

DIN EN ISO 17512-1



ICS 13.080.10; 13.080.30

Ersatz für
DIN ISO 17512-1:2010-06

**Bodenbeschaffenheit –
Vermeidungsprüfung zur Bestimmung der Bodenbeschaffenheit und der
Auswirkungen von Chemikalien auf das Verhalten –
Teil 1: Prüfung von Regenwürmern (*Eisenia fetida* und *Eisenia andrei*)
(ISO 17512-1:2008);
Deutsche Fassung EN ISO 17512-1:2020**

Soil quality –

Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour –
Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*) (ISO 17512-1:2008);
German version EN ISO 17512-1:2020

Qualité du sol –

Essai d'évitement pour contrôler la qualité des sols et les effets des produits chimiques sur le
comportement –

Partie 1: Essai avec des vers de terre (*Eisenia fetida* et *Eisenia andrei*) (ISO 17512-1:2008);
Version allemande EN ISO 17512-1:2020

Gesamtumfang 37 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 17512-1:2008 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 17512-1:2020 durch das Technische Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ übernommen, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsunterausschuss NA 119-01-02-04 UA „Biologische Verfahren“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

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

ISO 11268-1:1993	siehe	DIN EN ISO 11268-1:1997-04 (zurückgezogen)
ISO 11268-2:1998	siehe	DIN ISO 11268-2:2000-03 (zurückgezogen)
ISO 11269-2	siehe	DIN EN ISO 11269-2
ISO 15799	siehe	DIN ISO 15799

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 ISO 17512-1:2010-06 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Überführung in eine Europäische Norm;
- b) redaktionelle Änderungen vorgenommen.

Frühere Ausgaben

DIN ISO 17512-1: 2010-06

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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 ISO 11268-1:1997-04, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer (Eisenia fetida) — Teil 1: Verfahren zur Bestimmung der akuten Toxizität unter Verwendung von künstlichem Bodensubstrat (ISO 11268-1:1993)*

DIN ISO 11268-2:2000-03, *Bodenbeschaffenheit — Wirkung von Schadstoffen auf Regenwürmer (Eisenia fetida) — Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung (ISO 11268-2:1998)*

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

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Bodenbeschaffenheit —
Vermeidungsprüfung zur Bestimmung der
Bodenbeschaffenheit und der Auswirkungen
von Chemikalien auf das Verhalten —
Teil 1: Prüfung von Regenwürmern
(*Eisenia fetida* und *Eisenia andrei*) (ISO 17512-1:2008)

Soil quality —
Avoidance test for determining the quality of soils and
effects of chemicals on behaviour —
Part 1: Test with earthworms
(*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*) (ISO 17512-1:2008)

Qualité du sol —
Essai d'évitement pour contrôler la qualité des sols et les
effets des produits chimiques sur le comportement —
Partie 1: Essai avec des vers de terre
(*Eisenia fetida* et *Eisenia andrei*) (ISO 17512-1:2008)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 13. April 2020 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	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung des Verfahrens	8
5 Reagenzien und Materialien	8
6 Geräte	9
7 Prüfverfahren	11
7.1 Geeigneter Konzentrationsbereich	11
7.2 Prüfen der Böden	11
7.3 Prüfung auf Chemikalien	12
7.4 Referenzsubstanz	12
7.5 Gültigkeitskriterien	12
8 Berechnung und Angabe der Ergebnisse	12
9 Prüfbericht	13
Anhang A (informativ) Prüfgefäße	15
Anhang B (informativ) Beispiel eines Anzuchtverfahrens für <i>Eisenia fetida</i> und <i>Eisenia andrei</i>	19
Anhang C (informativ) Weitere Prüforganismen	20
Anhang D (informativ) Verunreinigungen, die Regenwürmer erkennen können und bei der Vermeidungsprüfung meiden	21
Anhang E (normativ) Prüfen der Chemikalien in der Vermeidungsprüfung	22
Anhang F (normativ) Bestimmung des Wasserrückhaltevermögens	24
Anhang G (informativ) Vergleich der in Zweikammerprüfgefäßen und in Sechskammerprüfgefäßen erhaltenen Ergebnisse	25
Anhang H (informativ) Einfluss der Bodeneigenschaften auf das Vermeidungsverhalten — Grundlage für den Schwellenwert von 20 %	28
Anhang I (informativ) Ergebnisse aus „dualen“ Prüfungen mit dem gleichen (unbehandelten) Kontrollboden auf beiden Seiten des Prüfgefäßes	30
Literaturhinweise	32

Bilder

Bild A.1 — Beispiel für ein Zweikammerprüfgefäß.....	15
Bild A.2 — Beispiel für ein Sechskammerprüfgefäß	16
Bild A.3 — Details eines Sechskammerprüfgefäßes.....	18

Tabellen

Tabelle G.1 — Eigenschaften der angewendeten Böden.....	25
Tabelle G.2 — Ergebnisse der Prüfungen.....	26
Tabelle G.3 — Gesamtanzahl von <i>Eisenia andrei</i> , die in den beiden Behandlungen (z. B. Kontrolle bzw. behandeltem Boden) und Prüfkonzentrationen nach einer 48-stündigen Exposition gegenüber Borsäure in einem Boden (Alberta-Schwarz-Chernozem-Boden) im Zweikammer- bzw. Sechskammerprüfgefäß gefunden wurden.....	27
Tabelle G.4 — Berechnete EC_{50} mit den zugehörigen 95 %-Vertrauensbereichen für die Vermeidungsprüfung im Sechskammer- und Zweikammerprüfgefäß (<i>Eisenia andrei</i> wurde Borsäure in einem Boden (Alberta-Schwarz-Chernozem-Boden) für 48 h ausgesetzt)	27
Tabelle H.1 — Eigenschaften des nicht verunreinigten Bodens	28
Tabelle H.2 — Prozentzahl an Würmern im Boden der Kammer A (Mittelwerte aus fünf Wiederholungen).....	28
Tabelle H.3 — Versuche mit dem gleichen Boden in beiden Kammern — Prozentzahl der im Abschnitt mit der kleinsten Anzahl an Organismen von jedem Versuch vorliegenden Würmer (unabhängig, ob Abschnitt A oder Abschnitt B)	29
Tabelle I.1 — Überblick über die Ergebnisse aus der „dualen“ Prüfung mit verschiedenen Böden (Prüfdauer 48 h)	31

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 17512-1:2008 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 17512-1:2020 durch das Technische Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ übernommen, 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 November 2020, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2020 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.

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 17512-1:2008 wurde von CEN als EN ISO 17512-1:2020 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees 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 Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Internationale Normen werden in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet.

Die Hauptaufgabe der Technischen Komitees besteht in dem Erarbeiten von Internationalen Normen. Die von den Technischen Komitees angenommenen Norm-Entwürfe werden den Mitgliedsorganisationen zur Umfrage zur Verfügung gestellt. Für eine Veröffentlichung als Internationale Norm wird eine Zustimmung von mindestens 75 % der Mitgliedsländer, die abgestimmt haben, benötigt.

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

ISO 17512-1 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190, *Soil quality*, Unterkomitee SC 4, *Biological methods*, erarbeitet.

ISO 17512 besteht unter dem allgemeinen Titel *Soil quality — Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour* aus den folgenden Teilen:

— *Part 1: Test with earthworms* (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*)

Der folgende Teil der Norm ist in Erarbeitung:

— *Part 2: Test with collembolans* (*Folsema candia*)

Einleitung

Ökotoxikologische Prüfsysteme werden angewendet, um Informationen über die Auswirkungen von Verunreinigungen im Boden zu erhalten, und sind zur Ergänzung herkömmlicher chemischer Analysen vorgesehen (siehe ISO 15799). ISO 15799 enthält eine Liste und kurze Charakterisierung der empfohlenen und genormten Prüfsysteme. Aquatische Prüfsysteme mit Bodeneluat werden angewendet, um Informationen über den Anteil der Verunreinigungen zu erhalten, der über den Wasserweg (Rückhaltefunktion von Böden) das Grundwasser erreichen kann, wogegen die terrestrischen Prüfsysteme zum Bewerten der Lebensraumfunktion von Böden angewendet werden. Als genormte Prüfsysteme zur Untersuchung der Lebensraumfunktion eines Bodens in Bezug auf Regenwürmer als Vertreter der Bodenbiozönose bestehen eine Sterblichkeitsprüfung (ISO 11268-1) und eine Reproduktionsprüfung (ISO 11268-2).

Die Reproduktionsprüfung mit Regenwürmern (ISO 11268-2) wird angewendet, um die auf subletalen Konzentrationen beruhenden Auswirkungen nachzuweisen. Derartige Endpunkte werden bevorzugt angewendet, um Angaben über Umweltauswirkungen zu erhalten. Die Reproduktionsprüfung ist jedoch sehr arbeitsintensiv und zeitaufwendig, erfordert lange Inkubationszeiten und liefert Ergebnisse erst nach 56 Tagen. Da die Prüfdauer und der Arbeitsaufwand die Kosten einer vorgegebenen Prüfung bestimmen, ist es vorzuziehen, die Ergebnisse innerhalb einer kurzen Prüfdauer und bei einem hohen Empfindlichkeitsniveau zu erhalten. Dies gilt insbesondere bei der Bewertung von sanierten Böden. Diese Möglichkeit bietet die Vermeidungsprüfung mit *Eisenia fetida* und *Eisenia andrei*. Die Erfahrungen aus einem Ringversuch mit acht verunreinigten Böden in drei Laboratorien zeigen, dass die Vermeidungsprüfung genauso empfindlich wie die Reproduktionsprüfung ist [5]. Es besteht jedoch nicht die Absicht, mit dieser Prüfung den Regenwurm-Reproduktionstest zu ersetzen.

ANMERKUNG Die Ergebnisse wurden mit denjenigen der akuten Prüfung und der Reproduktionsprüfung verglichen, die an Regenwürmern mit den gleichen Böden durchgeführt wurden. Die Ergebnisse zeigten, dass bei einem Kriterium von > 80 % Vermeidungsansprechen eine Übereinstimmung der Ergebnisse von 72 % erzielt wurde.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 17512 legt ein Screening-Schnellverfahren zur Bewertung der Lebensraumfunktion von Böden und des Einflusses von Verunreinigungen und Chemikalien auf das Verhalten von Regenwürmern fest.

Die subletale Prüfung ist ein Schnellverfahren, das die Bioverfügbarkeit von Gemischen aus Verunreinigungen in natürlichen Böden und von in Böden eingemischten Substanzen für *Eisenia fetida* und *Eisenia andrei* wiedergibt. Das Vermeidungsverhalten der Würmer stellt den Endpunkt der Prüfung dar. Die Prüfung ist nicht als Ersatz für den Regenwurm-Reproduktionstest vorgesehen.

Zwei unterschiedliche Versuchsanordnungen (ein Zweikammerprüfgefäß und ein Sechskammerprüfgefäß) wurden entwickelt und erfolgreich eingesetzt. Beide Versuchsanordnungen sind sowohl für Prüfungen auf Einzelkonzentrationen (z. B. zur Bewertung der Beschaffenheit eines Feldbodens) als auch für Prüfungen auf Mehrfachkonzentrationen (z. B. zur Bewertung der Toxizität einer zugesetzten Chemikalie) anwendbar. In beiden Fällen ist es den Regenwürmern überlassen anfänglich zu wählen, in welches Segment, ob in den Kontroll- oder Prüfboden, sie eindringen [im Zweikammerprüfgefäß zwischen der linken und der rechten Seite; im Sechskammerprüfgefäß zwischen den (3 + 3) sich abwechselnden Kammern].

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 10390, *Soil quality — Determination of pH*

ISO 11268-2:1998, *Soil quality — Effects of pollutants on earthworms (Eisenia fetida) — Part 2: Determination of effects on reproduction*

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

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

ISO 15799, *Soil quality — Guidance on the ecotoxicological characterization of soil and soil materials*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Vermeidungsverhalten

Neigung (eines Organismus), unter Bevorzugung des Kontrollbodens den Prüfboden zu meiden

3.2

Lebensraumfunktion

Eigenschaft von Boden/Bodenmaterialien, als Lebensraum für Mikroorganismen, Pflanzen, Bodenlebewesen und deren Interaktionen (Biozönose) zu dienen

[QUELLE: ISO 15799:2003]

ANMERKUNG Ökotoxikologische Prüfungen als Indikatoren für die Lebensraumfunktion liefern Informationen über die jeweiligen Prüfparameter, z. B. akuter Versuch auf Überleben oder chronischer Versuch auf Reproduktion.

3.3 eingeschränkte Lebensraumfunktion
die Lebensraumfunktion (3.2) ist eingeschränkt, wenn im Mittel mehr als 80 % der Würmer im Kontrollboden gefunden werden (Anzeige einer Auswirkung auf das Verhalten)

3.4 effektive Konzentration
 EC_x
Konzentration, bei der eine bestimmte Auswirkung nachgewiesen wird [wobei x der Prozentwert (10, 25, 50) dieser Auswirkung, z. B. Vermeidung, ist]

BEISPIEL Im vorliegenden Teil von ISO 17512 ist die EC_{50} als die Konzentration einer Substanz oder eines Gemisches von Substanzen im Boden zu verstehen, bei der erwartet wird, dass 50 % der Versuchsregenwürmer Vermeidungsverhalten zeigen.

4 Kurzbeschreibung des Verfahrens

Zehn adulte Regenwürmer (der Art *Eisenia fetida* oder *Eisenia andrei*) werden zur gleichen Zeit einem Kontrollboden und einem verunreinigten Boden oder einem Boden mit Prüfsubstanzen ausgesetzt. Der Prüfboden und der Kontrollboden werden in jedes Prüfgefäß gegeben und den Regenwürmern so eine Wahl zwischen Prüf- und Kontrollboden gelassen. Es gibt zwei Arten von Prüfgefäßen:

- a) ein Zweikammerprüfgefäß; und
- b) ein Sechskammerprüfgefäß.

Nach einer Inkubationsdauer von zwei Tagen wird die Anzahl an Würmern in jedem Segment des Gefäßes bestimmt.

Einzelprüfungen (z. B. Prüfung mit Borsäure in einem der beiden Prüfgefäße in unterschiedlichen Laboratorien) oder Vergleichsuntersuchungen (Prüfung mit derselben Chemikalie oder demselben Boden im gleichen Laboratorium, z. B. [8]) haben in einigen Fällen zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt. Kürzlich wurden beide Prüfgefäßarten in Ringversuchen in Kanada [2] und Frankreich validiert. Jedoch wurde bisher noch kein internationaler Ringtest durchgeführt, in dem beide Prüfgefäßarten nebeneinander verwendet wurden. Daher liegt zurzeit die Wahl der Prüfgefäßart beim Versuchsdurchführenden. Bei der Wahl sollten außerdem praktische Aspekte wie die Kosten der Prüfeinheiten und die Menge an anfallendem Abfall berücksichtigt werden.

5 Reagenzien und Materialien

5.1 Borsäure als empfohlene Referenzsubstanz. H_3BO_3 wurde in der Vergangenheit als ein chemisches Bodendesinfektionsmittel verwendet und ist ein wirksames nicht-selektives Biozid (relative Molekülmasse: 61,81). Regenwürmer können subletale Konzentrationen, die die Reproduktion nachteilig beeinflussen, erkennen und vermeiden. Borsäure erfüllt die folgenden Kriterien, die ihre Eignung als eine Referenzsubstanz bestätigen:

- a) wirksam bei relativ geringen Konzentrationen, die von der Art des Substrats nicht stark beeinflusst werden;
- b) relativ stabil und persistent, so dass keine starken Änderungen der Konzentrationen über die Prüfdauer auftreten;
- c) relativ gut wasserlöslich bzw. mit Wasser mischbar, nicht stark flüchtig, leicht mischbar mit Böden;
- d) genormtes Verfahren zum Messen von Borsäurekonzentrationen im Boden vorhanden;
- e) geringfügige Gefährdung des Personals und problemlose Entsorgung.