

DIN EN ISO 14852

ICS 83.080.01

Entwurf

Einsprüche bis 2017-04-24
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 14852:2004-10

**Bestimmung der vollständigen aeroben Bioabbaubarkeit von
Kunststoff-Materialien in einem wässrigen Medium –
Verfahren mittels Analyse des freigesetzten Kohlenstoffdioxides
(ISO/DIS 14852:2017);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 14852:2017**

Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium –

Method by analysis of evolved carbon dioxide (ISO/DIS 14852:2017);

German and English version prEN ISO 14852:2017

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

Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré (ISO/DIS 14852:2017);

Version allemande et anglaise prEN ISO 14852:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-02-24 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an fnk@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 55 Seiten

DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 14852:2017) 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).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung der prEN ISO 14852 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfs gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen.

ISO 8192:1986	siehe	DIN EN ISO 8192:1995-04
ISO 9439	siehe	DIN EN ISO 9439
ISO 10634:1995	siehe	DIN EN ISO 10634:1995-11

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 14852:2004-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Aktualisierung der normativen Verweisungen;
- b) Maßangabe in 7.6 und 8.1 von μm in mm geändert;
- c) Löschen der Anmerkung in 8.3;
- d) Anzahl der Kolben für die Prüfung in 8.4 geändert;
- e) Löschen des Anhangs ZA „Normative Verweisungen auf internationale Publikationen mit ihren entsprechenden europäischen Publikationen“;
- f) redaktionelle Überarbeitung.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 8192:1995-04, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Hemmung des Sauerstoffverbrauchs von Belebtschlamm (ISO 8192:1986); Deutsche Fassung EN ISO 8192:1995*

DIN EN ISO 9439, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der vollständigen aeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Stoffe im wässrigen Medium — Verfahren mit Kohlenstoffdioxid-Messung*

DIN EN ISO 10634:1995-11, *Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die Vorbereitung und Behandlung von in Wasser schwer löslichen organischen Verbindungen für die nachfolgende Bestimmung ihrer biologischen Abbaubarkeit in einem wässrigen Medium (ISO 10634:1995); Deutsche Fassung EN ISO 10634:1995*

— Leerseite —

Bestimmung der vollständigen aeroben Bioabbaubarkeit von Kunststoff-Materialien in einem wässrigen Medium — Verfahren mittels Analyse des freigesetzten Kohlenstoffdioxides (ISO/DIS 14852:2017)

Évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux — Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré (ISO/DIS 14852:2017)

Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium — Method by analysis of evolved carbon dioxide (ISO/DIS 14852:2017)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.8f

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
5 Prüfumgebung	9
6 Reagenzien	9
7 Prüfeinrichtung	11
8 Durchführung	12
8.1 Prüfsubstanz	12
8.2 Referenzsubstanz	13
8.3 Herstellung des Inokulums	13
8.3.1 Inokulum aus einer Kläranlage	13
8.3.2 Inokulum aus Boden und/oder Kompost	14
8.4 Ablauf der Prüfung	14
9 Berechnung und Auswertung	16
9.1 Berechnung	16
9.1.1 Theoretische Menge an Kohlenstoffdioxid, das durch die Prüfsubstanz gebildet wird	16
9.1.2 Berechnung des prozentualen Bioabbaus aus dem gebildeten CO ₂	16
9.2 Auswertung und Angabe der Ergebnisse	17
10 Gültigkeit der Ergebnisse	17
11 Prüfbericht	18
Anhang A (informativ) Prinzip eines Systems zur Messung des gebildeten Kohlenstoffdioxids (Beispiel)	19
Anhang B (informativ) Beispiele für Verfahren zur Bestimmung des gebildeten Kohlenstoffdioxids	20
Anhang C (informativ) Beispiel für die Bestimmung einer Kohlenstoffbilanz	23
Anhang D (informativ) Beispiel der Bestimmung der am Ende einer Bioabbauprüfung zurückbleibenden Menge an nicht-wasserlöslichem Polymer und der molekularen Masse des Polymers	26
Literaturhinweise	27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 14852:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 61 „Plastics“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 249 „Kunststoffe“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NBN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 14852:2004 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 14852:2017 wurde vom CEN als prEN ISO 14852:2017 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 Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

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 14852:1999), die technisch überarbeitet wurde.

Anhänge A bis D dieser Internationalen Norm dienen lediglich der Information.

Einleitung

Mit der immer stärker zunehmenden Verwendung von Kunststoffen ist deren Rückgewinnung und Entsorgung zu einem Thema mit größter Bedeutung geworden. Oberste Priorität sollte hierbei der Rückgewinnung zugewiesen werden. Eine vollständige Rückgewinnung von Kunststoffen ist jedoch schwierig. So ist es beispielsweise schwierig, den zumeist von den Verbrauchern stammenden Kunststoffabfall vollständig rückzugewinnen. Weitere Beispiele für Kunststoffe, deren Rückgewinnung mit Schwierigkeiten verbunden ist, sind Angelgeräte, in der Landwirtschaft eingesetzte Schutzabdeckungen und wasserlösliche Polymere. Diese Kunststoffe neigen dazu, aus geschlossenen Abfallbehandlungskreisläufen herauszufallen und in die Umwelt zu gelangen. Derzeit werden bioabbaubare Kunststoffe entwickelt, die eine Möglichkeit zur Lösung solcher Umweltprobleme darstellen. Kunststoffe, wie z. B. Produkte oder Verpackungen, mit denen Kompostiereinrichtungen beschickt werden, sollten potentiell bioabbaubar sein. Daher ist es von großer Wichtigkeit, die potentielle Bioabbaubarkeit solcher Substanzen zu bestimmen und Erkenntnisse zu deren Bioabbaubarkeit in natürlichen Umgebungen zu erlangen.

WARNUNG — Abwasser, Belebtschlamm, Boden und Kompost können Organismen enthalten, die potentiell pathogen sind. Daher sollten bei deren Handhabung die entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden. Toxische Prüfverbindungen und Verbindungen, deren Eigenschaften nicht bekannt sind, sollten mit Vorsicht gehandhabt werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren fest, mit dem durch Messung der gebildeten Menge an Kohlenstoffdioxid der Grad der aeroben Bioabbaubarkeit von Kunststoffen, einschließlich solcher Kunststoffe, die Formulierungs-Additive enthalten, bestimmt werden kann. Die Prüfsubstanz wird in einem synthetischen Medium unter Laborbedingungen einem Inokulum aus Belebtschlamm, Kompost oder Boden ausgesetzt.

Wird ein nicht adaptierter Belebtschlamm als Inokulum verwendet, werden durch die Prüfung die Bioabbauvorgänge simuliert, die in einer natürlichen wässrigen Umgebung auftreten; wird ein gemischtes oder voradaptiertes Inokulum verwendet, kann das Verfahren dazu dienen, die potentielle Bioabbaubarkeit einer Prüfsubstanz zu untersuchen.

Die in dieser Internationalen Norm angewendeten Bedingungen entsprechen nicht notwendigerweise den optimalen Bedingungen, die das Auftreten eines maximalen Bioabbaus zulassen; die Norm ist für die Bestimmung der potentiellen Bioabbaubarkeit von Kunststoffen bzw. dafür vorgesehen, Erkenntnisse hinsichtlich deren Bioabbaubarkeit in natürlichen Umgebungen zu liefern.

Das Verfahren lässt durch die Berechnung einer Kohlenstoffbilanz (wahlweise, siehe Anhang C) die Verbesserung der Beurteilung der Bioabbaubarkeit zu.

Das Verfahren ist auf folgende Substanzen anwendbar:

- natürliche und/oder synthetische Polymere, Copolymere oder Gemische aus diesen;
- Kunststoffe, die Additive, wie z. B. Weichmacher, Farbstoffe oder andere Verbindungen, enthalten;
- wasserlösliche Polymere;
- Substanzen, die unter Prüfbedingungen die im Inokulum vorhandenen Mikroorganismen nicht inhibieren. Inhibierungswirkungen lassen sich durch eine Inhibitionskontrolle oder ein anderes geeignetes Verfahren bestimmen (siehe z. B. ISO 8192 [2]). Wirkt die Prüfsubstanz inhibierend auf das Inokulum, kann eine geringere Prüfkonzentration, ein anderes oder ein voradaptiertes Inokulum verwendet werden.

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).

ISO 8245:1999, *Water quality — Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC)*

ISO 9439, *Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Carbon dioxide evolution test*

ISO 10634:1995, *Water quality — Guidance for the preparation and treatment of poorly water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their biodegradability in an aqueous medium*

ISO/TR 15462, *Water quality — Selection of tests for biodegradability*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

vollständiger aerober Bioabbau

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

3.2

Belebtschlamm

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

3.3

Konzentration an suspendierten Feststoffen in einem Belebtschlamm

die Menge an Feststoffen, die entsteht, wenn ein bekanntes Volumen an Belebtschlamm filtriert oder zentrifugiert und bei etwa 105 °C bis zur Massekonstanz getrocknet wird

3.4

gelöster anorganischer Kohlenstoff

DIC

der Teil des anorganischen Kohlenstoffs in Wasser, der durch ein festgelegtes Phasentrennverfahren, beispielsweise durch Zentrifugation bei $40\,000\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ 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

3.5

theoretische Menge an gebildetem Kohlenstoffdioxid

ThCO₂

maximale theoretische Menge an Kohlenstoffdioxid, die sich nach der vollständigen Oxidation einer chemischen Verbindung ergibt, berechnet aus der Molekularformel und angegeben als je Milligramm oder Gramm der Prüfverbindung gebildete Milligramm an Kohlenstoffdioxid

3.6

gesamter organischer Kohlenstoff

TOC

der gesamte Kohlenstoff in einer organischen Substanz, die in Wasser gelöst oder suspendiert ist

3.7

gelöster organischer Kohlenstoff

DOC

der Teil des organischen Kohlenstoffs in Wasser, der durch ein festgelegtes Phasentrennverfahren, beispielsweise durch Zentrifugation bei $40\,000\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ 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

3.8

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

3.9
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

3.10
Bioabbauphase
in Tagen gemessene Zeit vom Ende der Verzögerungsphase einer Prüfung bis zu dem Zeitpunkt, an dem etwa 90 % des maximalen Bioabbaugrades erreicht sind

3.11
Plateauphase
in Tagen gemessene Zeit vom Ende der Bioabbauphase bis zum Ende der Prüfung

3.12
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

3.13
Vorkonditionierung
vorgeschaltete Inkubation eines Inokulums unter den Bedingungen der nachfolgenden Prüfung, jedoch ohne das Vorliegen der zu prüfenden chemischen Verbindung oder organischen Substanz, wobei das Ziel darin besteht, die Prüfung durch die Akklimatisierung der Mikroorganismen an die Prüfbedingungen zu verbessern

4 Kurzbeschreibung

Die Bioabbaubarkeit eines Kunststoffes wird mit aeroben Mikroorganismen in einem wässrigen System bestimmt. Das Prüfgemisch enthält ein anorganisches Medium, die organische Prüfsubstanz (als einzige Quelle für Kohlenstoff und Energie) mit einer Konzentration an organischem Kohlenstoff zwischen 100 mg/l und 2 000 mg/l sowie Belebtschlamm oder eine Suspension aus nährstoffreichem Boden oder Kompost als Inokulum. Das Gemisch wird für eine Dauer, die von der Kinetik des Bioabbaus abhängt, 6 Monate jedoch nicht überschreiten darf, in Prüfkolben gerührt und mit Kohlenstoffdioxidfreier Luft begast. Das während des mikrobiellen Abbaus gebildete Kohlenstoffdioxid wird mit einem geeigneten Analyseverfahren bestimmt; Beispiele sind in den Anhängen A und B angegeben.

Der Grad des Bioabbaus wird durch den Vergleich zwischen der Menge des gebildeten Kohlenstoffdioxids und der theoretischen Menge (ThCO_2) 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 (siehe Anhang C).

Im Gegensatz zur ISO 9439, die für eine Reihe von organischen Verbindungen angewendet wird, ist die vorliegende Internationale Norm speziell für die Bestimmung der Bioabbaubarkeit von Kunststoffen vorgesehen. Die erforderlichen besonderen Anforderungen beeinflussen die Auswahl des Inokulums und des Prüfmediums, und es besteht die Möglichkeit, durch die Berechnung einer Kohlenstoffbilanz die Bewertung der Bioabbaubarkeit zu verbessern.

5 Prüfungsumgebung

Die Inkubation muss im Dunkeln oder in diffusem Licht in einem abgeschlossenen Raum erfolgen, der frei von Dämpfen ist, die die Mikroorganismen inhibieren, und dessen Temperatur konstant gehalten wird, vorzugsweise, auf ± 1 °C, bei 20 °C bis 25 °C oder bei einer beliebigen anderen, vom verwendeten Inokulum und der zu beurteilenden Umgebung abhängigen, Temperatur.

ANMERKUNG Bei einem Kompost Inokulum können höhere Temperaturen angemessen sein.

6 Reagenzien

Es dürfen nur Reagenzien mit anerkannter Analysenreinheit verwendet werden.

6.1 Destilliertes oder deionisiertes Wasser, das frei von toxischen Substanzen (insbesondere Kupfer) ist und weniger als 2 mg/l DOC enthält.

6.2 Prüfmedium

In Abhängigkeit vom Zweck der Prüfung dürfen unterschiedliche Prüfmedien verwendet werden. So ist beispielsweise für die Simulation einer natürlichen Umgebung das Standardprüfmedium (6.2.1) anzuwenden. Wird eine Prüfsubstanz mit höheren Konzentrationen verwendet, ist das optimierte Prüfmedium (6.2.2) mit höherer Pufferkapazität und erweitertem Nährstoffangebot zu verwenden.

6.2.1 Standardprüfmedium

6.2.1.1 Lösung A

Es werden

wasserfreies Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	8,5 g
wasserfreies Dikaliumdihydrogenphosphat (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 (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

ANMERKUNG Durch Messen des pH-Wertes, der 7,4 betragen sollte, lässt sich überprüfen, ob die Lösung ordnungsgemäß zusammengesetzt ist.

6.2.1.2 Lösung B

Es werden 22,5 g Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

6.2.1.3 Lösung C

Es werden 36,4 g Calciumchlorid-Dihydrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

6.2.1.4 Lösung D

Es werden 0,25 g Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

Um Ausfällung zu verhindern, ist diese Lösung vor dem Gebrauch frisch zuzubereiten, oder es ist ein Tropfen konzentrierter Salzsäure (HCl) oder ein Tropfen wässriger Lösung von Ethylendiamintetraessigsäure (EDTE) mit einer Konzentration von 0,4 g/l hinzuzufügen.

6.2.1.5 Herstellung

Um 1 Liter Prüfmedium herzustellen, werden

- 10 ml der Lösung A; und
- jeweils 1 ml der Lösungen B bis D

zu etwa 500 ml Wasser (6.1) hinzugefügt. Es wird mit Wasser (6.1) auf 1 000 ml aufgefüllt.

6.2.2 Optimierte Prüfmedium

Dieses optimierte Medium ist stark gepuffert und hat einen höheren Gehalt an anorganischen Nährstoffen. Dies ist erforderlich, um den pH-Wert im System während der Prüfung, selbst bei hohen Konzentrationen der Prüfsubstanz, konstant zu halten. Das Medium enthält etwa 2 400 mg/l Phosphor und 50 mg/l Stickstoff und ist daher für Konzentrationen an organischem Kohlenstoff in der Prüfsubstanz von bis zu 2 000 mg/l geeignet. Werden höhere oder geringere Konzentrationen der Prüfsubstanz verwendet, ist der Stickstoffgehalt zu erhöhen bzw. zu verringern, so dass das C : N Verhältnis bei etwa 40 : 1 bleibt.

6.2.2.1 Lösung A

Es werden

wasserfreies Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	37,5 g
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	87,3 g
Ammoniumchlorid (NH_4Cl)	2,0 g

in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

6.2.2.2 Lösung B

Es werden 22,5 g Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

6.2.2.3 Lösung C

Es werden 36,4 g Calciumchlorid-Dihydrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

6.2.2.4 Lösung D

Es werden 0,25 g Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt (siehe zweiten Absatz von 6.2.1.4).

6.2.2.5 Lösung E (Spurenelementlösung, wahlweise)

In 10 ml einer wässrigen HCl Lösung (25 %, 7,7 mol/l) werden folgende Substanzen in der angegebenen Reihenfolge gelöst:

70 mg ZnCl_2 , 100 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 6 mg H_3BO_3 , 190 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 3 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 240 mg $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 36 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 33 mg $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 26 mg $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

und es wird mit Wasser (6.1) auf 1 000 ml aufgefüllt.

6.2.2.6 Lösung F (Vitaminlösung, wahlweise)

In 100 ml Wasser (6.1) sind folgende Substanzen zu lösen: 0,6 mg Biotin; 2,0 mg Niacinamid; 2,0 mg *p*-Aminobenzoat; 1,0 mg Pantothersäure; 10,0 mg Pyridoxalhydrochlorid; 5,0 mg Cyanocobalamin; 2,0 mg Folsäure; 5,0 mg Riboflavin; 5,0 mg α -Liponsäure und 1,0 mg Thiamindichlorid, oder es wird eine Lösung von 15 mg Hefeextrakt in 100 ml Wasser (6.1) verwendet. Zum Sterilisieren wird die Lösung durch Membranfilter (siehe 7.6) filtriert.

ANMERKUNG Die Lösungen E und F sind wahlfrei und nicht erforderlich, wenn eine ausreichende Konzentration des Inokulums verwendet wird, z. B. Belebtschlamm, Boden oder Kompost. Es wird empfohlen, Teilmengen von jeweils 1 ml herzustellen und diese bis zum Gebrauch gekühlt aufzubewahren.

6.2.2.7 Herstellung

Um 1 Liter Prüfmedium herzustellen, werden

- 100 ml der Lösung A; und
- jeweils 1 ml der Lösungen B bis D und wahlweise der Lösungen E und F

zu etwa 800 ml Wasser (6.1) hinzugefügt. Es wird mit Wasser (6.1) auf 1 000 ml aufgefüllt, und der pH-Wert wird gemessen.

ANMERKUNG Durch Messen des pH-Wertes, der $7,0 \pm 0,2$ betragen sollte, lässt sich überprüfen, ob das Prüfmedium ordnungsgemäß zusammengesetzt ist.

6.3 Pyrophosphat-Lösung.

Es werden 2,66 g wasserfreies Natriumpyrophosphat ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) in Wasser (6.1) gelöst, und es wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

7 Prüfeinrichtung

Es ist sicherzustellen, dass alle Glasgeräte gründlich gereinigt und insbesondere frei von organischer oder toxischer Substanz sind.

Gefordert sind die üblichen Laborgeräte und Folgendes:

7.1 Prüfkolben: Glasgefäße (z. B. Flaschen oder Erlenmeyerkolben), die so ausgelegt sind, dass Gas durch sie hindurchgespült und in ihnen geschüttelt oder gerührt werden kann, und die mit Schläuchen versehen sind, die für CO_2 undurchlässig sind. Die Gefäße müssen sich in einem Raum mit konstanter Temperatur oder in einer thermostatisch geregelten Apparatur (z. B. Wasserbad) befinden.

7.2 System zur Erzeugung von CO₂-freier Luft, geeignet, jedem Prüfkolben mit einem Volumendurchfluss zwischen 50 ml/min und 100 ml/min CO₂ freie Luft zuzuführen, wobei der Volumendurchfluss mit einer Abweichung von $\pm 10\%$ konstant zu halten ist (siehe das Beispiel eines Systems, einschließlich der Prüfgefäße, in Anhang A).

7.3 Analytisches Gerät zur Bestimmung des Kohlenstoffdioxids, bestehend aus einer beliebigen geeigneten Apparatur mit ausreichender Genauigkeit, z. B. ein CO₂ oder DIC Analysegerät oder eine Apparatur für die titrimetrische Bestimmung nach der vollständigen Absorption in einer basischen Lösung (siehe die Beispiele in Anhang B). Es ist zu beachten, dass bei Anwendung z. B. eines Analysegerätes mit einem IR Detektor keine CO₂-freie Luft erforderlich ist.

7.4 Analytische Ausrüstung zur Messung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) (siehe ISO 8245).

7.5 Analysenwaage (übliche Laborausrüstung).

7.6 Zentrifuge oder Filtriervorrichtung mit Membranfiltern (0,45 mm Porengröße), die signifikante Mengen an organischem Kohlenstoff weder adsorbiert noch diese freisetzt.

7.7 PH-Messgerät (übliche Laborausrüstung).

7.8 Magnetrührer oder Schüttler (übliche Laborausrüstung).

8 Durchführung

8.1 Prüfsubstanz

Die Masse der Prüfsubstanz muss bekannt sein, und diese Substanz muss ausreichend Kohlenstoff enthalten, dass sich eine Menge an CO₂ ergibt, die mit dem angewendeten analytischen System in angemessener Weise gemessen werden kann. Der TOC wird aus der Summenformel berechnet oder mit einem geeigneten analytischen Verfahren bestimmt (z. B. Elementaranalyse oder Messung nach ISO 8245), und der ThCO₂ wird berechnet. Die Konzentration der Prüfsubstanz wird so gewählt, dass der TOC-Gehalt mindestens 30 mg/l und vorzugsweise 100 mg/l beträgt. Die Höchstmenge der Prüfsubstanz wird durch die Sauerstoffzufuhr zum Prüfsystem und das verwendete Prüfmedium begrenzt. Bei der Anwendung des optimierten Prüfmediums (6.2.2) muss die Konzentration der Prüfsubstanz so sein, dass der TOC einen Wert von etwa 2 000 mg/l, d. h. ein C : N Verhältnis von etwa 40 : 1, nicht überschreitet. Sind höhere Konzentrationen zu prüfen, muss die Menge an Stickstoff im Prüfmedium erhöht werden.

ANMERKUNG Die Prüfsubstanz sollte vorzugsweise in Form von Pulver, kann jedoch auch als Filme, Stücke, Fragmente oder Formteile eingesetzt werden. Die Form und die Maße der Prüfsubstanz können deren Bioabbaubarkeit beeinflussen. Sind unterschiedliche Arten von Kunststoff zu vergleichen, sollten vorzugsweise ähnliche Formen verwendet werden. Wird die Prüfsubstanz in Pulverform eingesetzt, sollten Teilchen mit einer bekannten, in engen Grenzen liegenden Korngrößenverteilung verwendet werden. Es wird eine Korngrößenverteilung empfohlen, deren Höchstwert bei 250 µm liegt. Auch die Größe der verwendeten Prüfausrüstung kann von der Form der Prüfsubstanz abhängig sein. Es sollte sichergestellt werden, dass aufgrund der Prüfbedingungen, wie zum Beispiel aufgrund des eingesetzten Rührmechanismus, keine wesentlichen mechanischen Abweichungen auftreten. Die Aufbereitung der Prüfsubstanz (z. B. die Verwendung von Pulver im Falle von Verbundstoffen) sollte das Abbauverhalten der Substanz nicht signifikant beeinflussen. Wahlweise können der Gehalt an Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Phosphor und Schwefel sowie die Molekularmasse einer polymeren Prüfsubstanz aufgezeichnet werden, wozu beispielsweise die Ausschluss Flüssigkeitschromatographie (Gelpermeationschromatographie) (siehe z. B. ASTM D 3536–91 [1] oder jedes sonstige anwendbare Standardverfahren) eingesetzt wird. Vorzugsweise sollten Kunststoffe ohne Additive, wie z. B. Weichmacher, geprüft werden. Sofern die Substanz solche Additive enthält, sind Informationen zu deren Bioabbaubarkeit erforderlich, um die Bioabbaubarkeit der polymeren Substanz selbst beurteilen zu können.

Für Einzelheiten zum Umgang mit schwer wasserlöslichen Verbindungen siehe ISO 10634.

8.2 Referenzsubstanz

Als Referenzsubstanz ist ein gut definiertes bioabbaubares Polymer zu verwenden (beispielsweise mikrokristallines Cellulosepulver, aschefreie Cellulosefilter oder Poly- β -hydroxybutyrat). Sofern dies möglich ist, sollten der TOC sowie die Form und die Größe mit den entsprechenden Eigenschaften der Prüfs substanz vergleichbar sein.

Als Negativkontrolle kann wahlweise ein nicht bioabbaubares Polymer (z. B. Polyethylen), dessen Form der der Prüfs substanz entspricht, verwendet werden.

8.3 Herstellung des Inokulums

Als geeignete Quelle für das Inokulum hat sich Belebtschlamm aus einer Kläranlage erwiesen, in der überwiegend häusliches Abwasser behandelt wird. Das Inokulum entstammt einer aktiven aeroben Umgebung und ist aus einem geographisch umfangreichen Bereich verfügbar, in dem eine große Bandbreite an Kunststoffen geprüft werden muss. Alternativ können Boden und/oder Kompostlösungen für die Beimpfung verwendet werden, da für den Bioabbau einiger Kunststoffe die Tätigkeit von Pilzen von Bedeutung ist. Ist der Bioabbau in einem bestimmten Abfallbehandlungssystem festzustellen, muss das Inokulum aus der entsprechenden Umgebung gewonnen werden.

Das Inokulum kann aus den in 8.3.1 und 8.3.2 beschriebenen Quellen oder, um eine vielfältige und konzentrierte mikrobielle Flora mit einer ausreichenden Bioabbauaktivität zu erhalten, aus einem Gemisch dieser Quellen hergestellt werden. Ist die endogene Respiration des Inokulums zu hoch, muss es vor dem Gebrauch durch Begasung stabilisiert werden. Die Prüftemperatur muss an das eingesetzte Inokulum angepasst werden (siehe die Anmerkung zu Abschnitt 5).

8.3.1 Inokulum aus einer Kläranlage

Aus einer gut geführten Kläranlage oder einer Versuchskläranlage, in der hauptsächlich häusliche Abwässer behandelt werden, wird eine Belebtschlamm Probe entnommen. Diese Probe wird gut durchmischt, unter aeroben Bedingungen gelagert und vorzugsweise am Tag der Entnahme verwendet (mindestens innerhalb von 72 h).

Vor Gebrauch ist die Konzentration der suspendierten Feststoffe zu ermitteln (z. B. nach ISO 11923 [3]). Falls erforderlich, ist der Schlamm durch Sedimentation aufzukonzentrieren, so dass das der Probe zugesetzte Schlammvolumen so gering wie möglich ist. Das zugesetzte Volumen muss ausreichen, um im endgültigen Gemisch suspendierte Feststoffe im Konzentrationsbereich von 30 mg/l bis 1 000 mg/l zu erhalten.

ANMERKUNG 1 Sind Bioabbauvorgänge in einer natürlichen Umgebung zu simulieren, oder ist eine Kohlenstoffbilanzbestimmung durchzuführen (siehe Anhang C), wird eine Konzentration von 30 mg/l an suspendierten Feststoffen für das Inokulum empfohlen. Da Feststoffe die Bestimmung der Kohlenstoffbilanz beeinflussen können, wird für die Herstellung des Inokulums folgendes Verfahren empfohlen. Es werden 500 ml Belebtschlamm entnommen und für 2 min bei mittlerer Drehzahl in einem Mischer oder in einem geeigneten Hochgeschwindigkeitsmischer homogenisiert. Der Schlamm wird stehen gelassen, um zu sedimentieren, bis die überstehende Flüssigkeit keine signifikanten Mengen an suspendierter Substanz mehr enthält, in jedem Fall jedoch für mindestens 30 min. Ein ausreichendes Volumen der überstehenden Flüssigkeit wird dekantiert und in die Prüfkolben gegeben, so dass sich im Prüfmedium eine Konzentration mit einem Volumenanteil von 1 % (V/V) bis 5 % (V/V) ergibt. Dabei muss vermieden werden, Schlammteilchen mit zu überführen.

ANMERKUNG 2 Ein Inokulum kann vorkonditioniert werden; üblicherweise und insbesondere bei Standardprüfungen, bei denen das Bioabbauverhalten in natürlicher Umgebung simuliert wird, sollte jedoch kein voradaptiertes Inokulum verwendet werden. In Abhängigkeit vom Zweck der Prüfung kann auch ein voradaptiertes Inokulum verwendet werden, vorausgesetzt, dies wird im Prüfbericht klar angegeben (z. B. prozentualer Bioabbau bei Einsatz voradaptierter Inokula = x %) und das Verfahren der Voradaptation wird in diesem Bericht ausführlich beschrieben. Voradaptierte Inokula können aus den geeigneten Laborprüfungen zum Bioabbau (siehe ISO/TR 15462) gewonnen werden, die unter einer Reihe von unterschiedlichen Bedingungen ausgeführt wurden, oder aus Proben, die an Orten entnommen wurden, an denen die entsprechenden Umgebungsbedingungen vorliegen (z. B. kontaminierte Bereiche oder industrielle Aufbereitungsanlagen).