DIN EN ISO 16387

DIN

ICS 13.080.30

Einsprüche bis 2022-03-28
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 16387:2014-05

Entwurf

Bodenbeschaffenheit – Wirkungen von Verunreinigungen auf *Enchytraeidae* (*Enchytraeus* sp.) – Bestimmung der Wirkungen auf die Reproduktion (ISO/DIS 16387:2022); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 16387:2022

Soil quality –
Effects of contaminants on *Enchytraeidae* (*Enchytraeus* sp.) –
Determination of effects on reproduction (ISO/DIS 16387:2022);
German and English version prEN ISO 16387:2022

Qualité du sol –
Effets des contaminants sur les *Enchytraeidae* (*Enchytraeus* sp.) –
Détermination des effets sur la reproduction (ISO/DIS 16387:2022);
Version allemande et anglaise prEN ISO 16387:2022

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2022-01-28 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 oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 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 61 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

AVA Documents Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 16387:2022) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN (Niederlande) gehalten wird.

Die vorbereitenden Arbeiten wurden von der Arbeitsgruppe „Effects on soil fauna“ (WG 2) des ISO/TC 190/SC 4 durchgeführt, deren Federführung bei DIN (Sekretariat: Deutschland) lag.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Unterausschuss NA 119-01-02-04 UA „Biologische Verfahren“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-02 AA „Abfall- und Bodenuntersuchung (Koordinierung ISO/TC 190; ISO/TC 275, CEN/TC 308, CEN/TC 444, CEN/SABE/ENV)“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

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

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

ISO 18400-206	siehe	DIN ISO 18400-206
ISO 10390	siehe	DIN ISO 10390
ISO 10694	siehe	DIN ISO 10694
ISO 11260	siehe	DIN EN ISO 11260
ISO 11272	siehe	DIN ISO 11272
ISO 11277	siehe	DIN ISO 11277
ISO 11465	siehe	DIN ISO 11465
ISO 14240-1	siehe	DIN EN ISO 14240-1
ISO 15799	siehe	DIN ISO 15799

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 16387:2014-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

a) Korrektur des Dampfdruckwertes zur Aktualisierung von Abschnitt 1 gemäß den Empfehlungen der ECHA/OECD;

b) Hinzufügung einer Extraktionsmethode für Enchytraeide mit kolloidalem Siliziumdioxid in Anhang D, die für *Enchytraeus crypticus* geeignet ist;

c) redaktionelle Überarbeitung.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

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

DIN EN ISO 14240-1, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden — Teil 1: Substrat-induziertes Respirationsverfahren*

DIN ISO 18400-206, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 206: Entnahme, Behandlung und Lagerung von Boden unter aeroben Bedingungen für die Beurteilung mikrobiologischer Prozesse sowie der Biomasse und der Diversität unter Laboratoriumsbedingungen*

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

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

DIN ISO 11272, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Trockenrohdichte*

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

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

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

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

– Leerseite –

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

– Entwurf –

Februar 2022

prEN ISO 16387

Bodenbeschaffenheit – Wirkungen von Verunreinigungen auf Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) – Bestimmung der Wirkungen auf die Reproduktion (ISO/DIS 16387:2022)

Soil quality – Effects of contaminants on Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) – Determination of effects on reproduction (ISO/DIS 16387:2022)

Qualité du sol – Effets des contaminants sur les Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) – Détermination des effets sur la reproduction (ISO/DIS 16387:2022)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort **4**
ISO Vorwort **5**
Einleitung **6**
1 Anwendungsbereich **7**
2 Normative Verweisungen **7**
3 Begriffe **7**
4 Kurzbeschreibung **9**
5 Reagenzien und Materialien **10**
6 Geräte **12**
7 Prüfbedingungen **13**
8 Durchführung **13**
8.1 Prüfaufbau **13**
8.1.1 Allgemeines **13**
8.1.2 Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs **13**
8.1.3 Hauptprüfung **13**
8.2 Herstellung der Prüfmischungen **14**
8.2.1 Prüfung des verunreinigten Bodens **14**
8.2.2 Prüfung von dem Prüfsubstrat zugegeben Substanzen **14**
8.2.3 Vorbereitung der Kontrollgefäße **15**
8.3 Zugabe von Futter **16**
8.4 Zugabe des biologischen Materials **16**
8.5 Prüfbedingungen und Messungen **16**
8.6 Referenzsubstanz **16**
9 Berechnung und Angabe der Ergebnisse **16**
9.1 Berechnung **16**
9.2 Angabe der Ergebnisse **17**
10 Gültigkeit der Prüfung **17**
11 Statistische Analyse **17**
11.1 Allgemeines **17**
11.2 Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs **17**
11.3 Hauptprüfung **17**
12 Prüfbericht **18**
Anhang A (informativ) **Zuchtbedingungen für *Enchytraeus* sp.** **20**
A.1 Zuchtbedingungen **20**
A.2 Lebenszyklusdaten von *E. albidus* **21**
Anhang B (informativ) **Durchführung der Prüfung mit anderen *Enchytraeus*-Spezies** **22**
B.1 Auswahl der Arten **22**
B.2 Mögliche Arten **22**
B.3 Zuchtbedingungen **22**
B.4 Prüfbedingungen **22**
Anhang C (informativ) **Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität** **24**
C.1 Das folgende Verfahren hat sich für Laborproben der zu prüfenden Böden undder Standardböden als geeignet erwiesen **24**
C.2 Geräte **24**
C.3 Durchführung **24**
C.4 Berechnung der Wasserhaltekapazität (*WHC*) **24**
Anhang D (informativ) **Detaillierte Beschreibung des Extraktionsverfahrens** **25**
D.1 Färbung mit Bengalrot **25**
D.2 Nassextraktion **25**
D.3 Extraktion von Enchytraeiden mit kolloidaler Kieselsäure **25**
Anhang E (informativ) **Überblick über die statistische Auswertung der Daten (NOEC-Bestimmung)** **27**

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Literaturhinweise **28**

Bilder

Bild D.1 — Gefärbte *E. crypticus* Flotation durch kolloidales Siliziumdioxid, gefärbt mit weißer Acrylfarbe **26**
Bild E.1 — Statistische Auswertung der Daten **27**

Tabellen

Tabelle A.1 — Lebenszyklusdaten von *E. albidus* bei unterschiedlichen Prüftemperaturen **21**

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 16387:2022) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 16387:2014 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 16387:2022 wurde vom CEN als prEN ISO 16387:2022 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

ISO Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

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

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. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

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

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

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190, *Soil quality*, Unterkomitee SC 4, *Biological characterization* erarbeitet.

Diese dritte Ausgabe ersetzt die zweite Ausgabe (ISO 16387:2014), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

— Korrektur des Dampfdruckwertes zur Aktualisierung von Abschnitt 1 gemäß den Empfehlungen der ECHA/OECD;

— Hinzufügung einer Extraktionsmethode für Enchytraeide mit kolloidalem Siliziumdioxid in Anhang D, die für *Enchytraeus crypticus* geeignet ist.

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

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Einleitung

Ökotoxikologische Prüfsysteme werden angewendet, um Informationen über die Wirkungen von Verunreinigungen im Boden zu erhalten, und sie sind zur Ergänzung der herkömmlichen chemischen Analysen vorgesehen. ISO 15799 enthält eine Aufstellung und eine kurze Charakterisierung der empfohlenen und genormten Prüfsysteme. Aquatische Prüfsysteme mit Bodeneluat werden angewendet, um Informationen über den Anteil der Verunreinigungen zu erhalten, die möglicherweise über den Wasserweg (Rückhaltefunktion von Böden) das Grundwasser erreichen, wogegen terrestrische Prüfsysteme zur Bewertung der Lebensraumfunktion der Böden angewendet werden. Für das Letztere wird ein genormtes Prüfsystem unter Verwendung von Enchytraeidae (Chronische Prüfung mit Reproduktion als Endpunkt) vorgeschlagen.

Diese Internationale Norm beschreibt ein Verfahren, das auf der Bestimmung der subletalen Wirkungen der verunreinigten Böden gegenüber adulten Enchytraeidae der Gattung *Enchytraeus* basiert. Optional kann das Verfahren zur Bewertung von Substanzen, die den Standardböden (z. B. künstlicher Boden) zugefügt wurden, auf ihr subletales Gefährdungspotential gegenüber Enchytraeidae angewendet werden.

Bodenbewohnende Anneliden der Gattung *Enchytraeus* sind ökologisch wichtig, d. h. sie kommen in vielen Böden vor, in denen Regenwürmer selten auftreten, können jedoch auch hohe Populationsdichten in Böden aufweisen, die ebenfalls von Regenwürmern bewohnt werden. Enchytraeidae können sowohl in Laboratoriumsuntersuchungen als auch in Semi-Gelände- und Freilanduntersuchungen eingesetzt werden. Unter praktischen Gesichtspunkten ist die Handhabung und Zucht vieler *Enchytraeus*-Arten einfach, ihre Vermehrungszeit ist erheblich kürzer als die von Regenwürmern [die Prüfdauer eines Vermehrungstests mit Enchytraeidae beträgt vier bis sechs Wochen verglichen mit acht Wochen (12 Wochen einschließlich Synchronisation) mit Regenwürmern]. Zusätzlich wird ein sehr viel geringeres Bodenvolumen im Vergleich zur benötigten Menge für die Prüfung mit Regenwürmern benötigt.

Dieses Dokument wurde unter Berücksichtigung der durch die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung empfohlenen Prüfverfahren (siehe [22], [25]) erstellt.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt eines der Verfahren zur Bewertung der Lebensraumfunktion von Böden und zur Bestimmung der Wirkung von Bodenverunreinigungen und Substanzen auf die Reproduktion von *Enchytraeus* sp. bei Aufnahme über die Haut und durch die Nahrung in einer chronischen Prüfung fest. Sie ist anwendbar für Böden und Bodenmaterialien unbekannter Beschaffenheit, z. B. von verunreinigten Standorten, Böden nach der Sanierung, landwirtschaftlichen oder anderen betroffenen Standorten und Abfallmaterialien.

Die Wirkungen der Substanzen werden mit einem Standardboden, vorzugsweise mit einem festgelegten künstlichen Bodensubstrat, bewertet. Bei verunreinigten Böden werden die Wirkungen im zu prüfenden Boden und in einem Kontrollboden bestimmt. Entsprechend der Zielsetzung der Untersuchung sind die Kontrolle und das zur Verdünnung verwendete Substrat (Verdünnungsreihen des verunreinigten Bodens) entweder ein mit dem zu prüfenden Boden vergleichbarer, nicht verunreinigter Boden (Referenzboden) oder ein Standardboden (z. B. künstlicher Boden).

Dieses Dokument gibt Informationen, wie dieses Verfahren zur Prüfung von Substanzen unter gemäßigten Bedingungen anzuwenden ist.

Das Verfahren ist nicht auf Substanzen anwendbar, bei denen der Luft/Boden-Verteilungskoeffizient größer als 1 ist, oder bei Substanzen, deren Dampfdruck bei 25 °C 300 Pa überschreitet.

ANMERKUNG Es kann nicht sichergestellt werden, dass die Prüfsubstanz während der gesamten Versuchsdauer stabil bleibt.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

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

ISO 10390, *Soil, treated biowaste and sludge — Determination of pH*

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

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

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

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

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1
Reproduktion
durchschnittliche Anzahl der Nachkommen je Prüfgefäß nach Inkubation unter den festgelegten Prüfbedingungen

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Prüfdauer für die Bestimmung der Reproduktion (Hauptprüfung) beträgt sechs Wochen.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Anmerkung 2 zum Begriff: Nachkommen = geschlüpfte Jungtiere.

3.2
Reproduktionsrate
durchschnittliche Anzahl der Nachkommen, die bezogen auf die Anzahl von adulten Tieren über die Prüfdauer produziert werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Prüfdauer für die Bestimmung der Reproduktion (Hauptprüfung) beträgt sechs Wochen.

Anmerkung 2 zum Begriff: Nachkommen = geschlüpfte Jungtiere.

3.3
EC*x*
Wirkungskonzentration für eine Wirkung von *x* %
Konzentration (Masseanteil) einer Substanz, die *x* % einer Wirkung an einem gegebenen Endpunkt innerhalb einer gegebenen Kontaktzeit im Vergleich zur Kontrolle verursacht

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

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

3.4
LOEC, en: lowest observed effect concentration
geringste Konzentration, bei der eine Wirkung zu beobachten ist,
niedrigste Konzentration einer Prüfsubstanz, die eine statistisch signifikante Wirkung zeigt (Wahrscheinlichkeit $p < 0{,}05$)

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

3.5
NOEC, en: no observed effect concentration
höchste Konzentration ohne statistisch signifikante Wirkung
höchste Konzentration einer Prüfsubstanz, die gleich unterhalb der LOEC liegt, bei der keine Wirkung beobachtet wird

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

3.6
Prüfmischung
Mischung von verunreinigtem Boden oder Prüfsubstanz (z. B. Chemikalie, Bio-Feststoffe, Abfall) mit dem Kontrollboden

3.7
Prüfmischungs-Verhältnis
Verhältnis zwischen dem zu prüfenden Boden und dem Kontrollboden in einer Prüfmischung

3.8
Verunreinigung
Substanz oder Mittel, die bzw. das im Boden als ein Ergebnis menschlicher Tätigkeit vorhanden ist

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

3.9
Referenzboden
nicht verunreinigter Boden, der vergleichbare Eigenschaften (Nährstoffkonzentrationen, pH-Wert, Gehalt an organischem Kohlenstoff und Gefüge) wie der zu prüfende Boden aufweist

3.10
Standardboden
Freilandboden oder künstlicher Boden, dessen wesentliche Eigenschaften (pH-Wert, Gefüge, Gehalt an organischer Substanz) innerhalb eines bekannten Bereichs liegen

BEISPIEL Eurosoils, künstlicher Boden, LUFA-Standardboden.

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

3.11
Kontrollboden
Referenz- oder Standardboden, der als Kontrolle und als Medium für die Herstellung der Verdünnungsreihen mit den zu prüfenden Böden oder einer Referenzsubstanz verwendet wird, der die Validitätskriterien erfüllt

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

4 Kurzbeschreibung

Es werden die Wirkungen auf das Überleben und die Reproduktion von adulten Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.), die einem Verdünnungsbereich des verunreinigten Bodens oder einem Konzentrationsbereich einer Prüfsubstanz ausgesetzt werden, bestimmt. Die Prüfmischungen werden zu Prüfbeginn hergestellt und innerhalb des Prüfzeitraumes nicht erneuert.

Die Prüfung kann in zwei Stufen unterteilt werden: eine kurze Prüfung (zwei Wochen) zur Eingrenzung von Konzentrationsbereichen, mit der der Bereich toxischer Wirkung (im Wesentlichen die Mortalität) bestimmt wird, und eine Langzeit-Hauptprüfung (sechs Wochen), mit der das Überleben parentaler Würmer und die Fekundität (Anzahl an Jungtieren) ermittelt werden. Die aus den Prüfungen erhaltenen Ergebnisse werden mit einer Kontrolle verglichen und für die Bestimmung der Verdünnungen oder Konzentrationen verwendet, die keine Wirkungen auf die Biomasse, Mortalität und Reproduktion (NOEC) hervorrufen und für die Konzentration (Verdünnung), die *x* % Reduzierung der aus den Kokons geschlüpften juvenilen Tiere verglichen mit der Kontrolle (EC*x*, 42 d) ergibt.

Alle Prüfverdünnungen/-konzentrationen oberhalb der LOEC weisen eine schädigende Wirkung auf, die gleich oder größer ist, als die bei der LOEC beobachteten Wirkung. Besteht keine Vorkenntnis über die voraussichtlich wirksame Verdünnung/Konzentration der Prüfsubstanz, ist es zweckmäßig, den Versuch in zwei Schritten durchzuführen:

— ein Versuch zur akuten Toxizität (Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs) wird durchgeführt, um eine Angabe zur wirksamen Verdünnung/Konzentration zu erhalten, und der Verdünnung/Konzentration die keine Mortalität (NOEC) ergibt. Anschließend können die für die Hauptprüfung zu verwendenden Verdünnungen/Konzentrationen ausgewählt werden;

— die Hauptprüfung in Bezug auf die Reproduktion zur Bestimmung der subletalen Wirkungen (der Verdünnungen) des verunreinigten Bodens oder der Konzentration einer Substanz, die nach gleichmäßigem Einmischen in den Standardboden zu keinen signifikanten Wirkungen auf die Anzahl der aus den Kokons geschlüpften Nachkommen im Vergleich zur Kontrolle (NOEC) zeigt sowie der niedrigsten wirksamen Konzentration (LOEC).

ANMERKUNG Die Verwendung eines geeigneten Referenzbodens ist eine erforderliche Bedingung, um den Status der Prüfpopulation nachzuweisen und Fehlinterpretation der Ergebnisse zu vermeiden.

AVA Documents Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

5 Reagenzien und Materialien

5.1 Biologisches Material, empfohlene Prüfspezies ist *Enchytraeus albidus* Henle 1837 (Weißer Topfwurm, Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida). *E. albidus* ist einer der größten Vertreter, 15 mm bis 40 mm Körperlänge, und ist weltweit verbreitet (siehe z. B. [21], [33]). Er kann durch zwei Merkmale leicht erkannt werden: Vier Borsten je Bündel an der Bauchseite sowie der sehr lange Samenkanal im Clitellarbereich und einige Segmente dahinter. Die Art wird in marinen, limnischen und terrestrischen Habitaten, oft in Ansammlungen organischen Materials (Seetang, Kompost) und nur selten in Wiesen gefunden. Diese breite ökologische Toleranz sowie die morphologische Variabilität deuten darauf hin, dass diese Art wahrscheinlich in verschiedenen Rassen (oder Ökotypen) vorkommt. *E. albidus* ist kommerziell als Fischfutter im Handel erhältlich. Es sollte festgestellt werden, ob die Kultur durch andere, meist kleinere Arten verunreinigt ist (siehe z. B. [7], [10], [34]). Wenn eine Verunreinigung der Kultur auftritt, müssen alle Würmer in einer Petrischale mit Wasser aufgeschwemmt werden. Mit Hilfe eines Binokulars sind dann große, adulte Individuen von *E. albidus* zu Beginn einer neuen Zucht auszuwählen. Alle Würmer der ursprünglichen Kultur sind zu entsorgen. *E. albidus* kann leicht in einer Vielzahl organischer Materialien gezüchtet werden (siehe Anhang A) und hat einen kurzen Generationszyklus mit Erreichen der Geschlechtsreife zwischen 33 d (bei 18 °C) und 74 d (bei 12 °C). Nur Tiere, die mindestens fünf Wochen (d. h. einen Generationszyklus) ohne Probleme gehalten wurden, dürfen für eine Prüfung verwendet werden.

Andere Arten der Gattung *Enchytraeus*, besonders die im Boden lebende, aber kleinere Art *E. crypticus* Westheide & Graefe 1992 oder *E. buchholzi* Vejdovsky 1879 sind ebenfalls als Prüforganismen geeignet (siehe Anhang B). Wenn andere Arten der Gattung *Enchytraeus* verwendet werden, müssen diese eindeutig bestimmt werden. Die Gründe, die für ihre Auswahl entscheidend waren, sollten genannt sowie alle Abweichungen von diesem Prüfverfahren in diesem Fall aufgezeichnet werden.

Die in der Prüfung eingesetzten Würmer sollten adult mit Eiern (weiße Punkte) im Clitellarbereich sein und sollten ungefähr die gleiche Größe (etwa 15 mm für *E. albidus*) haben. Eine Synchronisation der Zucht ist nicht notwendig. Die Enchytraeidae sollten in den Referenzboden, den Standardboden oder in dem unbehandelten künstlichen Bodensubstrat mindestens 24 h vor Prüfbeginn unter Prüfbedingungen akklimatisiert werden. Während dieser Zeit sollte das gleiche Futter wie später in der Prüfung in ausreichender Menge verwendet werden.

Für eine Prüfung sollte ohne genauere Beobachtung eine Anzahl an adulten Würmern, die größer als die später notwendige Anzahl ist, aus den Zuchtboxen entnommen werden. Am Ende der Akklimatisierungsphase werden nur Tiere mit Eiern, die keine Verhaltensauffälligkeiten zeigen (z. B. nicht versuchen, das künstliche Bodensubstrat zu verlassen), verwendet. Für die Auswahl werden die Tiere in eine mit etwas Wasser gefüllte Petrischale übertragen. Mit Hilfe eines Binokulars sind dann Tiere ohne Eier auszusondern. Nach Möglichkeit sollte dabei ein Süßwasser-Medium (z. B. künstliches Wasser nach [24]) verwendet werden, da demineralisiertes oder Leitungswasser (letzteres z. B. wegen seines Kupfergehalts) die Enchytraeidae schädigen können. Während dieser Auswahl sind alle anderen in den Zuchten vorkommenden Tiere, wie Milben, ebenfalls zu entfernen.

ANMERKUNG Ein Beispiel für die Zuchtbedingungen für *Enchytraeus* sp. ist in Anhang A gegeben.

5.2 Prüfmischungen, die aus einem im Freiland entnommenen Boden oder Kontrollboden mit Zugabe einer Prüfsubstanz bestehen können.

5.2.1 Freilandboden oder Abfall

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

Die Freilandböden für die Prüfung sind durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 4 mm zu geben, um grobkörnige Anteile zu entfernen. Falls notwendig, kann der Boden vor dem Sieben ohne Erwärmung luftgetrocknet werden. Die Lagerung der zu prüfenden Böden sollte so kurz wie möglich sein. Der Boden muss nach ISO 18400-206 in Behältern gelagert werden, die die Verluste der Bodenverunreinigungen durch Verflüchti-

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

gung und Sorption in die Behälterwände gering halten. Der pH-Wert des Bodens sollte nicht geändert werden, da dies die Bioverfügbarkeit der Bodenverunreinigungen beeinflussen kann.

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

a) pH-Wert nach ISO 10390;

b) Gefüge (Sand, Lehm, Schluff) nach ISO 11277;

c) Wassergehalt nach ISO 11465;

d) Wasserhaltekapazität nach Anhang C;

e) Kationenaustauschkapazität nach ISO 11260;

f) organischer Kohlenstoff nach ISO 10694.

ANMERKUNG Es ist wichtig, die Wasserhaltekapazität aller bei der Prüfung verwendeten Mischungen zu messen.

5.2.2 Kontrollboden, entweder a) Referenzboden (3.9) oder b) Standardboden (3.10), der die Anwesenheit von Enchytraeidae erlaubt (es müssen mindestens die Validitätskriterien erfüllt sein). Kontrollboden und der Boden für die Verdünnungsreihen dürfen sich in der gleichen Prüfung nicht unterscheiden (entweder a) oder b)).

a) Sind Referenzböden von nicht verunreinigten Flächen in der Nähe eines verunreinigten Standortes verfügbar, sollten sie wie die zu prüfenden Böden behandelt und charakterisiert werden. Wenn eine toxische Verunreinigung oder ungewöhnliche Bodeneigenschaften nicht ausgeschlossen werden können, sollten Standardkontrollböden bevorzugt werden.

b) Für die Prüfung der Wirkungen von Substanzen, die in den Boden eingemischt werden, sind Standardböden (z. B. künstlicher Boden, LUFA) als Prüfsubstrat zu verwenden. Die Eigenschaften des im Freiland entnommenen Standardbodens müssen aufgezeichnet werden.

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

	Massenanteile in % bezogen auf Trockenmasse
— Fein gemahlener Sphagnum-Torf ohne sichtbare Pflanzenreste	10 %
— Kaolin, mit mindestens 30 % Kaolinit	20 %
— Industrie-Quarzsand (hauptsächlich Feinsand, der zu mehr als 50 % eine Korngröße von 0,05 mm bis 0,2 mm aufweist)	69 %

Um einen pH-Wert auf 6,0 ± 0,5 einzustellen, sind etwa 0,3 % bis 1,0 % Calciumcarbonat ($CaCO_3$, pulverisiert, analysenrein) notwendig.

ANMERKUNG 1 Unter Berücksichtigung der Eigenschaften hochunpolarer ($\log K_{ow} > 2$) oder ionisierender Substanzen hat sich erwiesen, dass 5 % Torf die gewünschte Struktur des künstlichen Bodens aufrechterhalten [22].

Der künstliche Boden ist mindestens drei Tage vor Prüfbeginn herzustellen, in dem die vorstehend aufgeführten Bestandteile in einem großen Labormischer durchmischt werden. Ein Teil des erforderlichen deionisierten Wassers ist während des Mischens hinzuzufügen. Die erforderliche Menge an Calciumcarbonat kann sich abhängig von den Eigenschaften der einzelnen Charge des Sphagnum-Torfes ändern und sollte unmittelbar vor der Prüfung durch Messung von Teilproben bestimmt werden. Der gemischte künstliche Boden ist für mindestens zwei Tage zu lagern, um den Säuregehalt ins Gleichgewicht zu bringen. Zur Bestimmung des pH-Wertes

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

und der maximalen Wasserhaltekapazität ist der trockene künstliche Boden durch Zugabe von deionisiertem Wasser für einen oder zwei Tag(e) vor der Prüfung anzufeuchten, bis die Hälfte des erforderlichen Wasseranteils von 40 % bis 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität erreicht ist.

Die gesamte Wasserhaltekapazität wird entsprechend Anhang C bestimmt und der pH-Wert nach ISO 10390.

ANMERKUNG 2 Das zum Einbringen der Prüfsubstanz in den Boden benötigte Wasser sollte berücksichtigt werden.

5.3 Futter

Haferflocken, möglichst autoklaviert (erhitzen ist auch möglich), um Verunreinigungen der Zucht mit anderen Organismen zu vermeiden, sind besonders geeignet [33]. Zu Prüfbeginn werden 50 mg gemahlene Haferflocken je Prüfgefäß in das Prüfsubstrat eingemischt (nach Applikation der Prüfsubstanz, aber vor Zugabe der Würmer); bei weiteren Fütterungen werden 25 mg je Prüfgefäß und Woche (außer nach 28 d) nur auf die Oberfläche des Prüfsubstrats aufgestreut, um Störungen der Würmer zu vermeiden. Da die benötigte Futtermenge in den verschiedenen Gefäßen variieren kann, sollte die Fütterung dem Bedarf angepasst werden (d. h. Überfütterung muss vermieden werden). Einige Bodenpartikel sollten auf die Oberfläche der Haferflocken gelegt werden, um das Wachstum von Pilzen zu behindern.

5.4 Reagenzien

5.4.1 Bengalrot.

5.4.2 Ethanol.

5.4.3 Borsäure, geeignet als Referenzsubstanz.

6 Geräte

Übliche Laborausstattung und folgende.

6.1 Prüfgefäß, 0,20 l bis 0,25 l, Durchmesser (z. B. 5 cm), der eine Füllhöhe von 1,5 cm bis 2 cm Boden erlaubt, mit Deckel (z. B. Glas oder gelöcherte Kunststofffolie). Die Becher enthalten künstliches Bodensubstrat, das einer Trockenmasse von 20 g entspricht und müssen als Prüfgefäße geeignet sein. Die Deckel müssen einen Gasaustausch zwischen Bodensubstrat und Atmosphäre erlauben.

6.2 Trockenschrank.

6.3 Binokular.

6.4 Waagen mit einem Wägebereich von 50 g bis 32 kg; Wägung mindestens auf 1 g.

6.5 Analysenwaage mit einem Wägebereich von 10 mg bis 200 g; Wägung mindestens auf 1 mg.

6.6 pH-Messgerät.

6.7 Temperaturmessgeräte (z. B. Temperatur-/Feuchte-Rekorder).

6.8 Belichtungsmesser.

6.9 Mixer.

6.10 Brutschrank oder ein kleiner Raum mit Klimakontrolle.

6.11 Federstahlpinzette, Haken, Schlingen oder schmale Bürsten.

6.12 Photoschalen mit gewelltem Boden.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

7 Prüfbedingungen

Die Prüfgefäße (6.1) sind während der Prüfung für zwei Wochen (Vorprüfung) oder sechs Wochen (Hauptprüfung) mit Deckeln abzudecken, um das Austrocknen des Prüfsubstrats zu verhindern. Die Prüftemperatur muss (20 ± 2) °C betragen; höhere Temperaturen können die Reproduktion beeinträchtigen. Die Prüfung wird unter Langtag-Bedingungen bei einem Hell-Dunkel-Zyklus von vorzugsweise 16 h zu 8 h bei 400 lx bis 800 lx am Standort der Prüfgefäße durchgeführt, so dass die Würmer gehindert werden aus dem Boden zu flüchten.

Die Prüfgefäße werden zu Prüfbeginn und danach wöchentlich gewogen. Der Wasserverlust ist mit einer entsprechenden Menge an deionisiertem Wasser auszugleichen. Dieser Verlust kann durch Aufrechterhaltung einer hohen Luftfeuchtigkeit (> 80 %) im Brutschrank (6.10) minimiert werden. Alle Prüfgefäße sind innerhalb des Brutschranks oder Raums in wöchentlich zu wechselnder zufälliger Anordnung aufzustellen.

Zu Beginn und am Ende der Vorprüfung und Hauptprüfung sollten jeweils der Wassergehalt und der pH-Wert gemessen werden. Zur Vereinfachung der Überprüfung des pH-Wertes und des Wassergehalts des Prüfsubstrats wird die Verwendung eines zusätzlichen Gefäßes (Wiederholung) für jede Konzentration und Kontrollprobe empfohlen.

8 Durchführung

8.1 Prüfaufbau

8.1.1 Allgemeines

Eine Probe des unter Freilandbedingungen entnommenen Bodens kann sowohl mit einer einzelnen Konzentration (üblicherweise 100 %) geprüft oder hinsichtlich der Toxizität in einer Prüfung mit Mehrfachkonzentrationen bewertet werden, wobei eine Reihe von Konzentrationen (Verdünnungen) durch Mischen abgemessener Mengen mit einem Kontrollboden (5.2.2) hergestellt wird. Abhängig von der Kenntnis heranziehbarer Wirkungsschwellen kann eine Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs der Hauptprüfung vorausgehen. Jede Hauptprüfung besteht aus einer Reihe von Bodenmischungen (Prüfgliedern). Jedes Prüfglied ist mindestens viermal zu wiederholen.

8.1.2 Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs

Eine Prüfung zur Ermittlung des Bereichs des Mischungsverhältnisses, das sich auf die Enchytraeidae auswirkt, ist optional. Falls es notwendig ist, den für die Hauptprüfung verwendeten Konzentrationsbereich (Verdünnungen) zu bestimmen, ist eine Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs (Akutprüfung) in einem großen Konzentrationsbereich (Verdünnungen) des verunreinigten Bodens durchzuführen z. B. 0 % - 1 % - 5 % - 25 % - 50 % - 75 % - 100 %, oder der Prüfsubstanz, z. B. 0 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg, 100 mg/kg, 1 000 mg/kg (die Konzentrationen werden in Milligramm der Prüfsubstanz je Kilogramm des trockenen Standardbodens (5.2.2) angegeben) und eine Kontrolle wird mit 10 Würmern je Gefäß durchgeführt.

Die Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs wird ohne Wiederholung durchgeführt.

8.1.3 Hauptprüfung

Der Aufbau der Hauptprüfung hängt von den Prüfzielen ab. Üblicherweise werden die Lebensraumeigenschaften eines im Freiland beprobten Bodens dadurch ermittelt, dass die biologischen Auswirkungen für den (die) zu prüfenden Boden (Böden) mit denen in einem Referenzboden, oder falls letzterer nicht verfügbar bzw. aufgrund von Toxizität oder untypischen physikochemischen Eigenschaften nicht geeignet ist, mit den Auswirkungen in einem Standardboden verglichen werden. Die für den Standardboden ermittelten Ergebnisse helfen bei der Unterscheidung der von der Verunreinigung ausgehenden Wirkungen von denjenigen, die, verursacht durch die physikochemischen Bodeneigenschaften nicht von der Verunreinigung ausgehen. Ungeachtet dessen, ob ein Referenzboden oder Standardboden für die statistischen Vergleiche verwendet wird, dienen die Ergebnisse mit dem Standardboden zur Beurteilung der Gültigkeit und Eignung der Prüfung [14].

AVA Documents Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Ist für Charakterisierungszwecke ein Prüfaufbau erforderlich, der Verdünnungsreihen einschließt, sind drei Konzepte möglich (die Konzentrationsabstufungen dürfen den Faktor 2 nicht überschreiten):

— Bei der Vorgehensweise mit NOEC sollten mindestens fünf Konzentrationen in einer geometrischen Reihe verwendet werden. Für jede Konzentration werden vier Wiederholungen zuzüglich acht Kontrollen empfohlen.

— Bei der Vorgehensweise mit EC*x* sollten 12 Konzentrationen verwendet werden. Für jede Konzentration werden zwei Wiederholungen zuzüglich sechs Kontrollen empfohlen. Der Faktor der Konzentrations-abstufungen kann variabel sein; kleiner bei geringeren Konzentrationen, größer bei höheren Konzentrationen.

— Bei der gemischten Vorgehensweise sollten sechs bis acht Konzentrationen in einer geometrischen Reihe verwendet werden. Für jede Konzentration werden vier Wiederholungen sowie mindestens acht Kontrollen empfohlen. Diese gemischte Vorgehensweise ermöglicht sowohl eine NOEC- als auch eine EC*x*-Bewertung.

Eine Grenzwertprüfung kann ausreichend sein, wenn in der Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs keine toxische Wirkung beobachtet wurde. Bei der Grenzwertprüfung werden nur der zu prüfende Boden ohne jegliche Verdünnung (oder zu prüfender Boden vs. Kontrollboden) und der Kontrollboden mit jeweils mindestens vier Wiederholungen geprüft.

Falls der zu prüfende Boden Eigenschaften besitzt, die sich wesentlich von den üblichen Standard- Kontrollböden (z. B. OECD künstlicher Boden oder LUFA 2.2 Boden) unterscheiden, zum Beispiel ein recht niedriger oder hoher pH-Wert oder sehr niedrige oder hohe Anteile an organischem Material oder Lehmanteil, ist es unbedingt notwendig, einen Referenzboden mit ähnlichen Eigenschaften zu haben. In dem Fall kann die Kontrolldurchführung der Enchytraeidae weniger gut als „üblich“ sein und die Qualitätsprüfung ist auf Grundlage des Referenzbodens nicht möglich. Zur Bewertung der Toxizität des zu prüfenden Bodens ist es jedoch wichtig, solch einen Referenzboden zu haben, der auch zur Herstellung von Verdünnungsreihen des zu prüfenden Bodens verwendet werden kann. Zur Bewertung der Prüfqualität ist es in solch einem Fall äußerst wichtig, einen Referenzboden und einen Standardboden einzubeziehen.

8.2 Herstellung der Prüfmischungen

8.2.1 Prüfung des verunreinigten Bodens

Entsprechend dem gewählten Verdünnungsbereich ist der zu prüfende Boden gründlich mit dem Referenzboden oder Standardboden zu durchmischen (entweder manuell oder mit einem Handmischer). Die Homogenität der Mischung ist visuell zu überprüfen. Die Gesamtmasse des zu prüfenden Bodens und des Referenz- oder des Standardbodens muss in jedem Prüfgefäß (6.1) 20 g (Trockenmasse) betragen. Die Prüfmischung ist mit deionisiertem Wasser so anzufeuchten, dass 40 % bis 60 % der gesamten Wasserhaltekapazität, bestimmt nach Anhang C, erreicht wird. In einigen Fällen, wenn z. B. Abfallmaterialien geprüft werden, sind höhere Prozentanteile erforderlich. Das kann leicht überprüft werden, indem das Substrat in der Faust zusammengedrückt und beobachtet wird, ob zwischen den Fingern Wasser austritt.

Am Anfang und am Ende der Prüfung ist für jede Prüfmischung (ein Gefäß je Konzentration) der pH-Wert nach ISO 10390 zu bestimmen (den pH-Wert nicht einstellen).

WARNUNG — Verunreinigte Böden können unbekannte Gemische von toxischen, mutagenen oder auf andere Art schädlichen Chemikalien oder infektiöse Mikroorganismen enthalten. Berufliche Gesundheitsrisiken können durch Staub oder verdunstete Chemikalien sowie über Hautkontakt während der Handhabung und Inkubation auftreten.

8.2.2 Prüfung von dem Prüfsubstrat zugegeben Substanzen

Für jedes Prüfgefäß (6.1) muss die Masse des verwendeten Substrates 20 g (Trockenmasse) entsprechen. Als Prüfsubstrat ist Standardboden (5.2.2) zu verwenden. Die Substanzen werden dem Prüfsubstrat zugefügt und gründlich eingemischt.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03

Für die Zugabe der Prüfsubstanzen sind entweder Verfahren a), b) oder c) entsprechend anzuwenden:

a) wasserlösliche Substanzen

Unmittelbar vor Prüfbeginn ist die Prüfsubstanzmenge, die für die Wiederholungen jeder Konzentration erforderlich ist, in Wasser (oder in der zur Befeuchtung des Bodens erforderlichen Menge) zu lösen, um die Anforderungen von 5.2.2 zu erfüllen. Das Wasser ist sorgfältig mit dem Boden zu vermischen, bevor dieses in ein Prüfgefäß eingefüllt wird.

b) Substanzen, die in Wasser unlöslich, aber in organischen Lösemitteln löslich sind

Die zum Erhalt der gewünschten Konzentration erforderliche Menge der Prüfsubstanz ist in einem flüchtigen Lösemittel (z. B. Aceton oder Hexan) zu lösen und mit einem Anteil des erforderlichen Quarzsandes zu vermischen. Das Gefäß ist unter einen Abzug zu stellen, bis das Lösemittel verdunstet ist. Anschließend sind der restliche Boden und das Wasser zuzufügen und sorgfältig zu vermischen, bevor die Mischung in die Prüfgefäße eingefüllt wird.

ANMERKUNG Wenn die Prüfsubstanz nur schwer wasserlöslich ist, kann sie mittels Ultraschalldispersion, organischen Lösemitteln, Emulgatoren oder Dispergenzien gelöst werden. Bei Verwendung solcher Trägerstoffe sollten alle Prüfkonzentrationen sowie eine zusätzliche Kontrolle die gleiche Mindestmenge Trägerstoff enthalten.

WARNUNG — Geeignete Vorsichtsmaßnahmen sind zu treffen, um beim Umgang mit Lösemitteldämpfen Gefahren durch Inhalation oder Explosion und Schäden an den Extraktionsgeräten, Pumpen usw. zu vermeiden.

c) in Wasser oder organischen Lösemitteln unlösliche Substanzen

Bei einer in einem flüchtigen Lösemittel unlöslichen Substanz ist eine Mischung aus 10 g fein gemahlenem Industrie-Quarzsand (siehe 5.2.2) und der für die gewünschte Konzentration erforderlichen Prüfsubstanzmenge herzustellen. Diese Mischung, der restliche Boden (5.2.2) und das Wasser sind in die Prüfgefäße (6.1) einzufüllen und sorgfältig zu vermischen.

Die zur Ermittlung der LOEC/NOEC gewählten Konzentrationen basieren auf den Ergebnissen der Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs. Die Konzentrationsabstufungen dürfen den Faktor 2 nicht überschreiten.

In das Substrat eingemischte Substanzen brauchen in Konzentrationen über 1 000 mg/kg Prüfsubstratmasse nicht geprüft zu werden.

Die Prüfung ist gleichzeitig mit der für die gewählte Versuchsanordnung erforderlichen Anzahl von Wiederholungen fortzusetzen (siehe 8.1.3).

Am Anfang und am Ende der Prüfung ist für jede Prüfmischung (ein Gefäß je Konzentration) der pH-Wert nach ISO 10390 zu bestimmen (den pH-Wert nicht einstellen).

8.2.3 Vorbereitung der Kontrollgefäße

Das Kontrollgefäß enthält den Kontrollboden (5.2.2), der mit deionisiertem Wasser so angefeuchtet ist, dass 40 % bis 60 % der Wasserhaltekapazität (bestimmt nach Anhang C) erreicht werden.

Ein Kontrollgefäß ist für die Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs und mindestens vier bis acht Kontrollgefäße sind in Abhängigkeit vom Prüfverfahren vorzubereiten (siehe 8.1.3).

Die Kontrollgefäße sind ebenso wie die Prüfgefäße vorzubereiten. Erfordert die Vorbereitung der Prüfung die Verwendung eines Lösemittels (siehe 8.2.2), ist eine zusätzliche Kontrolle mit dem Lösemittel, jedoch ohne die Prüfsubstanz vorzubereiten. Die Gefäße sind, wie in 6.1 angegeben, abzudecken.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 16387:2022-03