



中华人民共和国国家标准

GB/T 22047—2008/ISO 17556:2003

土壤中塑料材料最终需氧生物分解 能力的测定 采用测定密闭呼吸计 中需氧量或测定释放的二氧化碳的方法

Plastics—Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by
measuring the oxygen demand in a respirometer or the
amount of carbon dioxide evolved

(ISO 17556:2003, IDT)

2008-06-18 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准等同采用 ISO 17556:2003《土壤中塑料材料最终需氧生物分解能力的测定 通过测定密闭呼吸计中需氧量或测定释放的二氧化碳的方法》(英文版),技术性内容完全相同,仅作如下编辑性修改:

——“本国际标准”一词改为“本标准”;

——用小数点“.”代替作为小数点的逗号“,”;

——删除了国际标准前言。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 和附录 E 为资料性附录。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国塑料制品标准化技术委员会归口。

本标准负责起草单位:轻工业塑料加工应用研究所。

本标准参加起草单位:内蒙古蒙西高新技术集团有限责任公司、浙江华发生态科技有限公司、深圳市中京科林环保塑料技术有限公司、福建百事达生物材料有限公司、武汉华丽环保科技有限公司、巴斯夫(中国)有限公司、宁波天安生物材料有限公司、天津思态利降解塑料有限公司、深圳市禾田一环保科技有限公司、福建泛亚科技发展有限公司、国家塑料制品质量监督检验中心(北京)、四川大学。

本标准主要起草人:翁云宣、张先炳、张英、王世和、沈华峰、沈莉萍、向辉、陈学军、贾伟生、马洪章、叶新建、李宇义、王玉忠、毛国玉、孔力、丁少忠、余润保、刘彩霞。

引 言

塑料随着使用量的增加,回收和处理已变成一个热点。而回收利用应作为优先选择,但塑料要完全回收利用是困难的,例如消费者随意抛弃的塑料垃圾,另外,如一些难回收的塑料如渔具、农业地膜和水溶性的聚合物等,这些材料被遗弃到环境中。采用可生物分解材料是解决这类环境问题的有效途径之一。一些规定在水性培养液/堆肥条件下塑料材料最终需氧/厌氧生物分解能力的测定的国际和国家标准已经颁布,因此制定这些材料在土壤中最终需氧生物分解能力的测定方法是非常重要的。

土壤中塑料材料最终需氧生物分解能力的测定

采用测定密闭呼吸计中需氧量或测定释放的二氧化碳的方法

警告: 废水、活性污泥、土壤和堆肥中可能含有潜在致病菌,因此,处理时应采取适当的防护措施。处理毒性试验化合物或性质未知的化合物时须特别小心。

1 范围

本标准规定了通过测定密闭呼吸计中需氧量或测定释放的二氧化碳量的方法,测定土壤中塑料材料最终需氧生物分解能力。本标准通过调整试验土壤的湿度以获得生物分解率的最佳程度。

如果采用未经预曝置的土壤作为接种物时,本试验仅模拟在自然土壤环境中的生物分解过程;如果使用预曝置的土壤时,本标准可用于测定试验材料潜在的生物分解性能。

本标准适用于以下材料:

- 天然和(或)合成聚合物、共聚物或它们的混合物;
- 含有如增塑剂、颜料或其他化合物等添加剂的塑料材料;
- 水溶性聚合物;
- 在试验条件下,不会对土壤中的微生物的活性产生抑制作用的材料,抑制作用可应用抑制控制或其他适当方法(见 ISO 8192:1986)来测得。如果试验材料对土壤中的微生物的活性有抑制作用时,可采用较低浓度的试验材料、其他接种物或已预曝置的土壤。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

ISO 8192:1986 水质 活性污泥耗氧抑制作用的试验

ISO 10381-6:1993 土壤质量 采样 第6部分:实验室里需氧生物过程用土壤的收集、处理和贮藏技术指导

ISO 10390:1994 土壤质量 pH值的测定

ISO 10634:1995 水质 用于连续测定难溶于水的有机化合物在水性培养液中生物分解能力培养液的配制与处理的技术指导

ISO 10694:1995 土壤质量 干烧后总有机碳的测定(元素分析法)

ISO 11266:1994 土壤质量 需氧条件下土壤中有机化学物生物分解实验室试验技术指导

ISO 11274:1998 土壤质量 水保持力特性的测定 实验室方法

ASTM D 5988—1996 堆肥后塑料残余物在土壤中需氧生物分解能力测定方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

最终需氧生物分解 ultimate aerobic biodegradation

在有氧条件下,有机化合物被微生物分解为二氧化碳(CO₂)、水(H₂O)及其所含元素的矿化无机盐

以及新的生物质。

3.2

生化需氧量 biochemical oxygen demand, BOD

在特定条件下,试验材料在水中由于需氧生物氧化作用所消耗的溶解氧的质量浓度,以每毫克或克试验材料吸收氧气的毫克数表示(mg 吸收氧气/mg 或 g 试验材料)。

3.3

溶解有机碳 dissolved organic carbon, DOC

溶解在水中、无法以特别相分离方法(如 $40\,000\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ 离心分离 15 min 或孔径 $0.2\ \mu\text{m}\sim 0.45\ \mu\text{m}$ 过滤膜过滤)而分离的有机碳。

3.4

理论需氧量 theoretical oxygen demand, ThOD

将试验材料完全氧化所需氧气的理论最大值,可由分子式计算得到,以每毫克或克试验材料吸收氧气的毫克数表示(mg 吸收氧气/mg 或 g 试验材料)。

3.5

二氧化碳理论释放量 theoretical amount of evolved carbon dioxide, ThCO₂

试验材料完全氧化时所能生成的二氧化碳理论最大值,可由分子式计算得到,以每克或每毫克试验材料释放出的二氧化碳的毫克数表示(mg CO₂/g 或 mg 试验材料)。

3.6

迟滞阶段 lag phase

从试验开始一直到微生物适应(或选定了)分解物,并且试验材料的生物分解程度已经增加至最大生物分解率 10% 时所需要的天数。

3.7

生物分解阶段 biodegradation phase

从迟滞阶段结束至达到最大生物分解率的 90% 时所需的天数。

3.8

最大生物分解率 maximum level of biodegradation

试验中,试验材料不再发生生物分解时的生物分解程度,以百分率表示。

3.9

平稳阶段 plateau phase

从生物分解阶段结束至试验结束时所需的天数。

3.10

前处理 pre-conditioning

在与试验条件相同情况下,在没有化学组分或有机物质存在下,对土壤预培育,目的是使微生物适应试验条件以提高试验效果。

3.11

预曝置 pre-exposure

在与试验条件相同情况下,在有化学组分或有机物质存在下,对土壤预培育,目的是通过适应和/或选择微生物来增强土壤对试验材料的生物分解能力。

3.12

湿含量 water content

土壤在 105 °C 干燥至恒重时所有挥发的水分质量除以干土壤质量(即土壤样品中水分质量和土壤颗粒的比率)。

3. 13

水保持能力 water-holding capacity

水饱和土壤在 105 °C 干燥至恒重时所有挥发的水分质量除以干土壤质量。

4 原理

本方法通过调整土壤的湿度以获得在试验土壤中塑料材料生物分解率的最佳程度。

将塑料材料作为唯一的碳和能量来源与土壤混合。将混合物放在细颈瓶中,测定需氧量(BOD)或释放的二氧化碳量。例如,测定生化需氧量(BOD),可通过测量在呼吸计内烧瓶中维持一个恒定体积气体所需氧的体积或自动地或人工地测量体积或压强的变化(或两者兼测),合适的呼吸计示例参见附录 A。又例如测定释放的二氧化碳,可将无二氧化碳空气通过土壤,再测定试验材料生物分解期间释放二氧化碳量。以上两个方法示例参见附录 B 和附录 C。

生物分解率通过生化需氧量(BOD)和理论需氧量(ThOD)的比或用释放的二氧化碳量和二氧化碳理论释放量(ThCO₂)的比来求得,结果用百分率表示。在测定 BOD 过程中,应考虑可能发生的硝化作用的影响。当生物分解率恒定时或试验时间已经 6 个月后可终止试验。

与 ISO 11266:1994 不同的是,ISO 11266:1994 主要测定各种有机组分,而本标准主要测定材料的生物分解能力。

5 试验环境

培养应在黑暗或弱光密闭空间中进行,该空间应设有抑制微生物繁殖的蒸汽,并保持恒温 20 °C ~ 25 °C,或根据使用的培养基和被评估的环境选择其他合适的温度。

6 材料

6.1 蒸馏水或去离子水

不含毒性物质,溶解有机碳含量(DOC)≤2 mg/L。

6.2 二氧化碳吸收剂

碱石灰颗粒或其他适宜的吸收剂。

7 仪器

所有的器皿应清洗干净,不能附着任何有机物或毒性物质。

7.1 密闭呼吸计

装有搅拌器和其他必需配备的试验容器(玻璃烧瓶),并放置在恒温箱或者自动调温装置(如水浴)中,示例参见附录 A。

注:能准确测定生化需氧量的任何呼吸计均可使用。

7.2 测定释放的二氧化碳量的仪器

7.2.1 试验烧瓶

玻璃容器(例如玻璃烧瓶),可通入气体、摇动或搅拌,而且连接管路不能泄漏出二氧化碳。试验装置应放在恒温箱内或在恒温装置(例如水浴)中。

7.2.2 不含二氧化碳的空气供气系统

能够提供流量一定的不含二氧化碳的空气至每个试验烧瓶中,并能保持恒定流速且偏差在±10%范围内(参见附录 B),但 ASTM D 5988—1996 中规定的培养仪器也可适用。

7.2.3 测定二氧化碳的分析仪器

用于直接测定二氧化碳,或者用碱性溶液完全吸收后再通过测定溶解无机碳(DIC)来计算二氧化碳量(参见附录 C)。如果用连续红外分析仪或气相色谱仪直接测量排放气中的二氧化碳量,需要精确

控制并测量空气流量。

7.3 分析天平

7.4 pH 计

8 程序

8.1 试验材料

试验材料应已知质量且含有足量的碳,产生的生化需氧量(BOD)能被使用的呼吸计检测到。由化学分子式计算或由元素分析仪测定总有机碳(TOC),并计算理论需氧量(ThOD)和二氧化碳理论释放量(ThCO₂)(参见附录 C 和附录 D)。

注 1: 虽然用元素分析仪在测定分子量较高的物质时要比测定分子量较低物质精确度要低,但这个精度用于计算理论需氧量(ThOD)或理论二氧化碳释放量(ThCO₂)时是可以接受的。

试验材料的质量,应使其降解时氧气消耗量或释放二氧化碳量在仪器测量量程内,通常 100 g~300 g 的土壤加入 100 mg~300 mg 的试验材料即可以满足要求。试验材料最大量应受供给试验的氧气量的限制,除土壤包含了极大数量的有机物质情况外,一般 200 g 土壤投置 200 mg 的试验材料。

注 2: 为了减少在空白烧瓶中土壤呼吸作用产生的影响,必要的时候,可以对试验材料预曝气或添加惰性材料。

试验材料一般采用粉料的形态,但也可以采用膜、碎片的形态或成形的物品。

试验表明,生物分解的最终程度同试验材料的形态和形状几乎无关。但生物分解的速度,与试验材料的形态和形状相关。所以,如果不同的塑料材料在相同试验周期内进行比较时,试验材料应采用相同的形状和形态。如果试验材料是粉状的形态,那么应使用粒径分布已知的微粒,建议最大粒径为 250 μm。如果试验材料不是粉状形态,每块试验材料的尺寸不能大于 5 mm×5 mm。试验设备尺寸应与试验材料的形态相适应。要保证不会由于试验仪器的设计而出现明显的仪器偏差。试样的制作过程(例如混合物加工成粉末)应不会明显地影响材料的降解行为。

可以选择性测定试验材料的氢(H)、氧(O)、氮(N)、磷(P)和硫(S)的含量及其分子质量。试验材料最好不含添加剂,如增塑剂。如果试验材料中确实含有此类添加剂时,在评估聚合材料本身的生物分解能力时,也需要有关添加剂的生物分解能力的资料。

有关处理难溶于水的化合物的详情,见 ISO 10634:1995。

8.2 参比材料

使用已知可生物分解聚合物(如微结晶纤维素粉末,无灰纤维素滤纸或聚 β-羟基丁酸酯)作为正控制参比材料,总有机碳含量(TOC)、形状和尺寸都尽量和试验材料相同。

可选用与试验材料相同形状的不可生物分解的聚合物(如聚乙烯)作为负控制参比材料。

8.3 试验土壤的准备

8.3.1 土壤的收集和过筛

所用的天然土壤从田地和/或森林的土壤表层收集,或已经预曝置的土壤。过筛土壤以获得尺寸小于 2 mm 的微粒,并去除明显的植物材料、石头和其他惰性材料。

注 1: 尽可能去除有机固体如秸秆,因为这些材料会在试验期间发生分解。

注 2: 土壤可以预处理,但不能使用已经预曝置的土壤,特别是在模拟自然环境下生物分解行为的时候,更不能使用预曝置土壤。但出于一般试验目的而使用了预曝置的土壤,则应在试验报告中加以明确说明(例如生物分解百分率=x%,使用预曝置土壤),同时在试验报告中详细地说明预曝置的方法。预曝置的土壤可通过在不同的条件下在实验室进行适宜的生物分解试验来获得,也可从环境条件相近的场所(例如被污染的场所或工业废弃物处理场)中收集得到。

记录采样的场所、位置、植物或先前的作物的比例、采样时间、采样深度,如果可能,记录土壤在种植过程中的肥料和杀虫剂的使用情况。

8.3.2 土壤特性的测量

按下列标准测定土壤特性:

按 ISO 11274:1998 测定总的水保持能力；

按 ISO 10390:1994 测定土壤的 pH 值；

按 ISO 10694:1995 测定有机物质的含量。

8.3.3 土壤湿含量和 pH 值的调节

通过向土壤添加适当数量的水,或在添加适当数量水后将土壤暴露于遮光的地方晾干,调节土壤的湿含量至适合试验的值。调节土壤的 pH 值至 6.0~8.0。

注 1: 试验土壤的最佳湿含量取决于试验材料,通常在总的水保持能力的 40%~60% 之间。

注 2: 为保证良好的生物分解过程,试验材料或参比材料的有机碳和土壤的氮的比例(C:N 比)建议调节到至少 40:1,这可以通过添加氮来实现,如氯化铵水溶液等。

8.3.4 土壤的处理和贮藏

在试验前将土壤贮藏在 4℃±2℃ 的保温容器中。避免对土壤有任何抑制微生物活性的处理。

用 ISO 10381-6:1993 来确认土壤的活性不受采样的影响。

8.4 试验步骤

准备下列数量的烧瓶(试验瓶):

- a) 两个盛装试验材料的烧瓶(F_T);
- b) 两个用于空白试验烧瓶(F_B);
- c) 两个使用参比材料用于检测土壤活性的烧瓶(F_C);

另外,如果需要时:

- d) 一个用于检查可能出现的非生物分解作用或非微生物变化作用如水解的烧瓶(F_S);
- e) 一个用于检查试验材料对微生物活性可能的抑制作用的烧瓶(F_I)。

在每个烧瓶的底部投放 100 g~300 g 之间的土壤(见 8.3),厚度不能大于 3 cm,按表 1 所示,添加试验材料(见 8.1)或参比材料(见 8.2)到土壤中。记录包含试验混合物的每个烧瓶质量。

表 1 试验材料和参比材料的最后分配表

烧 瓶		试验材料	参比材料	培养基
F_T	试验	+	-	+
F_T	试验	+	-	+
F_B	空白	-	-	+
F_B	空白	-	-	+
F_C	土壤活性检测	-	+	+
F_C	土壤活性检测	-	+	+
F_S	非生物分解检测瓶(可选项)	+	-	-
F_I	抑制控制瓶(可选项)	+	+	+

注 1: 试验材料应均匀地与土壤混合,如试验材料为粉末时,尽可能将其分散到土壤中;如试验材料是膜时,应尽可能使试验材料与土壤接触。也可以用刮刀刮抹试样表面以增加试验材料和土壤中微生物之间的接触。

注 2: 试验材料、空白试验和土壤活性检查的每三个检测瓶也可用两个检测瓶。

把烧瓶放在恒定温度的试验环境中,连接密封试验瓶,把它们放入呼吸计中,开动搅拌器。连接好呼吸计或不含二氧化碳的空气供给系统,开始培养。

如果是测量氧气的消耗量,记录仪表上必要的读数(如手动情况下),并检查耗氧记录仪是否运行正常(自动呼吸计)(参见附录 A)。

如果是测量释放出的二氧化碳,按照释放出的二氧化碳速率、二氧化碳量,在一定间隔时间内,使用合适的、足够精确的方法(参见附录 B 和附录 C)测定从每个烧瓶放出的二氧化碳的量。

如果在试验期间因土壤干燥而使生物分解速率变慢,则应停止测量,从呼吸计或不含二氧化碳供给

体系中移走烧瓶。称量烧瓶，往土壤添加适量的水以使其湿含量达到初始值。重新连接烧瓶至体系中，测量氧气消耗量或二氧化碳释放量。这些操作应不会抑制土壤微生物的活性和不会影响氧气消耗量或二氧化碳释放量的测量，并在试验报告中加以明确的说明。

当测得的 BOD 值或释放的二氧化碳量达到稳定程度(达到平稳阶段)，且预计无更进一步的生物分解时，可认为试验已经结束。试验周期最长为 6 个月。如果试验需要延长，应定期检测系统的密封性，确保系统无泄漏。

试验结束时，移开烧瓶并对它们称量以检查试验土壤减少的湿含量。如需要时，残余的试验材料可用合适的溶剂从土壤中提取，并进行称量。

9 计算与结果的表示

9.1 计算

9.1.1 由氧气消耗量计算生物分解百分率

使用适当的呼吸计，依照仪器指示的使用方法读取每个烧瓶氧气的消耗量。

按式(1)计算单位试验材料的生化需氧量(BOD_s)。

$$BOD_s = \frac{BOD_t - BOD_{Bt}}{\rho_T} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

BOD_s——单位试验材料的 BOD 值，以每克试验材料的毫克数表示，单位为毫克每克试验材料 (mg/g)；

BOD_t——在时间 *t* 时包含试验材料的烧瓶 F_T 的 BOD 值，单位为毫克每克试验土壤(mg/g)；

BOD_{Bt}——在时间 *t* 时空白 F_B 的 BOD 值，单位为毫克每克试验土壤(mg/g)；

ρ_T——烧瓶 F_T 的反应混合物中试验材料的浓度，单位为毫克每克试验土壤(mg/g)。

按式(2)计算生物分解百分率 D_i。

$$D_i = \frac{BOD_s}{ThOD} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

以相同方式计算参比材料烧瓶 F_C 的 BOD 值和生物分解百分率，再计算非生物分解校正值烧瓶 F_S、抑制控制烧瓶 F_I 的 BOD 值和生物分解百分率。ThOD 的求法参见附录 A。

9.1.2 由释放出的二氧化碳(CO₂)量计算生物分解百分率

9.1.2.1 试验材料的二氧化碳理论释放量

按式(3)计算二氧化碳理论释放量(ThCO₂)，单位为毫克(mg)。

$$ThCO_2 = m \times \omega_C \times \frac{44}{12} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

m——试验材料的质量，单位为毫克(mg)；

ω_C——试验材料中的含碳量，由化学分子式决定或由元素分析计算而得，用%表示；

44 和 12——分别表示二氧化碳的分子质量和碳的原子量。

用同样的方法计算参比材料以及试验瓶 F_I 中试验材料与参比材料混合物的二氧化碳理论释放量。

9.1.2.2 生物分解百分率

按式(4)计算试验瓶 F_T 的每个测量间隔的生物分解百分率 D_i(%)：

$$D_i = \frac{\sum(m)_T - \sum(m)_B}{ThCO_2} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

式中：

∑(m)_T——从试验开始到 *t* 时间内从 F_T 瓶释放出的二氧化碳量，单位为毫克(mg)；

$\Sigma(m)_B$ ——从试验开始到 t 时间内从空白瓶 F_B 中释放出的二氧化碳量,单位为毫克(mg);

$ThCO_2$ ——试验材料的二氧化碳理论释放量,单位为毫克(mg)。

用同样的方法计算土壤活性检测瓶 F_C 中参比材料的生物分解百分率。

9.2 结果的表达与解释

将每个烧瓶各个测定周期的 BOD 值或二氧化碳量和生物分解百分率编辑成表。对每个烧瓶,以时间为横坐标对 BOD 或二氧化碳释放量 and 生物分解百分率作曲线图。对双倍的烧瓶如要获得比较结果,可作出平均值生物分解曲线。

由生物分解曲线平稳阶段的平均值或最高值求得生物分解率的最大值来表征试验材料生物分解程度。

试验材料的吸湿性和形状可能会对试验结果产生影响,因此试验尽可能选用相似结构的塑料材料来进行比较。

有关试验材料毒性方面数据有助于解释生物分解试验结果偏低的原因。

10 结果的有效性

只有试验符合下列事项,才可认为有效:

在平稳阶段或试验结束时,参比材料的生物分解百分率 $>60\%$;

在平稳阶段或试验结束时,两个空白试验烧瓶的 BOD 值或二氧化碳释放量的相对偏差不超过 20% 。

如果不能满足以上要求时,则使用另一预处理或预曝置的土壤来重复本试验。

11 试验报告

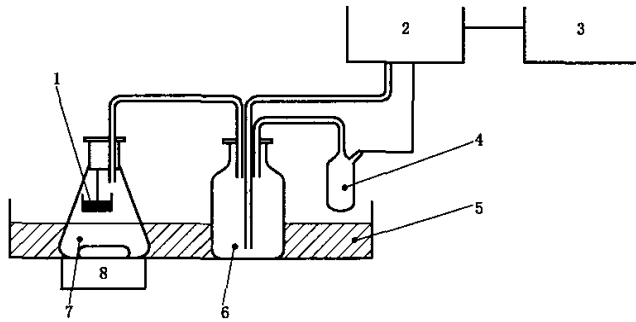
- a) 依据标准;
- b) 能说明此项试验和参比材料的所有资料,包括它们的有机碳含量(TOC)、化学组成、分子式(如果已知)、理论需氧量($ThOD$)、二氧化碳理论释放量($ThCO_2$)、形状、状态、数量及浓度、助剂含量(如果已知);
- c) 所用土壤的全部信息,包括来源、采集时间、特征、试验中用的数量、贮藏条件、处理和任何预曝置的细节;
- d) 主要试验条件,包括所用试验材料的数量、培养温度、培养周期;
- e) 所用的分析技术,包括呼吸计的原理和二氧化碳检测方法;
- f) 执行的其他任何操作,包括试验中往试验混合物加水、试验结束时试验混合物的分析结果如湿含量;
- g) 试验材料和参比材料获得的所有试验结果(列表和图示),包括测得的累计 BOD 值或释放的二氧化碳、生物分解百分率及这些参数相对于时间的各自曲线;
- h) 迟滞阶段、生物分解阶段所用时间、达到最大生物分解百分率所用时间以及整个试验所用时间;

如有可选项试验时,应增列下列内容:

- i) 试验材料的残余数量或由试验材料残余质量计算得到的生物分解百分率;
- j) 土壤中菌落种群数;
- k) 任何其他相关的资料(如样品的初始分子质量、残余聚合物的分子质量)。

附录 A
(资料性附录)
气压式呼吸计原理

在温控环境(如水浴)下呼吸计放置如图 A.1 所示,包括有磁性搅拌棒的测试烧瓶和放置于顶部的吸收二氧化碳的容器,一个氧发生器,一个压力计,电磁搅拌器和一套内部监控设备和记录器(打印机、绘图仪或电脑)。试验烧瓶放置三分之一容器的试验混合物,连续搅拌确保氧在气相和液相中保持平衡,如果生物分解发生,微生物消耗氧气产生二氧化碳,二氧化碳被吸收器吸收,容器内的总压下降可由压力下降测得,并据此来应用电解补充氧气。当压力重新建立时,电解就停止,且所使用电量是正比于氧气消耗量,持续地测量,并在记录器上指示氧气消耗量。



- 1——二氧化碳吸收器;
- 2——压强计;
- 3——打印机、绘图仪或电脑;
- 4——氧气发生器;
- 5——恒温(水浴);
- 6——监测器;
- 7——测试瓶;
- 8——电磁搅拌器。

图 A.1 气压式呼吸计示意图

附录 B
(资料性附录)

释放的二氧化碳量测定系统的测试原理(示例)

试验烧瓶按图 B.1 所示顺序放置并通过输气管相连。在恒定低压下,通以流量在几个 mL/min 不含二氧化碳的空气。记下气泡数或使用合适的流量控制器来测定空气流量。在使用压缩空气时,将空气通过盛有干燥的碱石灰的瓶子或至少两个碱液洗瓶(例如:盛有 500 mL 浓度为 10 mol/L 的 KOH 溶液),以除去二氧化碳。另外用一个烧瓶盛放 100 mL 浓度为 0.012 5 mol/L 的 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液,通过浑浊度来判定空气中是否混有二氧化碳。可在指示剂瓶与下一连接瓶之间接入一个增湿瓶来增湿空气以试验土壤水分的挥发,这可以使空气通过恒定湿度的溶液如饱和磷酸钠水溶液来实现。如果生物分解发生,试验烧瓶中就会产生二氧化碳。产生的二氧化碳随即被连接在其后的吸收瓶吸收,测定方法参见附录 C。

调节进气口空气的流速来保持试验土壤的湿度和需氧的条件。

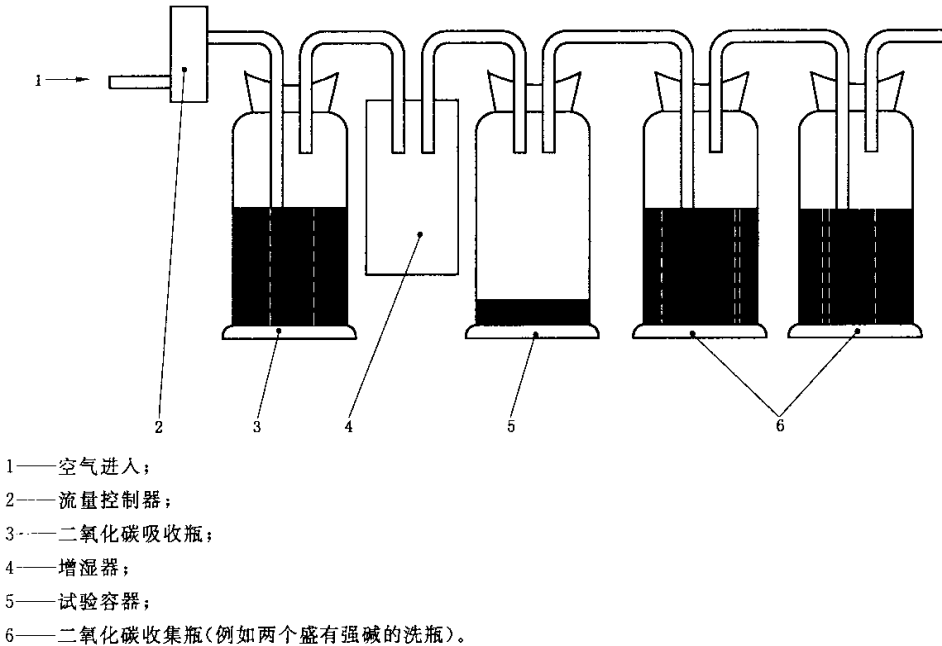


图 B.1 释放的二氧化碳量测定系统示意图

附录 C
(资料性附录)

释放的二氧化碳量的测定方法(示例)

C.1 通过测定溶解无机碳(DIC)来计算二氧化碳释放量

释放出的二氧化碳(CO₂)用 NaOH 吸收,在没有焚烧的情况下用 DOC 分析仪测定溶解无机碳(DIC)。

用去离子水制备浓度为 0.05 mol/L 的氢氧化钠(NaOH)溶液,测定此溶液的溶解无机碳(DIC)作为空白值,当计算产生的 CO₂ 量时使用这个空白值。将试验烧瓶依次与分别装有 NaOH 溶液 100 mL 的两个吸收瓶相连,用一小弯管封闭最末端,以防止空气中的二氧化碳进入 NaOH 溶液中。在测定时,取下与试验烧瓶相连的那个吸收瓶,取出足够的样品用于测定 DIC(例如 10 mL),并用盛有新制备的 NaOH 溶液的吸收瓶替换。在试验的最后一天,在对试验溶液进行酸化处理后,测定两个吸收瓶的 DIC 值。

按式(C.1)计算产生的二氧化碳量:

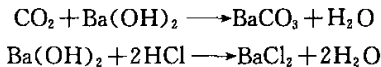
$$(\text{CO}_2)_T = \frac{(\text{DIC}_T - \text{DIC}_B) \times 3.67}{10} \dots\dots\dots (\text{C.1})$$

式中:

- (CO₂)_T——释放出的二氧化碳量,单位为毫克(mg);
- DIC_T——测得的 DIC,单位为毫克(mg);
- DIC_B——由 NaOH 溶液计算得到的 DIC 空白值,单位为毫克(mg);
- 3.67——二氧化碳分子质量与碳原子量的比值(44/12);
- 10——修正系数,因为实际使用 NaOH 的用量为 100 毫升(mL)。

C.2 用氢氧化钡[Ba(OH)₂]溶液进行滴定分析

产生的 CO₂ 与 Ba(OH)₂ 反应生成碳酸钡(BaCO₃),通过用 HCl 滴定残留的 Ba(OH)₂ 来计算释放出的 CO₂ 的量:



用去离子水或蒸馏水溶解 Ba(OH)₂ · 8H₂O 4.0 g 加水稀释至 1 000 mL,得到浓度为 0.012 5 mol/L 的溶液。建议在进行系列试验时,一次制备足够量的溶液,例如 5 L。滤去固体物质,用标准的盐酸(HCl)溶液进行滴定,用酚酞作为指示剂或自动滴定仪来指示终点,测出准确浓度。将清澈的 Ba(OH)₂ 溶液用密封瓶储存起来,防止其吸收空气中的二氧化碳。

将 1 mol/L(36.5 g/L)的盐酸溶液 50 mL 用去离子水和蒸馏水加水稀释至 1 000 mL,得到浓度为 0.05 mol/L 的溶液。

在试验开始时,先在 3 个吸收瓶中各放入 Ba(OH)₂ 溶液 100 mL。根据试验材料的特点和用量来调节吸收液的用量。定期滴定第一个收集瓶。此项工作应按需要进行,例如当第一个收集瓶发生浑浊及第二个收集瓶出现 BaCO₃ 沉淀前进行滴定。在试验开始后可每隔 1 d 滴定 1 次,然后在达到平稳阶段后每 5 d 滴定 1 次。在取下吸收瓶时,应立即用塞子塞住瓶口,以避免空气中的 CO₂ 进入瓶中。将剩下的两个吸收瓶前移接试验烧瓶(即 2 变 1,3 变 2),并在其后再放置一个盛有新鲜 Ba(OH)₂ 溶液的吸收瓶。如果试验周期较长,则特别需要测定溶液的准确浓度。用同样的方法对盛有试验材料、参比材料的试验烧瓶及空白、抑制控制及培养液控制的试验烧瓶进行相同方式的处理。

在取下吸收瓶后,将 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液分成 2 或 3 等份,并立即用 HCl 溶液进行滴定。记下中和 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 所用的 HCl 的体积。

按式(C. 2)计算收集到的二氧化碳(CO_2)的质量:

$$m = \left(\frac{2c_B \times V_{B0}}{c_A} - V_A \times \frac{V_{Bt}}{V_{BZ}} \right) \times c_A \times 22 \quad \dots\dots\dots(\text{C. 2})$$

式中:

- m ——吸收瓶中收集到的二氧化碳量,单位为毫克(mg);
- c_A —— HCl 溶液的准确浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- c_B —— $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液的准确浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- V_{B0} ——试验开始时 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_{Bt} ——滴定前在时间 t 时 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_{BZ} ——中和滴定时用去的 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_A ——中和滴定时用去 HCl 的体积,单位为毫升(mL);
- 22—— CO_2 相对分子质量的一半。

当采用以下试验条件时:

- 在吸收 CO_2 前后, $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 的体积准确为 100mL;
- $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液全部用于滴定($V_{B0} = V_{Bt} = V_{BZ}$);
- $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 的准确浓度正好为 0.012 5 mol/L;
- HCl 溶液的准确浓度 c_A 正好为 0.05 mol/L。

按式(C. 3)进行计算:

$$m = 1.1(50 - V_A) \quad \dots\dots\dots(\text{C. 3})$$

附录 D
(资料性附录)
理论需氧量(ThOD)

D.1 ThOD 的计算

分子质量为 M_r 的化合物 $C_cH_hCl_dN_nS_sP_pNa_mO_o$, 如果已知它的化学组成或者可以经过元素分析测得时, 可用式(D.1)计算 ThOD。

$$\text{ThOD} = \frac{16(2c + 0.5(h - cl - 3n) + 3s + 2.5p + 0.5na - o)}{M_r} \quad \dots\dots (D.1)$$

此计算假设碳转化成二氧化碳, 氢转化成水, 磷转化成五氧化二磷, 硫转化成正六价氧化状态, 卤素以卤化氢形式脱除。氮磷硫的氧化物应经过分析确认, 此计算还假设氮成为硝酸盐、亚硝酸盐, 对于硝化作用的影响参见附录 B。

D.2 示例: 聚(β -羟基丁酸酯)(PHB)

综合化学式: $C_4H_6O_2$, $C=4$, $H=6$, $O=2$; 相对分子质量 $M_r=86$ 。

$$\text{ThOD} = \frac{16(2 \times 4 + 0.5 \times 6 - 2)}{86} \quad \dots\dots\dots (D.2)$$

ThOD=1.674 4 mg/mg PHB=1 674.4 mg/g PHB

D.3 示例: 聚乙烯/淀粉/丙三醇的混合物

组分	分子式	ThOD/(mg/g)	组分含量		ThOD/(mg/瓶)
			%	mg/瓶	
聚乙烯	$(C_2H_4)_n$	3 400	50	500	1 700
淀粉	$(C_6H_{10}O_5)_n$	1 190	40	400	476
丙三醇	$C_3H_8O_3$	1 200	10	100	120
总计	—	—	100	1 000	2 296

附录 E
(资料性附录)

在生物分解试验结束后残留的不溶解于水的聚合物量的测定及聚合物分子质量计算

利用测量在生物分解终止时的残留水不溶性聚合物量及其分子质量是非常有用的。使用下列方法或其他合适的方法可用来分析不溶于水但可溶于不含水的有机溶剂的聚合物。

- a) 将试验混合物移至漏斗中,加一适当的有机溶剂,摇动约 10 min~20 min 以萃取残余的聚合物,从液相分离层分离有机溶剂层,加新溶剂并重复上述步骤;
- b) 合并有机萃取液,蒸发溶剂至干燥,将固体样品溶解于适量的溶剂中;
- c) 利用微量注射器,注入高效液相色谱仪(HPLC)中,柱中填有色谱填料,开始分析并记录色谱图;
- d) 使用校正曲线图测定聚合物的存在量;
- e) 将已知分子质量的相同聚合物与试验聚合物相类似结构且已知其高分子质量的聚合物注入色谱仪以测定分子质量,滞留时间和分子质量的关系可由色谱图中求得,再利用此关系计算分子质量。

试验聚合物的绝对分子质量也可使用 HPLC 和具有低角度激光扫描(LALLS)及示差折射率检测器(RI)测得。
