

DIN EN ISO 14853

ICS 83.080.01

Einsprüche bis 2017-08-02

Entwurf

**Kunststoffe –
Bestimmung der vollständigen anaeroben Bioabbaubarkeit von
Kunststoff-Materialien in einem wässrigen Medium –
Verfahren mittels Analyse der Biogasentwicklung (ISO 14853:2016);
Deutsche und Englische Fassung prEN 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 and English version prEN 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 et anglaise prEN ISO 14853:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-06-02 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 70 Seiten

DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 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).

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

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

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 7827, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der 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*

Kunststoffe — Bestimmung der vollständigen anaeroben Bioabbaubarkeit von Kunststoff-Materialien in einem wässrigen Medium — Verfahren mittels Analyse der Biogasentwicklung (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)

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

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.8l

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	9
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 der Prüfung	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 Bioabbaugrads in Prozent	19
9 Gültigkeit der Ergebnisse	19
9.1 Aufrechterhaltung anaerober Bedingungen	19
9.2 Hemmung des Bioabbaus	20
9.3 Gültigkeit der Prüfung	20
10 Prüfbericht	20

Anhang A (informativ) Beispiel für Prüfeinrichtung zum Bestimmen der erzeugten Biogasmenge durch Messen des Gasdruckanstiegs.....	21
Anhang B (informativ) Beispiel für Prüfeinrichtung zum volumetrischen Bestimmen der erzeugten Biogasmenge	22
B.1 Spülen mit N ₂ oder Ar.....	23
B.2 Überprüfen der Gasdichtheit	23
Anhang C (informativ) Beispiel für eine Abbaukurve.....	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 Wiederfindungsrate	32
G.1 Kurzbeschreibung.....	32
G.2 Prüfverfahren	32
G.3 Berechnung der Wiederfindungsrate	33
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 prEN ISO 14853:2017 durch das Technische Komitee CEN/TC 249 „Kunststoffe“ übernommen, dessen Sekretariat von NBN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 14853:2016 wurde von CEN als prEN 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 nur schwer wiederverwertbare Kunststoffprodukte und Kunststoffe sind Fischereiausrüstung, in der Landwirtschaft eingesetzte Mulchfolien und wasserlösliche Polymere. Diese Kunststoffe gelangen nicht selten aus geschlossenen Abfallentsorgungsanlagen und -einrichtungen in die Umwelt. Als eine mögliche Option zur Lösung dieses Problems und zur Reduzierung der Umweltauswirkungen werden bioabbaubare Kunststoffe entwickelt. Kunststoffprodukte und -verpackungen zur Wiederverwertung in anaeroben Behandlungsanlagen sollten potenziell bioabbaubar sein. Es ist daher wichtig, die potenzielle Bioabbaubarkeit solcher Stoffe 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 spezifiziert ein Prüfverfahren zur Bestimmung der vollständigen biologischen Abbaubarkeit von Kunststoffen durch anaerobe Mikroorganismen. Die in dieser Internationalen Norm beschriebenen Bedingungen stellen nicht zwingend die Optimalbedingungen zum Erreichen des maximalen Bioabbaugrads dar. Die Prüfung erfordert eine Berührung des Probematerials durch Schlamm für eine Dauer von bis zu 90 d, die länger als die normale Retentionszeit (25 bis 30 d) 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;
- Kunststoff-Materialien, die Zusatzstoffe, wie Weichmacher, Farbstoffe oder andere Zuschläge, 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 wird

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 bebrütet wurde, um die Biomasse und den Geruch zu reduzieren und das Entwässern des Schlamms zu verbessern

Anmerkung 1 zum Begriff: Faulschlamm besteht aus einer Mischung von 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 einer bekannten Menge 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 nach dem Absetzen des Schlamms aus dem Faulwasser wiedergewinnen lässt

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 Biogas pro 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 pro 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 Methan pro Milligramm Probematerial

3.11

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

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 anhand anaerober Bedingungen in einem wässrigen Medium bestimmt. Probematerial mit einer Konzentration von organischem Kohlenstoff (OC) von 20 mg/l bis 200 mg/l wird zusammen mit Faulschlamm für eine Dauer von normalerweise nicht mehr als 90 d in einem dichten Behälter bei $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ bebrütet. Vor der Verwendung wird der Faulschlamm gewaschen, so dass er nur noch sehr geringe Mengen an anorganischem Kohlenstoff (IC) enthält, und so verdünnt, dass die Konzentration der Gesamtfeststoffe 1 g/l bis 3 g/l beträgt. Der Druckanstieg 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 Bicarbonat 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 Wiederfindungsrate 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 unter 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 1	0,5 ml
Wasserfreies Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	0,27 g
	Vitaminlösung 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
Dinatriumselenit	Na_2SeO_3	0,005 g
Dinatriumwolframat-Dihydrat	$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,002 g
Mit Wasser (5.1) (sauerstofffrei) auffüllen auf		1 l

Pro Liter Prüfmedium 10 ml Spurenelementlösung verwenden.

5.4 Vitaminlösungen (optional)

5.4.1 Vitaminlösung 1

4-Aminobenzoesäure	40 mg
d-Biotin	10 mg
In heißem Wasser auflösen (5.1)	500 ml

Abkühlen lassen und Folgendes hinzufügen:

d-Pantothensäure, Calciumsalz	50 mg
Pyridoxamindihydrochlorid	150 mg
Thiamindichlorid	100 mg

Die Lösung durch einen Membranfilter (Porengröße 0,45 µm) filtern, der keine größeren Mengen an organischem Kohlenstoff aufnimmt oder abgibt, und an einem dunklen Ort bei 4 °C aufbewahren.

Pro Liter Prüfmedium 0,5 ml Vitaminlösung verwenden.

5.4.2 Vitaminlösung 2

Cyanocobalamin (Vitamin B12)	10 mg
In Wasser auflösen (5.1)	100 ml

Die Lösung durch einen Membranfilter (Porengröße 0,45 µm) filtern, der keine größeren Mengen an organischem Kohlenstoff aufnimmt oder abgibt, und an einem dunklen Ort bei 4 °C aufbewahren.

Pro Liter Prüfmedium 0,5 ml Vitaminlösung verwenden.

5.5 Sperrflüssigkeit

NaCl	200 g
In Wasser auflösen (5.1)	1 000 ml
Mit Zitronensäure sauer einstellen	5 g

Einen pH-Indikator, z. B. Bromophenolblau oder Methylorange hinzugeben, um während der Prüfung kontrollieren zu können, dass die Lösung sauer bleibt.

5.6 Probematerial

Das Probematerial wird gewöhnlich direkt im festen Zustand zugegeben, wobei die Konzentration des organischen Kohlenstoffs 20 mg/l bis 200 mg/l beträgt. Das Probematerial (Kunststoff) sollte möglichst in Pulverform verwendet werden.

Das Probematerial sollte vorzugsweise in Pulverform verwendet werden, kann jedoch auch als Folie, Stücke, Fragmente oder Formteile eingelegt werden. Zustand und Form des Probematerials können seine Bioabbaubarkeit beeinflussen. Sollen verschiedene Kunststoffmaterialien verglichen werden, sollten ähnlich geformte Probematerialien verwendet werden. Bei Verwendung des Probematerials in Pulverform sollten Partikel bekannter und enger Größenverteilung verwendet werden. Es wird eine Partikelgrößenverteilung

empfohlen, bei welcher der maximale Durchmesser 250 µm beträgt. Auch die Größe der zu verwendenden Prüfgeräte kann von der Form des Probematerials abhängen.

Die Bioabbaubarkeit von Kunststoffmaterialien ohne hemmende Wirkung auf Mikroorganismen lässt sich anhand von Probematerialien mit einer Konzentrationen von organischem Kohlenstoff von über 200 mg/l bestimmen. In diesem Fall muss sichergestellt werden, dass Pufferkapazität und Mineralsalzgehalt des Mediums ausreichend sind.

5.7 Referenzmaterial

Als Referenzmaterial ein gut definiertes anaerob biologisch abbaubares Polymer, z.B. Poly-β-hydroxybutyrat, Cellulose oder Poly(ethylenglycol) 400, verwenden. Form, Größe, Löslichkeit und Konzentration des Referenzmaterials sollten denen des Probematerials möglichst vergleichbar sein.

Das Referenzmaterial auf gleiche Art und Weise vorbereiten wie das Probematerial.

5.8 Inhibitionskontrolle (optional)

Probematerial und Referenzmaterial in einen Behälter mit Prüfmedium geben (5.2), so dass die unter 5.6 bzw. 5.7 spezifizierten Konzentrationen erreicht werden.

6 Prüfeinrichtung

6.1 Laborausstattung

Für die Prüfung werden gängige Laborausstattung sowie folgende Geräte benötigt:

6.1.1 Inkubator bzw. Wasser- oder Sandbad, thermostatiert auf $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$

6.1.2 Kohlenstoffanalysator (optional), geeignet für die direkte Bestimmung von anorganischem Kohlenstoff im Bereich 1 mg/l bis 200 mg/l IC. Alternativ kann der IC im Faulwasser indirekt durch Freigabe des gelösten IC als Kohlenstoffdioxid, welches im Gasraum des Behälters messbar ist, bestimmt werden, siehe Beschreibung unter 7.7.

6.2 Verwendbare Prüfeinrichtung bei Biogasmessung mittels eines manometrischen Verfahrens

6.2.1 Prüfbehälter aus druckfestem Glas, Nenngröße 0,1 l bis 1 l, jeweils mit einem gasdichten Septum, das für etwa 2 000 hPa ausgelegt ist (Beispiele siehe Anhang A). Das Gasraumvolumen muss etwa 10 % bis 30 % des Gesamtvolumens ausmachen. Wird in regelmäßigen Abständen Gas abgegeben, ist ein Gasraumvolumen von etwa 10 % ausreichend; wird Gas nur am Ende der Prüfung abgegeben, ist ein Gasraumvolumen von 30 % besser geeignet.

Aus praktischen Gründen wird die Verwendung von Serumflaschen mit Stopfen aus Butylkautschuk und verpresstem Aluminiumring empfohlen.

6.2.2 Druckmessgerät, z.B. ein Manometer, das mit einer entsprechenden Spritzennadel verbunden ist, wobei ein gasdichtes Dreiwegeventil zum einfachen Ablassen von Überdruck vorgesehen ist. Verwendung und Kalibrierung des Geräts erfolgen in Übereinstimmung mit der Anleitung des Herstellers.

Das Innenvolumen von Schläuchen und Ventil muss so klein wie möglich sein, um Messabweichungen aufgrund Nichtbeachtung des Volumens des Geräts möglichst gering zu halten.

6.3 Verwendbare Prüfeinrichtung bei Biogasmessung mittels eines volumetrischen Verfahrens

6.3.1 Prüfbehälter aus Glas (z. B. konische Kolben oder Flaschen), Nenngröße 0,1 l bis 1 l, vorzugsweise je 300 ml pro 250 ml Medium. Bei erwarteter Schaumbildung wird ein Gasraumvolumen von 10 % bis 20 % empfohlen. Die Prüfbehälter müssen mit einem Septum für die Gasprobenahme (siehe Anhang B) ausgestattet sein und müssen über einen gasdichten Schlauch mit einem Gassammelrohr aus Glas mit Skale verbunden sein, das mit einer sauer eingestellten Salzlösung (Sperrflüssigkeit, siehe 5.5) gefüllt ist. Dieses Glasrohr mit Skale muss mit einem Ausdehnungsbehälter verbunden sein, der auf und ab bewegt werden kann, um den Spiegel der Sperrflüssigkeit im Ausdehnungsbehälter auf der gleichen Höhe wie den im Gassammelrohr zu halten.

7 Durchführung der Prüfung

7.1 Allgemeines

Zunächst die folgenden Schritte ausführen und dabei so vorgehen, dass der Faulschlamm so wenig wie möglich in Kontakt mit Sauerstoff kommt, z. B. Arbeiten im Handschuhkasten unter Stickstoffatmosphäre ausführen oder Prüfbehälter mit Stickstoff spülen.

7.2 Faulschlamm

Faulschlamm aus einem Faulbehälter einer Abwasseraufbereitungsanlage für vornehmlich häusliche Abwässer entnehmen. Sicherstellen, dass der Faulschlamm belebt ist. Weithalsflaschen aus Polyethylen hoher Dichte oder ähnlichem Material verwenden, die sich ausdehnen können. Glas wird aus Sicherheitsgründen nicht empfohlen. Flaschen bis innerhalb 1 cm vom oberen Rand befüllen und verschließen. Nach dem Transport ins Labor sofort verwenden oder in einen Labor-Faulbehälter geben. Überschüssiges Biogas ablassen.

Alternativ kann als Quelle für das Inokulum im Labor gezüchteter anaerober Schlamm verwendet werden.

Eine Vorbebrütung kann in Erwägung gezogen werden, um die Bildung von Hintergrundgas zu reduzieren und die Beeinflussung durch die Blindwerte zu verringern. Den Schlamm ohne Nährstoff- oder Substratzugabe 7 Tage lang bei (35 ± 2) °C faulen lassen.

Es hat sich erwiesen, dass eine 5-tägige Vorbebrütung eine optimale Verringerung der Gasbildung um den Blindwert ohne unzumutbare Verlängerung der Lag-Phase oder Inkubationsphase während der Prüfung bewirkt. Bei Probematerialien, bei denen von einer schlechten Bioabbaubarkeit ausgegangen wird, kann eine Vorbebrütung des Schlammes mit dem Probematerial in Erwägung gezogen werden, um ein besser adaptiertes Inokulum zu erhalten. In diesem Fall dem Faulschlamm Probematerial mit einer OC-Konzentration von 5 mg/l bis 20 mg/l zugeben. Den vorbebrüteten Schlamm vor der Verwendung sorgfältig waschen. Im Testbericht vermerken, dass eine Vorbebrütung durchgeführt wurde.

7.3 Vorbereitung des Inokulums

Den Schlamm direkt vor der Verwendung waschen, um den IC-Gehalt der endgültigen Prüfsuspension auf unter 20 mg/l zu reduzieren. Ist der IC-Gehalt noch nicht niedrig genug, den Schlamm noch weitere zwei Mal waschen. Den Schlamm anschließend in der erforderlichen Menge Prüfmedium (5.2) aufschlämmen und die Konzentration der Gesamtfeststoffe (siehe 3.7) bestimmen. Die endgültige Konzentration der Gesamtfeststoffe im Prüfbehälter muss im Bereich 1 g/l bis 3 g/l liegen. Die oben beschriebenen Schritte so ausführen, dass der Faulschlamm so wenig wie möglich in Kontakt mit Sauerstoff kommt (z. B. unter Stickstoffatmosphäre).

7.4 Vorbereitung von Prüfsuspensionen und Kontrollproben

Es müssen mindestens drei Prüfbehälter, F_T , für das Probematerial, mindestens drei für die Blindproben, F_B , und, F_P , für die Positivkontrolle (Referenzmaterial) vorbereitet werden. Optional können ein oder mehrere weitere Behälter, F_I , für jedes Probematerial als Inhibitionskontrolle vorbereitet werden (siehe Tabelle 1). Werden mehrere verschiedene Probematerialien gleichzeitig geprüft, so können dafür dieselben Blindproben und Kontrollproben verwendet werden. In alle Behälter Aliquoten des nach 7.3 vorbereiteten gelösten Inokulums geben, wobei die Konzentration der Gesamtfeststoffe in allen Behältern gleich sein muss (zwischen 1 g/l und 3 g/l). Probematerial (5.6) und Referenzmaterial (5.7) in die entsprechenden Behälter geben. Die OC-Konzentration in den Prüfsuspensionen muss normalerweise 100 mg/l betragen. Bei Prüfung toxischer Probematerialien kann sie auf 20 mg/l OC oder weniger reduziert werden, wenn nur die primäre Bioabbaubarkeit mittels spezifischer Analysen bestimmt werden soll.

ANMERKUNG Niedrigere Prüfkonzentrationen können zu einer größeren Abweichung der Prüfergebnisse führen.

In die Blindprobenbehälter anstelle des Probematerials eine entsprechende Menge sauerstofffreies Wasser (5.1) geben. Für Analysen zu Beginn der Prüfung zum Bestimmen von pH-Wert und gegebenenfalls Gesamtfeststoffen und IC kann ein zusätzlicher Prüfbehälter (Parallelprobe) mit Prüfsuspension vorbereitet werden.

Den pH-Wert, falls nötig, mittels kleiner Mengen verdünnter Mineralsäure oder Alkali auf $7 \pm 0,2$ einstellen. In alle Behälter die gleiche Menge Neutralisationsmittel geben. Soll die primäre Bioabbaubarkeit gemessen werden, eine entsprechende Probe aus dem zusätzlichen Prüfbehälter entnehmen und die Probematerial-Konzentration mittels eines geeigneten Verfahrens bestimmen. Bei Bedarf zum Umrühren der Prüfsuspensionen Magnetrührstäbe in die Behälter setzen (optional). Das Gesamtflüssigkeitsvolumen, V_L , und das Gasraumvolumen, V_H , müssen in allen Behältern gleich sein (siehe 6.2.1). V_L und V_H beachten (siehe Abschnitt 8). Falls nötig, zusätzliches sauerstofffreies Prüfmedium (5.2) zugeben. Die einzelnen Behälter mit einem gasdichten Septum verschließen und in den Inkubator (6.1.1) stellen.

Tabelle 1 — Übersicht der Proben und Kontrollassays

Behälter	Probematerial	Referenzmaterial (biologisch abbaubar)	Inokulum
F_{T1} Probe	+		+
F_{T2} Probe	+		+
F_{T3} Probe	+		+
F_{B1} Blindprobe			+
F_{B2} Blindprobe			+
F_{B3} Blindprobe			+
F_{P1} Positivkontrolle		+	+
F_{P2} Positivkontrolle		+	+
F_{P3} Positivkontrolle		+	+
Zusätzliche Parallelprobe für Analysen zu Beginn der Prüfung	+		+
F_I Inhibitionskontrolle (optional)	+	+	+

7.5 Inkubation und Gasmessung

7.5.1 Allgemeines

Die Inkubation muss in einem geschlossenen Behälter bei einer konstanten Temperatur von $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$, einer normalen anaeroben Faulbehälter-Temperatur, unter Ausschluss von Sauerstoff sowie am Anfang unter reiner Stickstoffatmosphäre stattfinden.

7.5.2 Manometrische Gasmessung (siehe Anhang A)

Die vorbereiteten Behälter für die Dauer von etwa 1 h bei $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$ bebrüten, um ein Gasgleichgewicht herzustellen, und überschüssiges Gas in die Atmosphäre ablassen, beispielsweise indem die einzelnen Behälter nacheinander geschüttelt werden, die Nadel des Manometers durch den Verschlussstopfen eingeführt und das Ventil geöffnet wird, bis das Manometer auf null steht. Falls dabei oder bei Zwischenmessungen der Gasraumdruck unter Atmosphärendruck liegt, Stickstoff zugeben, um den Gasraumdruck wieder auf Atmosphärendruck zu bringen. Das Ventil schließen und die Bebrütung im Dunkeln fortsetzen, wobei alle Behälterteile auf Inkubationstemperatur gehalten werden müssen.

Die Behälter nach der Inkubation für eine Dauer von 24 h bis 48 h beobachten. Behälter, in denen das Faulwasser eine ausgeprägte rosarote Verfärbung aufweist, müssen ausgeschlossen werden. Die Verfärbung ergibt sich durch eine Farbänderung des Resazurins, die auf Einwirkung von Sauerstoff hindeutet. Kleine Mengen Sauerstoff können vom System toleriert werden, bei höheren Konzentrationen kann der Ablauf des anaeroben Bioabbaus jedoch erheblich beeinträchtigt werden.

Den Inhalt jedes Behälters mindestens zwei oder drei Mal wöchentlich und vor jeder Druckmessung sorgfältig durch mehrminütiges Rühren oder Schütteln vermengen. Den Gasdruck messen, beispielsweise durch Einführen der Nadel der an das Manometer angeschlossenen Spritze durch das Septum. Die Druckmesswerte in Hektopascal aufzeichnen.

Durch Schütteln wird das Inokulum resuspendiert und das Gasgleichgewicht sichergestellt. Während der Druckmessung das Gas im Gasraum auf Inkubationstemperatur halten. Dafür sorgen, dass kein Wasser in die Spritzennadel gelangt. Falls dies passiert, feuchte Teile abtrocknen und eine neue Nadel aufsetzen.

Den Gasdruck in den Behältern wöchentlich messen und dabei überschüssiges Gas in die Atmosphäre ablassen oder den Druck nur am Ende der Prüfung messen, um die Gesamtmenge des erzeugten Biogases zu ermitteln. Es wird jedoch dringend empfohlen, Zwischenmessungen des Gasdrucks vorzunehmen, da der Druckanstieg Rückschlüsse darauf zulässt, wann die Prüfung beendet werden kann, und die Einhaltung der Kinetik ermöglicht.

7.5.3 Volumetrische Gasmessung (siehe Anhang B)

Das erzeugte Biogas kann so in einem Glasrohr mit Skale, von der Atmosphäre durch eine Sperrflüssigkeit getrennt gesammelt werden, dass der Druck während der Prüfung annähernd konstant bleibt (abgesehen von Änderungen des Atmosphärendrucks). Nach 1-stündiger Inkubation der vorbereiteten Behälter bei $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$ überschüssiges Gas in die Atmosphäre ablassen, beispielsweise indem die einzelnen Behälter nacheinander geschüttelt werden, eine Spritzennadel durch das Septum eingeführt und das Gas abgelassen wird, bis der Spiegel der Sperrflüssigkeit im Gassammelrohr auf null steht. Sicherstellen, dass der Spiegel der Sperrflüssigkeit im Ausdehnungsbehälter auf der gleichen Höhe wie der im Gassammelrohr steht. Die Spritzennadel herausziehen und die Bebrütung im Dunkeln fortsetzen, wobei alle Behälterteile auf Inkubationstemperatur gehalten werden müssen.

Das Gasvolumen kann direkt am Gassammelrohr abgelesen werden. Vor dem Ablesen muss der Flüssigkeitsspiegel im Ausdehnungsbehälter auf die gleiche Höhe wie der Flüssigkeitsspiegel im Sammelrohr gebracht werden, so dass das Gasvolumen bei Atmosphärendruck abgelesen wird (Anleitung siehe Anhang B). Zum Ermitteln der Gasbildungsgeschwindigkeit müssen ausreichend viele Messwerte für Gasvolumen, Druck und Temperatur (normalerweise täglich) gesammelt werden. Am Anfang können häufigere Messungen, mit Fortschreiten des Prozesses weniger Messungen nötig sein.

7.6 Prüfdauer

Die normale Prüfdauer beträgt 60 Tage. Die Prüfung kann eher beendet werden, wenn die anhand Druck- und Volumenmessungen ermittelte Abbaukurve eine Plateauphase erreicht hat (siehe 3.12). Wurde am Ende der normalen Inkubationsphase keine eindeutige Plateauphase erreicht, kann die Prüfung weiterlaufen, bis eine Plateauphase erreicht wird. Die Prüfdauer darf jedoch 90 Tage nicht überschreiten.

7.7 Messung des anorganischen Kohlenstoffs

Am Ende der Prüfung, nach der letzten Messung des Gasdrucks bzw. der Gasvolumenzunahme, den Schlamm absetzen lassen, die einzelnen Behälter öffnen und sofort die Konzentration des anorganischen Kohlenstoffs (IC) im Faulwasser (in mg/l) bestimmen. Das Faulwasser darf zu diesem Zeitpunkt nicht zentrifugiert oder gefiltert werden (siehe Anmerkung). Nach der IC-Messung den pH-Wert aufzeichnen. An Blindproben, Referenzmaterial und optionalen Kontrollproben ähnliche Messungen vornehmen.

Alternativ kann der IC im Faulwasser indirekt durch Freigabe des gelösten IC als Kohlenstoffdioxid, welches im Gasraum des Behälters messbar ist, bestimmt werden. Nach der letzten Gasdruckmessung den Druck in jedem Prüfbehälter auf Atmosphärendruck einstellen. Den Inhalt der einzelnen Behälter durch Zugabe konzentrierter Mineralsäure (z. B. 1M H_3PO_4 oder 1M H_2SO_4) durch das Septum der verschlossenen Behälter auf etwa pH 1 sauer einstellen. Die geschüttelten Behälter für die Dauer von etwa 24 Stunden bei $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ bebrüten und mit dem Druckmesser den durch das gebildete Kohlenstoffdioxid erzeugten Gasdruck messen.

ANMERKUNG Zentrifugieren oder Filtration würden zu einem unzumutbaren Verlust von gelöstem Kohlenstoffdioxid führen. Kann die Faulwasserprobe nicht sofort analysiert werden, so kann sie in einer geeigneten verschlossenen Phiole, ohne Gasraum, bei etwa 4°C bis zu 2 Tage aufbewahrt werden.

In einigen Fällen, insbesondere wenn dieselben Blind- bzw. Kontrollproben für mehrere verschiedene Probematerialien verwendet werden, eine Messung von Zwischenwerten der IC-Konzentration in den Prüf- und Kontrollbehältern in Erwägung ziehen. In diesem Fall wie folgt vorgehen.

Nach Messung des Gasdrucks bzw. der Volumenzunahme ohne Ablassen von überschüssigem Gas ein möglichst kleines Aliquot Faulwasser mit einer Spritze durch das Septum entnehmen (ohne Öffnen des Behälters) und die IC-Konzentration der Probe bestimmen. Nach Entnahme der Probe kann überschüssiges Gas aus dem Behälter abgelassen werden (siehe 7.5).

Hierbei ist zu beachten, dass schon eine kleine Verringerung des Faulwasservolumens (z. B. etwa 1 %) zu einer deutlichen Zunahme des Gasraumvolumens führen kann. Gegebenenfalls Formel (3) unter 8.2 durch Erhöhung von V_H korrigieren.

7.8 Spezifische Analysen

Zum Bestimmen der primären anaeroben Bioabbaubarkeit werden zu Beginn und am Ende der Prüfung spezifische Analysen des Probematerials in der Parallelprobe (siehe 7.4) durchgeführt. Dabei beachten, dass dadurch das Gasraumvolumen (V_H) und das Flüssigkeitsvolumen (V_L) verändert werden, was beim Berechnen der Ergebnisse berücksichtigt werden muss.

8 Berechnung und Auswertung

8.1 Kohlenstoffmenge im Gasraum

1 Mol Methan und 1 Mol Kohlenstoffdioxid enthalten jeweils 12 g Kohlenstoff. Die Berechnung des Kohlenstoffgehalts eines bestimmten gebildeten Gasvolumens erfolgt anhand von Formel (1):

$$m = 12\,000 \cdot n \quad (1)$$

Dabei ist

m die Masse des Kohlenstoffs, in Milligramm, in einem bestimmten gebildeten Gasvolumen;

12 000 die relative Atommasse von Kohlenstoff in Milligramm;

n die Anzahl der Gasmole.

8.2 Berechnung der Kohlenstoffmenge im Gasraum bei Verwendung eines manometrischen Messverfahrens

Die Berechnung von n erfolgt anhand des Gasgesetzes, siehe Formel (2):

$$n = \frac{pV}{RT} \quad (2)$$

Dabei ist

n die Anzahl der Gasmole;

p der Gasdruck in Pascal;

V das Gasvolumen in Kubikmeter;

R die molare Gaskonstante (8,314 J/mol × K);

T die Inkubationstemperatur in Kelvin.

Die Berechnung der Nettomasse des Kohlenstoffs (nach Abzug der mittleren Blindwerte), der aus dem Probematerial als Gas im Gasraum gebildet wurde, erfolgt anhand von Formel (3):

$$m_h = \frac{12\,000 \times 0,1 \times (\Delta p \times V_H)}{RT} \quad (3)$$

Dabei ist

m_h die Nettomasse, in Milligramm, des Kohlenstoffs, der als Gas im Gasraum gebildet wurde;

V_H das Volumen des Gasraums, in Liter;

Δp die mittlere Differenz zwischen dem Ausgangs- und Enddruck, in Hektopascal, in jedem Prüfbehälter minus der für die Blindprobenbehälter;

0,1 Umrechnungsfaktor für Hektopascal in Pascal und Liter in Kubikmeter;

12 000 die relative Atommasse von Kohlenstoff in Milligramm.

Für die normale Inkubationstemperatur von 35 °C (308 K) ist Formel (4) anwendbar:

$$m_h = 0,468 \times (\Delta p \cdot V_H) \quad (4)$$

Falls zutreffend kann der Verlauf des Bioabbaus durch Aufzeichnung des kumulierten Druckanstiegs Δp , in Hektopascal, gegen die Zeit verfolgt werden. Anhand dieser Kurve lässt sich die Lag-Phase (siehe 3.11) bestimmen und in Tagen aufzeichnen (Beispiel siehe Anhang C).

8.3 Berechnung der Kohlenstoffmenge im Gasraum bei Verwendung eines volumetrischen Messverfahrens

Wird die Menge des erzeugten Biogases volumetrisch gemessen, z. B. mittels Flüssigkeitsverdrängung, erfolgt die Berechnung von n und m_h anhand von Formel (2.1), (3.1) und (4.1):

$$n = \frac{(p - p_w) \cdot V}{RT} \quad (2.1)$$

$$m_h = \frac{12\,000 \times 0,1 \times (p - p_w) \times \Delta V_H}{RT} \quad (3.1)$$

$$m_h = 0,468 \times (p - 56,2) \times \Delta V_H \quad (4.1)$$

Dabei ist

p_w der Wasserdampfdruck, in Hektopascal, bei Inkubationstemperatur (Tabelle mit Wasserdampfdrücken siehe Anhang E);

p der Atmosphärendruck, in Hektopascal;

56,2 der Wasserdampfdruck, in Hektopascal, bei 35 °C;

ΔV_H die mittlere Differenz zwischen dem Ausgangs- und Endvolumen, in Liter, des Gasraums in jedem Prüfbehälter minus der für die Blindprobenbehälter.

Definitionen der anderen Symbole siehe Formel (2), (3) und (4).

8.4 Menge des anorganischen Kohlenstoffs in der Flüssigkeit

Die Berechnung des Kohlenstoffgehalts der Flüssigkeit in den Prüfbehältern erfolgt anhand von Formel (5):

$$m_L = \rho_{IC,net} \cdot V_L \quad (5)$$

Dabei ist

m_L die Masse, in Milligramm, des anorganischen Kohlenstoffs in der Flüssigkeit;

$\rho_{IC,net}$ die mittlere Konzentration von anorganischem Kohlenstoff, in Milligramm pro Liter, in den Prüfbehältern minus der in den Blindprobenbehältern am Ende der Prüfung;

V_L das Volumen, in Liter, der Flüssigkeit im Behälter.

8.5 Gesamtmenge des in Gas umgewandelten Kohlenstoffs

Die Berechnung der Gesamtmenge des in Gas umgewandelten Kohlenstoffs erfolgt anhand von Formel (6):

$$m_t = m_h + m_L \quad (6)$$

Dabei ist

m_t die Gesamtmasse, in Milligramm, des in Gas umgewandelten Kohlenstoffs;

m_h und m_L entsprechen den Definitionen unter 8.2 und 8.4.

8.6 Menge des Kohlenstoffs im Probematerial

Die Berechnung der Masse des Kohlenstoffs im Probematerial in jedem Behälter aus der Konzentration des Kohlenstoffs im Probematerial erfolgt anhand von Formel (7):

$$m_v = \rho_{C,v} \cdot V_L \quad (7)$$

Dabei ist

m_v die Masse, in Milligramm, des Kohlenstoffs im Probematerial;

$\rho_{C,v}$ die Konzentration, in Milligramm pro Liter, des Kohlenstoffs im Probematerial;

V_L das Volumen, in Liter, der Flüssigkeit im Behälter.

8.7 Berechnung des Bioabbaugrads in Prozent

Die Berechnung des Bioabbaugrads in Prozent basierend auf den Gasraum-Gasmesswerten erfolgt anhand von Formel (8), die Berechnung des Gesamt-Bioabbaugrads in Prozent anhand von Formel (9):

$$D_h = \frac{m_h \times 100}{m_v} \quad (8)$$

$$D_t = \frac{m_t \times 100}{m_v} \quad (9)$$

Dabei ist

D_h der Bioabbaugrad in Prozent basierend auf den Gasraum-Gasmesswerten;

D_t der Gesamt-Bioabbaugrad in Prozent;

m_h , m_v und m_t entsprechen den Definitionen unter 8.2, 8.6 bzw. 8.5.

9 Gültigkeit der Ergebnisse

9.1 Aufrechterhaltung anaerober Bedingungen

Nur Daten von Behältern verwenden, die keinen Sauerstoff enthalten, d. h. die keine rosarote Verfärbung aufweisen. Die Kontamination durch Sauerstoff kann durch Anwendung korrekter anaerober Handhabungsverfahren minimiert werden.