prüfung, berechnet aus den Endprodukten der Mineralisierung des Kohlenstoffanteils (Kohlenstoffmenge aus Kohlenstoffdioxid und Biomasse) dividiert durch den Kohlenstoffanteil der eingesetzten Prüfsubstanzmenge

Anmerkung 1 zum Begriff: Er wird angegeben in Prozent.

3.7
maximaler Grad des Bioabbaus

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

Anmerkung 1 zum Begriff: Er wird angegeben in Prozent.

[QUELLE: DIN EN ISO 14855-1:2013-04, 3.8, modifiziert — Einheit „Prozent“ in Anmerkung]

3.8
Bioabbauphase

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

Anmerkung 1 zum Begriff: Er wird angegeben in Tagen.

[QUELLE: DIN EN ISO 14855-1:2013-04, 3.9, modifiziert — Einheit „Tage“ in Anmerkung]

3.9**Plateauphase**

gemessene Zeit vom Ende der Bioabbauphase bis zum Ende der Prüfung

Anmerkung 1 zum Begriff: Er wird angegeben in Tagen.

[QUELLE: DIN EN ISO 14855-1:2013-04, 3.10, modifiziert — Einheit „Tage“ in Anmerkung]

3.10**Stickstoff-Wiederfindungsrate**

Summe der Massenkonzentrationen der Stickstoffanteile von Nitrat, Nitrit, Ammonium, Protein und elementarem Stickstoff am Ende der Prüfung dividiert durch die Summe der entsprechenden Massenkonzentrationen am Beginn der Prüfung

3.11**Kohlenstoff-Wiederfindungsrate**

Summe der Massenkonzentrationen des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC, en: dissolved organic carbon), der Kohlenstoffanteile von Prüfsubstanz, Kohlenstoffdioxid und Biomasse am Ende der Prüfung dividiert durch die Summe der entsprechenden Massenkonzentrationen am Beginn der Prüfung

3.12**Theoretischer Sauerstoffbedarf****ThOD**

theoretisch maximale Menge an Sauerstoff, die benötigt wird, um eine chemische Verbindung vollständig zu oxidieren

Anmerkung 1 zum Begriff: Er wird aus der Molekülformel dieser Verbindung berechnet und als Milligramm der Aufnahme an Sauerstoff je Milligramm der Prüfverbindung angegeben.

3.13**Theoretische Stickstoffproduktion****ThNP**

theoretisch maximale Menge an Stickstoff, die beim Bioabbau unter denitrifizierenden Bedingungen produziert wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Sie wird aus der Molekülformel der Prüfverbindung und der Stöchiometrie des anoxischen Bioabbaus dieser Verbindung berechnet (vereinfacht, ohne Biomasse) und als Milligramm der Produktion von Stickstoff je Milligramm der Prüfverbindung angegeben.

3.14**Theoretischer Nitratbedarf****ThND**

theoretisch maximale Menge an Nitrat-Stickstoff, die beim Bioabbau unter denitrifizierenden Bedingungen reduziert wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Sie wird aus der Molekülformel der Prüfverbindung und der Stöchiometrie des anoxischen Bioabbaus dieser Verbindung berechnet (vereinfacht, ohne Biomasse) und als Milligramm der Produktion von Nitrat-Stickstoff je Milligramm der Prüfverbindung angegeben.

3.15**Voradaption**

vorgeschaltete Inkubation eines Inokulums in Gegenwart der zu prüfenden chemischen Verbindung oder organischen Substanz, deren Ziel darin besteht, durch Adaption und/oder Selektion der Mikroorganismen die Fähigkeit des Inokulums zum Bioabbau der Prüfsubstanz zu erhöhen

4 Kurzbeschreibung

Zur Untersuchung der anoxischen Abbaubarkeit wird die Stickstoff Produktion (N_2) über eine Druckmessung in einem geschlossenen System verfolgt.

Ein sauerstofffreies, nitrathaltiges Mineralsalzmedium mit der Prüfschubstanz als einzige Kohlenstoff-Quelle wird in eine druckfeste Flasche eingebracht, mit Inokulum aus dem Denitrifikationsbecken einer Kläranlage beimpft, und das Gefäß mit einem Druckmesskopf verschlossen. Dabei ist der Gasraum der Flasche mit Argon oder Stickstoff zu begasen, um den Zutritt von Sauerstoff zu verhindern. Das CO_2 wird mittels Natronkalk, NaOH oder KOH absorbiert. Die Verwendung von KOH oder NaOH ist vorteilhaft, wenn über eine Titration das absorbierte CO_2 gemessen werden und daraus eine Kohlenstoffbilanz erstellt werden soll.

Die Druckzunahme in der Flasche ist daher dem bei der Denitrifikation entstehenden Stickstoff proportional. Die Druckmesswerte einer Probe werden mittels Drucksensoren erfasst, gespeichert und können jederzeit auf einen PC übertragen werden. Die analytische Bestimmung von NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ und dem Proteingehalt zu Beginn und am Ende des Versuchs ermöglicht eine Stickstoffbilanz, die Auskunft über die Plausibilität der Ergebnisse und insbesondere der Dichtigkeit des Systems gibt. Erfahrungsgemäß sind die entstehenden Konzentrationen der Metabolite NO und N_2O nur sehr niedrig und können daher vernachlässigt werden.

Der Grad des Bioabbaus unter anoxischen Bedingungen wird durch den Vergleich zwischen tatsächlicher und theoretischer Stickstoff-Produktion bestimmt und in Prozent angegeben. Das Prüfergebnis wird durch den aus der Plateauphase der Bioabbaukurve bestimmten maximalen Grad des Bioabbaus gebildet. Wahlweise kann eine Kohlenstoffbilanz berechnet werden, um zusätzliche Informationen zum Bioabbau zu erhalten und die Bewertung der Bioabbaubarkeit zu verbessern (siehe Anhang C.2).

5 Geräte und Materialien

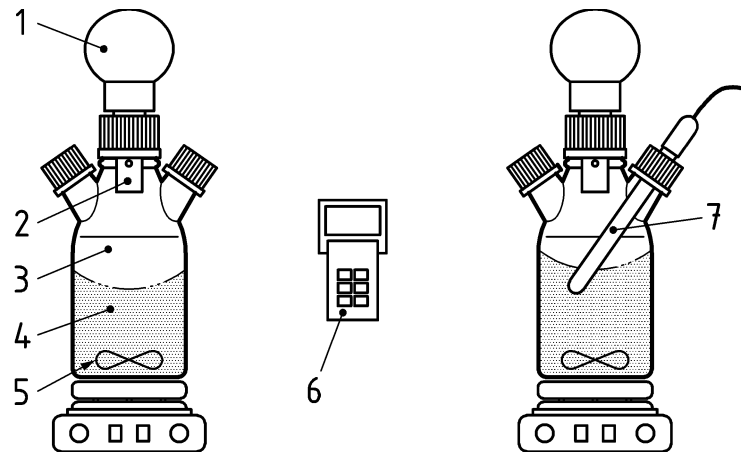
5.1 Druckmesssystem

Das Prinzip eines Systems zur Messung des produzierten Stickstoffs mittels Druckmessung wird an folgendem Beispiel dargestellt.

Druckmesssystem¹⁾ (siehe Bild 1) bestehend aus:

- Druckmessköpfen;
- zu den Druckmessköpfen passende druckfest verschließbare Flaschen als Reaktionsgefäße, Nennvolumen: 500 ml (oder 1 000 ml) mit seitlichem, druckfest verschließbarem Glasstutzen;
- Sorptionsgefäße für die CO_2 -Sorption in den Reaktionsgefäßen.

1) Ein Beispiel für ein handelsübliches Produkt ist das OxiTop-Control System der Firma WTW, Weilheim, bestehend aus „OxiTop®-C“ Druckmessköpfen, Sorptionsgefäßen, passenden Flaschen und Zubehör. Bei diesem System werden die Druckmesswerte einer Probe fortlaufend in den OxiTop-Köpfen gespeichert. Dabei wird der Wert beim Start der Probe automatisch auf den Umgebungsdruck (Relativ-Null) gesetzt. Die Steuerung der Köpfe (z. B. Modus, Start, Messdauer, GLP-Überwachung usw.) erfolgt über einen Controller (OxiTop® OC110) mittels Infrarot-Schnittstelle. Die aktuellen Druckmesswerte können jederzeit abgefragt, am Display angezeigt und über ein PC-Programm weiter bearbeitet werden. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Vornorm und bedeutet keine Anerkennung dieses genannten Produktes durch DIN.



Legende

- 1 Druckmesskopf mit IR-Schnittstelle
- 2 Sorptionsgefäß für CO₂-Absorption
- 3 Gasraum-Volumen (V_{Gas})
- 4 Reaktionsgefäß mit Medium, Prüfsubstanz und Inokulum
- 5 Magnetrührer
- 6 Steuerungsgerät mit IR-Schnittstelle
- 7 pH-Elektrode (optionale Variante mit pH-Messung)

Bild 1 — Druckmesssystem für die Messung des biologischen Abbaus unter anoxischen Bedingungen (Beispiel)

5.2 Rührplattform oder einzelne Magnetrührer

Es sollten Rührplattformen oder Magnetrührer²⁾ mit möglichst geringer Wärmeabgabe verwendet werden. Die Temperatur in den Prüfgefäßen sollte weitestgehend konstant bleiben, da sich Temperaturschwankungen sehr stark auf die Messergebnisse auswirken.

5.3 Klimaraum oder Inkubator mit konstanter Temperatur (20 ± 2) °C

Der Inkubator³⁾ sollte den Temperatursollwert möglichst genau halten, da sich Temperaturschwankungen sehr stark auf die Messergebnisse auswirken.

5.4 Argon zur Entfernung von Sauerstoff aus Medium und Gasraum

Argon 5.0, Reinheit > 99,999 % ist zu verwenden.

5.5 Thermometer

Ein Thermometer dient zum Messen der Temperatur des Inokulums und zum Nachprüfen der eingestellten Temperatur im Inkubator.

2) Ein Beispiel für ein handelsübliches Produkt ist die Rührplattform IS 6 var der Firma WTW, Weilheim, für 6 Prüfgefäße. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Vornorm und bedeutet keine Anerkennung dieses genannten Produktes durch DIN.

3) Ein Beispiel für ein handelsübliches Produkt sind die Thermostatschränke der Firma WTW, Weilheim. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Vornorm und bedeutet keine Anerkennung dieses genannten Produktes durch DIN.