

DIN ISO 14239



ICS 13.080.10

Einsprüche bis 2016-09-01
Vorgesehen als Ersatz für
DIN ISO 14239:1999-10

Entwurf

**Bodenbeschaffenheit –
Laboratoriumsinkubationssysteme zur Bestimmung der Mineralisierung
von organischen Chemikalien im Boden unter aeroben Bedingungen
(ISO/DIS 14239:2016);
Text Deutsch und Englisch**

Soil quality –

Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions (ISO/DIS 14239:2016);

Text in German and English

Qualité du sol –

Méthodes de mesure de la minéralisation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies, au moyen de systèmes d'incubation de laboratoire (ISO/DIS 14239:2016);

Texte en allemand et anglais

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2016-07-01 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

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

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de 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 naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin (Hausanschrift: 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 57 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	4
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich.....	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Verfahren.....	6
3.1 Allgemeine Anforderungen.....	6
3.1.1 Probenahme und Beschreibung von Boden.....	6
3.1.2 Prüfsubstanz.....	6
3.1.3 Inkubationsbedingungen	6
3.2 Auswahl der Inkubationssysteme	7
3.2.1 Durchflusssystem:.....	7
3.2.2 Natronkalk-Säulensystem:.....	8
3.2.3 Biometersystem.....	8
3.2.4 Radiorespirometer	9
3.2.5 Mikroradiorespirometer.....	9
3.2.6 Mini-Respirometer.....	9
3.3 Durchflusssystem	10
3.3.1 Kurzbeschreibung.....	10
3.3.2 Materialien und Reagenzien.....	11
3.3.3 Geräte und Glasgeräte.....	12
3.3.4 Durchführung.....	13
3.4 Natronkalk-Säulensystem	14
3.4.1 Kurzbeschreibung.....	14
3.4.2 Materialien und Reagenzien.....	15
3.4.3 Geräte und Glasgeräte.....	15
3.4.4 Durchführung.....	16
3.5 Biometersystem.....	19
3.5.1 Kurzbeschreibung.....	19
3.5.2 Materialien und Reagenzien.....	20
3.5.3 Geräte und Glasgeräte.....	20
3.5.4 Durchführung.....	20
3.6 Radiorespirometer	21
3.6.1 Kurzbeschreibung.....	21
3.6.2 Materialien und Reagenzien.....	22
3.6.3 Geräte, Glas- und Kunststoffgeräte	22
3.6.4 Durchführung.....	22
3.7 Mikroradiorespirometer.....	22
3.7.1 Kurzbeschreibung.....	22
3.7.2 Materialien und Reagenzien.....	23
3.7.3 Geräte und Kunststoffgeräte	23
3.7.4 Durchführung.....	24
3.8 Mini-Respirometer.....	24
3.8.1 Kurzbeschreibung.....	24
3.8.2 Materialien und Reagenzien.....	25
3.8.3 Gerät und Kunststoffgeräte.....	25

3.8.4	Durchführung	26
4	Berechnung und Darstellung der Ergebnisse	26
4.1	Für nichtmarkierte Prüfsubstanzen.....	26
4.2	Für ¹⁴C-markierte Prüfsubstanzen.....	27
5	Prüfbericht.....	27
	Anhang A (normativ) Bestimmung der Wasserhaltekapazität von Böden.....	28
A.1	Anwendungsbereich.....	28
A.2	Kurzbeschreibung.....	28
A.3	Geräte.....	28
A.4	Durchführung	28
A.5	Berechnung.....	28
A.6	Angabe der Ergebnisse.....	29
	Literaturhinweise.....	30

Nationales Vorwort

Dieser Norm-Entwurf wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Bodenbeschaffenheit“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN (Niederlande) gehalten wird.

Für Deutschland war der Unterausschuss NA 119-01-02-04 UA „Biologische Verfahren“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-02 AA „Abfall- und Bodenuntersuchung (Koordinierung ISO/TC 190; ISO/TC 275, CEN/TC 292, CEN/TC 308, CEN/TC 345, CEN/TC 400, CEN/TC 444, CEN/SABE/ENV)“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) an der Bearbeitung beteiligt.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung des ISO/DIS 14239 entsprechend der diesbezüglich durch ISO erteilten Erlaubnis beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen ISO-Text.

Diese Internationale Norm gilt nicht für die Anwendung solcher Systeme für Materialbilanzuntersuchungen, die oft prüfsubstanzspezifisch sind.

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

ISO 11266 siehe DIN ISO 11266

ISO 11274 siehe DIN EN ISO 11274

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 14239:1999-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Drei weitere Inkubationssysteme aufgenommen (Radiorespirometer, Mikroradiorespirometer, miniaturisiertes Respirometer);
- b) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

- [1] DIN ISO 11266, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung für Laboratoriumsuntersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit von organischen Chemikalien im Boden unter aeroben Bedingungen*
- [2] DIN EN ISO 11274, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Wasserrückhaltevermögens — Laborverfahren*

Einleitung

Diese Internationale Norm beschreibt Inkubationssysteme für die Bestimmung der Mineralisierung von organischen Verbindungen im Boden unter aeroben Bedingungen.

Die Mineralisierung ist nur einer der Parameter, die für die Einschätzung des biologischen Abbaus von organischen Verbindungen im Boden verwendet werden können. Ist die Mineralisierung nicht sehr hoch, bedeutet das nicht zwingend, dass das Prüfmateriel nicht biologisch abbaubar ist. Materialbilanzuntersuchungen für die Einschätzung der Erzeugung von Stoffwechselprodukten in Ergänzung zu Mineralisierungsuntersuchungen ermöglichen eine umfassende Einschätzung des biologischen Abbaus.

Es ist erforderlich, diese Internationale Norm in Verbindung mit ISO 11266 anzuwenden. Diese enthält allgemeine Hinweise zur Bestimmung der Abbaubarkeit organischer Chemikalien in Böden.

In Abhängigkeit vom Untersuchungsziel können unterschiedliche Inkubationsbedingungen, wie im Folgenden beschrieben, und verschiedene Analyseverfahren eingesetzt werden.

ANMERKUNG Verschiedene Handelsnamen von Produkten sind als handelsübliche Beispiele genannt aufgeführt. Diese Information wird zum Nutzen des Anwenders dieser Internationalen Norm gegeben, stellt aber keine Bevorzugung dieser Produkte durch die ISO dar.

Bodenbeschaffenheit — Laboratoriumsinkubationssysteme zur Bestimmung der Mineralisierung von organischen Chemikalien im Boden unter aeroben Bedingungen

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm beschreibt sechs Inkubationssysteme für die Bestimmung der Rate und des Umfangs der Mineralisierung organischer Verbindungen im Boden durch Messung der Kohlenstoffdioxidentwicklung fest. Alle drei Inkubationssysteme sind für lösliche oder unlösliche Verbindungen verwendbar. Die Wahl des Systems hängt vom Zweck der Untersuchung ab.

Diese Internationale Norm gilt nicht für die Anwendung solcher Systeme für Materialbilanzuntersuchungen, die oft prüfsubstanzspezifisch sind.

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 18400-206, *Soil quality – Sampling – Part 206: Guidance on the collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory*

ISO 11266, *Soil quality — Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under aerobic conditions*

ISO 11274, *Soil quality — Determination of the water-retention characteristic — Laboratory methods*

3 Verfahren

3.1 Allgemeine Anforderungen

Unabhängig von der Wahl des Inkubationssystems sind folgende Arbeitsabläufe einzuhalten.

3.1.1 Probenahme und Beschreibung von Boden

Boden ist in Übereinstimmung mit ISO 18400-206 zu entnehmen und zu behandeln. Der Boden ist in Übereinstimmung mit ISO 11266 zu beschreiben.

3.1.2 Prüfsubstanz

Die Prüfsubstanz ist in Übereinstimmung mit ISO 11266 zu beschreiben.

3.1.3 Inkubationsbedingungen

Folgende Bedingungen sind einzuhalten, falls es nicht einen besonderen Grund für davon abweichende Bedingungen gibt:

— Temperatur: $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$;

- Porenwasserdruck des Bodens: -0,01 MPa bis -0,03 MPa (gemessen auf $\pm 5\%$), bestimmt in Übereinstimmung mit ISO 11274 (oder zwischen 40 % und 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität (gemessen auf $\pm 5\%$) nach Anhang A);
- Inkubation: im Dunkeln.

Die Inkubationsbedingungen sollten im Prüfbericht angegeben werden. Wenn sie von den oben beschriebenen Bedingungen abweichen, sollten auch die Gründe für diese Abweichungen im Prüfbericht angegeben werden.

Eine Temperatur von $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ wurde als Standard für Vergleichszwecke und weil diese verhältnismäßig schnell zu Ergebnissen führt, gewählt. Temperaturen außerhalb des angegebenen Bereichs können verwendet werden, wenn sie besser geeignet sind (zum Beispiel aufgrund örtlicher Bedingungen, Fehlen von Kühleinrichtungen).

3.2 Auswahl der Inkubationssysteme

Eines der sechs in dieser Internationalen Norm beschriebenen Systeme muss verwendet werden:

- das Durchflusssystem (3.3);
- das Natronkalk-Säulensystem (3.4);
- das Biometersystem (3.5);
- das Radiorespirometer (3.6);
- das Mikro-Radiorespirometer (3.7);
- das Mini-Radiorespirometer (3.8).

Daten über die Mineralisierung von organischen Chemikalien können am besten aus Prüfungen mit radioaktiv markierten Verbindungen erhalten werden. Falls nichtmarkierte organische Chemikalien verwendet werden, ist eine Anzahl von Kontrollproben erforderlich und Daten zur Kohlenstoffdioxidentwicklung sollten statisch untersucht werden.

Die Wiederfindungsrate von Kohlenstoffdioxid (CO_2) in den drei Systemen kann durch Zufügen bekannter Mengen von nichtmarkiertem oder ^{14}C -markiertem Calciumcarbonat und ausreichend Salzsäure zum vollständigen Lösen des Calciumcarbonats bestimmt werden.

WARNUNG — Die Verfahren dieser Internationalen Norm erfordern einige gefährliche Materialien. Vorsicht im Umgang und bei der Beseitigung dieser Materialien ist erforderlich. Insbesondere sollten alle einschlägigen nationalen Regeln eingehalten werden.

Die hauptsächlichen Vor- und Nachteile der Systeme sind unten beschrieben.

3.2.1 Durchflusssystem:

Die Hauptvorteile sind:

- ausreichende Sauerstoffversorgung für Langzeitstudien zum aeroben biologischen Abbau;
- verwendet übliche Laborgeräte aus Glas;
- ermöglicht die Messung von unmarkiertem CO_2 (Titration), $^{14}\text{CO}_2$ (Szintillationszählung) und/oder ^{14}C -markierten flüchtigen Produkten (Szintillationszählung).

Die Hauptnachteile sind:

- Schwierigkeiten mit vollständiger Wiederfindung bei der Untersuchung von flüchtigen ^{14}C -Verbindungen;
- Empfindlichkeit gegenüber Undichtigkeiten im System.

3.2.2 Natronkalk-Säulensystem:

Die Hauptvorteile sind:

- freier Zugang zu Sauerstoff für Langzeitabbauuntersuchungen;
- verwendet übliche Laborgeräte aus Glas;
- benötigt nur wenig Platz;
- ohne Änderungen für die Verwendung mit aeroben Ruhe- oder Schüttelsedimenten, Reinkulturen von Mikroorganismen, Algen oder Pflanzenzellkulturen adaptierbar;
- problemlose Inkubation unter verschiedenen Umweltbedingungen;
- vollständige Erholung von angewendeter Radioaktivität in Kurz- oder Langzeit-Materialbilanzuntersuchungen.

Die Hauptnachteile sind:

- $^{14}\text{CO}_2$ -Einschluss in Natronkalk muss für die Szintillationszählung freigesetzt und in Flüssigkeit absorbiert werden;
- der Wassergehalt von Böden muss mindestens einmal monatlich eingestellt werden.

3.2.3 Biometersystem

Die Hauptvorteile sind:

- benötigt nur wenig Platz;
- ohne Änderungen für die Verwendung mit Ruhekulturen aerober Sedimente;
- Reinkulturen von Mikroorganismen oder Algen adaptierbar;
- problemlose Inkubation unter verschiedenen Umweltbedingungen; leichte Messung von nichtradioaktivem CO_2 (Titration), $^{14}\text{CO}_2$ (Szintillationszählung or ^{14}C -markierten flüchtigen Produkten (Szintillationszählung).

Die Hauptnachteile sind:

- nicht ideal für Langzeitinkubationen wegen fehlenden freien Zugangs zu Luft und Verringerung des Partialdrucks von Sauerstoff in der Kammer während der Inkubation;
- benötigt spezielle Glasgeräte.

3.2.4 Radiorespirometer

Die Hauptvorteile sind:

- verwendet übliche Laborgeräte aus Glas;
- einfach zu installieren;
- benötigt nur wenig Platz;
- für die Verwendung mit aeroben Ruhe- oder Schüttelsedimenten, Reinkulturen von Mikroorganismen adaptierbar;
- gute Erholung von angewendeter Radioaktivität für Massenbilanz.

Die Hauptnachteile sind:

- NaOH-Abscheider müssen regelmäßig durch neue ersetzt werden (um ihre Sättigung zu vermeiden);
- der Wassergehalt von Böden muss mindestens alle zwei Wochen eingestellt werden.

3.2.5 Mikroradiorespirometer

Die Hauptvorteile sind:

- verwendet 24-Well-Mikroplates;
- einfach zu installieren;
- benötigt nur wenig Platz;
- Analyse mit relativ hohem Durchsatz.

Die Hauptnachteile sind:

- nicht ideal für Langzeitinkubation;
- nicht genügend Böden für ^{14}C -Massenbilanz;
- benötigt zur Berücksichtigung der Variabilität der Messungen fünf bis zehn biologische Wiederholungen aufgrund der vergleichsweise kleinen Menge an untersuchtem Boden;
- schwierige $^{14}\text{CO}_2$ -Zählung unter Verwendung von Phosphorimager- oder klassischer Autoradiografie.

3.2.6 Mini-Respirometer

Die Hauptvorteile sind:

- keine Verwendung von ^{14}C -markierten, radioaktivmarkierten Substanzen;
- geeignet zur Schätzung der Mineralisierung verschiedener Arten von ^{13}C -markierten Substraten in kleinen Bodenproben;
- ermöglicht die Analyse funktionaler und molekularer Eigenschaften an denselben Mikro-Proben.

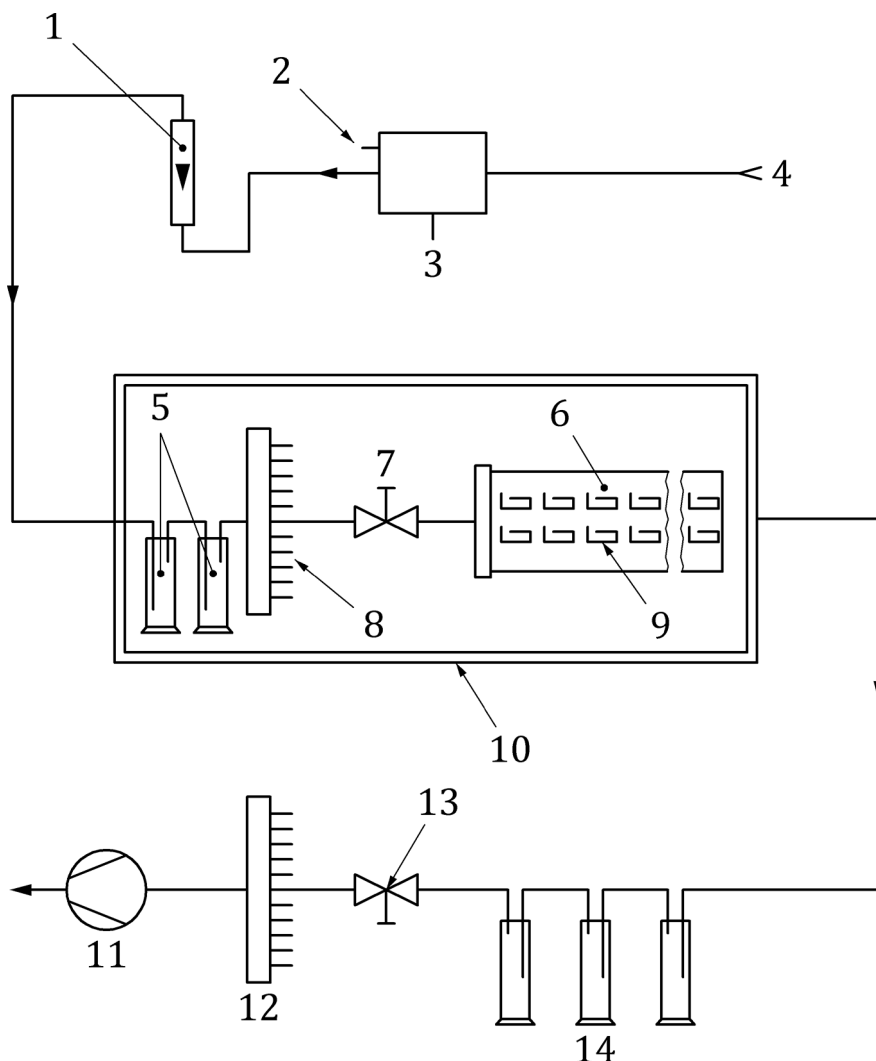
Die Hauptnachteile sind:

- zur Messung der $^{13}\text{CO}_2$ -Produktion muss ein Mikro-GC und zur Schätzung des Isotopenverhältnisses ein GC-IRMS verwendet werden;
- nicht ideal für Langzeitinkubationen, da aufgrund der Inkubation von Boden in einem luftdichten Gerät kein Sauerstoff vorhanden ist.

3.3 Durchflusssystem

3.3.1 Kurzbeschreibung

Dieses Verfahren ermöglicht die Bestimmung der Zersetzung und/oder des Stoffwechsels von nichtradioaktiver oder ^{14}C -markierter Prüfschubstanz im Boden. CO_2 -freie Luft wird durch das Inkubationsgefäß mit den behandelten Bodenproben hindurchgeleitet. Das CO_2 und die vom Boden gebildeten organischen flüchtigen Anteile werden in einer Reihe von Abscheidern aufgefangen (Bild 1).



Legende

- | | |
|--|-------------------------------------|
| 1 Durchflussüberwachung | 8 Verteiler |
| 2 Ventil zur Erhaltung eines leichten Drucks | 9 Probe |
| 3 Behälter | 10 Inkubationskammer |
| 4 Gaszufuhr | 11 Pumpe |
| 5 Waschflasche | 12 Kollektor |
| 6 Inkubationseinheit | 13 Ventil zur Durchflussregulierung |
| 7 Ventil | 14 Abscheider |

Bild 1 — Durchflussinkubationssystem

3.3.2 Materialien und Reagenzien

Es sind Reagenzien mit anerkanntem Reinheitsgrad zur Analyse zu verwenden.

3.3.2.1 Quelle für CO₂-freie Luft (z. B. durch Hindurchleiten von Luft durch eine wässrige Lösung von starken Alkalien). Für Untersuchungen mit ¹⁴C-markierten Verbindungen braucht CO₂ nicht aus der Luft entfernt zu werden, falls keine Gefahr einer Sättigung der CO₂-Abscheider besteht.

3.3.2.2 Ethylenglycol oder Ethylenglycolmethylester für die Absorption von flüchtigen organischen Verbindungen

3.3.2.3 Polyurethanschaumabscheider, Dichte 16 kg/m³ für die Absorption flüchtiger organischer Verbindungen

3.3.2.4 Schwefelsäure, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,5 \text{ mol/l}$, für die Absorption von flüchtigen Alkalien

3.3.2.5 Kalium- oder Natriumhydroxidlösung, $c(\text{KOH})$ [oder (NaOH)] = 0,1 mol/l bis 0,5 mol/l, für die Absorption von nichtradioaktivem CO₂; oder Szintillationscocktail für die Absorption von ¹⁴CO₂¹

WARNUNG — Bei der Verwendung des Szintillationscocktails als Abscheider ist Vorsicht geboten, da sich organische flüchtige Amine und Lösemittel in toxischen Konzentrationen ansammeln können, und Explosionsgefahr besteht. Es ist daher erforderlich, dass der Arbeitsbereich gut belüftet ist.

3.3.2.6 Szintillationscocktails für die Bestimmung des ¹⁴CO₂ in Alkaliabscheidern²

3.3.3 Geräte und Glasgeräte

3.3.3.1 Flüssigkeitsszintillationszähler

3.3.3.2 Szintillationsküvetten

3.3.3.3 Inkubator oder Raum mit Temperaturregelung ($\pm 2^\circ \text{C}$)

3.3.3.4 Membranpumpe (Kapazität etwa 2,8 m³/h)

3.3.3.5 Durchflussmessgerät

3.3.3.6 Drosselkörperventile

3.3.3.7 Glasschalen für Inkubationssystem I, z. B. feuchter Boden (entsprechend 50 g Trockenmasse)

— Durchmesser 5 cm, Höhe 5 cm, für Proben entsprechend 50 g luftgetrocknetem Boden;

— Durchmesser 9,5 cm, Höhe 5 cm, für Proben entsprechend 300 g luftgetrocknetem Boden.

3.3.3.8 Erlenmeyerkolben (250 ml) für Inkubationssystem II

3.3.3.9 Gaswaschflaschen (100 ml) als Absorptionsabscheider

3.3.3.10 Gaswaschflaschen (200 ml bis 500 ml) zur Luftbefeuchtung

¹ Carbosorb (Canberra Packard) und Oxisolve (Zinsser) sind Beispiele für im Handel erhältliche geeignete Produkte. Diese Information wird zum Nutzen des Anwenders dieser Internationalen Norm gegeben, stellt aber keine Bevorzugung dieser Produkte durch die ISO dar.

² Hionic fluor, Optifluor (Canberra Packard) sind Beispiele für im Handel erhältliche geeignete Produkte. Diese Information wird zum Nutzen des Anwenders dieser Internationalen Norm gegeben, stellt aber keine Bevorzugung dieser Produkte durch die ISO dar.

3.3.4 Durchführung

Inkubationssystem I oder II, wie unten beschrieben, verwenden. Während System I anwendbar ist, wenn viele Proben auf begrenztem Raum zu inkubieren sind, erfordert System II mehr Raum, ist jedoch für Kleinexperimente geeignet.

3.3.4.1 Inkubationssystem I

Die Inkubation von Bodenproben muss in Inkubatoren oder Räumen mit Temperaturregelung (3.3.3.3) erfolgen. Es sind zylindrische, gesondert herausnehmbare Inkubationseinheiten in die Inkubationskammern einzusetzen (siehe Bild 1). Die Inkubationseinheiten müssen Reihen von Bodenproben in Glasschalen (3.3.3.7) (üblicherweise umfasst eine Inkubationsreihe 6 Teilproben) enthalten. Jede Inkubationseinheit kann gesondert belüftet werden.

Um aerobe Bedingungen sicherzustellen, ist mit einer Membranpumpe (3.3.3.4) ein konstanter Strom CO₂-freie Luft (3.3.2.1) durch jede Inkubationseinheit hindurchzuleiten.

3.3.4.2 Inkubationssystem II

Die Bodenprobe ist in einem Glaskolben (z. B. Erlenmeyerkolben) (3.3.3.8) in einem Raum oder Inkubator mit Temperaturregelung (3.3.3.3) zu inkubieren. Es ist ein konstanter Strom CO₂-freie Luft (3.3.2.1) durch den Glaskolben hindurchzuleiten.

3.3.4.3 Absorption flüchtiger Produkte

In beiden Systemen ist über die Böden streichende CO₂-freie Luft zu befeuchten, indem sie durch 2 Gaswaschflaschen (3.3.3.1), etwa halbgefüllt mit angesäuertem entionisiertem Wasser (etwa 1 ml konzentrierte Schwefelsäure je Liter Wasser) geleitet wird. Die wassergesättigte Luft ist durch Ventile (3.3.3.6) auf die unterschiedlichen Inkubationseinheiten zu verteilen.

Es ist ein konstanter Durchfluss von etwa 0,1 l/min durch jede Inkubationseinheit einzustellen; für die Messung des Durchflusses ist ein Durchflussmessgerät (3.3.3.5) zu verwenden.

Für beide Systeme ist das austretende Gas vorsichtig durch ein Absorptionssystem zu leiten, um die verflüchtigte Ausgangsverbindung, das flüchtige Stoffwechselprodukt und CO₂ für folgende Analysen aufzufangen. Alle Rohrverbindungen müssen aus nichtrostendem Stahl oder Polytetrafluorethylen (PTFE) bestehen. Die ¹⁴C-markierten Verbindungen sind, falls zutreffend, mittels Flüssigkeitsszintillationszählung zu bestimmen.

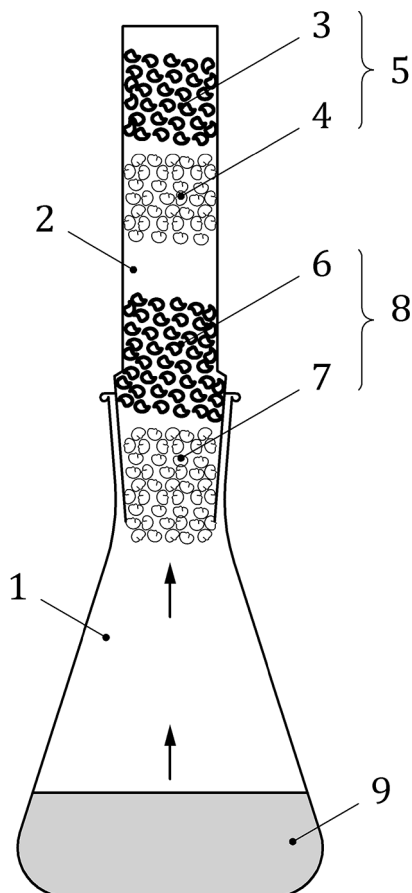
Das Absorptionssystem besteht aus:

- einer mit Reagens für die Absorption von flüchtigen organischen Anteilen (3.3.2.2 oder 3.3.2.3) gefüllten Gaswaschflasche (3.3.3.9);
- einer mit Reagens für die Absorption von flüchtigen Alkalianteilen (3.3.2.4) (falls notwendig) gefüllten Gaswaschflasche (3.3.3.9);
- einer Gaswaschflasche für die Absorption von CO₂ (3.3.2.5). Werden große Volumina an CO₂ erwartet, wird ein zweiter CO₂-Abscheider benötigt.

3.4 Natronkalk-Säulensystem

3.4.1 Kurzbeschreibung

Dieses System ermöglicht die Bestimmung der Zersetzung und/oder des mikrobiellen Abbaus von ^{14}C -markierten Prüfsubstanzen im Boden. Mit ^{14}C -markierten Prüfsubstanzen behandelter Boden wird in einen Glaskolben mit Hülsenschliff gegeben, in den eine Glassäule mit Schliffkern eingesetzt ist (siehe Bild 2). Die Glassäule enthält einen Abscheider für verdampfte ^{14}C -markierte Substanzen und einen Abscheider für $^{14}\text{CO}_2$. Sauerstoff und andere atmosphärische Gase als CO_2 bewegen sich durch Diffusion frei in den Kolben hinein und aus dem Kolben heraus.



Legende

- | | |
|---|---------------------------------------|
| 1 Kolben mit 29/32-Hals | 6 Natronkalk |
| 2 Glasrohr (Rückflusssäule) mit 29/32-Schliffkern | 7 Ölbeschichter Stopfen aus Glaswolle |
| 3 Natronkalk | 8 Abscheider für $^{14}\text{CO}_2$ |
| 4 Stopfen aus Glaswolle | 9 Boden plus ^{14}C -Zusatz |
| 5 Abscheider für atmosphärisches CO_2 | |

Bild 2 — Inkubationsgefäß für aeroben Bodenstoffwechsel

ANMERKUNG Neben der Verwendung für Bodenproben wurde das System auch für Untersuchungen des aeroben Abbaus mit ruhenden oder bewegten Sedimentproben, Reinkulturen von Mikroorganismen, Algen und Pflanzenzellkulturen verwendet.

3.4.2 Materialien und Reagenzien

Es sind Reagenzien mit anerkanntem Reinheitsgrad zur Analyse zu verwenden.

3.4.2.1 Granulierter Natronkalk, Korngröße 1,5 mm bis 3 mm mit einem Sättigungsindikator

3.4.2.2 Glaswolle

3.4.2.3 Paraffinöllösung in Hexan (2 Volumenanteile in %) für das Überziehen von Glaswollestopfen mit Öl

3.4.2.4 Salzsäure (HCl) (etwa 18 Volumenanteile in %) für die Auflösung von Natronkalkgranulat

3.4.2.5 Kohlenstoffdioxidabsorbierende Lösung; z. B. 1 mol/l NaOH (Bild 3) oder andere geeignete CO₂-bindende Lösungen³ (Bild 4)

3.4.2.6 Szintillationscocktail geeignet zum Mischen mit NaOH (falls anwendbar)

3.4.3 Geräte und Glasgeräte

3.4.3.1 Flüssigkeitsszintillationszähler

3.4.3.2 Szintillationsküvetten

3.4.3.3 Inkubator oder Raum mit Temperaturregelung (± 2 °C)

3.4.3.4 Stickstoff

3.4.3.5 Durchflussmessgerät

3.4.3.6 Drosselkörperventile, falls erforderlich, für den Einsatz von Geräten aus Glas für die CO₂-Erzeugung

3.4.3.7 Erlenmeyerkolben (z. B. 300 ml) mit Schliffhülsen (z. B. 24- oder 29-Normhülsen)

3.4.3.8 Offenes Glasrohr (Rückflusssäule) mit Schliffkern an einem Ende (z. B. 24- oder 29-Normhülsen); Länge etwa 13 cm, Durchmesser etwa 1,5 cm bis 2 cm (Bild 2)

3.4.3.9 Geräte aus Glas und Ausrüstung zur Übertragung des vom Natronkalk gebundenen ¹⁴CO₂ (Bild 3 oder 4) auf ein Absorbens (3.4.2.5), das mit dem Szintillationscocktail (3.4.2.6) kompatibel ist

³ Ein Beispiel für eine geeignete Lösung ist eine 5:4-V/V-Mischung von Permafluor mit Carbosorb (Canberra Packard). Diese Information wird zum Nutzen des Anwenders dieser Internationalen Norm gegeben, stellt aber keine Bevorzugung dieser Produkte durch die ISO dar.

3.4.4 Durchführung

3.4.4.1 Vorbereiten der Säule für das Auffangen von ^{14}C -markierten organischen Materialien und $^{14}\text{CO}_2$

Die als verlängerter Hals des Inkubationskolbens dienende Glassäule (3.4.3.8) ist von unten nach oben mit ölüberzogenen Glaswollestopfen (der als Abscheider für verflüchtigte ^{14}C -markierte organische Materialien dient) sowie 8 g bis 10 g Natronkalk (der als Abscheider für $^{14}\text{CO}_2$) zu füllen (siehe Bild 2). Die Glaswollestopfen sind durch Eintauchen in eine Öl-Hexan-Lösung (3.4.2.3) mit Öl zu überziehen und das Hexan anschließend unter einem Abzug zu verdampfen. Bei Prüfungen, die länger als einen Monat dauern, sind ein zusätzlicher Stopfen und eine zusätzliche Schicht Natronkalk zum Schutz des $^{14}\text{CO}_2$ -Abscheiders gegen Sättigung mit atmosphärischem CO_2 zu verwenden (siehe Bild 2).

3.4.4.2 Inkubation von mit ^{14}C -markierter Prüfschubstanz behandeltem Boden

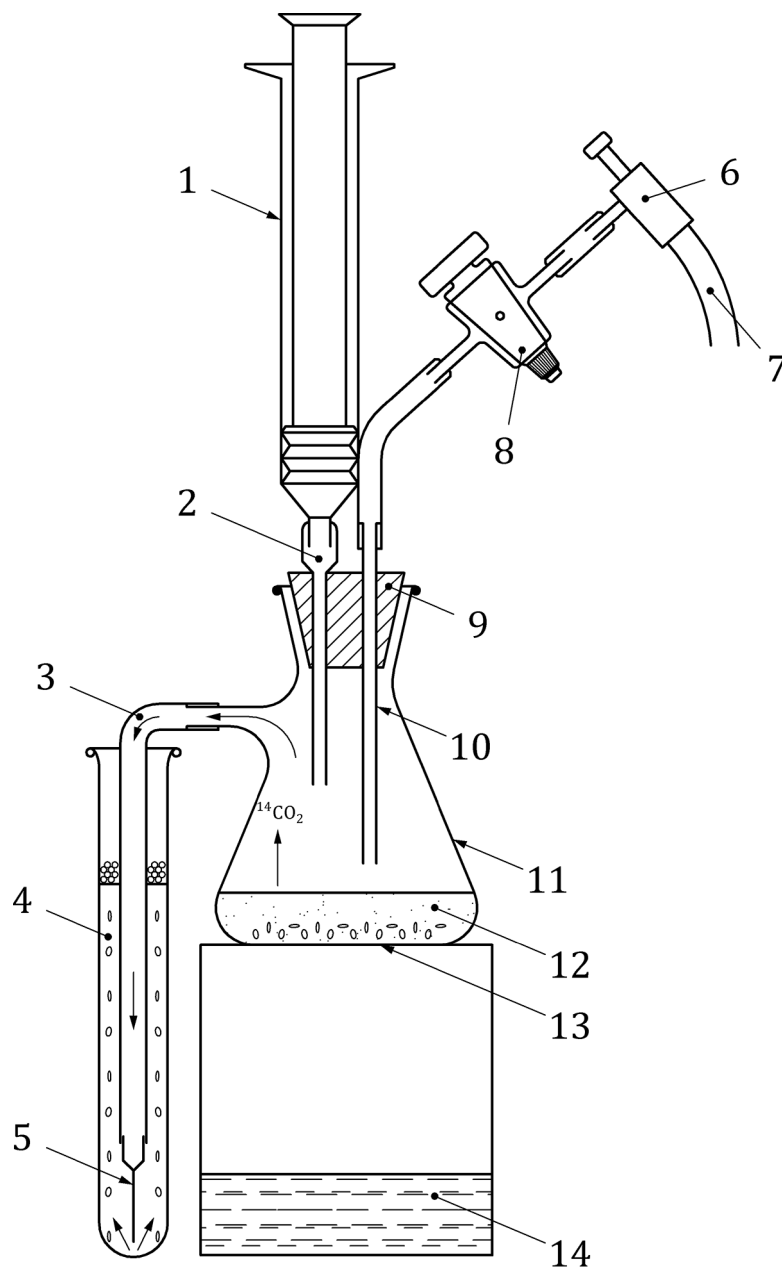
Der mit der ^{14}C -markierten Prüfschubstanz behandelte Boden ist in den Erlenmeyerkolben (3.4, 3.7) zu geben und der Hals des Kolbens mit der vorbereiteten Glassäule (3.4.4.1) zu verschließen. Der Natronkalk am oberen Ende der Stopfen dient als Abscheider für $^{14}\text{CO}_2$. Natronkalk kann bis zu 20 % seines Gewichts an CO_2 binden, wenn jedoch das selbstanzeigende Natronkalkgranulat seine Farbe ändert, ist es durch frischen Natronkalk zu ersetzen. Es besteht keine Gefahr, dass $^{14}\text{CO}_2$ aus dem Natronkalk entweicht, sodass er bis zur Analyse in geschlossenen Behältern aufbewahrt werden kann. Die Bodenproben sind in dem temperaturgeregeltem Raum oder Inkubator (3.4.3.3) zu inkubieren.

3.4.4.3 Übertragung von $^{14}\text{CO}_2$ von Natriumkalk auf einen Szintillationscocktail

Dieser Prozess ist in einem Laborabzug auszuführen. Das Natronkalkgranulat aus dem $^{14}\text{CO}_2$ -Abscheider ist in den Vakuumkolben zu füllen, und die Glasgeräte sind nach Bild 3, Bild 4 oder mit anderen gleichwertigen Glasgeräten zusammenzubauen. Dem Natronkalk ist tropfenweise 50 ml Salzsäure (3.4.2.4) zuzusetzen, sodass ein geringer Stickstoff-Gasstrom (3.4.3.4) durch das System (z. B. 2 l/h bis 5 l/h) aufrechterhalten wird, um das freigesetzte $^{14}\text{CO}_2$ in die CO_2 -Absorptionslösung zu überführen. Die Temperatur des Wasserbades ist zwischen 60° C und 70° C aufrecht zu erhalten.

Nach der vollständigen Auflösung des Natronkalks ist das System mindestens 20 min mit einem Stickstoffgasstrom zu reinigen, um sicherzustellen, dass alle Restmengen von $^{14}\text{CO}_2$ aus dem Kolben in die CO_2 -Abscheidevorrichtung übertragen wurden. Für die Flüssigkeitsszintillationszählung (3.4.3.1) sind Proben (Bild 3) oder bei Bedarf der ganze Abscheider (Bild 4) nach Mischen mit einem Szintillationscocktail (3.4.2.6) zu verwenden.

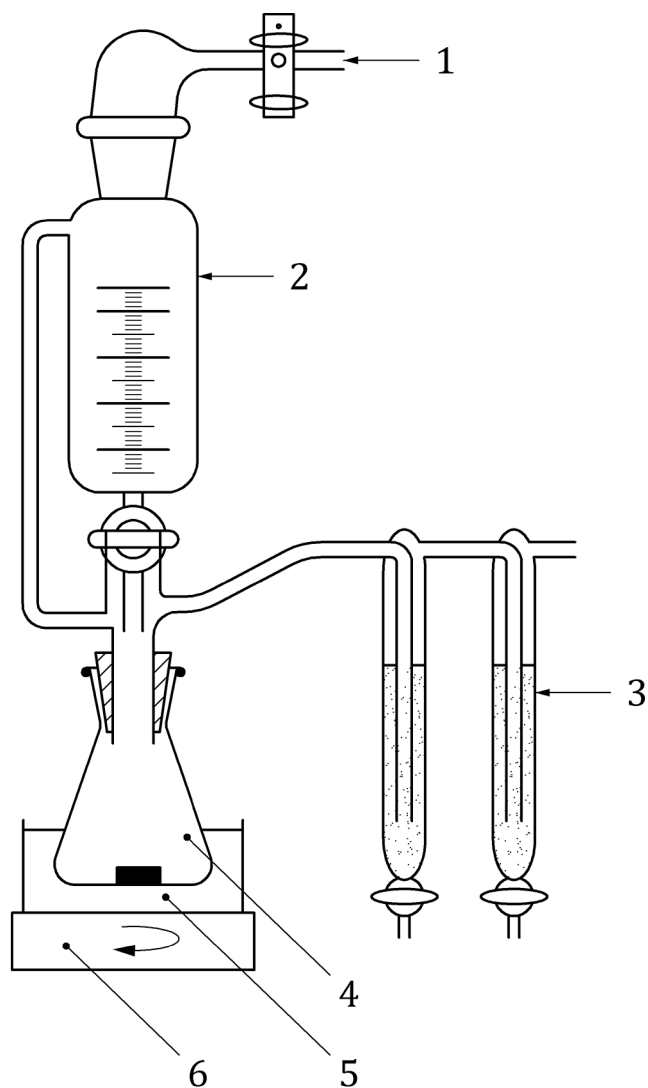
ANMERKUNG Wenn NaOH zum Auffangen des $^{14}\text{CO}_2$ verwendet wird, ist es möglich zu bestimmen, ob die Radioaktivität ausschließlich von $^{14}\text{CO}_2$ herrührt oder aus einer Mischung besteht, die ^{14}C -flüchtige organische Anteile enthält. $^{14}\text{CO}_2$ kann aus einer Probe des NaOH durch langsames Ansäuern auf einen pH-Wert von etwa 1 beseitigt werden. Die angesäuerte Lösung kann dann auf vorhandene Radioaktivität untersucht werden.



Legende

- | | | | |
|---|---|----|---------------------------------|
| 1 | Plastikspritze für die Kontaktinjektion von HCl | 8 | Einweghahn |
| 2 | Kanüle | 9 | Gummiverschlussstück |
| 3 | Plastikrohr | 10 | Glasrohr |
| 4 | 1 N NaOH | 11 | Vakuumkolben |
| 5 | Spritzennadel | 12 | HCl (18 Volumenanteile in %) |
| 6 | Nadelventil | 13 | Auflösen von Natronkalkgranulat |
| 7 | Rohr zu N ₂ -Kolben | 14 | Wasserbad (60° C) |

Bild 3 — Beispiel für ein Gerät zur Freisetzung des von Natronkalk gebundenen ¹⁴CO₂ und dessen quantitative Absorption in 1 M NaOH



Legende

- | | | | |
|---|--|---|---|
| 1 | Stickstoff | 4 | Erlenmeyerkolben (250 ml) mit 10 g Natronkalk |
| 2 | Tropftrichter mit 100 ml 18%iger Salzsäure | 5 | Wasserbad |
| 3 | CO ₂ -Absorbens | 6 | Magnetisches Rührwerk |

Bild 4 — Beispiel für ein Gerät zur Freisetzung des von Natronkalk gebundenen ¹⁴CO₂ und dessen quantitative Absorption in der eine CO₂-absorbierende Flüssigkeit enthaltenden Szintillationsflüssigkeit