



SLOVENSKI STANDARD
oSIST prEN ISO 20136:2015
01-september-2015

Usnje - Ugotavljanje razgradljivosti mikroorganizmov (ISO/DIS 20136:2015)

Leather - Determination of degradability by micro-organisms (ISO/DIS 20136:2015)

Leder - Bestimmung der Abbaubarkeit durch Mikroorganismen (ISO/DIS 20136:2015)

Cuir - Détermination de la dégradabilité par les micro-organismes (ISO/DIS 20136:2015)

Ta slovenski standard je istoveten z: prEN ISO 20136

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/acd63bd5-7f4c-4c17-bacc-32116cf51326/sist-en-iso-20136-2017>

ICS:

59.140.30 Usnje in krzno Leather and furs

oSIST prEN ISO 20136:2015 **de**

EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE

ENTWURF
prEN ISO 20136

Juni 2015

ICS 59.140.30

Deutsche Fassung

Leder - Bestimmung der Abbaubarkeit durch Mikroorganismen (ISO/DIS 20136:2015)

Leather - Determination of degradability by micro-organisms
(ISO/DIS 20136:2015)

Cuir - Détermination de la dégradabilité par les micro-organismes (ISO/DIS 20136:2015)

Dieser Europäische Norm-Entwurf wird den CEN-Mitgliedern zur parallelen Umfrage vorgelegt. Er wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 289 erstellt.

Wenn aus diesem Norm-Entwurf eine Europäische Norm wird, sind die CEN-Mitglieder gehalten, die CEN-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist.

Dieser Europäische Norm-Entwurf wurde vom CEN in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch) erstellt. Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum des CEN-CENELEC mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.

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

Warnvermerk : Dieses Schriftstück hat noch nicht den Status einer Europäischen Norm. Es wird zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt. Es kann sich noch ohne Ankündigung ändern und darf nicht als Europäischen Norm in Bezug genommen werden.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Kurzbeschreibung	5
3.1 Verfahren A: Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch manuelle Titration	5
3.2 Verfahren B: Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch Infrarot (IR)	6
4 Reagenzien	6
5 Prüfeinrichtung und Materialien.....	7
6 Durchführung	9
6.1 Sammlung und Herstellung des Inokulums.....	9
6.2 Herstellung der Prüfsubstanz und Referenzsubstanz	9
6.3 Prüfbedingungen und Inkubationszeit	10
6.4 Prüfvorrichtung.....	10
6.4.1 Vorrichtung für die Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch manuelle Titration (Verfahren A)	10
6.4.2 Vorrichtung für die Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch IR (Verfahren B).....	11
6.5 Prüfende	11
7 Quantitative Bestimmung	12
7.1 Vorrichtung für die Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch manuelle Titration (Verfahren A)	12
7.1.1 Bestimmung des organischen Kohlenstoffgehalts.....	12
7.1.2 Bestimmung der Menge an gebildetem Kohlendioxid (Verfahren A).....	12
7.1.3 Korrektur hinsichtlich der Normalität (Konzentration) von HCl	12
7.1.4 Prozentualer Bioabbau aus dem gebildeten Kohlendioxid	12
7.2 Vorrichtung für die Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch IR (Verfahren B).....	13
7.2.1 Bestimmung des organischen Kohlenstoffgehalts.....	13
7.2.2 Bestimmung der Menge an Kohlendioxid (gebildetes CO ₂)	13
7.2.3 Prozentualer Bioabbau aus den CO ₂ -Daten	13
8 Auswertung	14
9 Aussagekraft der Ergebnisse	14
10 Prüfbericht.....	14
Anhang A (informativ) Bestimmung von Grad und Geschwindigkeit der Bioabbaubarkeit der Substanz	15
A.1 Kurzbeschreibung	15
Anhang B (informativ) Bestimmung der quantitativen Bioabbaubarkeit von Leder	18
B.1 Kurzbeschreibung	18
Literaturhinweise	22

Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 20136:2015) wurde vom Technischen Komitee „International Union of Leather Technologists and Chemists Societies (IULTCS)“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 289 „Leder“, dessen Sekretariat vom UNI gehalten wird, erarbeitet.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 20136:2015 wurde vom CEN als prEN ISO 20136:2015 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[SIST EN ISO 20136:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/acd63bd5-7f4c-4c17-bace-32116cf51326/sist-en-iso-20136-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/acd63bd5-7f4c-4c17-bace-32116cf51326/sist-en-iso-20136-2017>

Einleitung

Eines der großen Probleme der Schuhindustrie betrifft die Abfallbehandlung. Obwohl dieser Abfall, besonders im Fall von Leder, durch die geltende Gesetzgebung als nicht gefährlich angesehen wird, fällt er jedoch in großen Mengen an und stellt somit ein Problem für kommunale Mülldeponien dar.

Das Ziel des Gerbprozesses ist die Vermeidung der Fäulnis der Häute und die Erhöhung der Widerstandsfähigkeit des erhaltenen Leders. Für diesen Zweck werden chemische und biologische Reagenzien verwendet, die an der Denaturierung und Härtung des wichtigsten Gewebeproteins, dem Kollagen, beteiligt sind und somit auch physikalisch-chemische Veränderungen in der Haut verursachen.

Es gibt eine Vielzahl von unterschiedlichen Mitteln, die in der Ledergerbung verwendet werden. Sie basieren auf organischen Produkten, Pflanzenextrakten oder anorganischen Produkten, hauptsächlich Metalle.

Der am meisten in der Schuhindustrie verwendete Gerbstoff ist Chrom (III), das der Haut die gewünschten Eigenschaften gibt, wie z. B. Elastizität, einfaches Schleifen (Polieren) sowie eine gute Atmungsfähigkeit und Wasserdampfdurchlässigkeit. Jedoch erzeugt die traditionelle Gerbereiindustrie, und insbesondere die Chromgerbung, Abfälle, die eine Umweltgefährdung darstellen. Außerdem haben chromgegerbte Felle und Häute eine längere Lebensdauer, die wesentlich höher als die Nutzungsdauer der Endprodukte ist. Deshalb wäre zur Verringerung der Abfallprodukte die Verwendung von Zusätzen zu bevorzugen, die weniger umweltschädlich sind und die Produkte ergeben, die eine bestimmte leichtere Abbaubarkeit aufweisen, wenn das Material seinen Zweck erfüllt hat.

In diesem Bereich ist die Entwicklung von schnellen Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Bioabbaubarkeit von mit alternativen Gerbstoffen behandeltem Leder für die Vorhersage notwendig, ob diese Materialien leichter biologisch abbaubar als deren Vorgänger sind. Die in dieser Norm beschriebene Vorgehensweise versucht die Ausführung dieser Form der Analyse in einer Prüfzeit von nicht mehr als 35 Tagen zu ermöglichen.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Prüfverfahren fest, mit dem durch die indirekte Bestimmung von CO₂, das durch den Abbau von Kollagen entsteht, der Grad und die Geschwindigkeit des aeroben Bioabbaus von entweder gegerbten oder ungegerbten Fellen und Häuten unterschiedlichen tierischen Ursprungs bestimmt wird.

Die Prüfsubstanz (das Leder) wird einem Inokulum aus Belebtschlamm (aktivierter Klärschlamm) in einem wässrigen Medium ausgesetzt, wobei das Inokulum aus zum Gerben mit biologischen Mitteln genutzten Tanks (Becken) stammt.

Die in dieser Internationalen Norm festgelegten Bedingungen entsprechen den optimalen Laborbedingungen zum Erreichen des maximalen Grades des Bioabbaus. Jedoch entsprechen sie möglicherweise nicht den optimalen Bedingungen oder dem maximalen Grad des Bioabbaus im natürlichen Medium.

Im Allgemeinen kann die Anwendung dieses Prüfverfahrens auf die Untersuchung des biologischen Abbaus von Textilien und/oder von Polymermaterial, aus denen ein Schuh hergestellt ist, extrapoliert werden. Damit das experimentelle Verfahren die Bestimmung des Grades und der Geschwindigkeit des Bioabbaus des Materials unter kontrollierten Bedingungen durch die Analyse des freigesetzten Kohlendioxids, das während der Prüfung gebildet wird, ermöglicht, muss die Prüfvorrichtung den strikten Anforderungen in Bezug auf die Regelung des Durchflusses, der Temperatur sowie der Bewegung entsprechen.

Dieses Verfahren gilt für die folgenden Materialien:

- natürliche Polymere von tierischem Stroma (tierisches Gewebe/tierische Häute);
- tierische Felle und Häute, gegerbt (Leder) mit organischen oder anorganischen Gerbstoffen;
- Leder, die unter Prüfbedingungen die Aktivität der im Inokulum vorhandenen Mikroorganismen nicht hemmen.

2 Normative Verweisungen

Nicht zutreffend.

3 Kurzbeschreibung

3.1 Verfahren A: Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch manuelle Titration

Dieses Prüfverfahren bestimmt den prozentualen Bioabbau von gegerbten und ungegerbten Fellen und Häuten durch die indirekte Messung von CO₂, das während des Abbaus von Kollagen, dem Hauptbestandteil der Haut, durch die Einwirkung der in den Gerbereiabwässern vorhandenen Mikroorganismen, gebildet wird.

Das während der Prüfung freigesetzte CO₂ wird indirekt durch die Reaktion von Ba(OH)₂ mit CO₂ bestimmt, das als Bariumcarbonat (BaCO₃) ausfällt. Die Menge an gebildetem CO₂ wird durch Titration des verbleibenden Bariumhydroxids mit 0,05 N Salzsäurelösung bestimmt. Diese Messungen werden täglich während der gesamten Prüfung durchgeführt.

Die Bioabbaubarkeit wird durch die indirekte Messung des freigesetzten CO₂ als Funktion der Zeit bestimmt und der Grad des Bioabbaus durch die Differenz im Gehalt an löslichem organischem Kohlenstoff, der im Laufe des Verfahrens nicht in CO₂ umgewandelt wurde, berechnet.

Der im zu untersuchendem Kollagen vorhandene anfängliche prozentuale Kohlenstoffanteil (C₁₂) wird durch Elementaranalyse der Messprobe bestimmt. Der prozentuale Bioabbau schließt nicht die Menge an Kohlenstoff ein, der in neue Zellmasse (Biomasse) umgewandelt und während der Prüfung nicht zu Kohlendioxid umgesetzt wurde.

prEN ISO 20136:2015 (D)

Die Prüfungen müssen mit der speziell für diese Analyse entwickelten Vorrichtung durchgeführt werden, die die Analyse von 8 Proben je Prüfung sowie die Regelung/Kontrolle von Bewegung, Versuchstemperatur und Zufuhr CO₂-freier Luft ermöglicht.

Die Prüfung muss in doppelter Ausführung in Gegenwart einer positiven Kontrolle, die aus einem synthetischen Medium, Mikroorganismen und Kollagen hergestellt wird, sowie einer negativen Kontrolle, die nur aus einem synthetischen Medium und dem Inokulum (Belebtschlamm aus Gerbereiabwässern) besteht, durchgeführt werden. Somit ist eine Beurteilung von zwei verschiedenen Lederproben, die in einer Doppelbestimmung analysiert wurden, möglich.

3.2 Verfahren B: Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch Infrarot (IR)

Mit diesem Verfahren wird die Bioabbaubarkeit durch die quantitative Bestimmung des während des Abbaus von Kollagen gebildeten CO₂ mithilfe der direkten IR-Detektion und kontinuierlichen Überwachung der CO₂-Konzentration bestimmt. Die Vorrichtung umfasst eine Reaktionseinheit, die aus einer geschlossenen (dichten) Reihe von Schläuchen zur Rückführung des unidirektionalen Gasdurchflusses besteht, einen in die Reaktionsflüssigkeit im Reaktionskolben eingetauchten Belüfter (Aerator), eine Membranpumpe für den unidirektionalen Durchfluss, der das Durchströmen des Gases durch den Nachweisbereich für die CO₂-Konzentration ermöglicht, einen IR-Sensor sowie ein mit einem Computer verbundenes Datenerfassungssystem.

Dieses System befindet sich in seiner letzten Entwicklungsphase. Die Verfahrensweise wird zu einem späteren Zeitpunkt der Anwendung dieser Internationalen Norm hinzugefügt.

Der im zu untersuchendem Kollagen vorhandene anfängliche prozentuale Kohlenstoffanteil (C₁₂) wird durch Elementaranalyse jeder Probe bestimmt. Der prozentuale Bioabbau schließt nicht die Menge an Kohlenstoff ein, der in neue Zellmasse (Biomasse) umgewandelt und während der Prüfung nicht zu Kohlendioxid umgesetzt wurde.

Die Prüfungen müssen mit der speziell für diese Analysen entwickelten Vorrichtung durchgeführt, die sowohl die Analyse von bis zu 14 Proben je Prüfdurchgang als auch die Regelung/Kontrolle der Bewegung, der Versuchstemperatur und die CO₂-freie Luftzufuhr (O₂) ermöglicht.

Die Prüfungen werden in doppelter Ausführung in Gegenwart einer positiven Kontrolle, die aus einem synthetischen Medium, Mikroorganismen und Kollagen zusammengesetzt ist, sowie einer negativen Kontrolle, die nur aus einem synthetischen Medium und dem Inokulum (Belebtschlamm aus Gerbereiabwässern) besteht, durchgeführt. Das ermöglicht die Beurteilung von fünf verschiedenen Lederproben, die in einer Doppelbestimmung analysiert wurden.

4 Reagenzien

Die bei den Prüfungen verwendeten Reagenzien sind für die in dieser Norm beschriebenen Verfahren (Verfahren A und Verfahren B) gleich, lediglich mit einigen Anpassungen an das Volumen der für jede Verfahrensweise spezifischen Reaktionskolben (Verfahren A: ein endgültiges Flüssigkeitsvolumen von 2,68 l; Verfahren B: ein endgültiges Flüssigkeitsvolumen von 1 l).

4.1 Deionisiertes oder ultrareines (Milli Q) Wasser, frei von toxischen Substanzen mit einem spezifischen elektrischen Widerstand > 18 MΩ/cm.

4.2 Prüfmedium:

Es werden nur Reagenzien mit anerkannter Analysenreinheit verwendet.

4.2.1 Es werden synthetische Stammlösungen durch Auflösen der folgenden Reagenzien in destilliertem Wasser bis auf 1 l hergestellt:

4.2.1.1 Eisenchlorid (FeCl₃·6H₂O) 1,00 g

4.2.1.2 Magnesiumsulfat (MgSO₄·7H₂O) 22,5 g

4.2.1.3 Calciumchlorid ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 36,43 g

4.2.1.4 Phosphatpuffer KH_2HPO_4 8,5 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 28,5 g, Na_2HPO_4 17,68 g und NH_4Cl 1,7 g, für eine Gesamtmenge von 56,38 g.

4.2.1.5 Ammoniumsulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 40 g

4.2.2 Das Prüfmedium muss aus den folgenden Reagenzien, verdünnt mit destilliertem Wasser bester Qualität auf 1 l, bestehen:

4.2.2.1 Magnesiumsulfatlösung, 2 ml

4.2.2.2 Calciumchloridlösung, 2 ml

4.2.2.3 Phosphatpufferlösung, 4 ml

4.2.2.4 Eisenchloridlösung, 2 ml,

4.2.2.5 Ammoniumsulfatlösung, 2 ml

4.3 Prüfkörper:

Als positive Kontrolle wird Kollagen Typ I (Sigma oder ähnlich) verwendet. Prüfkörper (Messproben) müssen grundsätzlich aus Leder aus der Gerbereiindustrie bestehen, das zur Herstellung von Lederbekleidung verwendet wird.

4.4 Nur bei Verfahren A: Bariumhydroxidlösung, 0,025 N, wird durch Auflösen von 4,0 g $\text{Ba}(\text{OH})_2$ je Liter destilliertes Wasser hergestellt. Festes Material in der Lösung wird abfiltriert, die Normalität (Konzentration) wird durch Titration mit einer Säure-Standard-Lösung bestätigt und die Lösung wird als klare Lösung in einem verschlossenen Kolben aufbewahrt, um die Absorption von CO_2 aus der Luft zu verhindern. Es wird empfohlen, dass 5 l zu dem Zeitpunkt hergestellt werden, an dem eine Reihe von Prüfungen durchgeführt wird.

5 Prüfeinrichtung und Materialien

Die üblichen Laborgeräte:

5.1 Analysenwaage, geeignet für Ablesungen bis 0,000 1 g

5.2 Pipetten, Fassungsvermögen 5 ml bis 25 ml

5.3 Mikro-Pipetten, 500 μl und 1 000 μl

5.4 Messkolben, 1 Liter

Für jedes Verfahren sollten die folgenden Materialien angewendet werden:

prEN ISO 20136:2015 (D)

5.5 Verfahren A: Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch manuelle Titration

5.5.1 Vorrichtung für die Prüfung Bioabbaubarkeit

Das Verfahren ist dank der speziell für diese Prüfung konzipierten Vorrichtung (siehe Anhang A, Bild A.1) teilweise automatisiert.

Diese Vorrichtung ermöglicht die Analyse von 4 Messproben in doppelter Ausführung (2 Messproben und 2 Kontrollen). Sie ermöglicht ebenso die Regelung der Bewegung, der Versuchstemperatur und der Zufuhr von CO₂-freier Luft.

5.5.2 Unabhängige Quelle für CO₂-freie Luft, bestehend aus einem geräuschlosen Kompressor, der mit einem System zur Druckwechsel-Adsorption (PSA, en: pressure swing adsorption) verbunden ist, das mit einem Molekularsieb, von Peak Scientific, Modell PG14L, ausgestattet ist.

5.5.3 Sepiolith, zum Herausfiltern von Verunreinigungen und Feuchtigkeit aus dem Belüftungssystem.

5.5.4 Prüfkolben

5.5.4.1 Acht 5-l-Erlenmeyerkolben (*Reaktionskolben*) für jede Prüfung (2 Kontrollen und 2 Messproben je Prüfung). 5 000-ml-Erlenmeyerkolben, Modelltyp SAV H-40/45, müssen eingesetzt werden, sowie auch V2-Destillieraufsätze mit GL-18-Gewinden und ein Poren-Diffusor Nr. 1.

5.5.4.3 Für jeden der Erlenmeyerkolben in 5.5.4.1 drei 0,25-l-Flaschen, die mit Silikonschläuchen in Reihe verbunden sind und jeweils 100 ml Bariumhydroxidlösung, 0,025 N [BaOH₂] enthalten, um CO₂ zu binden (*Analysekolben*).

5.5.4.2 Das PSA-Gerät (5.5.2) wird mit vier Kolben aus Glas und zwei Kolben aus Kunststoff mit Silikonschläuchen verbunden. Die ersten 3 Kolben müssen 700 ml 10 N Natriumhydroxid (NaOH) enthalten. Der vierte Kolben muss leer sein. Der fünfte Kolben muss 700 ml 0,025 N [BaOH₂] enthalten. Der sechste Kolben muss leer sein.

5.5.4.4 Verschlüsse, für CO₂ undurchlässiger flexibler Kunststoffschlauch, 100-ml-Büretten

5.5.4.5 Salzsäure, 0,05 N

5.6 Verfahren B: Beurteilung der Bioabbaubarkeit durch Infrarot (IR)

5.6.1 Vorrichtung für Bioabbaubarkeit

Das Verfahren ist durch die speziell für diese Prüfung konzipierte Vorrichtung (siehe Anhang B, Bild B.1) vollständig automatisiert.

Diese Vorrichtung ermöglicht die Analyse von 7 Proben in doppelter Ausführung je Prüfdurchgang (5 Proben und 2 Kontrollen). Die Bewegung ist kreisförmig und die Temperatur wird durch ein Luftkühlsystem geregelt. Die quantitative Bestimmung des während des Prozesses des Lederabbaus entstehenden CO₂ erfolgt durch ein CO₂-Messgerät, das Infrarot-Sensoren mit einem Messbereich zwischen 0 % und 5 % enthält.

5.6.2 Die Versorgung mit Luft (O₂), frei von Kohlendioxid (CO₂), erfolgt mit einem Gasgemisch von O₂:N₂ in einem Verhältnis von 30:70, das für 30 min direkt in die Reaktionskolben mit einem Volumendurchfluss von 3 l/min eingeleitet wird.

5.6.3 Leicht anwendbare Software zur Erfassung, Verarbeitung und Überwachung von Signalen sowie mit der Kapazität zur Speicherung von Daten über längere Zeiträume.

5.6.4 Die Kalibrierung des CO₂-Messgeräts erfolgt mit besonderen Gemischen von Gasen mit unterschiedlichen CO₂-Konzentrationen (1 %, 3 % und 5 %) zusammen mit einem Gasgemisch mit 99,9 % O₂ (Sauerstoff 5.0) mit einer CO₂-Konzentrationen von 0. Am Ende der Kalibrierung wird eine lineare Kalibrierkurve zwischen 0 % und 5 % entsprechend der linearen Gleichung von $Y = AX + B$ und deren jeweiligem Bestimmungskoeffizienten (R^2) erstellt.

5.6.5 Die Kalibrierwerte werden in einem speziell für diese Prüfungen entwickelten Software-Programm gespeichert, das es ermöglicht, zusätzlich die Prüfparameter zu regeln und alle Daten des während der Prüfung in den verschiedenen Reaktionskolben gebildeten CO₂ zu sichern.

5.7 CO₂-Nachweissystem und Datenerfassungssystem

Für jeden der Prüfkolben (6.2) ist ein CO₂-Messgerät erforderlich. Dieses CO₂-Messgerät wird mit einer Erfassungs- und Signalverarbeitungseinheit verbunden, die die Signale von jedem Ausrüstungsteil verwaltet und diese an ein Computersystem zur Überwachung und Speicherung von Daten übermittelt. Auf diese Weise werden die Werte des während der Prüfung in den *Reaktionskolben* insgesamt gebildeten CO₂ auf einem Computer gesichert und bleiben auf diesem verfügbar.

5.8 Prüfgefäße

5.8.1 14 Kolben mit einem Nutzvolumen von 2 l (*Reaktionskolben*), die einen Destillationsaufsatz und einen Luftdiffusor umfassen, die zur Durchführung der Prüfungen (2 Kontrollen und 5 Proben in doppelter Ausführung) genutzt werden. Die Erlenmeyerkolben müssen ein Fassungsvermögen von 2 000 ml und 3 Öffnungen (Anschlüsse) haben und dem Modelltyp SAV H-29/32 (SQ13) entsprechen. Sie müssen V2-Destillationsaufsätze mit GL-14-Gewinden (6 mm am Lufteinlass und 8 mm am Luftauslass) und einen Poren-Diffusor Nr. 1 haben. Das Volumen der Flüssigkeit (Kulturmedium + Inokulum) muss insgesamt 1 l betragen.

5.8.2 Die Kolben müssen mit dem CO₂-Messgerät durch Nylon-Schläuche verbunden sein. Der Schlauch, der den Auslass des CO₂-Messgeräts mit dem Einlassflansch des Destillationsaufsatzes bis zum Diffusor verbindet, muss einen Durchmesser von 6 mm haben. Der Schlauch, der den Luftauslass des Kolbens mit dem Einlass des CO₂-Messgeräts verbindet, sollte einen Durchmesser von 8 mm haben.

6 Durchführung

6.1 Sammlung und Herstellung des Inokulums

Es werden Proben (Abwasser) aus einem zum Gerben mit biologischen Mitteln belüfteten Tank (Becken) als Inokulum verwendet. Die Probe muss frei von großen inerten Gegenständen sein, wie z. B. Lederstücken, die manuell entfernt werden müssen.

Die Probe muss entnommen und unverzüglich in einem tragbaren Kühlbehälter an das Laboratorium eingeschickt werden, damit deren ursprüngliche Eigenschaften erhalten bleiben. Zum Entfernen von Verunreinigungen wird die Probe dekantiert, und um die Menge an Schwebstoffen zu verringern, muss das Abwasser über Glaswolle filtriert werden. Alternativ wird die Probe bei 1 500 U/min für 5 min zentrifugiert.

6.2 Herstellung der Prüfsubstanz und Referenzsubstanz

Die Aktivität des Inokulums wird während der Prüfung mithilfe einer biologisch abbaubaren Referenzsubstanz überprüft, vorzugsweise mit Kollagen Typ 1 (Sigma oder ähnlich) in Form von Pulver und durch Messung der CO₂-Bildung während dessen Abbaus. Die Referenzsubstanz muss am Ende der Prüfung zu 70 % oder mehr abgebaut sein. Infolge der Möglichkeit, dass das Inokulum suspendierte organische Verbindungen enthält, müssen Kolben, die das Inokulum und das Kulturmedium enthalten, als eine negative Kontrolle angewendet werden. Die Werte für das in diesen Kolben gebildete CO₂ müssen von den Werten, die sich in der positiven Kontrolle und den Messproben gebildet haben, subtrahiert werden.