

DIN EN ISO 16198

ICS 13.080.30

**Bodenbeschaffenheit –
Pflanzenbasierter Test zur Beurteilung der umweltrelevanten
Bioverfügbarkeit von Spurenelementen für Pflanzen (ISO 16198:2015);
Deutsche Fassung EN ISO 16198:2015**

Soil quality –

Plant-based test to assess the environmental bioavailability of trace elements to plants
(ISO 16198:2015);

German version EN ISO 16198:2015

Qualité du sol –

Test végétal pour l'évaluation de la biodisponibilité environnementale des éléments traces
pour les végétaux (ISO 16198:2015);

Version allemande EN ISO 16198:2015

Gesamtumfang 52 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 16198:2015) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 345 „Charakterisierung von Böden“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN (Niederlande) gehalten wird.

Die vorbereitenden Arbeiten wurden von der Arbeitsgruppe „Bio-availability“ (WG 8) des ISO/TC 190/SC 7 durchgeführt, deren Federführung beim NEN (Sekretariat: Niederlande) lag.

Das zuständige deutsche Normungsgremium 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).

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

ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2
ISO 10390	siehe	DIN EN 15933
ISO 10693	siehe	DIN EN ISO 10693
ISO 10694	siehe	DIN EN 15936
ISO 11047	siehe	DIN ISO 11047
ISO 11074	siehe	E DIN EN ISO 11074
ISO 11269-1	siehe	DIN EN ISO 11269-1
ISO 11269-2	siehe	DIN EN ISO 11269-2
ISO 11277	siehe	DIN ISO 11277
ISO 11465	siehe	DIN EN 15934
ISO 13528	siehe	DIN ISO 13528
ISO 14869-1	siehe	DIN ISO 14869-1
ISO 17294-2	siehe	DIN EN ISO 17294-2
ISO 17402	siehe	DIN EN ISO 17402
ISO 19730	siehe	DIN ISO 19730
ISO 20280	siehe	DIN ISO 20280
ISO 22030	siehe	DIN EN ISO 22030
ISO 22036	siehe	DIN ISO 22036

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN 15933, *Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden — Bestimmung des pH-Werts*

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 10693, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Carbonatgehaltes — Volumetrisches Verfahren*

E DIN EN ISO 11074, *Bodenbeschaffenheit — Wörterbuch*

DIN EN ISO 11269-1, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora — Teil 1: Verfahren zur Messung der Wurzelwachstumshemmung*

DIN EN ISO 11269-2, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora — Teil 2: Wirkung von verunreinigten Böden auf Saataufgang und frühes Wachstum höherer Pflanzen*

DIN EN ISO 17294-2, *Wasserbeschaffenheit — Anwendung der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) — Teil 2: Bestimmung von 62 Elementen*

DIN EN ISO 17402, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung zur Auswahl und Anwendung von Verfahren für die Bewertung der Bioverfügbarkeit von Kontaminanten im Boden und in Bodenmaterialien*

DIN EN ISO 22030, *Bodenbeschaffenheit — Biologische Verfahren — Chronische Toxizität in höheren Pflanzen*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

DIN ISO 11047, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung von Cadmium, Chrom, Cobalt, Kupfer, Blei, Mangan, Nickel und Zink im Königswasserextrakt — Flammen- und elektrothermisches atomabsorptions-spektrometrisches Verfahren*

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

DIN ISO 13528, *Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche*

DIN ISO 14869-1, *Bodenbeschaffenheit — Aufschlussverfahren zur nachfolgenden Bestimmung von Element-Gesamtgehalten — Teil 1: Aufschluss mit Flusssäure und Perchlorsäure*

DIN ISO 19730, *Bodenbeschaffenheit — Extraktion von Spurenelementen aus Böden mit Ammonium-nitratlösung*

DIN ISO 20280, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung von Arsen, Antimon und Selen in Königswasser-Bodenextrakten mittels elektrothermischer oder Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie*

DIN ISO 22036, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung von Spurenelementen in Bodenextrakten mittels Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-AES)*

Deutsche Fassung

Bodenbeschaffenheit —
Pflanzenbasierter Test zur Beurteilung der umweltrelevanten
Bioverfügbarkeit von Spurenelementen für Pflanzen
(ISO 16198:2015)

Soil quality —
Plant-based test to assess the environmental bioavailability
of trace elements to plants (ISO 16198:2015)

Qualité du sol —
Test végétal pour l'évaluation de la biodisponibilité
environnementale des éléments traces pour les végétaux
(ISO 16198:2015)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 24. Oktober 2014 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
Vorwort	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
5 Laborgeräte	10
6 Reagenzien	10
6.1 Allgemeines	10
7 Biologisches System und Wachstumsvorrichtung.....	11
7.1 Pflanzenarten	11
7.2 Biotest-Prüfeinrichtung.....	11
7.3 Zusammensetzung der Nährlösungen	14
7.4 Klimatische Bedingungen in der Wachstumskammer.....	15
8 Vorbehandlung und Analyse des Bodens oder der Bodenmaterialprobe.....	15
8.1 Probengröße und Reduzierung der Korngröße.....	15
8.2 Analyse	15
9 Versuchsdurchführung und analytisches Verfahren.....	16
9.1 Überblick über das Verfahren.....	16
9.2 Auswahl und Vorbereitung des Saatguts	16
9.3 Vorkulturzeit: Keimung und Vorkultur in Hydrokulturen	16
9.4 Vorbereitung und Inkubation des Bodens oder Bodenmaterials	17
9.5 Prüfkulturzeit: Pflanzenwachstum im Kontakt mit Boden oder Bodenmaterial	18
9.6 Ernte der Pflanzen	18
9.7 Mahlen und Aufschluss von Sprossen und Wurzeln.....	18
9.8 Analytische Bestimmung.....	19
10 Gültigkeit der Prüfung.....	19
11 Bewertung der Ergebnisse	20
11.1 Bestimmung der Konzentrationen an Spurenelementen und des Aufnahme-Fluxes in Pflanzen	20
11.2 Darstellung der Daten	21
11.3 Angabe der Ergebnisse.....	21
12 Statistische Analyse.....	22
12.1 Allgemeines.....	22
12.2 Pflanzliche Biomassen.....	22
12.3 Endpunkte der Bioverfügbarkeit.....	22
13 Prüfbericht.....	23
Anhang A (informativ) An das Biotest-Verfahren angepasste Pflanzenarten	24
Anhang B (informativ) Technische Zeichnungen der verschiedenen Einzelteile des Biotests	26
B.1 Pflanztopf.....	26
B.2 Vorkulturzeit.....	27
B.3 Prüfkulturzeit.....	28

Anhang C (informativ) Saatgutauswahl und Saatgutdichte im Pflanztopf für eine Reihe von Arten, die mit der genormten Versuchsdurchführung geprüft wurden	29
Anhang D (informativ) Aufschluss und Analyse von Pflanzenproben	31
D.1 Beispiele für den Aufschluss von Pflanzenproben	31
D.2 Konzentrationsbereich der Spurenelemente in Pflanzenaufschlüssen	31
Anhang E (informativ) Bereich der Biomassen und Menge der Spurenelemente in Kontroll-Pflanztöpfen	33
Anhang F (informativ) Ringversuch	34
F.1 Material und Aufbau des Ringversuchs	34
F.2 Ergebnisse des Ringversuchs und Auswertung	35
Literaturhinweise	47

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 16198:2015) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 345 „Charakterisierung von Böden“ erarbeitet, 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 Juli 2015, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Juli 2015 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 16198:2015 wurde vom CEN als EN ISO 16198:2015 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Eine der Hauptzielstellungen der ISO 17402 besteht darin, einen begrifflichen Rahmen der Bioverfügbarkeit von Verunreinigungen im Boden und in Bodenmaterialien festzulegen und eine Anleitung zur Auswahl von Verfahren bereitzustellen, die zur Messung der Bioverfügbarkeit genormt werden können. Die Bioverfügbarkeit wurde in Übereinstimmung mit den drei aufeinanderfolgenden Schritten festgelegt:

- a) „umweltrelevante Verfügbarkeit“,
- b) „umweltrelevante Bioverfügbarkeit“,
- c) „toxikologische Bioverfügbarkeit“.

Die umweltrelevante Bioverfügbarkeit ist demzufolge eine Voraussetzung für die Bewertung der toxikologischen Bioverfügbarkeit und steht in einem direkten Zusammenhang mit der Wirkung von Schadstoffen auf die Hauptfunktionen des Bodens im Ökosystem und ganz besonders auf die Lebensraum- und Rückhaltefunktionen.

Die umweltrelevante Bioverfügbarkeit kann entweder mit chemischen oder biologischen Verfahren ermittelt werden. Im Fall von Spurenelementen sind chemische Verfahren gewöhnlich am billigsten, leicht durchzuführen, und einige Verfahren sind bereits auf nationaler oder internationaler Ebene genormt (z. B. ISO 19730). Chemische Verfahren, die genau genommen die umweltrelevante Verfügbarkeit in Böden messen, müssen jedoch, bevor sie als Indikatoren der umweltrelevanten Bioverfügbarkeit angewendet werden, mit biologischen Messungen korrelieren. Unabhängig davon, welche chemischen Verfahren angewendet werden, ist keines als solches dafür ausgelegt, die bei den verschiedenen Pflanzenarten oder -sorten beobachtete Vielfalt der Reaktionen zu behandeln, die zurückgeführt werden können auf: a) das Aufnahmeverhalten der Pflanzen (d. h., sensitive, tolerante, Akkumulator- oder Hyperakkumulatorpflanzen von Spurenelementen) und/oder b) die Fähigkeit von Pflanzen, die biologischen, physikalischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften ihrer „biologisch beeinflussten Zone“ an der Boden-Wurzel-Grenzfläche, d. h. der sogenannten Rhizosphäre, zu verändern. Alternativ könnte die direkte Anwendung chemischer Verfahren auf die Rhizosphäre empfohlen werden, für eine routinemäßige Anwendung ist die Probenahme der Rhizosphäre jedoch zu aufwendig.

Bei den biologischen Verfahren entfallen vier genormte Biotests auf Rhizosphärenprozesse, die sich auf im Prüfboden gewachsene Pflanzen stützen (ISO 11269-1, ISO 11269-2, ISO 17126 und ISO 22030). Diese Verfahren wurden jedoch nur für Vorhersagen der Phytotoxizität von Spurenelementen, d. h. die toxikologische Bioverfügbarkeit, ausgelegt. Die Wurzeln wachsen bei diesen Biotests direkt in den Boden, und es ist ein aufwendiges Waschverfahren erforderlich, um die in den Wurzeln angereicherten Spurenelemente zuverlässig zu bestimmen. Im Vergleich mit der in der gesamten Pflanze, einschließlich Wurzeln, angereicherten Menge ist tatsächlich die Menge der in den Sprossen von nicht akkumulierenden Pflanzenarten angereicherten Spurenelemente nicht ausreichend sensitiv, um die umweltrelevante Bioverfügbarkeit von Spurenelementen zu bewerten. Folglich besteht nach wie vor eine Notwendigkeit, auf Rhizosphärenprozesse gestützte biologische Verfahren zu entwickeln, die die Einbeziehung des Wurzelkompartiments ermöglichen, um die umweltrelevante Bioverfügbarkeit von Spurenelementen für Pflanzen richtig einzuschätzen.

Daraus folgend wird in der vorliegenden Internationalen Norm ein Biotest vorgestellt, der auf dem Wachstum der Wurzeln basiert, die Kontakt zum Boden haben, ohne ihn jedoch zu durchdringen. Obwohl diese Versuchsplanung teilweise künstlich ist, ermöglicht sie einen aussagekräftigen Vergleich der Bioverfügbarkeit von Spurenelementen zwischen den geprüften Böden. Zusätzlich kann der gemessene Endpunkt direkter zur Messung der Umweltverfügbarkeit ins Verhältnis gesetzt werden als jeder andere Endpunkt, der auf der Messung der Toxizität beruht.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt den pflanzenbasierten Test fest, im Folgenden Biotest genannt. Er ermöglicht die Bestimmung der umweltrelevanten Bioverfügbarkeit von Spurenelementen für Pflanzen, entweder grundsätzlich als die Konzentration in Sprossen und Wurzeln oder integrativer als Nettoaufnahme-Flux in Pflanzen. Die Durchführung des Biotests umfasst zwei aufeinanderfolgende Schritte: (i) ein Vor-Wachstum von Pflanzen in Hydrokulturen und (ii) ein Wachstum von Pflanzen im Kontakt mit Bodenproben. Die Konzentration in den Sprossen und Wurzeln sowie der Nettoaufnahme-Flux von Spurenelementen in Pflanzen werden am Ende des zweiten Schrittes des Biotests bestimmt.

Dieser Biotest gilt für die Beurteilung der umweltrelevanten Bioverfügbarkeit von Spurenelementen für Pflanzen, insbesondere Kulturpflanzen, in Böden oder Bodenmaterialien unter oxischen Bedingungen unter Berücksichtigung, dass

- in dem genormten Biotest drei Pflanzenarten (Kohl, *Brassica oleracea*; Rohrschwingel, *Festuca arundinacea*; Tomate, *Lycopersicon esculentum*; 7.1) empfohlen werden, zusätzliche Zielpflanzenarten aber auch verwendet werden können (siehe 7.1, Anhang A), und
- der genormte Biotest für einen Bereich von Spurenelementen, einschließlich Arsen (As), Cadmium (Cd), Chrom (Cr), Cobalt (Co), Kupfer (Cu), Blei (Pb), Nickel (Ni) und Zink (Zn) validiert ist, weitere Spurenelemente aber ebenfalls berücksichtigt werden können (siehe Anhang A).

Der Biotest kann auf Böden und Bodenmaterialien, einschließlich Böden, angewendet werden, denen vor oder nach der Probenahme im Gelände Kompost, Schlämme, Abwasser und andere (Abfall-) Materialien zugesetzt wurden.

ANMERKUNG 1 Dieser Biotest ist nicht für die Bewertung der umweltrelevanten Bioverfügbarkeit von Spurenelementen vorgesehen, die zur Verflüchtigung neigen oder aus der Aufnahme resultieren, zu der es z. B. im Anschluss an einen atmosphärischen Niederschlag in den Pflanzenblättern kommt.

ANMERKUNG 2 Dieser Biotest ist nicht für die Bewertung der umweltrelevanten Bioverfügbarkeit von organischen Verunreinigungen für Pflanzen bestimmt. Es könnte ein ähnliches Versuchsverfahren angewendet werden, es ist jedoch die physische Trennung zwischen den Pflanzenwurzeln und dem Boden mithilfe eines Polyamidnetzes anzupassen, um die Sorption organischer Verunreinigungen auf dem Netz zu vermeiden.

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 3696, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO 10390, *Soil quality — Determination of pH*

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

ISO 11269-2, *Soil quality — Determination of the effects of pollutants on soil flora — Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants*

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

Stoff oder Agens, der/das als Ergebnis menschlichen Wirkens im Boden vorhanden ist

[QUELLE: ISO 11074:2005, 3.5.1]

Anmerkung 1 zum Begriff: Diese Definition bedeutet nicht, dass das Vorhandensein der Verunreinigung Schäden verursacht.

3.2

umweltrelevante Verfügbarkeit

Anteil der Verunreinigung, der, durch einen Desorptionsprozess physikalisch-chemisch bedingt, für die Organismen potenziell verfügbar ist

[QUELLE: ISO 17402:2008, 3.4]

3.3

umweltrelevante Bioverfügbarkeit

Anteil der umweltrelevant verfügbaren Verbindung, der von einem Organismus durch einen physiologisch bedingten Prozess aufgenommen wird

[QUELLE: ISO 17402:2008, 3.5]

3.4

Lebensraumfunktion

Eigenschaft des Bodens/Bodenmaterials als Lebensraum für Mikroorganismen, Pflanzen, bodenlebende Tiere und ihre Wechselbeziehungen (Biozönose) zu dienen

[QUELLE: ISO 11074:2005, 3.4.3]

3.5

Spurenelement

chemisches Element, das im Boden mit einer Konzentration von im Allgemeinen weniger als 100 mg kg⁻¹ auftritt

Anmerkung 1 zum Begriff: Entsprechend Literaturhinweis [16] angegeben.

3.6

Rückhaltefunktion

Eigenschaft von Böden/Bodenmaterialien, Schadstoffe so zu adsorbieren, dass sie nicht über den Wasserpfad freigesetzt werden können und keine Verlagerung in die terrestrische Nahrungskette erfolgt

[QUELLE: ISO 11074:2005, 3.4.13]

3.7

Rhizosphäre

durch Wurzelaktivitäten beeinflusstes und lebende Wurzeln umgebendes Bodenvolumen

Anmerkung 1 zum Begriff: Entsprechend Literaturhinweis [17] angegeben.

3.8

Boden

obere Schicht der Erdkruste, die sich durch Witterungseinflüsse sowie physikalisch/chemische und biologische Prozesse verändert. Sie besteht aus mineralischen Teilchen, organischen Stoffen, Wasser, Luft und lebenden Organismen in generischen Bodenhorizonten

[QUELLE: ISO 11074:2005, 2.1.8]

3.9

Bodenmaterial

Material aus Böden, das durch menschliche Tätigkeit verdrängt und/oder verändert wurde, einschließlich Bodenaushub, Baggergut, künstlich hergestellte Böden, behandelte Böden und Verfüllmaterialien

[QUELLE: ISO 17402:2008, 3.16]

3.10

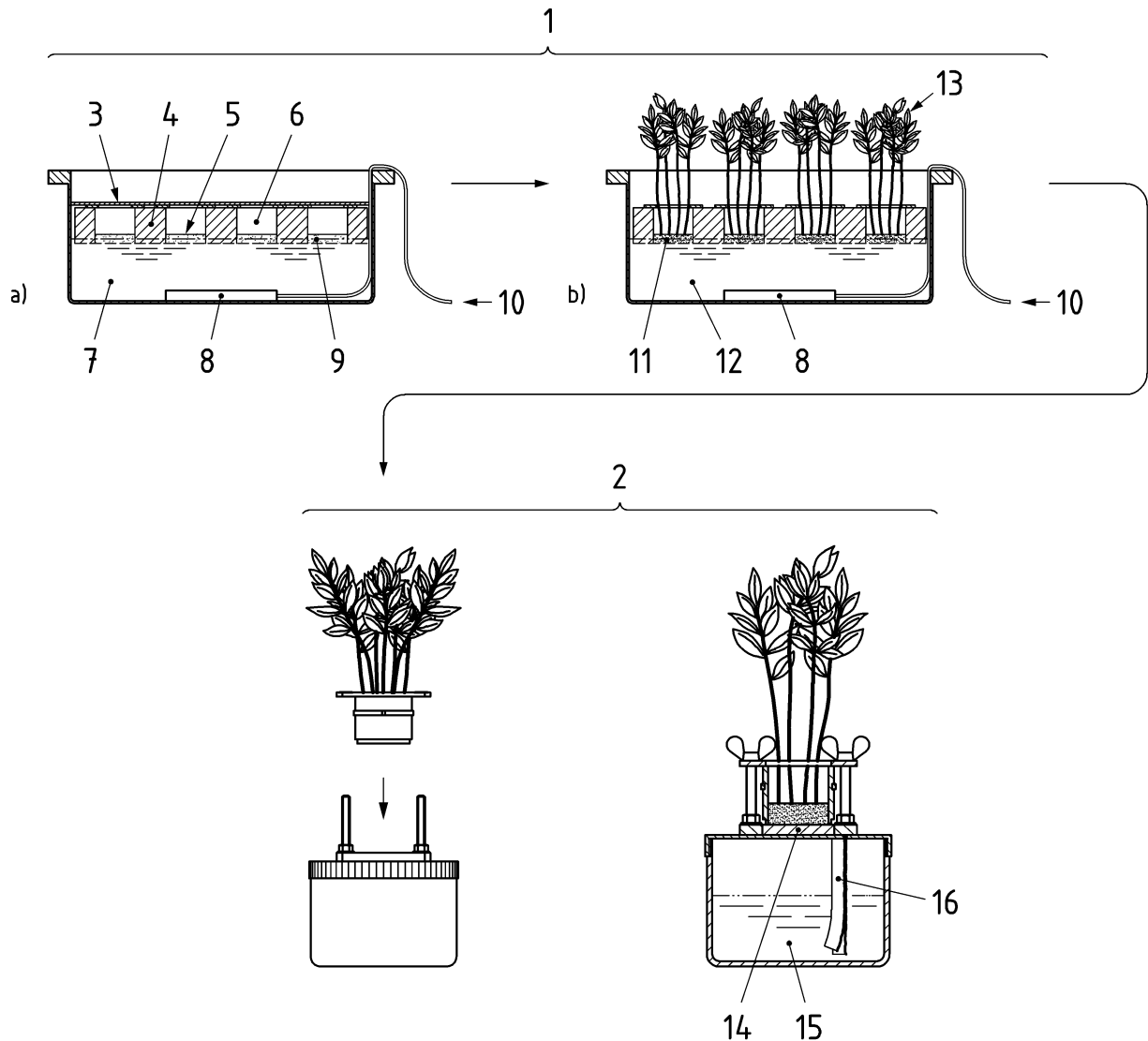
toxikologische Bioverfügbarkeit

innere akkumulierte und/oder mit einer toxischen Wirkung verbundene Konzentration eines Schadstoffes

[QUELLE: ISO 17402:2008, 3.18]

4 Kurzbeschreibung

Diese Internationale Norm beschreibt die experimentelle Durchführung des Biotests, der zuerst durch [18], [19] und [20] entwickelt wurde. Dieser Biotest umfasst zwei aufeinanderfolgende Schritte des Pflanzenwachstums (siehe Bild 1). Während des ersten Schrittes (d. h. Vorkulturzeit) wachsen die Pflanzenkeimlinge 14 Tage lang in Hydrokulturen, um eine ausreichende pflanzliche Biomasse zu erzielen und eine dichte, ebene Wurzelmatte auszubilden. Während des zweiten Schrittes (d. h. Prüfkulturzeit) kommt die Wurzelmatte der vorgezogenen Pflanzen für 8 d mit einer 6 mm dicken Schicht der auf eine Korngröße von 2 mm gesiebten Bodenprobe in Kontakt.



Legende

a	Keimung der Samen (7 d)	8	Luftverteiler
b	Vorkultur der Setzlinge (7 d)	9	Netz mit 30 µm Maschenweite
1	Vorkulturzeit in Hydrokulturen – 14 d	10	Luft
2	Prüfkulturzeit Boden-Pflanzen-Kontakt – 8 d	11	Wurzelmatte
3	Aluminiumfolie	12	Nährlösung 2
4	Schwimmplatte	13	Sprossen
5	Saatgut	14	Bodenschicht (6 mm dick)
6	Pflanztopf	15	Nährlösung 3
7	Nährlösung 1	16	Filterpapierstreifen

Bild 1 — Zweischnittverfahren des Biotests

Am Ende der Vorkulturzeit in Hydrokulturen wird ein Satz Kontrollpflanzen geerntet, um die Pools von Spurenelementen in Pflanzensprossen und Wurzeln vor dem Bodenkontakt zu bestimmen. Am Ende der Prüfkulturzeit werden dann ganze Pflanzen (Sprossen und Wurzeln) geerntet. Die Biomassen und Konzentrationen an Spurenelementen in Sprossen und Wurzeln werden bestimmt. Die Endpunkte des Biotests sind a) die Konzentration an Spurenelementen in Sprossen und Wurzeln am Ende der Prüfkulturzeit und b) der Nettoaufnahme-Flux von Spurenelementen in den ganzen Pflanzen während der Prüfkulturzeit. Der Aufnahme-Flux dürfte, sofern diese Endpunkte üblicherweise korrelieren [21], für die Bioverfügbarkeit von Spurenelementen für Pflanzen während der Prüfkulturzeit (d. h. die Exposition auf geprüften Böden) repräsentativer sein, da umgekehrt die Konzentrationen des Aufnahme-Fluxes den während der Vorkulturzeit aufgenommenen Anteil an Spurenelementen nicht einschließen (11.1).

Da während der Vorkulturzeit das Pflanzenwachstum in der Regel ausreicht, um das durch nachteilige chemikalische Eigenschaften des Bodens oder durch übermäßige Akkumulation von Spurenelementen in der Pflanze hervorgerufene Auftreten phytotoxischer Symptome zu verhindern, ermöglicht der Biotest einen angemessenen Vergleich der Bioverfügbarkeit von Spurenelementen über ein breites Spektrum von Böden einschließlich stark verunreinigter Böden.

5 Laborgeräte

Es ist die folgende Ausrüstung zu verwenden. Die gesamte Ausrüstung, die mit den Proben in Kontakt kommt (Böden, Pflanzen oder Reagenzien), darf Spurenelemente nicht wesentlich adsorbieren und darf die Probe nicht verunreinigen.

5.1 Siebvorrichtung mit einer Nenn-Maschenweite von 2 mm.

5.2 Brechvorrichtung, Backenbrecher und Schneidvorrichtung.

5.3 Waage, mit einer Fehlergrenze von mindestens 100 mg.

5.4 Waage, mit einer Fehlergrenze von mindestens 1 mg.

5.5 Wachstumskammer, geeignet, um die in 7.4 festgelegten spezifischen klimatischen Bedingungen einzuhalten.

5.6 Belüfteter Trockenschrank, geeignet zum Trocknen von Boden oder Bodenmaterial bei 25 °C und von Sprossen und Wurzeln bei 50 °C.

5.7 Schere, mit Schneiden aus Zirkonoxid.

5.8 Mühle und Kugeln, aus Zirkonoxid.

6 Reagenzien

6.1 Allgemeines

Es sind analysenreine Reagenzien mit einer Konzentration der untersuchten Spurenelemente (z. B. As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb und Zn) von kleiner als oder gleich 5 mg kg^{-1} zu verwenden. Es ist Wasser der Qualität 3 nach ISO 3696 zu verwenden.

6.2 Wasser, destilliert oder entmineralisiert, mit einer spezifischen Leitfähigkeit von höchstens $5 \text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$ bei 25 °C und einem pH-Wert innerhalb eines Bereiches von 5,0 bis 7,5.

6.3 Wasserstoffperoxid (H_2O_2 , $34,01 \text{ g mol}^{-1}$).

6.4 Calciumchlorid-Dihydrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $147,07 \text{ g mol}^{-1}$).

6.5 Borsäure (H_3BO_3 , $61,83 \text{ g mol}^{-1}$).

6.6 Calciumnitrat-Tetrahydrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $236,15 \text{ g mol}^{-1}$).

6.7 Kaliumnitrat (KNO_3 , $101,1 \text{ g mol}^{-1}$).

6.8 Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $246,48 \text{ g mol}^{-1}$).

6.9 Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4 , $136,09 \text{ g mol}^{-1}$).

6.10 Ethylendiamintetraessigsäure-Eisen(III)-Natriumsalz (NaFe(III)EDTA , $367,05 \text{ g mol}^{-1}$).

6.11 Kupferchlorid-Dihydrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $170,48 \text{ g mol}^{-1}$).

6.12 Manganchlorid-Tetrahydrat ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $197,91 \text{ g mol}^{-1}$).

6.13 Zinksulfat-Heptahydrat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $287,54 \text{ g mol}^{-1}$).

6.14 Natriummolybdat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $241,95 \text{ g mol}^{-1}$).

7 Biologisches System und Wachstumsvorrichtung

7.1 Pflanzenarten

Die folgenden drei Arten, d. h. Kohl (*B. oleracea*), Rohrschwengel (*F. arundinacea*) und Tomate (*L. esculentum*) sind während des Biotesteinsatzes zu verwenden. Diese drei Pflanzenarten wurden unter nicht akkumulierenden, landwirtschaftlich weitverbreiteten Arten aufgrund ihrer Fähigkeit ausgewählt, gemeinsam die Phytoverfügbarkeit von Spurenelementen (speziell von As, Cd, Cu, Pb und Zn) in Böden zu maximieren, die einen großen Bereich physikalisch-chemischer Eigenschaften und die Herkunft des Spurenelements aufweisen [21]. Für jede der drei Arten werden die folgenden Sorten empfohlen: Casteldard für *B. oleracea*, Calina für *F. arundinacea* und Fline für *L. esculentum*. Allerdings dürfen nur für den Fall, dass die empfohlenen Sorten im Handel nicht erhältlich sind, andere Sorten verwendet werden, sofern diese während der Biotestdauer bei den verschiedenen geprüften Böden ein adäquates Wachstum und eine homogene Wurzelmatte aufweisen. Im Prüfbericht sind die Gründe für die Auswahl anderer als der empfohlenen Sorten genau anzugeben. Die Samen einer bestimmten Sorte, die für eine einzelne Versuchsreihe verwendet werden, müssen aus derselben Charge stammen.

Es können zusätzliche Arten ausgewählt werden, z. B. Arten mit spezifischen physiologischen Merkmalen oder mit einer ökologischen, landwirtschaftlichen oder ökonomischen Bedeutung in bestimmten Regionen der Welt oder für eine bestimmte Standortbewertung, sofern diese Arten während der Biotestdauer bei den verschiedenen geprüften Böden ein adäquates Wachstum und eine homogene Wurzelmatte aufweisen. In Anhang A ist eine Aufstellung von geeigneten, im Biotest anzubauenden Pflanzenarten aufgeführt, die für das genormte Verfahren jedoch nur teilweise validiert sind. Im Prüfbericht sind die Gründe für die Auswahl anderer zusätzlicher Arten genau anzugeben.

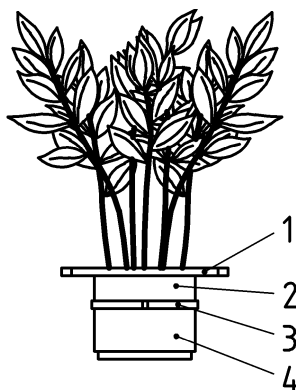
ANMERKUNG 1 Das Biotestverfahren sollte möglichst mit unbehandelten Samen (d. h. nicht mit Pestiziden behandelt) durchgeführt werden. Falls das nicht möglich ist, sind die Gründe im Prüfbericht genau anzugeben.

ANMERKUNG 2 Falls andere, als die empfohlenen Sorten verwendet werden, ist zu beachten, dass dadurch die Biotestmessung auf ähnliche Weise verändert werden kann, wie bei der Verwendung unterschiedlicher Arten.

7.2 Biotest-Prüfeinrichtung

Es ist die folgende Prüfeinrichtung zu verwenden. Die Prüfeinrichtung, die mit der Probe (Böden, Pflanzen oder Reagenzien) in Kontakt kommt, darf den interessierenden Bestandteil nicht absorbieren und darf die Probe nicht verunreinigen.

Der die Pflanze aufnehmende Topf (d. h. Pflanztopf) ist dazu vorgesehen, die ganzen Pflanzen vom Beginn der Vorkulturzeit bis zum Ende der Prüfkulturzeit aufzunehmen. Die Pflanzen können in dem Pflanztopf eine ebene und dichte Wurzelmatte ausbilden, wobei eine physikalische Trennung zu der geprüften Bodenprobe bestehen bleibt. Der Pflanztopf besteht aus einem, an einer oberen Platte am oberen Rand befestigten Zylinder, der am Boden durch ein Polyamidnetz ($30 \mu\text{m}$ Maschenweite) mithilfe einer verstellbaren Halterung (siehe Bild 2) geschlossen ist. Das Netz muss fest sitzen.

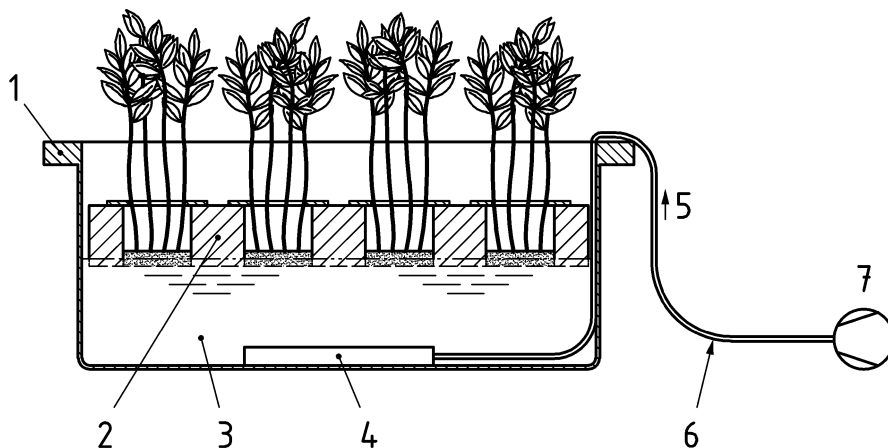


Legende

- | | |
|----------------|--------------------------|
| 1 Obere Platte | 3 Verstellbare Halterung |
| 2 Zylinder | 4 Polyamidnetz 30 µm |

Bild 2 — Aufbau des Pflanztopfes

Die für den ersten Schritt, d. h. die Vorkulturzeit, verwendete Anordnung ist dazu bestimmt, dass die Samen in Hydrokulturen keimen und die Keimlinge eine dichte und ebene Wurzelmatte ausbilden können. Dieser Aufbau ermöglicht einen engen Kontakt zwischen den Samen oder Wurzeln der Keimlinge und der Nährlösung. Diese Anordnung besteht aus einer perforierten Platte, die auf einem Behälter mit Nährlösung schwimmt. Die durch die Schwimmplatte verlaufenden Öffnungen können die Pflanztopfe aufnehmen. Die Nährlösung wird durch ein Sprudelsystem ständig belüftet, das aus einer Luftpumpe und aus Kapillarröhrchen besteht, die mit Verteilern und Luftauslässen verbunden sind, die in die Nährlösung eintauchen (siehe Bild 3). Die Schwimmfähigkeit der Platte ist für einen gleichmäßigen Kontakt aller Pflanztopfe in dem Behälter mit der belüfteten Nährlösung von entscheidender Bedeutung. Durch diese Anordnung wird auch die Exposition der Nährlösung durch Lichtstrahlung begrenzt und folglich die Algenbildung vermieden.



Legende

- | | |
|-----------------------------|-------------|
| 1 Behälter | 5 Luft |
| 2 Perforierte Schwimmplatte | 6 Schlauch |
| 3 Nährlösung 1 oder 2 | 7 Luftpumpe |
| 4 Luftauslass | |

Bild 3 — Für die Vorkulturzeit verwendete Anordnung