

DIN EN ISO 11268-2

ICS 13.080.30

Ersatz für
DIN ISO 11268-2:2000-03

**Bodenbeschaffenheit –
Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer –
Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung von
Eisenia fetida/Eisenia andrei (ISO 11268-2:2012);
Deutsche Fassung EN ISO 11268-2:2015**

Soil quality –
Effects of pollutants on earthworms –
Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*
(ISO 11268-2:2012);
German version EN ISO 11268-2:2015

Qualité du sol –
Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre –
Partie 2: Détermination des effets sur la reproduction de *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*
(ISO 11268-2:2012);
Version allemande EN ISO 11268-2:2015

Gesamtumfang 31 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 11268-2:2012 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 11268-2:2015 durch das Technische Komitee CEN/TC 345 „Charakterisierung von Böden“ übernommen, dessen Sekretariat vom NEN (Niederlande) gehalten wird.

Es ist erforderlich, bei den Arbeiten nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Unterausschuss NA 119-01-02-04 UA „Biologische Verfahren“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-02 AA „Abfall- und Bodenuntersuchung“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

In der Reihe ISO 11268 existieren folgende Teile unter dem Haupttitel *Soil quality — Effects of pollutants on earthworms*:

- *Part 1: Determination of acute toxicity to Eisenia fetida/Eisenia andrei*
- *Part 2: Determination of effects on reproduction of Eisenia fetida/Eisenia andrei*
- *Part 3: Guidance on the determination of effects in field situations*

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

ISO 10381-6	siehe	DIN ISO 10381-6
ISO 10390	siehe	DIN ISO 10390
ISO 10694	siehe	DIN EN 15936
ISO 11260	siehe	DIN EN ISO 11260
ISO 11268-1	siehe	DIN EN ISO 11268-1
ISO 11277	siehe	DIN ISO 11277
ISO 11465	siehe	DIN EN 15934
ISO 15799	siehe	DIN ISO 15799
ISO 17616	siehe	DIN ISO 17616

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 11268-2:2000-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) als Prüforganismus *Eisenia andrei* aufgenommen;
- b) Borsäure als Referenzsubstanz aufgenommen;
- c) Abschnitt 10 „Statische Analyse“ aufgenommen;
- d) Anhang A „Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien auf Regenwürmer unter tropischen Bedingungen“ aufgenommen;
- e) Anhänge D (Laborversuch zu sublethalen Wirkungen von Pflanzenschutzmitteln) und E (Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung von Regenwürmern) gestrichen;
- f) E.4 (Anhang F (alt)) „Ergebnisse von Prüfungen mit der als Referenzsubstanz eingesetzten Borsäure“ ergänzt;
- g) die Norm redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN ISO 11268-2: 2000-03

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN EN 15934, *Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall — Berechnung des Trockenmassenanteils nach Bestimmung des Trockenrückstands oder des Wassergehalts*

DIN EN 15936, *Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall — Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) mittels trockener Verbrennung*

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

DIN EN ISO 11268-1, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer — Teil 1: Bestimmung der akuten Toxizität auf Eisenia fetida/Eisenia andrei*

DIN ISO 10381-6, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 6: Anleitung zur Entnahme, Behandlung und Lagerung von Boden unter aeroben Bedingungen für die Beurteilung mikrobiologischer Prozesse sowie der Biomasse und der Diversität unter Laboratoriumsbedingungen*

DIN ISO 10390, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Wertes*

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

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

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

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Bodenbeschaffenheit —
Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer —
Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung
von *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*
(ISO 11268-2:2012)

Soil quality —
Effects of pollutants on earthworms —
Part 2: Determination of effects on reproduction of
Eisenia fetida/*Eisenia andrei*
(ISO 11268-2:2012)

Qualité du sol —
Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre —
Partie 2: Détermination des effets sur la reproduction de
Eisenia fetida/*Eisenia andrei*
(ISO 11268-2:2012)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 6. August 2015 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 Management-Zentrum des CEN-CENELEC 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, 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.



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

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

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort.....	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich.....	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung.....	7
5 Reagenzien und Material.....	8
6 Geräte.....	10
7 Durchführung.....	10
7.1 Prüfaufbau.....	10
7.2 Herstellung der Prüfmischung.....	11
7.3 Zugabe der Regenwürmer.....	13
7.4 Prüfbedingungen und Messungen	13
7.5 Referenzsubstanz.....	14
8 Berechnung und Angabe der Ergebnisse.....	14
8.1 Berechnung.....	14
8.2 Angabe der Ergebnisse	14
9 Gültigkeit der Ergebnisse	14
10 Statistische Analyse.....	15
10.1 Allgemeines.....	15
10.2 Einzel-Konzentrationsprüfungen	15
10.3 Mehrfach-Konzentrationsprüfungen.....	16
11 Prüfbericht	17
Anhang A (informativ) Bestimmung der chronischen Toxizität von Chemikalien auf Regenwürmer unter tropischen Bedingungen	18
A.1 Allgemeines.....	18
A.2 Änderungen der Abschnitte 3, 5, 6 und des Anhangs B	18
Anhang B (informativ) Anzucht von <i>Eisenia fetida</i> und <i>Eisenia andrei</i>	20
Anhang C (informativ) Bestimmung der Wasserhaltekapazität von künstlichem Boden	21
C.1 Allgemeines.....	21
C.2 Geräte.....	21
C.3 Durchführung.....	21
C.4 Berechnung der Wasserhaltekapazität (WHC)	21
Anhang D (informativ) Auszähltechniken für die aus den Kokons geschlüpften juvenilen Würmer	22
Anhang E (informativ) Leistungsfähigkeit des Verfahrens	23
E.1 Allgemeines.....	23
E.2 Kriterien für die Gültigkeit des Verfahrens.....	23
E.3 Empfindlichkeit des Prüfsystems	23
E.4 Ergebnisse von Prüfungen mit Borsäure als Referenzsubstanz	24
Literaturhinweise	26

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 11268-2:2012 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 11268-2:2015 durch das Technische Komitee CEN/TC 345 „Charakterisierung von Böden“ übernommen, dessen Sekretariat vom NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2016, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2016 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

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

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 11268-2:2012 wurde vom CEN als EN ISO 11268-2:2015 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Ökotoxikologische Prüfsysteme werden angewendet, um Informationen über die Wirkungen von Kontaminanten im Boden zu erhalten, und sie sind zur Ergänzung der herkömmlichen chemischen Analysen (siehe ISO 15799 [34] und ISO 17616 [35]) vorgesehen. ISO 15799 enthält eine Aufstellung und eine kurze Charakterisierung der empfohlenen und genormten Prüfsysteme und ISO 17616 gibt eine Anleitung zur Auswahl und Bewertung von Biotests. 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. Unter den genormten Prüfsystemen für die Lebensraumfunktion von Böden, in denen Regenwürmer als Indikatororganismen eingesetzt werden, gibt es ein Verfahren zur Bestimmung der akuten Toxizität (d. h. der Mortalität) und ein Verfahren zur Bestimmung der chronischen Toxizität (d. h. der Reproduktion).

Dieser Teil von ISO 11268 beschreibt ein Verfahren, mit dem die akute Toxizität von verunreinigten Böden auf adulte Regenwürmer der Arten *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) und *Eisenia andrei* (André, 1963) bestimmt wird. Optional kann das Verfahren zur Bewertung von Chemikalien, die einem Standardboden (z. B. künstlichen Boden) zugefügt wurden, in Hinsicht auf deren akutes toxisches Potential gegenüber Regenwürmern angewendet werden. Schließlich werden Informationen gegeben, wie dieses Verfahren zur Bewertung von Chemikalien unter tropischen Bedingungen (siehe Anhang A) anzuwenden ist.

Eisenia fetida und *Eisenia andrei* gelten als Vertreter der Bodenfauna und speziell der Regenwürmer. Hintergrundinformationen zur Ökologie der Regenwürmer und zu ihrem Einsatz bei ökotoxikologischen Bewertungen sind verfügbar. Andere Arten, z. B. *Aporrectodea caliginosa*, *Lumbricus rubellus* und *Lumbricus terrestris*, wurden auch schon als Prüforganismen verwendet. Jedoch sind diese und andere Arten im Allgemeinen nicht empfindlicher als die hier verwendeten Arten, es liegen bisher allerdings nur wenige Daten bzw. Erfahrungen für den Einsatz dieser Arten bei der Bodenbewertung vor [16], [17].

Dieser Teil von ISO 11268 wurde unter Berücksichtigung der von der Organisation für wirtschaftliche Entwicklung und Zusammenarbeit [27], [28] und der Europäischen Union [11] herausgegebenen Prüfverfahren erstellt.

WARNUNG — Verunreinigte Böden können unbekannte Gemische von toxischen, mutagenen oder auf andere Art schädlichen Chemikalien oder infektiöse Mikroorganismen enthalten. Berufsbedingte Gesundheitsrisiken können durch Staub oder flüchtige Chemikalien während der Handhabung und Inkubation der verunreinigten Böden auftreten. Es sollten Vorkehrungen getroffen werden, um den Hautkontakt mit ihnen zu vermeiden.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 11268 legt ein Verfahren zur Bewertung der Lebensraumfunktion von Böden und zur Bestimmung der akuten Toxizität von Bodenverunreinigungen und Chemikalien gegenüber *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* bei Aufnahme über die Haut und durch die Nahrung fest. Das Verfahren ist anwendbar auf Böden und Bodenmaterialien von unbekannter Qualität, die z. B. von verunreinigten, landwirtschaftlich beeinflussten oder anderen betroffenen Standorten stammen, oder bei denen es sich um veränderte Böden, Böden nach der Sanierung, oder um Abfallmaterialien handelt.

Die Wirkungen von Substanzen werden in einem Standardboden, vorzugsweise in einer definierten Kunsterde bewertet. Bei verunreinigten Böden werden die Wirkungen auf das Überleben im zu prüfenden Boden und in einem Kontrollboden bestimmt. Entsprechend der Zielsetzung der Studie sollten die Kontrolle und das für die Herstellung der Verdünnungsreihen des verunreinigten Bodens verwendete Substrat entweder ein mit der zu prüfenden Bodenprobe vergleichbarer, nicht verunreinigter Boden (Referenzboden) oder ein Standardboden (z. B. Kunsterde) sein.

Dieses Dokument enthält Informationen, mit deren Hilfe dieses Verfahren zur Prüfung von Chemikalien sowohl unter gemäßigten als auch tropischen Bedingungen angewendet werden kann.

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 bei 25 °C 0,013 3 Pa überschreitet.

Dieses Verfahren berücksichtigt nicht den möglichen Abbau der Substanz während der Prüfung.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente 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 10381-6, *Soil quality — Sampling — Part 6: 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 10390, *Soil quality — 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 11268-1, *Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei**

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*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Verunreinigung

Substanz oder Wirkstoff, die bzw. das im Boden als ein Ergebnis menschlicher Tätigkeit vorhanden ist
[ISO 15176:2002]

3.2

Wachstum

Zunahme der Biomasse (d. h. der Frischmasse der Organismen)

ANMERKUNG Es wird in Prozent der Frischmasse der Organismen bei Versuchsbeginn angegeben.

3.3

Reproduktion

Reproduktionsleistung

Zunahme der durchschnittlichen Anzahl der Nachkommen je Prüfbehälter nach acht Wochen unter den festgelegten Prüfbedingungen

3.4

ERx (Wirkungsrate) oder ECx (Wirkungskonzentration)

x % Wirkungsrate oder -konzentration eines Prüfsubstrats oder einer Prüfsubstanz, bei der die Reproduktion um x % reduziert ist im Vergleich zur Kontrolle

3.5

Grenzwertprüfung

Prüfung, die aus einem Kontrollboden sowie einer in den Kontrollboden eingemischten Konzentration einer Prüfsubstanz bzw. der zu prüfenden unverdünnten Bodenprobe besteht, wobei jeweils mindestens vier Replikate je Prüfglied verwendet werden

3.6

geringste Rate (LOER) oder geringste Konzentration (LOEC), bei der eine Wirkung zu beobachten ist

(en: lowest observed effect rate/concentration)

niedrigste Rate eines zu prüfenden Bodens in einem Kontrollboden oder Konzentration einer Substanz, bei der eine statistisch signifikante Wirkung beobachtet wird

Anmerkung In dieser Prüfung wird die LOEC als Prozentwert der Trockenmasse des zu prüfenden Bodens je Trockenmasse der Prüfmischung angegeben. Alle Prüfkonzentrationen über der LOEC haben eine nachteilige Wirkung, die gleich oder größer ist als die, die bei der LOEC vorliegt. Wenn diese Bedingung nicht erfüllt werden kann, sollte eine Erklärung gegeben werden, wie die LOEC und NOEC (3.7) bestimmt wurden.

3.7

NOER (höchste Rate) oder NOEC (höchste Konzentration) ohne statistisch signifikante Wirkung

(en: no observed effect rate/concentration)

geringste Rate eines zu prüfenden Bodens, die gleich unterhalb der LOER/LOEC liegt oder höchste Konzentration einer Prüfsubstanz, die keine statistisch signifikante letale oder andere Wirkung, wie verminderte Reproduktion oder Masseänderung (Fehlerwahrscheinlichkeit $p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrolle zeigt

Anmerkung In dieser Prüfung wird die NOEC als Prozentwert der Trockenmasse des zu prüfenden Bodens je Trockenmasse der Prüfmischung angegeben.

3.8

Referenzboden

nicht verunreinigter standortspezifischer Boden (z. B. in der Nähe eines verunreinigten Standortes entnommen), der ähnliche Eigenschaften aufweist wie der zu prüfende Boden (Nährstoffkonzentrationen, pH-Wert, Gehalt an organischem Kohlenstoff und Textur)