

DIN EN ISO 11267



ICS 13.080.30

Ersatz für
DIN EN ISO 11267:2014-07

**Bodenbeschaffenheit –
Hemmung der Reproduktion von Collembolen (Folsomia candida) durch
Verunreinigungen (ISO 11267:2023);
Deutsche Fassung EN ISO 11267:2023**

Soil quality –

Inhibition of reproduction of Collembola (Folsomia candida) by soil contaminants
(ISO 11267:2023);

German version EN ISO 11267:2023

Qualité du sol –

Inhibition de la reproduction de Collembola (Folsomia candida) par des contaminants du
sol (ISO 11267:2023);

Version allemande EN ISO 11267:2023

Gesamtumfang 52 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 11267:2023) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Für die deutsche Mitarbeit ist 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 308, CEN/TC 444, CEN/SABE/ENV)“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) verantwortlich.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 10390	siehe	DIN EN ISO 10390
ISO 10694	siehe	DIN ISO 10694*
ISO 11260	siehe	DIN EN ISO 11260
ISO 11268-2	siehe	DIN EN ISO 11268-2
ISO 11277	siehe	DIN ISO 11277*
ISO 11465	siehe	DIN ISO 11465*
ISO 15799	siehe	DIN EN ISO 15799
ISO 16387	siehe	DIN EN ISO 16387
ISO 17616	siehe	DIN EN ISO 17616
ISO 18400-206	siehe	DIN ISO 18400-206

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 11267:2014-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) normative Verweisungen aktualisiert;
- b) Anhang E mit speziellen Informationen zur Verwendung alternativer Arten von Collembolen für die Reproduktionsprüfung hinzugefügt;
- c) Literaturhinweise aktualisiert;
- d) Dokument technisch und redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN ISO 11267: 2001-06
DIN EN ISO 11267: 2014-07

* Ersatzlos zurückgezogen.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 10390, *Boden, behandelter Bioabfall und Schlamm — Bestimmung des pH-Werts*

DIN EN ISO 11260, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der effektiven Kationenaustauschkapazität und der Basensättigung unter Verwendung von Bariumchloridlösung*

DIN EN ISO 11268-2, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer — Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung von Eisenia fetida/Eisenia andrei*

DIN EN ISO 15799, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Böden und Bodenmaterialien*

DIN EN ISO 16387, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Verunreinigungen auf Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) — Bestimmung der Wirkungen auf die Reproduktion*

DIN EN ISO 17616, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung für die Auswahl und Beurteilung von Biotestverfahren zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Böden und Bodenmaterialien*

DIN ISO 10694*, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung von organischem Kohlenstoff und Gesamtkohlenstoff nach trockener Verbrennung (Elementaranalyse)*

DIN ISO 11277*, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Partikelgrößenverteilung in Mineralböden — Verfahren mittels Siebung und Sedimentation*

DIN ISO 11465*, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehalts auf Grundlage der Masse — Gravimetrisches Verfahren*

DIN ISO 18400-206, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 206: Entnahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Beurteilung von biologischen funktionalen und strukturellen Endpunkten im Labor*

– Leerseite –

Deutsche Fassung

Bodenbeschaffenheit —
Hemmung der Reproduktion von Collembolen (*Folsomia
candida*) durch Verunreinigungen (ISO 11267:2023)

Soil quality —
Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia
candida*) by soil contaminants (ISO 11267:2023)

Qualité du sol —
Inhibition de la reproduction de Collembola (*Folsomia
candida*) par des contaminants du sol (ISO 11267:2023)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 30. Juli 2023 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-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. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

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

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



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

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	8
4 Kurzbeschreibung	10
5 Reagenzien und Materialien	11
6 Geräte	13
7 Durchführung	14
7.1 Prüfaufbau	14
7.1.1 Allgemeines	14
7.1.2 Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs	14
7.1.3 Hauptprüfung	14
7.2 Herstellung der Prüfmischung	15
7.2.1 Prüfung des verunreinigten Bodens	15
7.2.2 Prüfung von dem Prübsubstrat zugegebenen Substanzen	16
7.2.3 Vorbereitung der Kontrollgefäße	16
7.3 Zugabe des biologischen Materials	17
7.4 Prüfbedingungen und Messungen	17
7.5 Bestimmung der überlebenden Collembolen	17
8 Berechnung und Angabe der Ergebnisse	17
8.1 Berechnung	17
8.2 Angabe der Ergebnisse	18
9 Gültigkeit der Prüfung	18
10 Statistische Analyse	18
10.1 Allgemeines	18
10.2 Einzel-Konzentrationsprüfungen	18
10.3 Mehrfach-Konzentrationsprüfungen	19
10.3.1 Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs	19
10.3.2 Hauptprüfung	19
11 Prüfbericht	20
Anhang A (informativ) Verfahren zur Haltung und Zucht von <i>Folsomnia candida</i>	21
A.1 Bedingungen zur Haltung und Zucht	21
A.1.1 Zuchtsubstrat	21
A.1.2 Zuchtgefäße	21
A.1.3 Klimabedingungen	21
A.1.4 Futter	21
A.1.5 Umsetzen	21
A.1.6 Gewinnung gleichaltriger Prüforganismen	22
A.2 Umsetzen der Collembolen in die Prüfgefäße	22
Anhang B (normativ) Bestimmung der Wasserhaltekapazität	23
B.1 Allgemeines	23
B.2 Geräte	23
B.3 Durchführung	23
B.4 Berechnung der Wasserhaltekapazität (C_{WH})	23
Anhang C (informativ) Anleitung zur Einstellung des pH-Werts des künstlichen Bodens	24
Anhang D (informativ) Extraktion und Auszählen von Collembolen	25
Anhang E (informativ) Spezielle Informationen zu alternativen Arten von Collembolen außer <i>Folsomia candida</i>	26
E.1 Allgemeines	26

E.2	Geographische Verteilung und Ökologie	26
E.3	Morphologie und Reproduktionsmodus	27
E.4	Biologische Merkmale	29
E.5	Kultivierung	30
E.5.1	Nährbehälter und Substrat	30
E.5.2	Bedingungen für die Kultivierung	31
E.5.3	Fütterung und Wassernachfüllung	31
E.5.4	Kulturerhaltung und Entwicklungsrate	32
E.6	Prüfverfahren	34
E.6.1	Prüflinge	34
E.6.2	Prüfgefäße und Prüfsubstrat	35
E.6.3	Prüfbedingungen	36
E.6.4	Erhaltung während der Prüfung	37
E.6.5	Prüfbeendigung	38
E.6.6	Gültigkeitskriterien	38
E.6.7	Empfindlichkeit und Eignung	39
	Literaturhinweise	42

Bilder

Bild A.1	Spezial-Absaugvorrichtung mit geringer Saugwirkung zum Umsetzen der Collembolen	22
----------	---	----

Tabellen

Tabelle E.1	Geografische Verteilung und Ökologie der alternativen Collembolenarten	26
Tabelle E.2	Morphologie und Fortpflanzungsweise der alternativen Collembolenarten	27
Tabelle E.3	Lebensgeschichtliche Merkmale der alternativen Collembolenarten	29
Tabelle E.4	Kulturgefäße und Substrat für alternative Collembolenarten	30
Tabelle E.5	Kultivierungsbedingungen für alternative Collembolenarten	31
Tabelle E.6	Fütterung und Wasserauffüllung für alternative Collembolenarten	32
Tabelle E.7	Verfahren zur Erhaltung alterssynchronisierter Kulturen von alternativen Collembolenarten	33
Tabelle E.8	Anzahl der Individuen und geeignetes Alter für die Prüfung alternativer Collembolenarten	34
Tabelle E.9	Abmessungen der Prüfgefäße und des Prüfsubstrats für alternative Collembolenarten	35
Tabelle E.10	Für Labortests erforderliche Prüfbedingungen bei Verwendung alternativer Collembolenarten	36
Tabelle E.11	Fütterung und Wasserzufuhr während der Testexposition für alternative Collembolenarten	37
Tabelle E.12	Gesamtdauer der Testexposition und Extraktionsmethode für alternative Collembolenarten	38
Tabelle E.13	Validitätskriterien für alternative Collembolenarten	38
Tabelle E.14	Empfindlichkeit der alternativen Collembolenarten gegenüber chemischen Schadstoffen	39

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 11267:2023) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2024, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2024 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 11267:2014.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut/nationale Gremium des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Entsprechend der CEN CENELEC Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 11267:2023 wurde von CEN als EN ISO 11267:2023 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO 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 staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC Directives, Teil 1, beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC Directives, Teil 2, erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

ISO weist auf die Möglichkeit hin, dass die Anwendung dieses Dokuments mit der Verwendung eines oder mehrerer Patente verbunden sein kann. ISO bezieht jedoch in dieser Hinsicht keinerlei Stellung bezüglich Nachweis, Gültigkeit oder Anwendbarkeit jeglicher beanspruchten Patentrechte. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments lag ISO keine Mitteilung über ein Patent bzw. mehrere Patente vor, welche/s zur Umsetzung dieses Dokuments erforderlich sein könnte/n. Anwender werden jedoch darauf hingewiesen, dass dies möglicherweise nicht der aktuelle Informationsstand ist. Dieser kann jedoch der Patentdatenbank unter www.iso.org/patents entnommen werden. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190, *Soil quality*, Unterkomitee SC 4, *Biological characterization*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 444, *Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese dritte Ausgabe ersetzt die zweite Ausgabe (ISO 11267:2014), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentliche Änderung ist die folgende:

- Hinzufügung eines Anhangs zur Bereitstellung spezieller Informationen zur Verwendung alternativer Arten von Collembolen für die Reproduktionsprüfung.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Ökotoxikologische Prüfsysteme werden angewendet, um Informationen über die Wirkungen von Verunreinigungen im Boden zu erhalten, und sie sind zur Ergänzung der herkömmlichen chemischen Analysen (siehe Literaturhinweise [2] und [4]) vorgesehen. Literaturhinweis [2] enthält eine Aufstellung und eine kurze Charakterisierung der empfohlenen und genormten Prüfsysteme und Literaturhinweis [4] gibt eine Anleitung für die Auswahl und Beurteilung von Biotestverfahren. Aquatische Prüfsysteme mit Bodeneluat werden angewendet, um Informationen über den Anteil der Verunreinigungen zu erhalten, die möglicherweise über den Wasserweg (Rückhaltefunktion von Böden) das Grundwasser erreichen, wogegen terrestrische Prüfsysteme zur Bewertung der Lebensraumfunktion der Böden angewendet werden.

Bodenbewohnende Collembolen sind für die ökotoxikologische Prüfung ökologisch relevante Arten. Springschwänze sind Beutetiere für eine Vielzahl von endogäischen und epigäischen Invertebraten, und sie wirken bei den Zersetzungsprozessen in Böden mit. In sauren Böden sind sie neben Enchyträen (*Enchytraeidae*) hinsichtlich dieser Funktion wahrscheinlich die wichtigsten Boden-Invertebraten, da Regenwürmer üblicherweise nicht vorhanden sind [19]. Verglichen mit den Regenwürmern [1] und Enchyträen [3] stellen Collembolen zusätzlich Arthropoden-Arten (Gliederfüßer) mit einem unterschiedlichen Verlauf und einem anderen Grad der Exposition dar. Mehrere Arten wurden in Bioassays (biologischen Prüfungen) verwendet, von denen vier Arten am häufigsten verwendet werden: *Folsomia candida* Willem, *Folsomia fimetaria* L., *Onychiurus asetae* und *Orchesella cincta* [20]. Zahlreiche, durch Environment Canada (EC) unterstützte toxikologische Bodenprüfungen führten zur Entwicklung und Normung eines biologischen Prüfverfahrens für die Bestimmung der letalen und subletalen Toxizität von verunreinigten Bodenproben unter Verwendung von Collembolen [10]. Das von EC erarbeitete Verfahren umfasst vier Arten, *Orthonychiurus folsomi*, *Proisotoma minuta*, *F. candida* und *F. fimetaria*. Während die genormten Prüfsysteme Collembolen als Indikatororganismen für die Lebensraumfunktion von Boden verwenden, gibt es noch zwei andere Verfahren. Das eine Verfahren ist zur Bewertung der Wirkungen von Substanzen auf die Reproduktionsleistung der Collembolen, *F. fimetaria* und *F. candida*, im Boden [19] [21] ausgelegt, und das andere hier beschriebene Verfahren richtet sich auf die Prüfung von verunreinigtem Boden. Optional kann das Verfahren zur Prüfung von Substanzen, die den Standardböden (z. B. künstlicher Boden) zugefügt wurden, auf ihr subletales Gefährdungspotential gegenüber Collembolen angewendet werden.

Dieses Dokument beschreibt ein Verfahren, das auf der Bestimmung der subletalen Wirkungen der verunreinigten Böden gegenüber adulten Collembolen der Art *Folsomia candida* Willem basiert. Die Art ist weltweit verbreitet. Sie spielt eine ähnliche ökologische Rolle wie *F. fimetaria* [10] [19]. *F. candida* vermehrt sich parthenogenetisch und ist eine leicht zugängliche Art, da sie kommerziell verfügbar und einfach zu kultivieren ist. *F. candida* ist repräsentativ für Bodenarthropoden und insbesondere für Collembolen. Hintergrundinformationen zur Ökologie von Springschwänzen und deren Verwendung in ökotoxikologischen Prüfungen sind verfügbar in Literaturhinweis [22].

Weltweit bewohnen unterschiedliche Arten von Collembolen vielfältige ökologische Nischen in unterschiedlichen Bodentiefen und in verschiedenen Bodenarten. Obwohl *F. candida* als Surrogat gilt und daher häufig in ökotoxikologischen Reproduktionsprüfungen verwendet wird, ist er in den meisten natürlichen Böden nicht verbreitet [28]. Außerdem können artspezifische morphologische Anpassungen die Exposition und die toxischen Auswirkungen von Chemikalien auf Organismen beeinflussen [102]. Daher kann die Verwendung einer Vielzahl von Collembolenarten, die unterschiedliche morphologische Anpassungen aufweisen, von Vorteil sein, um ein breites Spektrum von Empfindlichkeiten für diese Gruppe zu erhalten. Daher wurden andere Arten wie *F. fimetaria* (euedaphisch, weltweit verbreitet und in landwirtschaftlichen Böden zu finden [28]), *Onychiurus yodai* (eine euedaphische asiatische Art [31]), *Proisotoma minuta* (hemiedaphisch, weltweit verbreitet und in landwirtschaftlichen Böden zu finden [31] [36]), *Protaphorura fimata* (euedaphisch, in gemäßigten bis kalten Zonen vorkommend [31][37]) und *Sinella curviseta* (epedaphisch, von Nordamerika bis Europa, Südostasien und Japan verbreitet [42]) als potentielle alternative Prüfarten hinzugefügt (Anhang E). Diese Arten wurden schon früher als ökotoxikologische Prüfarten verwendet, aber die verfügbare Prüferfahrung ist begrenzt.

Die Wirkungen von Stoffen werden anhand eines Standardbodens, vorzugsweise eines definierten künstlichen Bodensubstrats, bewertet. Bei kontaminierten Böden werden die Wirkungen in dem zu prüfenden Boden und in einem Kontrollboden ermittelt. Kontroll- und Verdünnungssubstrat (Verdünnungsreihe des kontaminier-

ten Bodens) sind je nach Untersuchungsziel entweder ein mit dem zu untersuchenden Boden vergleichbarer, unbelasteter Boden (Referenzboden) oder ein Standardboden (z. B. Kunstboden).

ANMERKUNG Die Stabilität der Prüfsubstanz kann über den Prüfzeitraum nicht gewährleistet werden. Die Prüfmethode sieht keine Überwachung der Persistenz der zu prüfenden Substanz vor.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt eines der Verfahren zur Bewertung der Lebensraumfunktion von Böden und zur Bestimmung der Wirkungen von Bodenverunreinigungen und Substanzen auf die Reproduktion von *Folsomia candida* Willem bei Aufnahme über die Haut und durch die Nahrung fest. Dieses Dokument enthält ebenfalls Informationen darüber, wie diese Methode für die Prüfung von Stoffen unter gemäßigten Bedingungen anzuwenden ist.

Diese chronische Prüfung ist anwendbar für Böden und Bodenmaterialien unbekannter Beschaffenheit, z. B. von verunreinigten Standorten, beaufschlagten Böden, Böden nach der Sanierung, industriellen, landwirtschaftlichen oder anderen betroffenen Standorten und Abfallmaterialien.

Das Verfahren ist nicht auf flüchtige Substanzen anwendbar, d. h. Substanzen, bei denen H (Henry-Konstante) oder der Luft/Wasser-Verteilungskoeffizient größer als 1 ist oder bei denen der Dampfdruck 300 Pa bei 25 °C überschreitet.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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 10390, *Soil, treated biowaste and sludge — Determination of pH*

ISO 10694, *Soil quality — Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis)*

ISO 11260, *Soil quality — Determination of effective cation exchange capacity and base saturation level using barium chloride solution*

ISO 11277, *Soil quality — Determination of particle size distribution in mineral soil material — Method by sieving and sedimentation*

ISO 11465, *Soil quality — Determination of dry matter and water content on a mass basis — Gravimetric method*

ISO 18400-206, *Soil quality — Sampling — Part 206: Collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

Verunreinigung

Substanz oder Mittel, die bzw. das im Boden als ein Ergebnis menschlicher Tätigkeit vorhanden ist

3.2

EC_x, en: effect concentration for x % effect

Wirkungskonzentration für eine Wirkung von x %

Konzentration (Masseanteil) einer Prüfprobe oder Prüfsubstanz, die x % einer Wirkung an einem gegebenen Endpunkt innerhalb einer gegebenen Kontaktzeit im Vergleich zur Kontrolle verursacht

BEISPIEL Eine EC₅₀ ist eine Konzentration, die eine Wirkung auf 50 % der exponierten Population an einem Endpunkt der Prüfung über eine festgelegte Kontaktzeit verursacht.

Anmerkung 1 zum Begriff: Die EC_x wird als ein Prozentwert des zu prüfenden Bodens (Trockenmasse) je Bodenmischung (Trockenmasse) angegeben. Wenn Substanzen geprüft werden, wird die EC_x als Masse der Prüfsubstanz je Trockenmasse des Bodens, in Milligramm je Kilogramm, angegeben.

3.3

ER_x, en: effect rate for x % effect

Wirkungsrate für eine Wirkung von x %

Rate eines verunreinigten Bodens, die x % einer Wirkung an einem gegebenen Endpunkt innerhalb einer gegebenen Kontaktzeit im Vergleich zur Kontrolle verursacht

3.4

Grenzwertprüfung

Prüfung mit einer Konzentration, die jeweils aus mindestens vier Wiederholungen, dem zu prüfenden Boden ohne jegliche Verdünnung oder der höchsten Konzentration der Prüfsubstanz, die in den *Kontrollboden* (3.11) und die Kontrolle gemischt wird, besteht

3.5

LOEC, en: lowest observed effect concentration

geringste Konzentration, bei der eine Wirkung zu beobachten ist

niedrigste Konzentration einer Prüfsubstanz, die eine statistisch signifikante Wirkung ($p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrolle aufweist

Anmerkung 1 zum Begriff: In dieser Prüfung wird die LOEC als Masse der Prüfsubstanz je Trockenmasse des zu prüfenden Bodens angegeben. Alle Prüfkonzentrationen über der LOEC sollten üblicherweise eine Wirkung zeigen, die sich statistisch von der Kontrolle unterscheidet.

3.6

LOER, en: lowest observed effect rate

geringste Rate, bei der eine Wirkung zu beobachten ist

niedrigste Rate eines verunreinigten Bodens in einem *Kontrollboden* (3.11), die im Vergleich zur Kontrolle eine statistisch signifikante Wirkung hat ($p < 0,05$)

3.7

NOEC, en: no observed effect concentration

höchste Konzentration ohne statistisch signifikante Wirkung

höchste Konzentration einer Prüfsubstanz, die gleich unterhalb der *LOEC* (3.5) liegt, bei der im Vergleich zur Kontrolle keine statistisch signifikante Wirkung beobachtet wird

Anmerkung 1 zum Begriff: In dieser Prüfung zeigt die der NOEC entsprechende Konzentration keine statistisch signifikante Wirkung ($p < 0,05$) über eine festgelegte Kontaktzeit im Vergleich zur Kontrolle.

3.8

NOER, en: no observed effect rate

höchste Rate ohne statistisch signifikante Wirkung

höchste Rate des zu prüfenden verunreinigten Bodens unmittelbar unterhalb der *LOER* (3.6), bei der im Vergleich zur Kontrolle keine statistisch signifikante Wirkung beobachtet wird

3.9

Referenzboden

nicht verunreinigter Boden, der vergleichbare Eigenschaften (Nährstoffkonzentrationen, pH-Wert, Gehalt an organischem Kohlenstoff und Gefüge) wie der zu prüfende Boden aufweist

3.10

Standardboden

Freilandboden oder künstlicher Boden, dessen wesentliche Eigenschaften (pH-Wert, Gefüge, Gehalt an organischer Substanz) innerhalb eines bekannten Bereichs liegen

BEISPIEL Eurosoils, künstlicher Boden, LUFA-Standardboden.

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Eigenschaften des Standardbodens können von denen des zu prüfenden Bodens abweichen.

3.11

Kontrollboden

Referenzboden (3.9) oder *Standardboden* (3.10), der als Kontrolle und als Medium für die Herstellung der Verdünnungsreihen mit den zu prüfenden Böden oder einer Referenzsubstanz verwendet wird, der die Validitätskriterien erfüllt

Anmerkung 1 zum Begriff: Bevor ein natürlicher Boden für eine Hauptprüfung verwendet wird, ist es ratsam nachzuweisen, dass dieser für eine Prüfung geeignet ist und die Validitätskriterien erfüllt.

3.12

Prüfmischung

Mischung von verunreinigtem Boden oder der Prüfsubstanz (z. B. Chemikalie, Bio-Feststoffe, Abfall) mit dem *Kontrollboden* (3.11)

3.13

Prüfmischungs-Verhältnis

Verhältnis zwischen dem zu prüfenden Boden und dem *Kontrollboden* (3.11.) in einer *Prüfmischung* (3.12)

4 Kurzbeschreibung

Die Wirkungen auf die Reproduktionsleistung von 10 Tage bis 12 Tage alten, dem zu prüfenden Boden exponierten Collembolen (*F. candida*) werden mit denen verglichen, die in einem Kontrollboden beobachtet wurden. Dabei werden, falls zutreffend, die Wirkungen durch Kontakt mit einer Prüfmischung von verunreinigtem Boden und Kontrollboden oder gegenüber einem Konzentrationsbereich einer in einen Kontrollboden gemischten Prüfsubstanz bestimmt. Die Prüfmischungen werden zu Prüfbeginn hergestellt und innerhalb des Prüfzeitraumes nicht erneuert.

Die Collembolen werden so lange inkubiert, bis nach Erreichen der Geschlechtsreife der adulten Tiere die Eiablage erfolgt ist und die geschlüpften Nachkommen (F_1) gezählt sind. Üblicherweise schlüpfen die Nachkommen nach 28 Tagen in den Kontrollversuchen. Die aus den Prüfungen erhaltenen Ergebnisse werden mit einer Kontrolle verglichen oder, falls zutreffend, für die Bestimmung der Konzentrationen verwendet, die keine Wirkungen auf die Mortalität und Reproduktion (NOER/NOEC) hervorrufen, und für die Konzentration, die x % Reduzierung der aus den Eiern geschlüpften juvenilen Tiere verglichen mit der Kontrolle (ERx/ECx, 28 Tage) ergibt.

Bei der Prüfung einer Konzentrationsreihe weisen alle Prüfverdünnungen/-konzentrationen oberhalb der LOER/LOEC eine schädigende Wirkung auf, die gleich oder größer ist als die bei der LOER/LOEC beobachtete Wirkung. Besteht keine Vorkenntnis über die voraussichtlich wirksame Konzentration des zu prüfenden Bodens oder der Prüfsubstanz, ist es zweckmäßig, den Versuch in zwei Schritten durchzuführen:

- ein Versuch zur akuten Toxizität (Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs) wird durchgeführt, um eine Angabe zur wirksamen Verdünnung/Konzentration zu erhalten, und zur Verdünnung/Konzentra-

tion, die keine Mortalität (NOER/NOEC) ergibt. Anschließend können die für die Hauptprüfung zu verwendenden Verdünnungen/Konzentrationen ausgewählt werden;

- eine Hauptprüfung in Bezug auf die Reproduktionsleistung bestimmt die subletalen Wirkungen (der Verdünnungen) des verunreinigten Bodens oder der Konzentration einer Substanz, die nach gleichmäßigem Einmischen in den Standardboden zu keinen signifikanten Wirkungen auf die Anzahl der aus den Eiern geschlüpften Nachkommen im Vergleich zur Kontrolle (NOER/NOEC) führt, sowie der niedrigsten wirksamen Konzentration (LOER/LOEC).

Ein Referenzboden muss verwendet werden, um den geeigneten Status der Prüfpopulation nachzuweisen und Fehlinterpretation der Ergebnisse zu vermeiden.

5 Reagenzien und Materialien

5.1 Biologisches Material, die Prüfung wird mit juvenilen, 10 Tage bis 12 Tage alten Springschwänzen der Art *Folsomia candida* Willem durchgeführt (zur Synchronisation der Zucht siehe Abschnitt A.1).

5.2 Prüfmischung, die aus einem im Freiland entnommenen Boden, Abfallmaterial oder Kontrollboden mit Zugabe einer Prüfsubstanz bestehen kann.

5.2.1 Freilandboden oder Abfall.

Die Probe(n) kann (können) ein im Freiland entnommener Boden von einem industriellen, landwirtschaftlichen oder einem anderen Standort mit Prüf Anlass sein oder aus Abfallmaterialien (z. B. Baggergut, kommunaler Schlamm aus einer Kläranlage, Kompostmaterial oder Stalldung) bestehen, die für eine mögliche Landdeponie in Betracht kommen.

Die Freilandböden für die Prüfung sind durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 4 mm zu geben, um grobkörnige Anteile zu entfernen, und gründlich zu durchmischen. Falls notwendig, darf der Boden vor dem Sieben ohne Erwärmung luftgetrocknet werden. Die Lagerung der zu prüfenden Böden sollte so kurz wie möglich sein. Der Boden muss nach ISO 18400-206 in Behältern gelagert werden, die die Verluste der Bodenverunreinigungen durch Verflüchtigung und Sorption in die Behälterwände gering halten. Wurden die Böden oder Prüfmischungen gelagert, dann sollten sie unmittelbar vor der Verwendung ein zweites Mal gemischt werden. Der pH-Wert des Bodens sollte nicht geändert werden, da dies die Bioverfügbarkeit der Bodenverunreinigungen beeinflussen kann.

Für die Auswertung der Prüfergebnisse müssen die folgenden Eigenschaften für jede von einer Freilandfläche entnommene Bodenprobe bestimmt werden:

- a) pH-Wert nach ISO 10390;
- b) Gefüge (Sand, Lehm, Schluff) nach ISO 11277;
- c) Wassergehalt nach ISO 11465;
- d) Wasserhaltekapazität nach Anhang B;
- e) Kationenaustauschkapazität nach ISO 11260;
- f) organischer Kohlenstoff nach ISO 10694;
- g) prozentualer Anteil des beim Sieben mit einer Maschenweite von 4 mm entfernten Materials (mineralische und organische Stoffe).

Die Wasserhaltekapazität aller bei der Prüfung verwendeten Mischungen sollte ebenfalls gemessen werden.

5.2.2 Kontrollboden, entweder ein Referenzboden oder ein Standardboden, der die Anwesenheit von Collembohlen erlaubt. Kontrollboden und der Boden für die Verdünnungsreihen dürfen sich in der gleichen Prüfung nicht unterscheiden (entweder Referenz- oder Standardboden).

- a) Sind Referenzböden von nicht verunreinigten Flächen in der Nähe eines verunreinigten Standortes verfügbar, sollten sie wie die zu prüfenden Böden behandelt und charakterisiert werden. Wenn eine toxische Verunreinigung oder ungewöhnliche Bodeneigenschaften nicht ausgeschlossen werden können, sollten Standardkontrollböden bevorzugt werden.
- b) Für die Prüfung der Wirkungen von Substanzen, die in den Boden eingemischt werden, sind Standardböden (z. B. künstlicher Boden, LUFA) als Prüfsubstrat zu verwenden. Die Eigenschaften des im Freiland entnommenen Standardbodens müssen aufgezeichnet werden.

Das als „künstlicher Boden“ bezeichnete Substrat kann als ein Standardboden verwendet werden und besitzt die folgende Zusammensetzung:

- fein gemahlener Sphagnum-Torf [eine Korngröße von (2 ± 1) mm ist ausreichend] ohne sichtbare Pflanzenreste (10 % Massenanteil bezogen auf die Trockenmasse)
- Kaolin (mit mindestens 30 % Kaolinit) (20 % Massenanteil bezogen auf die Trockenmasse)
- Industrie-Quarzsand (hauptsächlich Feinsand, der zu mehr als 50 % eine Korngröße von 0,05 mm bis 0,2 mm aufweist) (69 % Massenanteil bezogen auf die Trockenmasse)

Um einen pH-Wert auf $6,0 \pm 0,5$ einzustellen, sind etwa 0,3 % bis 1,0 % Calciumcarbonat (CaCO_3 , pulverisiert, analysenrein) notwendig. Weitere Hinweise zur Vorgehensweise bei der Einstellung des pH-Werts künstlicher Böden sind in Anhang C zu finden.

ANMERKUNG 1 Unter Berücksichtigung der Eigenschaften hochunpolarer ($\log K_{ow} > 2$) oder ionisierender Substanzen hat sich erwiesen, dass 5 % Torf die gewünschte Struktur des künstlichen Bodens aufrechterhalten.

ANMERKUNG 2 Es wurde nachgewiesen, dass *F. candida* bei Prüfung in Freilandböden mit geringerem Gehalt an organischem Kohlenstoff (z. B. 2,7 %) sogar hinsichtlich der Reproduktionsleistung mit den Gültigkeitskriterien entsprechen kann, und es gibt Erfahrungen, dass das in künstlichen Böden mit 5 % Torf erreicht werden kann. Deshalb ist es vor Verwendung eines derartigen Bodens in einer Hauptprüfung nicht notwendig, die Eignung des künstlichen Bodens für die Prüfung nachzuweisen, um die Einhaltung der Gültigkeitskriterien zu ermöglichen, sofern nicht die Torfgehalte geringer sind als die vorstehend genannten.

Der künstliche Boden ist mindestens drei Tage vor Prüfbeginn herzustellen, indem die vorstehend aufgeführten trockenen Bestandteile in einem großen Labormischer durchmischt werden. Ein Teil des erforderlichen deionisierten Wassers ist während des Mischens hinzuzufügen. Das für das Einbringen der Prüfsubstanz erforderliche Wasser sollte berücksichtigt werden. Die erforderliche Menge an Calciumcarbonat kann sich abhängig von den Eigenschaften der einzelnen Charge des Sphagnum-Torfes ändern und sollte unmittelbar vor der Prüfung durch Messung von Teilproben bestimmt werden. Der gemischte künstliche Boden ist bei Raumtemperatur für mindestens zwei Tage zu lagern, um den Säuregehalt ins Gleichgewicht zu bringen. Zur Bestimmung des pH-Wertes und der maximalen Wasserhaltekapazität ist der trockene künstliche Boden durch Zugabe von deionisiertem Wasser für einen oder zwei Tage vor der Prüfung anzufeuchten, bis die Hälfte des erforderlichen Wasseranteils von 40 % bis 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität erreicht ist.

Die gesamte Wasserhaltekapazität muss entsprechend Anhang B und der pH-Wert nach ISO 10390 bestimmt werden.

5.3 Futter.

Als eine geeignete Futterquelle wird eine ausreichende Menge, z. B. 2 mg bis 10 mg, granuliert getrocknete Bäckerhefe, handelsüblich für die Verwendung im Haushalt, bei Prüfbeginn und nach etwa zwei Wochen zu jedem Gefäß gegeben.