

DIN EN 14735

ICS 13.030.01

Entwurf

Einsprüche bis 2020-05-13
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 14735:2005-11 und
DIN EN 14735
Berichtigung 1:2006-09

**Charakterisierung von Abfällen –
Herstellung von Abfallproben für ökotoxikologische Untersuchungen;
Deutsche und Englische Fassung prEN 14735:2020**

Characterization of waste –
Preparation of waste samples for ecotoxicity tests;
German and English version prEN 14735:2020

Caractérisation des déchets –
Caractérisation des déchets –
Préparation des échantillons de déchets en vue d'essais écotoxikologiques;
Version allemande et anglaise prEN 14735:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-03-13 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin, Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 120 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14735:2020) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die 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“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) verantwortlich.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

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

ISO 7346-1	siehe	DIN EN ISO 7346-1
ISO 7346-2	siehe	DIN EN ISO 7346-2
ISO 7346-3	siehe	DIN EN ISO 7346-3
ISO 10390	siehe	DIN ISO 10390 (zurückgezogen)
ISO 10872	siehe	DIN ISO 10872
ISO 11465	siehe	DIN ISO 11465 (zurückgezogen)
ISO 15685	siehe	E DIN EN ISO 15685

Änderungen

Gegenüber DIN EN 14735:2005-11 und DIN EN 14735 Berichtigung 1:2006-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Änderung von Abschnitt 12 „Prüfbericht“, um zu spezifizieren, wann Ökotoxizitätstests mit pH-Einstellung der Testportion wiederholt wurden, so dass diese Ergebnisse klar von denen ohne pH-Einstellung unterschieden werden können;
- b) die Klarstellung der Anmerkung der Unterabschnitte 10.5 und 11.2.3 bezüglich der Wiederholung des Tests mit pH-Einstellung;
- c) die Aktualisierung von Anhang B, in dem die zur Erstellung dieses Dokuments in Betracht gezogenen Ökotoxizitätstests beschrieben werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 7346-1, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der akuten letalen Toxizität von Substanzen gegenüber einem Süßwasserfisch [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] — Teil 1: Statisches Verfahren*

DIN EN ISO 7346-2, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der akuten letalen Toxizität von Substanzen gegenüber einem Süßwasserfisch [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] — Teil 2: Semistatisches Verfahren*

DIN EN ISO 7346-3, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der akuten letalen Toxizität von Substanzen gegenüber einem Süßwasserfisch [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] — Teil 3: Durchflußverfahren*

E DIN EN ISO 15685, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung und Hemmung der Nitrifizierung — Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation*

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

DIN ISO 10872, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von Caenorhabditis elegans (Nematoda)*

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

— Leerseite —

Charakterisierung von Abfällen — Herstellung von Abfallproben für ökotoxikologische Untersuchungen

*Caractérisation des déchets — Caractérisation des déchets — Préparation des échantillons de déchets en vue d'essais
écotoxicologiques*

Characterization of waste — Preparation of waste samples for ecotoxicity tests

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	7
4 Geräte und Reagenzien	9
5 Entnahme der Laboratoriumsprobe	9
6 Transport	10
7 Lagerung	10
7.1 Allgemeines	10
7.2 Abfallproben	10
7.3 Wässrige Extrakte	11
8 Charakterisierung von Abfall	11
9 Vorbehandlung von Abfall: Korngrößenreduzierung	11
10 An Bodenorganismen durchgeführte Prüfungen	12
10.1 Allgemeine Überlegungen	12
10.2 Verdünnungsmedium	13
10.3 Einarbeitung von Abfall in das Verdünnungsmedium	13
10.3.1 Allgemeines	13
10.3.2 Monolithischer Abfall, körniger Abfall, pastöser Abfall und Schlamm	13
10.3.3 Flüssigschlamm	14
10.3.4 Mit Wasser mischbarer Flüssigabfall	14
10.3.5 Mit Wasser nicht mischbarer Flüssigabfall	14
10.4 Wässrige Extrakte von Abfällen	15
10.5 pH-Wert	15
10.6 Zugabe von Prüforganismen	15
11 An Wasserorganismen durchgeführte Prüfungen	15
11.1 Allgemeine Überlegungen	15
11.2 Monolithischer Abfall, körniger Abfall, pastöser Abfall und Schlamm	16
11.2.1 Auslaugungsverfahren	16
11.2.2 Trennvorgang für Flüssigkeiten und Feststoffe	17
11.2.3 pH-Wert	17
11.3 Flüssigschlamm	17
11.3.1 Verfahren	17
11.3.2 pH-Wert	17
11.4 Mit Wasser mischbarer Flüssigabfall	18
11.4.1 Verfahren	18
11.4.2 pH-Wert	18
11.5 Mit Wasser nicht mischbarer Flüssigabfall	18
11.5.1 Verfahren	18
11.5.2 Trennung der einzelnen Flüssigkeiten	18
11.5.3 pH-Wert	19

11.6	Herstellung der Prüfgemische.....	19
12	Prüfbericht.....	19
Anhang A (normativ) Herstellung von Prüfgemischen entsprechend den durchzuführenden Ökotoxizitätsprüfungen		20
Anhang B (informativ) Bei der Erarbeitung dieses Dokuments berücksichtigte Ökotoxizitätsprüfungen		21
B.1	Allgemeines	21
B.2	Terrestrische Prüfverfahren	22
B.2.1	Regenwürmer — Akute Toxizität.....	22
B.2.2	Regenwürmer — Wirkungen auf die Reproduktionsleistung	23
B.2.3	Regenwürmer — Vermeidung.....	24
B.2.4	Collembola — Wirkung auf die Reproduktion.....	25
B.2.5	Coleoptera — Akut-Test.....	26
B.2.6	Enchytraeidae — Reproduktionstest.....	27
B.2.7	Nematoden — Wirkungen auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion	28
B.2.8	Juvenile Landschnecken (<i>Helix aspersa</i>).....	30
B.2.9	Bodenflora - Hemmung des Wurzelwachstums.....	31
B.2.10	Wirkung auf Auflauf und Wachstum	33
B.2.11	Ammoniumoxidation — Schnellprüfung.....	35
B.2.12	Mineralisierung und Nitrifikation.....	36
B.2.13		37
B.3	Aquatische Prüfverfahren	38
B.3.1	<i>Daphnia magna</i> — Bewegungsfähigkeitshemmtest	38
B.3.2	<i>Daphnia magna</i> — Reproduktionshemmung.....	40
B.3.3	<i>Ceriodaphnia dubia</i> — Reproduktionstest.....	42
B.3.4	<i>Brachionus calyciflorus</i> — Reproduktionstest.....	44
B.3.5	<i>Vibrio fischeri</i> — Leuchtbakterientest	45
B.3.6	<i>Pseudomonas putida</i> — Wachstumshemmtest.....	47
B.3.7	Süßwasseralgen — Wachstumshemmtest	48
B.3.8	<i>Lemna minor</i> — Wachstumshemmtest.....	49
B.3.9	Fischeitstest	50
B.3.10	Süßwasserfische — Akuter Toxizitätstest	51
B.3.11	Marine Copepoden — Akuter Toxizitätstest	52
B.3.12	Marine Algen — Wachstumshemmtest	53
B.3.13	Salmonellen-Mikrosomentest.....	55
B.3.14	UMU-Test.....	56
Literaturhinweise.....		58

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14735:2020) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 14735:2005 ersetzen.

Die wichtigsten Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind:

- die Änderung von Abschnitt 12 „Prüfbericht“, um zu spezifizieren, wann Ökotoxizitätstests mit pH-Einstellung der Testmenge wiederholt wurden, so dass diese Ergebnisse klar von denen ohne pH-Einstellung unterschieden werden können;
- die Klarstellung der Anmerkung der Unterabschnitte 10.5 und 11.2.3 bezüglich der Wiederholung des Tests mit pH-Einstellung;
- die Aktualisierung von Anhang B, in dem die zur Erstellung dieses Dokuments in Betracht gezogenen Ökotoxizitätstests beschrieben werden.

Einleitung

Die Ökotoxizität kann unter zwei Herangehensweisen abgeschätzt werden: einem chemikalienspezifischen Herangehen und einem Herangehen auf der Grundlage der Toxizität. Im ersten Fall werden chemische Analysenergebnisse mit Beschaffenheitskriterien oder Schwellenwerten verglichen, um die Ökotoxizität abzuschätzen. Im zweiten Fall wird die Ökotoxizität direkt durch biologische Prüfungen gemessen. Diese beiden Herangehensweisen ergänzen einander. Die Bestimmung der Schadstoffe in komplexen Gemischen unbekannter Zusammensetzung, was für viele Abfälle charakteristisch ist, ermöglicht jedoch keine relevante Abschätzung der Ökotoxizität. Bei solchen Proben wird allgemein gültig der auf der Toxizität beruhende Prüfansatz als geeignet angesehen, um die potenzielle Toxizität zu beurteilen. Biologische Versuche führen in der Tat die Auswirkungen aller Kontaminanten einschließlich additiver, synergistischer und antagonistischer Wirkungen zusammen. Diese Versuche sind nur für den bioverfügbaren Anteil der Kontaminanten empfindlich. Schließlich führen biologische Versuche die Auswirkungen aller Kontaminanten zusammen, einschließlich derer, die nicht in Betracht gezogen oder durch chemische Analysen nachgewiesen werden.

Ökotoxizitätsprüfungen können auf Abfälle angewendet werden, um ihre möglichen umweltgefährdenden Eigenschaften für Klassifizierungszwecke festzustellen oder um das Risiko zu beurteilen, das mit einem standortspezifischen Expositionsgeschehen verbunden ist.

Feststellung von möglicherweise umweltgefährdenden Eigenschaften für Klassifizierungszwecke

Ein Klassifizierungssystem auf der Grundlage der Beurteilung der dem Stoff innewohnenden Eigenschaften sollte von einem Expositionsgeschehen unabhängig sein. Die Hauptanforderung bei der Erarbeitung eines sachgerechten Systems für die Klassifizierung von Abfällen und bei der Beurteilung gefährdender Eigenschaften ist die Gewinnung vergleichbarer Prüfergebnisse. Diese können nur dann erhalten werden, wenn die Ökotoxizitätsprüfungen an Abfällen nach einem einheitlichen Verfahren durchgeführt werden, für das mehr oder weniger festgelegte Prüfbedingungen beschrieben sind (ein einziges Verdünnungsmedium für terrestrische Prüfverfahren, ein einheitliches Flüssigkeit/Feststoffverhältnis (*L/S*-Verhältnis) bei der Herstellung wässriger Extrakte, ein einheitlicher Arbeitsgang der Trennung der Feststoffe von den Flüssigkeiten usw.). Dieses Verfahren sollte auf einen sehr breiten Bereich von Abfallmaterialien unabhängig von deren physikalischen Eigenschaften anwendbar sein.

Bei jeder Strategie für die Beurteilung von möglicherweise umweltgefährdenden Eigenschaften, die in einem Klassifizierungssystem verwendet wird, sollten Prüforganismen einbezogen werden, die den terrestrischen und den aquatischen Bereich repräsentieren. Beide Arten von Prüfungen sollten berücksichtigt werden, weil sie den Bereich der Ausprägung der Auswirkungen aufgrund von Unterschieden in der Empfindlichkeit und der Exposition unterschiedlicher Spezies erweitern.

Für diesen spezifischen Zweck simulieren die für die Toxizitätsprüfungen hergestellten wässrigen Extrakte nicht das Auslaugen aus Abfällen unter Umweltbedingungen, sondern mit ihnen wird der im Wasser verfügbare Anteil der toxischen Bestandteile der Abfälle gemessen.

Herangehen auf der Grundlage der standortspezifischen Exposition

Die zweite Anwendungsweise von Ökotoxizitätsprüfungen für Abfälle ist ein Herangehen im Sinne einer Risikobeurteilung. In diesem besonderen Fall sollte die Prüfungsstrategie die standortspezifischen Expositionsbedingungen im Modell darstellen und den Transfer von Kontaminanten über die Nahrungskette sowie in das Oberflächen- und Grundwasser durch Abfließen oder Auswaschen berücksichtigen. Diese Anwendungsweise bezieht sich in erster Linie auf die Definition häufig anzutreffender generischer Standortbedingungen (z. B. Abfallablagerung in Deponien, Wiederverwendung von Abfällen) und legt den Schwerpunkt auf den wesentlichen Expositionsweg gegenüber Boden- und Wasserorganismen.

Dieses Dokument beschreibt die erforderlichen Arbeitsschritte, die durchzuführen sind, bevor Ökotoxizitätsprüfungen an Abfällen im Zusammenhang mit der Beurteilung ökotoxischer Eigenschaften zu Klassifizierungszwecken durchgeführt werden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument beschreibt die erforderlichen Arbeitsschritte, die durchzuführen sind, bevor Ökotoxizitätsprüfungen an Abfällen durchgeführt werden. Der Zweck dieses Dokuments ist, eine Anleitung für Probenahme, Transport und Lagerung von Abfällen zu geben und die Vorbereitungen für die Bestimmung ökotoxischer Eigenschaften von Abfällen festzulegen; diese Bestimmung erfolgt unter den in diesem Dokument festgelegten Bedingungen durch biologische Prüfungen an Rohabfällen oder wässrigen Extrakten aus Abfällen. Die Probenvorbereitung für andere Anwendungsweisen (z. B. Beurteilung der Wirkungen von Abfällen auf Boden- und Wasserorganismen im Rahmen einer Entsorgung) wird nicht berücksichtigt.

Die Festlegung einer Prüfbatterie zur Charakterisierung der ökotoxischen Eigenschaften von Abfällen liegt nicht im Aufgabenbereich dieses Dokumentes.

Dieses Dokument ist auf feste und flüssige Abfälle anwendbar.

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).

EN 12457-2:2002, *Charakterisierung von Abfällen — Auslaugung — Übereinstimmungsuntersuchung für die Auslaugung von körnigen Abfällen und Schlämmen — Teil 2: Einstufiges Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 10 l/kg für Materialien mit einer Korngröße unter 4 mm (ohne oder mit Korngrößereduzierung)*

EN 14899, *Charakterisierung von Abfällen — Probenahme von Abfällen — Rahmen für die Erstellung und Anwendung eines Probenahmeplans*

EN 16720-1, *Charakterisierung von Schlämmen — Physikalische Beschaffenheit — Teil 1: Bestimmung des Fließverhaltens — Verfahren mit Gerät mit Extrusionsrohr*

EN ISO 5667-3, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben (ISO 5667-3:2018)*

EN ISO 14238:2012, *Bodenbeschaffenheit — Biologische Verfahren — Bestimmung der Stickstoffmineralisierung und -nitrifizierung in Böden und der Einflüsse von Chemikalien auf diese Prozesse (ISO 14238:2012)*

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

ISO 10390¹, *Soil quality — Determination of pH*

1 In Vorbereitung. Stand zum Zeitpunkt der Veröffentlichung: ISO/DIS 10390.

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 <http://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

3.1

Verdünnungsmedium

für die Herstellung von Kontrollansätzen und der Prüfgemische verwendeter flüssiger oder fester Stoff

3.2

ökotoxische Eigenschaften

potenzielle nachteilige Wirkungen auf biologische Systeme, die ein Abfall durch seine Beschaffenheit verursachen kann

3.3

Eluat

Lösung, die durch einen Auslaugungstest erhalten wird

[QUELLE: EN 12457-2:2002, 3.3]

3.4

körniger Abfall

weder monolithischer, flüssiger, gasförmiger Abfall noch Schlamm

[QUELLE: übernommen von EN 12457-2:2002, 3.10]

3.5

Laboratoriumsprobe

Probe oder Teilprobe(n), die dem Labor übergeben oder von diesem erhalten wird (IUPAC-Definition)

Anmerkung 1 zum Begriff: Wenn die Laboratoriumsprobe durch Unterteilen, Mischen, Mahlen oder eine Verbindung dieser Arbeitsgänge weiter bearbeitet (reduziert) wird, ist das Ergebnis die Untersuchungsprobe. Wenn keine Bearbeitung der Laboratoriumsprobe erforderlich ist, ist die Laboratoriumsprobe die Untersuchungsprobe. Für die Durchführung der Prüfung oder Analyse wird aus der Untersuchungsprobe eine Untersuchungsmenge entnommen. Die Laboratoriumsprobe ist die endgültige Probe unter dem Gesichtspunkt der Probensammlung, sie ist aber die Ausgangsprobe unter dem Gesichtspunkt des Laboratoriums.

Anmerkung 2 zum Begriff: Mehrere Laboratoriumsproben können aufbereitet und an unterschiedliche Labors für verschiedene Zwecke gegeben werden. Wenn sie zu demselben Labor geschickt werden, wird diese Gruppe im Allgemeinen als eine einzelne Laboratoriumsprobe betrachtet und als eine Probe dokumentiert.

3.6

Auslaugungsmittel

Flüssigkeit, die in einem Auslaugungstest verwendet wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Für die Anwendung dieses Dokumentes ist das Auslaugungsmittel Wasser gemäß Abschnitt 4.

3.7

Auslaugprüfung

Prüfung, bei der ein Material mit einem Auslaugungsmittel in Kontakt gebracht wird und einige Bestandteile des Materials extrahiert werden

3.8

Flüssigschlamm

Schlamm in einem flüssigen physikalischen Zustand, bestimmt nach EN 16720-1

3.9

Flüssigabfall

Abfall, der aus einer kalibrierten Öffnung in einem begrenzten Zeitraum nach unten bis zur oberen Ebene der Öffnung abfließt (siehe EN 12457-2:2002, Anhang B)

3.10

monolithischer Abfall

Material mit dimensionalen, physikalischen und mechanischen Eigenschaften, wie sie in einem derzeit in Arbeit befindlichen Dokument definiert sind

3.11

pastöses Material

Material von weicher plastischer oder nasser zementartiger Konsistenz; üblicherweise glatt

3.12

Schlamm

Gemisch aus flüssigen und festen Stoffen, das durch natürliche oder künstliche Prozesse von verschiedenen Arten von Flüssigkeiten getrennt wird

[QUELLE: übernommen aus EN 12457-2:2002, 3.8]

3.13

Prüfgemisch

Gemisch aus Untersuchungsmenge (Abfall oder wässriger Extrakt) und Verdünnungsmedium

3.14

Untersuchungsmenge

Menge oder Volumen aus der Untersuchungsprobe, die/das zur quantitativen Bestimmung der ökotoxischen Eigenschaften durch biologische Prüfungen und/oder zur Ermittlung anderer interessierender Eigenschaften entnommen wird, üblicherweise von bekannter Masse oder bekanntem Volumen (angepasst aus der IUPAC-Definition)

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Untersuchungsmenge kann direkt aus der Laboratoriumsprobe entnommen werden, wenn keine Probenvorbereitung (z. B. Behandlung mit Flüssigkeiten) erforderlich ist, sie wird aber üblicherweise aus der bearbeiteten Untersuchungsprobe entnommen.

Anmerkung 2 zum Begriff: Eine oder mehrere Einheiten der richtigen Homogenität, Korngröße und Feinheit, die keine weitere Vorbereitung erfordern, können eine Untersuchungsmenge sein.

3.15

Untersuchungsprobe

aus der Laboratoriumsprobe entnommene und bearbeitete Probe, aus der Untersuchungsmengen für biologische Prüfungen oder Analysen genommen werden (angepasst aus der IUPAC-Definition)

Anmerkung 1 zum Begriff: Zur Bearbeitung der Untersuchungsprobe können eine Korngrößenreduzierung, die Herstellung eines wässrigen Extrakts usw. gehören.

3.16

wässriger Extrakt

durch eine Auslaugprüfung, eine Flüssig-Flüssig-Extraktion oder eine Flüssigkeits-Feststoff-Trennung (Zentrifugieren) erhaltene Lösung

4 Geräte und Reagenzien

Die übliche Laborausrüstung sowie:

4.1 **Siebeausrüstung** mit Sieben einer quadratischen Maschenweite von 4 mm.

ANMERKUNG Durch das Sieben kann eine Kontamination der Probe in einem Ausmaß eintreten, das das Auslaugen einiger wesentlicher Bestandteile beeinflusst; so können Kobalt und Wolfram aus Wolframkarbidgeräten oder Chrom, Nickel und Molybdän aus Geräten aus nichtrostendem Stahl austreten.

4.2 **Zerkleinerungsausrüstung:** Backenbrecher oder Schneidvorrichtung.

ANMERKUNG Durch das Zerkleinern kann eine Kontamination der Probe in einem Ausmaß eintreten, das das Auslaugen einiger wesentlicher Bestandteile beeinflusst; so können Kobalt und Wolfram aus Wolframkarbidgeräten oder Chrom, Nickel und Molybdän aus Geräten aus nichtrostendem Stahl austreten.

4.3 **Waage** mit einer Fehlergrenze von 0,1 g.

4.4 **Überkopfschüttler** (5 bis 10 Umdrehungen je Minute) **oder Walzentisch**, mit etwa 10 Umdrehungen je Minute laufend.

ANMERKUNG Andere Schüttel- oder Mischgeräte können unter der Voraussetzung verwendet werden, dass ihre Gleichwertigkeit nachgewiesen ist.

4.5 **Zentrifuge**, die bei 2 500 g betrieben wird.

4.6 **Filtrationsvorrichtung**, entweder ein Vakuumfiltrationsgerät (30 kPa bis 70 kPa) (300 mbar bis 700 mbar) oder ein Hochdruckfiltrationsgerät (< 0,5 MPa) (5 bar).

4.7 **Mischgerät.**

4.8 **pH-Messgerät.**

4.9 **Flaschen aus Glas oder hochdichtem Polyethylen (HDPE) oder Polypropylen (PP)** nach EN ISO 5667-3, Glasflaschen mit Verschlüssen aus einem inerten Werkstoff wie Polytetrafluorethylen. Ein Ausspülen vor der Verwendung ist obligatorisch.

ANMERKUNG Für anorganische Bestandteile werden vorzugsweise Flaschen aus HDPE bzw. PP verwendet, außer bei auf Quecksilber zu untersuchenden Proben.

4.10 **Destilliertes Wasser, entmineralisiertes oder deionisiertes Wasser** mit einer Leitfähigkeit < 5 µS/cm.

5 Entnahme der Laboratoriumsprobe

Es ist eine repräsentative Laboratoriumsprobe zu entnehmen, deren Menge für die Anzahl der durchzuführenden Prüfungen ausreichend ist und die den Anforderungen der anzuwendenden genormten biologischen Verfahren entspricht.

Es sollten besondere Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um eine Kontamination von Laboratoriumsproben durch Substanzen von Probenahmegeräten und/oder Lagerungsausrüstungen zu verhindern (nach EN 14899).

ANMERKUNG Probenahmegeräte sind in dem Technical Report CEN/TR 15310-2 beschrieben.

Einige Abfälle unterliegen sofort nach ihrer Probenahme chemischen, physikalischen und biologischen Veränderungen (z. B. vergärbare oder fermentierbare Abfälle, einer Oxidation oder Carbonisierung unterliegende Abfälle, flüchtige Substanzen enthaltende Abfälle). Mögliche Veränderungen sind zu berücksichtigen und die Probenahmebedingungen sind so zu gestalten, dass die Auswirkungen solcher Veränderungen auf die Ergebnisse von Ökotoxizitätsprüfungen begrenzt werden.

Der Zusatz von Konservierungsstoffen (z. B. Säuren, basischen Lösungen, Bioziden) zur Verzögerung chemischer und biologischer Abläufe ist jedoch verboten.

6 Transport

Der Transport der Laboratoriumsprobe muss im Dunkeln in dichten Behältern erfolgen, die vollständig mit dem zu untersuchenden Abfall gefüllt sind. Bei Transport und Lagerung von Schlämmen oder anderen mikrobiologisch aktiven Abfällen sollten jedoch besondere Vorsichtsmaßnahmen ergriffen werden. Durch Gasentstehung können Behälter unter Überdruck geraten und Explosionen können auftreten. Bei solchen Laboratoriumsproben sollten die Behälter nicht vollständig gefüllt werden. Der Gasraum darf jedoch 10 % des Gesamtvolumens des Behälters nicht überschreiten. Ein zeitweiliges Lösen des Verschlusses der Gefäße zur Druckentlastung während des Transports und danach kann erforderlich sein.

Die Behälterwerkstoffe müssen geeignet sein. Der Behälter, in dem die Laboratoriumsprobe des Abfalls transportiert wird, und dessen Verschluss dürfen nicht mit den Bestandteilen der Probe reagieren und keine Kontaminationen verursachen. Abfälle müssen in Behältern aus Polyethylen, Polypropylen, Polytetrafluorethylen (PTFE) oder Glas gelagert werden. Sicherheitsaspekte müssen jedoch berücksichtigt werden, einschließlich des Explosionsrisikos durch Erzeugung von Gasen (zum Beispiel sind Glasbehälter nicht für Schlammproben geeignet).

Der Transport von Laboratoriumsproben von Abfällen sollte so kurz wie möglich sein. Mögliche Veränderungen sind zu berücksichtigen und die Transportbedingungen müssen entsprechend gestaltet werden, um die Auswirkungen solcher Veränderungen auf die Ergebnisse von Ökotoxizitätsprüfungen in Grenzen zu halten. Die Transportdauer ist als Teil der Lagerungsdauer anzusehen.

Eine Transportdauer unter 48 h und/oder eine niedrige Temperatur (4 ± 2) °C während des Transports sind angemessen, um die Eigenschaften der Laboratoriumsproben beizubehalten.

7 Lagerung

7.1 Allgemeines

Die Lagerung sollte in den in Abschnitt 6 festgelegten Behältern erfolgen. Mögliche Veränderungen sind zu berücksichtigen und die Lagerbedingungen müssen entsprechend gestaltet werden, um die Auswirkungen solcher Veränderungen auf die Ergebnisse von Ökotoxizitätsprüfungen in Grenzen zu halten.

7.2 Abfallproben

Die Lagerungsdauer, beginnend mit dem Eingang der Laboratoriumsprobe und endend mit dem Beginn der endgültigen Untersuchungen, sollte so kurz wie möglich sein.

Eine Lagerungsdauer unter 2 Monaten und/oder eine niedrige Temperatur (4 ± 2) °C sind angemessen, um die Eigenschaften der Abfallproben beizubehalten.

ANMERKUNG Ein Einfrieren kann zu Veränderungen der Eigenschaften der Abfallprobe führen.

7.3 Wässrige Extrakte

Wässrige Extrakte sollten bei $(4 \pm 2) ^\circ\text{C}$ in Behältern aus Polyethylen, Polypropylen, Polytetrafluorethylen (PTFE) oder Glas gelagert werden. Vor der Prüfung müssen die Behälter so befüllt werden, dass ein Gasraum von unter 5 % des Gesamtvolumens verbleibt.

ANMERKUNG 1 Ein Einfrieren kann zu Veränderungen der Eigenschaften wässriger Extrakte führen.

Es wird empfohlen, den Zeitraum zwischen dem Beginn der unterschiedlichen Prüfungen, die an der gleichen Laboratoriumsprobe durchzuführen sind, auf ein Mindestmaß zu begrenzen, um deren Veränderungen zu minimieren.

Ökotoxizitätsprüfungen müssen unmittelbar nach Herstellung des wässrigen Extrakts, wie sie in der anzuwendenden Norm für die betreffende Ökotoxizitätsprüfung festgelegt ist, beginnen und in keinem Fall später als 72 h nach der Herstellung des wässrigen Extrakts. Wenn eine Prüfung zur Bestimmung des Konzentrationsbereichs und eine endgültige Prüfung durchgeführt werden, muss die endgültige Prüfung innerhalb von 10 Tagen nach Herstellung des wässrigen Extrakts abgeschlossen sein.

Für länger dauernde Prüfungen (z. B. semi-statische chronische Prüfungen) müssen mehrere wässrige Extrakte hergestellt und innerhalb von 10 Tagen nach der Herstellung verwendet werden.

Wenn die Ergebnisse der endgültigen Prüfung nicht mit denen zur Bestimmung des Konzentrationsbereichs übereinstimmen, muss die wässrige Extraktion wiederholt werden und die Prüfung ist mit dem neuen wässrigen Extrakt durchzuführen.

ANMERKUNG 2 Die Lagerungsdauer kann verlängert werden, wenn nachgewiesen wurde, dass innerhalb der Lagerungsdauer keine Veränderungen der Toxizität aufgetreten sind (z. B. Durchführung der gleichen Ökotoxizitätsprüfung unmittelbar nach der Extraktion und am Ende des Lagerungszeitraums).

8 Charakterisierung von Abfall

Vor der Durchführung von Ökotoxizitätsprüfungen müssen die folgenden Merkmale bestimmt werden:

- pH-Wert nach ISO 10390 bei körnigem Abfall, monolithischem Abfall, pastösem Abfall und Schlamm;
- Gehalt an Trockenmasse nach ISO 11465 bei körnigem Abfall, monolithischem Abfall, pastösem Abfall und Schlamm (siehe Abschnitt 9);
- Wasserhaltevermögen nach ISO 14238:2012, Anhang A, bei körnigem Abfall, monolithischem Abfall, pastösem Abfall und Schlamm (siehe Anmerkung).

ANMERKUNG Das in ISO 14238:2012, Anhang A, beschriebene Verfahren ist für die meisten der Abfallarten geeignet.

9 Vorbehandlung von Abfall: Korngrößenreduzierung

Sowohl Ökotoxizitätsprüfungen als auch Auslaugprüfungen werden an Materialien durchgeführt, bei denen die Korngröße vor und nach der Vorbehandlung unter 4 mm liegt.

Die Prüfungen sind an Material durchzuführen, bei dem die Korngröße von mindestens 95 % der Probenmasse unter 4 mm liegt. Deshalb muss die Laboratoriumsprobe gesiebt werden (siehe 4.1). Wenn das Material der Übergröße 5 % der Probenmasse übersteigt, muss die gesamte Übergrößenfraktion mit einem entsprechenden Gerät zerkleinert werden (siehe 4.2). Auf keinen Fall darf das Material fein gemahlen werden. Nicht zerkleinerungsfähiges Material (z. B. Metallteile wie Muttern, Bolzen, Schrott) in der Probe muss ausgesondert und Gewicht und Art des Materials müssen aufgezeichnet werden. Das angewendete Verfahren der Korngrößenreduzierung muss dokumentiert und im Prüfbericht angegeben werden. Unabhängig von einer erforderlichen Korngrößenreduzierung müssen die einzelnen Fraktionen mit Ausnahme des nicht zerkleinerungsfähigen Materials zur Herstellung der Untersuchungsprobe gemischt werden. Wenn die Laboratoriumsprobe wegen ihres Feuchtegehalts nicht zerkleinert oder gesiebt werden kann, ist es nur in diesem Fall zulässig, die Laboratoriumsprobe zu trocknen. Die Trocknungstemperatur darf $40 ^\circ\text{C}$ nicht übersteigen.

ANMERKUNG Fasermaterialien, pastöser Abfall und Kunststoffe können oft nach Gefrierbehandlung in ihrer Korngröße reduziert werden. Die Probe wird gewöhnlich unmittelbar vor dem Zerkleinern in flüssigen Stickstoff (–196 °C) getaucht, um sie zerbrechlich und spröde zu machen. Dies hält auch eine übermäßige Erwärmung beim Zerkleinern in Grenzen. Im Ergebnis ist die erhaltene Probe feinkörnig und vollkommen homogen.

Um die mögliche Kontamination während des Siebens und Zerkleinerns auf ein Mindestmaß herabzusetzen, wird empfohlen, vor der Herstellung der Untersuchungsprobe einen Anteil der Laboratoriumsprobe mit den Siebe- und Zerkleinerungsgeräten zu bearbeiten und dieses Material anschließend zu verwerfen. Diese Empfehlung sichert aber nicht die in den Anmerkungen unter 4.1 und 4.2 beschriebene Situation ab.

Für die Anwendung dieses Dokumentes wird jede andere Vorbehandlung des Abfalls ausgeschlossen; insbesondere darf die Untersuchungsprobe nicht weiter getrocknet werden. Die Bestimmung des Trockenmasseanteils und des Feuchtmasseanteils ist an einer dazu bestimmten Untersuchungsmenge vorzunehmen. Der Feuchtegehalt der Untersuchungsprobe ist bei $(105 \pm 5) ^\circ\text{C}$ zu bestimmen. Er muss bei Einstellung des L/S-Verhältnisses bei einer Auslaugprüfung berücksichtigt werden. Die Trockenmasse der Probe ist nach ISO 11465 bei $(105 \pm 5) ^\circ\text{C}$ zu bestimmen; der Trockenmasseanteil der Probe wird wie folgt berechnet:

$$DR = 100 \times \frac{M_D}{M_W} \quad (1)$$

Dabei ist

DR der Trockenmasseanteil der Probe in %;

M_D die Masse der getrockneten Untersuchungsmenge in kg;

M_W die Masse der Untersuchungsmenge vor der Trocknung in kg.

Der Feuchtmasseanteil der Probe wird wie folgt berechnet:

$$MC = 100 \times \frac{M_W - M_D}{M_D} \quad (2)$$

Dabei ist

MC der Feuchtmasseanteil der Probe in %.

In diesem Dokument wird für die Berechnung des Feuchtegehalts die Masse des Feuchtegehalts des Trockenrückstands zugrunde gelegt, wie in ISO 11465 (für die Bestimmung des Wassergehalts von Böden) festgelegt. Es sollte beachtet werden, dass in EN 12880 (für die Bestimmung des Wassergehalts von Schlamm) der Wassergehalt auf der Grundlage der Rohmasse berechnet wird.

Die oben angegebene Bestimmung des Feuchtegehalts ist möglicherweise in einigen Fällen (z. B. eine große Menge flüchtiger oder instabiler Verbindungen) nicht hinreichend genau. In solchen Fällen sollte eine direkte Bestimmung des tatsächlichen Wassergehalts durchgeführt und der Feuchtegehalt entsprechend berechnet werden.

10 An Bodenorganismen durchgeführte Prüfungen

10.1 Allgemeine Überlegungen

Die Bestimmung ökotoxischer Eigenschaften von Abfall unter konventionellen Bedingungen erfordert die Verwendung eines Verdünnungsmediums, das so reaktionsträge wie möglich ist. Dieses Verdünnungsmedium muss das Überleben und die gute Entwicklung von Organismen während der Prüfung ermöglichen. Beide Anforderungen können schwierig miteinander zu verbinden sein, besonders im Hinblick auf Wachstumshemmungstests bei Pflanzen und mikrobielle Tests (Prüfungen, die das Vorhandensein einer ursprünglichen Population von Mikroorganismen erfordern).

Um diese Anforderungen zu erfüllen, muss das als „künstlicher Boden“ bezeichnete Verdünnungsmedium verwendet werden, außer wenn es in den genormten terrestrischen Norm-Prüfverfahren anders festgelegt ist. Sowohl für die Kontrolle als auch für den Verdünnungsversuch ist das gleiche Medium zu verwenden.

Weiterhin sollte die Herstellung des Mediums reproduzierbar sein, um einen Ergebnisvergleich von Ökotoxizitätsprüfungen zu ermöglichen.

Es wurden mehrere genormte Ökotoxizitätsprüfungen berücksichtigt, um die folgenden Bedingungen zur Abfallprüfung an Bodenorganismen zu erarbeiten. Diese Zusammenstellung von Prüfungen wird in Anhang B dargestellt.

Die Herstellung von Prüfgemischen kann sich nach dem Typ des Abfalls und den durchzuführenden Ökotoxizitätsprüfungen unterscheiden. Die Herstellung der unterschiedlichen Prüfgemische ist in Anhang A zusammengefasst.

10.2 Verdünnungsmedium

Das Verdünnungsmedium muss die folgende Zusammensetzung aufweisen (wie sie in EN ISO 11268-1 festgelegt ist):

- Fein gemahlener Torf ohne sichtbare pflanzliche Rückstände: 10 % (Prozentsatz angegeben auf der Grundlage der Trockenmasse);
- Kaolinit-Ton mit einem Kaolinitanteil nicht unter 30 % Kaolinit: 20 % (Prozentsatz angegeben auf der Grundlage der Trockenmasse);
- industrieller Quarzsand (mit über 50 % Partikeln der Korngrößen von 0,05 mm bis 0,20 mm): 70 % (Prozentsatz angegeben auf der Grundlage der Trockenmasse).

Es wird pulverisiertes und anerkannt analysenreines Calciumcarbonat (CaCO_3) zugesetzt, um den pH-Wert des befeuchteten Substrats auf $6,0 \pm 0,5$ zu bringen (im Allgemeinen zwischen 0,5 % und 1 % der Masse der trockenen Inhaltsstoffe).

Dem Verdünnungsmedium wird Wasser (siehe 4.10) oder ein Gemisch des wässrigen Extrakts mit Wasser zugesetzt, um den für jeden Prüforganismus empfohlenen Prozentsatz des gesamten Wasserhaltevermögens zu erreichen.

10.3 Einarbeitung von Abfall in das Verdünnungsmedium

10.3.1 Allgemeines

Die Herstellung von Prüfgemischen unterscheidet sich nach dem Typ des zu prüfenden Abfalls (siehe Anhang A). Die unterschiedlichen Herstellungsverfahren sind nachstehend beschrieben.

10.3.2 Monolithischer Abfall, körniger Abfall, pastöser Abfall und Schlamm

Es können unterschiedliche Verfahren angewendet werden, um die Untersuchungsmenge in das Verdünnungsmedium einzuarbeiten. Die Wahl des Einarbeitungsverfahrens hängt von mehreren Parametern ab, wie den physikalischen Eigenschaften des Abfalls oder den zu prüfenden Mengen. Folgende Verfahren werden empfohlen:

- bei kleinen Mengen ist die Untersuchungsmenge in das zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums erforderliche Wasser (oder in einen Teil von diesem) zu geben, dann ist diese Suspension gründlich mit dem Verdünnungsmedium zu mischen;
- bei großen Mengen ist die Untersuchungsmenge mit dem bereits mit Wasser versetzten Verdünnungsmedium gründlich zu mischen;
- bei hydrophobem Abfall ist die Untersuchungsmenge gründlich mit dem Verdünnungsmedium zu mischen, dann ist die zur Befeuchtung dieses Gemischs erforderliche Wassermenge zuzugeben.

Prüfgemische werden in Prozentsätzen (Trockenmasse des Abfalls bezogen auf die gesamte Trockenmasse des Prüfgemischs) angegeben.

10.3.3 Flüssigschlamm

Die Untersuchungsmenge wird in das zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums erforderliche Wasser (oder in einen Teil von diesem) gegeben, dann wird diese Suspension gründlich mit dem Verdünnungsmedium vermischt, um das Prüfgemisch für die Ökotoxizitätsprüfung zu erhalten. Prüfgemische werden in Prozentsätzen (Masse des Abfalls bezogen auf die Trockenmasse des Prüfgemischs) angegeben.

Das Volumen des zuzusetzenden Flüssigschlammes wird durch den in den Prüfverfahren empfohlenen Prozentsatz des Wasserhaltevermögens des Prüfgemischs begrenzt.

10.3.4 Mit Wasser mischbarer Flüssigabfall

Die Untersuchungsmenge wird in das zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums erforderliche Wasser (oder in einen Teil von diesem) gegeben, dann wird diese Suspension gründlich mit dem Verdünnungsmedium vermischt.

Einige Flüssigabfälle enthalten möglicherweise überhaupt kein Wasser und geben daher kein Wasser in das Prüfgemisch ab; in diesen Fällen ist es erforderlich, Wasser zuzugeben, um das Überleben der Prüforganismen während der angegebenen Prüfdauer zu ermöglichen.

Die Höchstmenge des zuzusetzenden Flüssigabfalls sowie Wassers muss dem für jedes Prüfverfahren empfohlenen Wasserhaltevermögen des Verdünnungsmediums entsprechen. Die nach Zugabe des Flüssigabfalls erreichte Struktur sollte den Anforderungen der Prüforganismen entsprechen.

10.3.5 Mit Wasser nicht mischbarer Flüssigabfall

Folgende Verfahren werden empfohlen:

a) Bei kleinen Mengen:

- wird die Untersuchungsmenge durch Ultraschallverteilung in das zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums erforderliche Wasser (oder in einen Teil von diesem) eingearbeitet, dann wird diese Suspension gründlich mit dem Verdünnungsmedium vermischt; oder
- es wird ein Gemisch aus Quarzsand (siehe 10.2) und der Menge des Untersuchungsmaterials, die zur Erzielung der gewünschten Gesamtmenge erforderlich ist, hergestellt (ein Verhältnis von 10 g Sand je Kilogramm Boden wird als üblich empfohlen). Dieser Ansatz wird gründlich mit dem Verdünnungsmedium vermischt und dann das zur Befeuchtung dieses Gemischs erforderliche Wasser zugegeben.

b) Bei großen Mengen:

- wird die Untersuchungsmenge gründlich mit dem bereits mit Wasser versetzten Verdünnungsmedium vermischt; oder
- es wird die Untersuchungsmenge gründlich mit dem Verdünnungsmedium vermischt, dann wird das zur Befeuchtung dieses Gemischs erforderliche Wasser zugegeben.

Prüfgemische werden in Prozentsätzen (Masse des Abfalls bezogen auf die gesamte Trockenmasse des Prüfgemischs) angegeben.

10.4 Wässrige Extrakte von Abfällen

Der wässrige Extrakt (siehe Abschnitt 11) wird in das zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums erforderliche Wasser (oder in einen Teil von diesem) gegeben, dann wird diese Suspension gründlich mit dem Verdünnungsmedium vermischt.

Die Höchstmenge des zuzugebenden wässrigen Extrakts muss dem für jedes Prüfverfahren empfohlenen Wasserhaltevermögen des Verdünnungsmediums entsprechen.

Prüfgemische werden in Prozentsätzen (Masse des wässrigen Extrakts bezogen auf die gesamte Trockenmasse des Prüfgemischs) angegeben.

10.5 pH-Wert

Die Prüfungen sind ohne Einstellung des pH-Werts der Untersuchungsmenge durchzuführen.

Die pH-Werte aller Prüfgemische werden zu Beginn und am Ende der Prüfung gemessen und aufgezeichnet.

ANMERKUNG 1 Der pH-Wert von Prüfgemischen kann sich vom pH-Wert der Untersuchungsmenge entsprechend dem gewählten Verdünnungsbereich und der Pufferkapazität des Prüfmediums oder der Untersuchungsmenge erheblich unterscheiden.

ANMERKUNG 2 Werden toxische Wirkungen in den Verdünnungen, bei denen der pH-Wert das Überleben der Organismen nicht zulässt, beobachtet, können die Ökotoxizitätsprüfung(en) mit Einstellung des pH-Werts wiederholt werden. Änderungen des pH-Wertes können jedoch das Gleichgewicht zwischen der dissoziierten und nicht dissoziierten Form einiger Chemikalien erheblich verändern und zu Komplexbildungs- oder Fällungsreaktionen führen.

10.6 Zugabe von Prüforganismen

Das Prüfverfahren wird entsprechend dem Ziel der Studie gewählt: Bestimmung eines Dosis-Wirkungs-Verhältnisses oder Grenzwertprüfung bei einer gegebenen Verdünnung.

Die Prüforganismen sind so bald wie möglich nach Herstellung des Prüfgemischs und auf keinen Fall später als 24 h nach der Herstellung zuzugeben.

11 An Wasserorganismen durchgeführte Prüfungen

11.1 Allgemeine Überlegungen

Die ökotoxischen Eigenschaften von Abfall werden unter vereinbarten Bedingungen beurteilt (und nicht entsprechend den standortspezifischen Rahmenbedingungen), und für jeden Zustand der Materialien ist ein einheitliches Verfahren für die Gewinnung des wässrigen Extrakts festgelegt, um an unterschiedlichen Abfällen vergleichbare Untersuchungsergebnisse bei Ökotoxizitätsprüfungen zu gewinnen.

Die Herstellung des wässrigen Extrakts wird durch mehrere Parameter beeinflusst wie die physikalischen Eigenschaften des Abfalls und das erforderliche Volumen des wässrigen Extrakts. Der letztgenannte Parameter kann entscheidend werden, wenn chronische Ökotoxizitätsprüfungen durchgeführt werden.

Es wird das L/S-Verhältnis von 10 empfohlen, da es auf einen sehr breiten Bereich von Abfällen anwendbar ist. Das vorgesehene Volumen des Auslaugungsmittels ist geeignet, einen wässrigen Extrakt sogar bei Abfällen mit hohem Wasserhaltevermögen (z. B. Schlamm) zu gewinnen. Das Volumen des gewonnenen wässrigen Extrakts ist vereinbar mit der Durchführung chronischer Ökotoxizitätsprüfungen.

ANMERKUNG Die Abweichung von einem L/S-Verhältnis von 10 führt zu Ergebnissen, die mit den erhaltenen Ergebnissen bei einem Verhältnis von 10 nicht vergleichbar sind.

Es wurden mehrere genormte Ökotoxizitätsprüfungen berücksichtigt, um die folgenden Bedingungen zur Abfallprüfung an Wasserorganismen zu erarbeiten. Diese Zusammenstellung von Prüfungen wird in Anhang B dargestellt.

Die Herstellung von Prüfgemischen kann sich nach dem Typ des Abfalls und den durchzuführenden Ökotoxizitätsprüfungen unterscheiden. Die Herstellung der unterschiedlichen Prüfgemische ist in Anhang A zusammengefasst.

11.2 Monolithischer Abfall, körniger Abfall, pastöser Abfall und Schlamm

11.2.1 Auslaugungsverfahren

Das folgende Verfahren basiert auf EN 12457-2. Der folgende Text schließt die Abänderungen ein, die sich aus den in Anhang B aufgelisteten Prüfungen ergeben.

Die Untersuchungsmenge mit der Gesamtmasse M , die (95 ± 5) g Trockenmasse M_D entspricht, wird in eine Flasche (4.9) mit einem Nennvolumen von 1 l gegeben, um den Gasraum auf ein Minimum herabzusetzen.

Bei Ökotoxizitätsprüfungen sind gewöhnlich mehrere Liter Eluat erforderlich, was zu einer Anpassung der Masse der Untersuchungsmenge führt. Wenn ein großes Volumen Eluat erforderlich ist, ist es möglich, die Auslaugprüfung in einem Gefäß geeigneten Volumens durchzuführen, in das die entsprechende Anzahl von Untersuchungsmengen (mit einer Trockenmasse von (90 ± 5) g) eingegeben wird, oder sind gleichzeitige parallele Auslaugprüfungen mit einer geeigneten Anzahl von 1-l-Gefäßen (siehe oben) durchzuführen. In diesem Fall sind alle einzelnen Eluate zu vermischen, um die Untersuchungsmenge zu gewinnen. Wenn die Auslaugprüfung in einem einzigen Gefäß durchgeführt wird, muss die Größe des Gefäßes geeignet sein, den Gasraum auf ein Minimum zu verringern (≤ 5 % des Gesamtvolumens des Gefäßes).

Es wird eine solche Menge Auslaugungsmittel (L) zugegeben, dass während der Extraktion ein L/S -Verhältnis von (10 ± 2) l/kg eingehalten wird. Es sollte sorgfältig auf eine gute Durchmischung von Feststoff und Flüssigkeit geachtet werden.

$$L = \left(10 - \frac{MC}{100}\right) \times M_D \quad (3)$$

Dabei ist

- L das verwendete Volumen des Auslaugungsmittels (in l);
- M_D die Trockenmasse der Untersuchungsmenge (in kg);
- MC der Feuchtemasseanteil (in %).

Die verschlossene Flasche wird in ein Schüttelgerät (Überkopfschüttler mit einer Drehzahl von 5 min^{-1} bis 10 min^{-1} oder Walzentisch mit einer Drehzahl von etwa 10 min^{-1}) gestellt. Es wird $(24 \pm 0,5)$ h bei einer Temperatur zwischen 15°C und 25°C geschüttelt.

Während der Extraktion sollte sorgfältig darauf geachtet werden, dass das Absetzen von Feststoffen in der Flasche verhindert wird.

Ein übermäßiger Abrieb, der zu einer erheblichen Korngrößenreduktion führt, muss vermieden werden.

Einige Abfälle erzeugen Gas, wenn sie befeuchtet werden. Beispiele dafür sind Flugasche nach Abfallverbrennung und Abfälle vom Sandstrahlen, die metallische Teilchen enthalten können. Wenn eine Gasemission auftritt, kann ein mehrfaches vorsichtiges Öffnen der Flasche zu hohem Druck während des Auslaugens vorbeugen. Ein solches Öffnen sollte im Prüfbericht aufgezeichnet werden.

11.2.2 Trennvorgang für Flüssigkeiten und Feststoffe

Da die ökotoxischen Eigenschaften von Abfall unter festgelegten Bedingungen beurteilt werden, müssen die Eluate durch einen Membranfilter von 0,45 µm Porenweite filtriert werden. Es wird empfohlen, anstelle von Acetat- oder Nitrocellulosefiltern PTFA- oder Nylonfilter zu verwenden. Diese Filtration bietet den Vorteil, dass mehrere biologische Prüfungen, die durch Schwebstoffe im Prüfgemisch beeinflusst werden können (Bestimmung der Hemmwirkungen auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri*, Algenwachstumshemmtest usw.), problemlos durchgeführt werden können.

Die Trennung der festen und flüssigen Phase wird unter den gleichen oben angegebenen Temperaturbedingungen wie folgt durchgeführt.

Die in Suspension befindlichen Feststoffe lässt man für (15 ± 5) min sich absetzen. Wenn die Trennung der festen und flüssigen Phase nicht innerhalb dieser Zeitspanne erreicht ist, wird das Gemisch 30 min bei 2500 g zentrifugiert.

Das Eluat wird mittels eines Vakuum- oder Hochdruckfiltrationsgeräts (4.6) über einen 0,45-µm-Membranfilter filtriert. Das Spülen des Filters mit Wasser oder einem anderen Lösemittel nach der Filtration ist nicht erlaubt.

Wenn flüchtige Bestandteile analysiert werden, sollte die Vakuumfiltration nicht angewendet werden.

Das Volumen des Eluats, V_E , wird bestimmt.

Es werden sofort die Leitfähigkeit (in µS/cm) und der pH-Wert des Eluats gemessen (und wahlweise das Redoxpotenzial, E_h , in mV, und die Temperatur).

11.2.3 pH-Wert

Die Prüfungen sind ohne Einstellung des pH-Werts der Untersuchungsmenge durchzuführen.

Die pH-Werte aller Prüfgemische werden zu Beginn und am Ende der Prüfung gemessen und aufgezeichnet.

ANMERKUNG 1 Der pH-Wert von Prüfgemischen kann sich vom pH-Wert der Untersuchungsmenge entsprechend dem gewählten Verdünnungsbereich und der Pufferkapazität des Prüfmediums oder der Untersuchungsmenge erheblich unterscheiden.

ANMERKUNG 2 Werden toxische Wirkungen in den Verdünnungen, bei denen der pH-Wert das Überleben der Organismen nicht zulässt, beobachtet, können die Ökotoxizitätsprüfung(en) mit Einstellung des pH-Werts wiederholt werden. Änderungen des pH-Wertes können jedoch das Gleichgewicht zwischen der dissoziierten und nicht dissoziierten Form einiger Chemikalien erheblich verändern und zu Komplexbildungs- oder Fällungsreaktionen führen.

11.3 Flüssigschlamm

11.3.1 Verfahren

Große Partikel sollten durch Zentrifugieren (30 min lang bei 2 500 g) aus dem Schlamm entfernt werden, und der wässrige Extrakt wird durch ein 0,45-µm-Membranfilter filtriert. Es wird empfohlen, anstelle von Acetat- oder Nitrocellulosefiltern PTFA- oder Nylonfilter zu verwenden.

11.3.2 pH-Wert

Siehe 11.2.3.

11.4 Mit Wasser mischbarer Flüssigabfall

11.4.1 Verfahren

Es ist kein spezifisches Verfahren erforderlich. Der mit Wasser mischbare Flüssigabfall sollte nach Filtration (siehe 11.2.2) für die aquatischen Toxizitätsprüfungen verwendet werden.

Es werden die Leitfähigkeit (in $\mu\text{S}/\text{cm}$) und der pH-Wert des Flüssigabfalls gemessen (und wahlweise das Redoxpotential, E_h , in mV, und die Temperatur).

11.4.2 pH-Wert

Siehe 11.2.3.

11.5 Mit Wasser nicht mischbarer Flüssigabfall

11.5.1 Verfahren

Es wird eine Flüssig-Flüssig-Extraktion durchgeführt, indem Wasser mit der Untersuchungsmenge in Kontakt gebracht wird. Um Flüssigabfall mit den anderen Abfallmaterialien vergleichen zu können, sollten die für dieses Verfahren verwendeten Parameter die gleichen sein, die für andere Extraktionsverfahren festgelegt sind. Die Flüssig-Flüssig-Extraktion wird wie folgt durchgeführt.

Die Untersuchungsmenge mit der Gesamtmasse M , die (90 ± 5) g der Trockenmasse M_D entspricht, wird in eine Flasche (4.9) mit einem Nennvolumen von 1 l gegeben, um den Gasraum auf ein Minimum herabzusetzen.

Bei Ökotoxizitätsprüfungen sind gewöhnlich mehrere Liter wässriger Extrakt erforderlich, was zu einer Anpassung der Masse der Untersuchungsmenge führt. Wenn ein großes Volumen wässrigen Extraktes erforderlich ist, ist es möglich, die Flüssig-Flüssig-Extraktion in einem Gefäß geeigneten Volumens durchzuführen, in das die entsprechende Anzahl von Untersuchungsmengen (mit einer Trockenmasse von (90 ± 5) g) eingegeben wird, oder gleichzeitige parallele Flüssig-Flüssig-Extraktionen mit einer geeigneten Anzahl von 1-l-Gefäßen (siehe oben) durchzuführen. In diesem Fall sind alle einzelnen wässrigen Extrakte zu vermischen, um die Untersuchungsmenge zu gewinnen. Wenn die Flüssig-Flüssig-Extraktion in einem einzigen Gefäß durchgeführt wird, muss die Größe des Gefäßes geeignet sein, den Gasraum auf ein Minimum zu verringern ($\leq 5\%$ des Gesamtvolumens des Gefäßes).

Es wird eine solche Menge Auslaugungsmittel zugegeben, dass während der Extraktion ein L/S -Verhältnis von 10 eingehalten wird.

Die verschlossene Flasche wird in ein Schüttelgerät (Überkopfschüttler mit einer Drehzahl von 5 min^{-1} bis 10 min^{-1} oder Walzentisch mit einer Drehzahl von etwa 10 min^{-1}) gestellt. Es wird $(24 \pm 0,5)$ h bei einer Temperatur zwischen 15 °C und 25 °C geschüttelt.

11.5.2 Trennung der einzelnen Flüssigkeiten

Die Trennung der beiden Phasen wird für (15 ± 5) min unter den gleichen oben angegebenen Temperaturbedingungen abgewartet. Wenn die Trennung der beiden flüssigen Phasen nicht innerhalb dieser Zeitspanne erreicht ist, wird das Gemisch 30 min bei 2 500 g zentrifugiert.

Der wässrige Extrakt wird mittels eines Vakuum- oder Hochdruckfiltrationsgeräts (4.6) über ein $0,45\text{-}\mu\text{m}$ -Membranfilter filtriert. Das Spülen des Filters mit Wasser oder einem anderen Lösemittel nach der Filtration ist nicht erlaubt.

11.5.3 pH-Wert

Siehe 11.2.3.

11.6 Herstellung der Prüfgemische

Der wässrige Extrakt wird gründlich mit dem Verdünnungsmedium vermischt, um homogene Prüfgemische zu erhalten. Der wässrige Extrakt wird mit dem Verdünnungsmedium verdünnt, das in der gewählten Ökotoxizitätsprüfung festgelegt ist.

Prüfgemische werden in Prozentsätzen (Volumen des wässrigen Extrakts je Gesamtvolumen des Prüfgemischs) angegeben.

Das Prüfverfahren wird entsprechend dem Ziel der Studie gewählt: Bestimmung einer Dosis-Wirkungs-Beziehung oder Grenzwertprüfung bei einer gegebenen Verdünnung.

12 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss folgende Angaben enthalten:

- a) Verweisung auf dieses Dokument, z. B. EN 14735:2020;
- b) die Eigenschaften des Abfalls (pH-Wert, Gehalt an Trockenmasse, Wasserhaltevermögen, Körnung usw.);
- c) die vollständige Beschreibung der Probenahmebedingungen;
- d) die vollständige Beschreibung der Transport- und Lagerungsbedingungen (Temperatur, Dauer, Art der Behälter usw.);
- e) die vollständige Beschreibung der Vorbehandlung des Abfalls einschließlich Verfahren der Korngrößen-reduzierung, Fraktion über 4 mm Korngröße, Fraktion des nicht zerkleinerungsfähigen Materials (falls diese Angabe von Bedeutung ist);
- f) die vollständige Beschreibung des Extraktionsverfahrens mit Wasser einschließlich Art, Größe und Werkstoff des verwendeten Gefäßes; Beschreibung des Trennvorgangs für Flüssigkeiten und Feststoffe; Volumen des wässrigen Extrakts;
- g) die Beschreibung der Lagerungsbedingungen des wässrigen Extrakts (falls diese Angabe von Bedeutung ist);
- h) Darstellung der Ergebnisse und der Testbedingungen gemäß den Ökotoxizitäts-Teststandards. (Wurden die Ökotoxizitätsprüfungen mit einer pH-Einstellung der Prüfportion wiederholt, so ist dies im Prüfbericht ausdrücklich anzugeben, um diese Ergebnisse von den Ergebnissen, die ohne pH-Einstellung erzielt wurden, deutlich zu unterscheiden.)

Anhang A (normativ)

Herstellung von Prüfgemischen entsprechend den durchzuführenden Ökotoxizitätsprüfungen

Tabelle A.1 — Herstellung von Prüfgemischen (3.13) entsprechend den durchzuführenden Ökotoxizitätsprüfungen

Abfallkategorie	Herstellung des wässrigen Extrakts	Prüfgemische für Prüfungen an Wasserorganismen	Prüfgemische für Prüfungen an Bodenorganismen
Abfall mit einer Korngröße unter 4 mm (ursprünglich oder nach Vorbehandlung)	Auslaugprüfung nach EN 12457-2	Das Eluat wird mit dem Verdünnungsmedium der gewählten Ökotoxizitätsprüfung verdünnt.	— Der Abfall wird mit dem Verdünnungsmedium gemischt^a. — Das Eluat wird dem Wasser zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums zugegeben.
Schlamm	Auslaugprüfung nach EN 12457-2	Das Eluat wird mit dem Verdünnungsmedium der gewählten Ökotoxizitätsprüfung verdünnt.	— Der Abfall wird mit dem Verdünnungsmedium gemischt^b. — Das Eluat wird dem Wasser zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums zugegeben.
Flüssigschlamm	Trennung der Flüssigkeit und der Teilchenmaterie durch Zentrifugieren	Der wässrige Extrakt wird mit dem Verdünnungsmedium der gewählten Ökotoxizitätsprüfung verdünnt.	Der wässrige Extrakt wird dem Wasser zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums zugegeben.
Flüssigabfall (mit Wasser mischbar)	Nicht anwendbar	Der Abfall wird mit dem Verdünnungsmedium der gewählten Ökotoxizitätsprüfung verdünnt.	Der Abfall wird dem Wasser zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums zugegeben.
Flüssigabfall (mit Wasser nicht mischbar)	Flüssig-Flüssig-Extraktion (Flüssig-Flüssig-Verhältnis = 10)	Der wässrige Extrakt wird mit dem Verdünnungsmedium der gewählten Ökotoxizitätsprüfung verdünnt.	— Der Abfall wird mit dem Verdünnungsmedium gemischt. — Der wässrige Extrakt wird dem Wasser zur Befeuchtung des Verdünnungsmediums zugegeben.
^a Bei pastösem Abfall darf der Konzentrationsbereich bei Abfällen mit einem hohen Feuchtegehalt begrenzt werden. ^b Der Konzentrationsbereich darf bei Abfällen mit einem hohen Feuchtegehalt begrenzt werden.			

Anhang B (informativ)

Bei der Erarbeitung dieses Dokuments berücksichtigte Ökotoxizitätsprüfungen

B.1 Allgemeines

Bei der Erarbeitung dieses Dokumentes wurden die in den folgenden Tabellen aufgeführten Ökotoxizitätsprüfungen berücksichtigt. Diese Prüfverfahren werden üblicherweise für die Gefährdungsbeurteilung von Chemikalien sowie der Wasser- oder Bodenqualität verwendet. Alle in den folgenden Tabellen aufgeführten Prüfverfahren sind genormt, zumindest auf nationaler Ebene. Häufiger wurden diese Prüfverfahren bereits durch CEN, ISO oder die OECD international harmonisiert. Auf diese Weise haben diese Ökotoxizitätsprüfungen wissenschaftliche Glaubwürdigkeit errungen.

Diese Ökotoxizitätsprüfungen erfüllen die folgenden Kriterien: ökologische Bedeutung, Empfindlichkeit gegenüber giftigen Schadstoffen, Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, praktische Durchführbarkeit, Zuverlässigkeit und Robustheit.

Jede Tabelle beschreibt kurz das Prüfprotokoll und liefert Informationen zur Anwendbarkeit auf Abfall oder wässrige Extrakte aus Abfall. Sie gibt auch mögliche Einschränkungen beim Prüfverfahren an.

Die Zusammenstellung der Prüfungen ist nicht erschöpfend und stellt keine Empfehlung zu Prüfungen dar, die zur Merkmalsbestimmung der ökotoxischen Eigenschaften von Abfall durchzuführen sind. Andere genormte Prüfverfahren für die Ökotoxizität können ebenfalls für die Merkmalsbestimmung von Abfall verwendet werden.

Einige der unten aufgeführten aquatischen Tests erfordern die Verwendung von wiederaufbereiteten Medien, die Chelatoren enthalten (z. B. EDTA). Da die Bioverfügbarkeit von Metallionen durch Komplexbildung mit EDTA aus dem Prüfmedium reduziert werden kann, wird daher empfohlen, bei der Prüfung von Wasserextrakten, flüssigen Schlämmen oder flüssigen Abfällen, die Metalle enthalten, ein alternatives Medium zu verwenden. Entsprechende Informationen sind in ISO 14442, OECD-Leitfaden 23 (2019), OECD 201 (2011) und OECD 211 (2012) enthalten.

B.2 Terrestrische Prüfverfahren

B.2.1 Regenwürmer — Akute Toxizität

1. Titel des Prüfverfahrens	Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate to <i>Eisenia fetida</i> / <i>Eisenia andrei</i>
2. Harmonisierung	International
3. Referenz	EN ISO 11268-1
4. Grundlagen	Bestimmung der prozentualen Mortalität von adulten Regenwürmern, die in ein definiertes Substrat eingesetzt werden, das die Prüfsubstanz (Kompost, Klärschlamm, Chemikalien) enthält.
5. Art der Prüfung	Akut, statisch
6. Prüforganismus	Regenwurm
Anzuchtarten	<i>Eisenia fetida</i> Savigny, <i>Eisenia andrei</i> Bouché
Alter	> 3 Monate (<i>E.fetida</i> .: 300 mg – 600 mg; <i>E. andrei</i> : 250 mg – 600 mg)
Ernährung	Keine
7. Prüfsubstrat	Künstlicher Boden, , LUFA 2.2
Volumen	500 g (Trockenmasse) je Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfbehälter	Glasgefäße oder anderes chemisch inertes Material
Temperatur	(20 ± 2) °C
pH-Wert	6,0 ± 0,5
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	12 h : 12 h oder 16 h : 8 h (Tag/Nacht)
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % des Wasserhaltevermögens
9. Anzahl der Wiederholungen	4 (10 Würmer je Wiederholung)
10. Prüfdauer/Bebrütungszeit	14 Tage
11. Kontrollprobe	Künstlicher Boden, LUFA 2.2
12. Validitätskriterien	Kontrollversuch: Mortalität < 10 %, Verlust an Biomasse ≤ 20 %
13. Referenzsubstanz	Borsäure, Signifikante Auswirkungen auf die Mortalität sollten zwischen 3 000 mg und 4 500 mg Borsäure pro kg Substrat (Trockenmasse) beobachtet werden.
14. Statistik	Einfaktorielle Varianzanalyse, Multipler t-Test
15. Prüfparameter	Mortalität, Biomasse
16. Endpunkte	LC 50, NOEC
17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare	Der Test war ursprünglich für die Prüfung von Substanzen ausgelegt, die einem künstlichen Boden zugesetzt wurden. Aufgrund seines Endpunktes ist die Empfindlichkeit des Tests begrenzt, aber für Übersichtsuntersuchungen ausreichend. Der Prüforganismus ist gegenüber Änderungen der Körnung des Prüfgemischs nicht empfindlich.

B.2.2 Regenwürmer — Wirkungen auf die Reproduktionsleistung

1. Titel des Prüfverfahrens	Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 2: Determination of effects on reproduction to <i>Eisenia fetida</i> / <i>Eisenia andrei</i>
2. Harmonisierung	International
3. Referenz	EN ISO 11268-2
4. Grundlagen	Bestimmung der prozentualen Mortalität, sowie der Auswirkungen auf Wachstum und Reproduktion von adulten Regenwürmern, die einer Reihe von Konzentrationen von Bodenverunreinigungen, Chemikalien oder Abfallstoffen ausgesetzt sind.
5. Art der Prüfung	Subchronisch, statisch
6. Prüforganismus	Regenwurm
Anzuchtarten	<i>Eisenia fetida</i> Savigny, <i>Eisenia andrei</i> Bouché
Alter	> 2 Monate, < 1 Jahr (<i>E.fetida</i> : 300 mg – 600 mg; <i>E. andrei</i> : 250 mg – 600 mg)
Ernährung	Kuhdung
7. Prüfsubstrat	Künstlicher Boden, LUFA 2.2
Volumen	500 g bis 600 g (Trockenmasse) je Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfbehälter	Glasgefäße oder anderes chemisch inertes Material
Temperatur	(20 ± 2) °C
pH-Wert	6,0 ± 0,5
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	12 h : 12 h oder 16 h : 8 h (Tag/Nacht)
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % des Wasserhaltevermögens
9. Anzahl der Wiederholungen	4 (10 Würmer je Wiederholung)
10. Prüfdauer/Bebrütungszeit	8 Wochen
11. Kontrollprobe	Künstlicher Boden, LUFA 2.2
12. Validitätskriterien	Kontrollversuch: 30 Jungtiere je Behälter, CV ≤ 30 %, Mortalität der adulten Würmer ≤ 10 %
13. Referenzsubstanz	Borsäure. Signifikante Auswirkungen auf die Reproduktion sollten zwischen 400 mg und 600 mg Borsäure pro kg Substrat (Trockenmasse) beobachtet werden.
14. Statistik	Alle geeigneten statistischen Verfahren zur Berechnung der ECx (10, 20, 50) mit Konfidenzgrenzen (P = 0,95) (z. B. Probit oder logistische Funktion); Dunnett-Test, Mann and Whitney U-Test oder Bonferroni-U-Test
15. Prüfparameter	Mortalität, Wachstum, Reproduktion
16. Endpunkte	EC 50, NOEC, LOEC
17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare	
— Der akute und der Reproduktionstest können kombiniert werden (die Reproduktion ist der empfindlichste Parameter). — Die Ausprägung der Wirkungen wird durch Abweichungen des pH-Werts vom gegebenen Bereich stark beeinflusst (Reproduktionstest). — Der Prüforganismus ist gegenüber Änderungen der Körnung des Prüfgemischs nicht empfindlich.	

B.2.3 Regenwürmer — Vermeidung

Es sind zwei Testgefäß-Designs verfügbar: I) ein zweiteiliges Prüfgefäß und II) ein sechsteiliges Prüfgefäß. Die folgende Tabelle fasst das Prüfprotokoll nur für das zweiteilige Prüfgefäß zusammen.

1. Titel des Prüfverfahrens	Soil quality — Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour — Part 1: test with earthworms (<i>Eisenia fetida</i> and <i>Eisenia andrei</i>)
2. Harmonisierung	International
3. Referenz	ISO 17512-1
4. Grundlagen	Die Regenwürmer sind gleichzeitig einem Kontrollboden und einem kontaminierten Boden oder einem Boden mit Prüfsubstanzen ausgesetzt. Der Prüfboden und der Kontrollboden werden in jedes Prüfgefäß gegeben und den Regenwürmern so die Wahl zwischen dem Prüfboden und dem Kontrollboden gelassen.
5. Art der Prüfung	Verhalten
6. Prüforganismus	Regenwurm
Anzuchtarten	<i>Eisenia fetida</i> Savigny, <i>Eisenia andrei</i> Bouché
Alter	> 2 Monate, < 1 Jahr
Ernährung	Keine
7. Prüfsubstrat	Künstlicher Boden
Volumen	500 g bis 600 g (Trockengewicht) je Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfbehälter	Glasgefäße oder anderes chemisch inertes Material
Temperatur	(20 ± 2) °C
pH-Wert	6,0 ± 0,5
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	12 h : 12 h oder 16 h : 8 h (Tag/Nacht)
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % des Wasserhaltevermögens
9. Anzahl der Wiederholungen	5 (10 Würmer je Wiederholung)
10. Prüfdauer/Bebrütungszeit	48 Tage
11. Kontrollprobe	Künstlicher Boden
12. Validitätskriterien	Die Anzahl der toten/fehlenden Würmer beträgt ≤ 10 % pro Behandlung, die Anzahl der Würmer sollte im Bereich von 60 % liegen: 40 % für eine zweiteilige Kammer, die mit der gleichen Erde gefüllt ist
13. Referenzsubstanz	Borsäure. Eine Reaktion des Vermeidungsverhaltens sollte bei 750 mg/kg erreicht werden.
14. Statistik	Einzelner Konzentrationstest: Exakter Test nach Fisher oder eine andere geeignete Statistik für paarweise Vergleiche
15. Prüfparameter	Vermeidung
16. Endpunkte	EC 50
17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare	— Die Granulometrie der Testmischung kann das Verhalten der Regenwürmer bei hohen Konzentrationen beeinflussen.

B.2.4 Collembola — Wirkung auf die Reproduktion

1.	Titel des Prüfverfahrens
Soil quality — Effects of pollutants on collembola (<i>Folsomia candida</i>) — Method for the determination of effects on reproduction	2. Harmonisierung
International	3. Referenz
EN ISO 11267	4. Grundlagen
Bestimmung der Auswirkung auf die Reproduktion von Springschwänzen, die über eine vierwöchige Testperiode bebrütet werden	5. Art der Prüfung
subchronisch, statisch	6. Prüforganismus
Springschwänze	Anzuchtarten
<i>Folsomia candida</i> Willem 1902	Alter
10 Tage bis 12 Tage	Ernährung
Trockenhefe	7. Verdünnungsmedium
Künstlicher Boden; LUFA	Volumen
30 g (Feuchtgewicht) je Behälter	8. Prüfbedingungen
	Prüfbehälter
Glasbehälter oder anderes inertes Material (100 ml Kapazität)	Temperatur
(20 ± 2) °C	pH-Wert
6,0 ± 0,5	Lichtintensität/Lichtqualität
400 lx bis 800 lx	Photoperiode
12 h : 12 h oder 16 h : 8 h (Tag/Nacht)	Bodenwassergehalt
40 % bis 60 % des totalen Wasserhaltevermögens	9. Anzahl der Wiederholungen
Zwei bis vier, abhängig vom Testdesign (NOEC/ECx); 6 bis 8 Kontrollbehälter (10 Springschwänze je Wiederholung)	10. Prüfdauer/Inkubation
28 Tage	11. Kontrollprobe
Künstlicher Boden, LUFA	12. Validitätskriterien
Kontrolle: Mortalität < 20 %, minimale Reproduktion ≥ 100 Jungtiere, CV ≤ 30 %	13. Referenzsubstanz
Borsäure: Auswirkungen auf die Reproduktion um 150 mg/kg (Trockenmasse); Betosip (z. B. 157 g/l Phenmedipham): Auswirkungen auf die Reproduktion im Bereich von 100 mg/kg bis 200 mg/kg (Trockenmasse)	14. Statistik

Alle geeigneten statistischen Verfahren zur Berechnung der ECx (10, 20, 50) mit Konfidenzgrenzen (P = 0,95) (z. B. Probit oder logistische Funktion); Dunnett-Test, Mann and Whitney U-Test oder Bonferroni-U-Test	15. Prüfparameter
Mortalität der adulten Tiere, Hemmung der Reproduktion	16. Endpunkte
EC 50 (ECx), NOEC/LOEC	

17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare:

- Der Test war ursprünglich für die Prüfung von Substanzen ausgelegt, die einem künstlichen Boden zugesetzt wurden. Die Collembolen-Spezies *F. candida* bevorzugt luftgefüllte Bodenporen. Eine krümelige Struktur des Prüfsubstrats muss deshalb im Laufe aller in der Prüfung verwendeten Abfallverdünnungen erreicht werden.
- Die Ausprägung der Effekte wird stark durch die Abweichung des pH-Wertes vom vorgegebenen Bereich (Reproduktionstest) beeinflusst.

B.2.5 Coleoptera — Akut-Test

1.	Titel des Prüfverfahrens
Soil quality — Effects of pollutants on insect larvae (<i>Oxythyrea funesta</i>) — Determination of acute toxicity using artificial soil substrate	2. Harmonisierung
International	3. Referenz
ISO 20963	4. Grundlagen
Bestimmung der prozentualen Mortalität von <i>Cetoniidae</i> Larven nach 10 Tagen während der Wachstumsperiode	5. Art der Prüfung
Akut, statisch	6. Prüforganismus
Drittes Larvenstadium der Spezies <i>Oxythyrea funesta</i>	Anzuchtarten
	Alter
etwa 15 Tage, Feuchtmasse 100 mg bis 200 mg	Ernährung
Getrockneter und fein gemahlener Kuhdung	7. Prüfsubstrat
Künstlicher Boden	Volumen
300 g (Trockengewicht) je Behälter	8. Prüfbedingungen
	Prüfbehälter
Glasbehälter oder anderes chemisch	Temperatur

inertes Material	
(26 ± 1) °C	pH-Wert
6,0 ± 0,5	Lichtintensität/Lichtqualität
Dunkelheit	Photoperiode
—	Bodenwassergehalt
50 % des totalen Wasserhaltevermögens	9. Anzahl der Wiederholungen
3 (10 Larven je Wiederholung)	10. Prüfdauer/Bebrütungszeit
10 Tage	11. Kontrollprobe
Künstlicher Boden	12. Validitätskriterien
Kontrolle: Mortalität < 10 %, Zunahme der Biomasse in den Kontrollversuchen > 80 %	13. Referenzsubstanz
2,4,5-Trichlorphenol, 60 ≤ LC 50 ≤ 180 mg/kg	14. Statistik
Alle geeigneten statistischen Verfahren zur Berechnung der EC _x (10, 20, 50) mit Konfidenzgrenzen (P = 0,95) (z. B. Probit oder logistische Funktion); Dunnett-Test, Mann and Whitney U-Test oder Bonferroni-U-Test	15. Prüfparameter
Mortalität, Wachstum (optional)	16. Endpunkte
LC 50, NOEC (EC _x)	

17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare

Der Testorganismus ist unempfindlich gegenüber Veränderungen der Granulometrie der Testmischung.

B.2.6 Enchytraeidae — Reproduktionstest

1. Titel des Prüfverfahrens	Soil quality — Effects of contaminants on Enchytraeidae (<i>Enchytraeus</i> sp.) — Determination of effects on reproduction
2. Harmonisierung	International
3. Referenz	EN ISO 16387
4. Grundlagen	Adulte Enchyträen-Würmer werden einer in künstliches Boden-substrat eingemischten Prüfsubstanz ausgesetzt. Nach einer Prüfdauer von 6 Wochen wird die Wirkung auf den subletalen Parameter „Reproduktion“ festgestellt. Der Prüfungsablauf schließt die Untersuchung möglicher letaler Wirkungen (Mortalität) auf die Eltern-Enchyträen ein
5. Art der Prüfung	Subchronisch, statisch
6. Prüforganismus	Enchyträen
Anzuchtarten	<i>Enchytraeus albidus</i> Henle 1837 und andere <i>Enchyträen</i> Arten
Alter	Adulte Würmer mit Eiern im Bereich des Clitellums
Ernährung	Haferflocken

7. Prüfsubstrat	Künstlicher Boden, LUFA 2.2
Volumen	20 g (Trockenmasse) je Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfbehälter	Glasbehälter oder anderes chemisch inertes Material (0,20 L bis 0,25 L Kapazität)
Temperatur	(20 ± 2) °C
pH-Wert	6,0 ± 0,5
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	Möglichst 16 h : 8 h (Tag/Nacht)
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % des Wasserhaltevermögens
9. Anzahl der Wiederholungen	2 bis 4 abhängig von der Prüfungsplanung (NOEC/LOEC oder EC _x); 6 bis 8 Kontrollbehälter (10 Enchyträen je Wiederholung)
10. Prüfdauer/Bebrütungszeit	6 Wochen (Abschlussprüfung)
11. Kontrollprobe	Künstlicher Boden
12. Validitätskriterien	Kontrolle: Mortalität ≤ 20 %, Mindestanzahl von Jungtieren 25 je Behälter, CV ≤ 50 %
13. Referenzsubstanz	Borsäure, signifikante Auswirkungen auf die Reproduktion sollten zwischen 3 000 mg und 4 500 mg Borsäure pro kg Substrat (Trockenmasse) beobachtet werden.
14. Statistik	Multipler t-Test, Regressionsanalyse, Probitanalyse
15. Prüfparameter	Mortalität, Reproduktion
16. Endpunkte	LC 50, NOEC, LOEC, EC _x
17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare	
— Der Prüforganismus ist gegenüber Änderungen der Körnung des Prüfgemischs empfindlich. — Die Ausprägung der Wirkungen wird durch Abweichungen des pH-Werts vom gegebenen Bereich stark beeinflusst (Reproduktionstest). — Für andere pH-Bereiche sind andere Spezies geeignet.	

B.2.7 Nematoden — Wirkungen auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion

1. Titel des Prüfverfahrens	Water and soil quality — Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of <i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematoda)
2. Harmonisierung	International
3. Referenz	ISO 10872 (unter Erarbeitung)
4. Grundlagen	Die Auswirkungen auf Wachstum, Fruchtbarkeit und Reproduktion von juvenilen Nematoden (Art: <i>C. elegans</i>), die dem Boden, dem Sediment oder dem Wasser ausgesetzt sind, werden mit denen verglichen, die bei Testorganismen beobachtet wurden, die einem Kontrollmedium (Boden, Sediment bzw. rekonstituiertes Medium) ausgesetzt waren.
5. Art der Prüfung	Chronisch, statisch
6. Prüforganismus	Nematoda
Anzuchtarten	<i>Caenorhabditis elegans</i> (Maupas, 1899)

Alter	Jungtiere im ersten Stadium (J1; exponierte Testorganismen)
Ernährung	Definiertes Lebensmittelmedium, das das Bakterium <i>Escherichia coli</i> enthält
7. Prüfsubstrat	Boden: LUFA 2.2; Künstlicher Boden Wasser: M9 Medium
Volumen	0,500 g $\pm$ 0,010 g (Trockenmasse) je Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfbehälter	12-well Mikroplatte, 3,5 cm ² /well
Temperatur	20 $\pm$ 2 °C
Lichtintensität/Lichtqualität	Dunkelheit
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	80 % des Wasserhaltevermögens
9. Anzahl der Wiederholungen	Mindestens 4
10. Prüfdauer/Bebrütungszeit	96 h
11. Kontrollprobe	Boden: LUFA 2.2; Künstlicher Boden Wasser: M9 Medium
12. Validitätskriterien	Die mittlere Rückgewinnung der exponierten Testorganismen aus der Kontrolle beträgt ≥ 80 % und ≤ 120 %; Der durchschnittliche Prozentsatz der Männchen in der Kontrolle beträgt ≤ 10 %; der Prozentsatz der Männchen in einer einzigen Kontrollwiederholung beträgt ≤ 20 %; Die mittlere Fruchtbarkeit in der Kontrolle beträgt ≥ 80 %; Die mittlere Reproduktion in der Kontrolle beträgt ≥ 30 Nachkommen pro exponiertem Testorganismus.
13. Referenzsubstanz	Benzylcetyldimethylammoniumchlorid-Monohydrat (BAC C16), getestet in Wasser. Bei 15 mg/l sollte das Wachstum in einem Bereich von 20 % bis 80 % gehemmt werden. Zusätzlich ist die EC50 von BAC mindestens alle 12 Monate zu bestimmen. Die EC50 (Wachstum) in Wasser muss im Bereich von 8 mg bis 22 mg BAC/l liegen.
14. Statistik	Nicht spezifisch
15. Prüfparameter	Wachstum, Fruchtbarkeit, Reproduktion
16. Endpunkte	Abweichung von der Kontrolle; EC _x
17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare	
— Der Test kann sowohl für Abfälle als auch für Wasserextrakte durchgeführt werden.	
— Der Testorganismus ist unempfindlich gegenüber Veränderungen der Granulometrie der Testmischung	

B.2.8 Juvenile Landschnecken (*Helix aspersa*)

1. Titel des Prüfverfahrens	Soil quality — Effects of pollutants on juvenile land snails (<i>Helicidae</i>) — Determination of the effects on growth by soil contamination
2. Harmonisierung	International
3. Referenz	EN ISO 15952
4. Grundlagen	Bestimmung der Wirkung auf das Überleben und das Wachstum der juvenilen Landschnecken, die 4 Wochen lang einem definierten Substrat ausgesetzt werden, das die Prüfsubstanz enthält.
5. Art der Prüfung	Semi-statisch (Substrat kann jede Woche erneuert werden) oder statisch; subchronisch
6. Prüforganismus	Schnecken
Anzuchtarten	<i>Helix aspersa</i> (= <i>Cornu aspersum</i>) Müller (1774) und andere Spezies der Familie <i>Helicidae</i>
Alter	Juvenile (drei bis fünf Wochen); Frischmasse ($1,0 \pm 0,3$) g
Ernährung	Futter auf Mehlbasis, Futtermittel, Mineralsalze und Vitamine (im Handel erhältlich)
7. Prüfsubstrat	Künstlicher Boden (oder natürlicher Boden)
Volumen	etwa 150 g (Trockenmasse künstliches Substrat) je Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Behälter: 24 cm (Länge) $\pm$ 10,5 cm (Breite) $\pm$ 8 cm (Höhe)
Temperatur	(20 ± 2) °C
pH-Wert	Künstlicher Boden: $6,0 \pm 0,5$; natürlicher Boden: nicht festgelegt.
Lichtintensität/Lichtqualität	50 lx bis 100 lx
Photoperiode	18 h/6 h (Tag/Nacht)
Bodenwassergehalt	50 % bis 60 % des totalen Wasserhaltevermögens
9. Anzahl der Wiederholungen	Mindestens 3 (5 Schnecken je Wiederholung)
10. Prüfdauer/Bebrütungszeit	4 Wochen
11. Kontrollprobe	Künstlicher Boden (oder natürlicher Boden)
12. Validitätskriterien	Prozentsatz der Sterblichkeit: ≤ 10 % am Ende des Tests; Variationskoeffizient (Wachstum): ≤ 40 %; Mittlere Körpermasse: Zunahme mindestens um den Faktor 4 während der gesamten Testdauer; Mittlerer Schalendurchmesser: Zunahme um mindestens den Faktor 1,5;
13. Referenzsubstanz	EC50, Masse (28 Tage) von CdCl_2 : 350 mg bis 650 mg Cd pro kg trockenes Testsubstrat; EC50, Durchmesser (28 Tage) von CdCl_2 : 500 mg – 800 mg Cd pro kg trockenes Testsubstrat.
14. Statistik	Geeignete Methoden (z.B. das logistische Modell); Beispiele werden

	genannt.
15. Prüfparameter	Mortalität, Körpermasse, Schalendurchmesser
16. Endpunkte	EC 50 (ECx), NOEC, LC 50
17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare	
— Das Verfahren ist auf Böden, Bodenmaterialien, Abfälle und Chemikalien anwendbar, die in einen Boden eingebracht werden können (Böden und Abfallproben werden auf 4 mm gesiebt).	

B.2.9 Bodenflora – Hemmung des Wurzelwachstums

1.	Titel des Prüfverfahrens
Soil quality — Determination of the effects of pollutants on soil flora — Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth	2. Harmonisierung
International	3. Referenz
EN ISO 11269-1	4. Grundlagen
Wachstum von vorgekeimtem Saatgut unter kontrollierten Bedingungen. Unterschiede in den Wurzellängen von Sämlingen, die in einem beliebigen Prüfmedium angebaut werden, im Vergleich zu den Kontrollen sind ein Hinweis auf eine Wirkung.	5. Art der Prüfung
Akut, statisch	6. Prüforganismus
Gerste (<i>Hordeum vulgare</i> L.), Hafer (<i>Avena sativa</i> L.) und Weizen (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Anzuchtarten
Unbehandelte Samen	Alter
Samen	Ernährung
Keine	7. Prüfsubstrat
Boden von guter Qualität aus derselben Texturklasse, wie der zu prüfende Boden, Sand und künstliche Boden	Volumen
250 g bis 500 g (Trockenmasse) je Behälter je nach ausgewähltem Kontroll-/Verdünnungsmedium	8. Prüfbedingungen
	Prüfkammer
Klimakammer aus nicht porösen Kunststoff oder glasierte Töpfe (mindestens 8 cm im Durchmesser und 11 cm in der Höhe und parallele Seiten)	Temperatur

Tag (20 ± 2) °C; Nacht (16 ± 2)	pH-Wert
	Lichtintensität/Lichtqualität
2500 lx	Photoperiode
12 h/12 h oder 16 h/8 h (Tag/Nacht)	Bodenwassergehalt
70 % $\pm$ 5 % des totalen Wasserhaltevermögens	9. Anzahl der Wiederholungen
3 (6 Samen je Wiederholung)	10. Prüfdauer/Bebrütungszeit
6 bis 7 Tage (Keimung der Samen 2 bis 3 Tage; Inkubationszeit 4 Tage)	11. Kontrollprobe
Boden von guter Qualität aus derselben Texturklasse, wie der zu prüfende Boden, Sand und künstliche Boden	12. Validitätskriterien
Die Wurzel der ausgewählten Art zeigt normales Wachstum in der Sandkontrolle und erreicht eine Länge in einem definierten Bereich, der in der Norm angegeben ist. Die mittlere Länge an der längsten Wurzel muss innerhalb des ± 2 Standardabweichungsbereichs des Mittelwertes liegen, der mit dem ausgewählten Stamm erhalten wird. Der Variationskoeffizient der Wurzeldehnung in der Sandkontrolle beträgt nicht mehr als 20 %.	13. Referenzsubstanz
Nickelsulfat, Borsäure	14. Statistik
Probit oder logistische Funktion; Dunnett-Test, Mann and Whitney U- Test oder Bonferroni-U-Test	
15. Prüfparameter	

Wurzellänge

16. Endpunkte

NOEC/LOEC, EC_x (10, 20, 50)

17. Anwendung auf Abfälle und wässrige Extrakte aus Abfällen: Einschränkungen und Kommentare