

TEXTE

119/2024

Abschlussbericht

Einstufung von Spiegeleinträgen im Abfallverzeichnis nach HP 14 – Erarbeitung von Vorschlägen für eine Weiterentwicklung der Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen

von:

Karen Duis, Stephan Jänsch, Janina Blöcher, Anja Coors
ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim/Main

Ralf Ketelhut

Stoffstromdesign, Neumünster

Herausgeber:

Umweltbundesamt

TEXTE 119/2024

Ressortforschungsplan des Bundesministeriums für
Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und
Verbraucherschutz

Forschungskennzahl 3721 34 305 0
FB001439

Abschlussbericht

Einstufung von Spiegeleinträgen im Abfallverzeichnis nach HP 14 – Erarbeitung von Vorschlägen für eine Weiterentwicklung der Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen

Mai 2024

von

Karen Duis, Stephan Jänsch, Janina Blöcher, Anja Coors
ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim/Main

Ralf Ketelhut
Stoffstromdesign, Neumünster

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber

Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel: +49 340-2103-0
Fax: +49 340-2103-2285
buergerservice@uba.de
Internet: www.umweltbundesamt.de

Durchführung der Studie:

ECT Oekotoxikologie GmbH
Böttgerstraße 2-14
65439 Flörsheim/Main

Ralf Ketelhut Stoffstromdesign
Wookerkamp 61
24536 Neumünster

Abschlussdatum:

Mai 2024

Redaktion:

Fachgebiet III 1.5 Abfallwirtschaft, grenzüberschreitende Abfallverbringung
Mareike Röhreich

Publikationen als pdf:

<http://www.umweltbundesamt.de/publikationen>

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, August 2024

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung: Einstufung von Spiegeleinträgen im Abfallverzeichnis nach HP 14 – Erarbeitung von Vorschlägen für eine Weiterentwicklung der Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen

Abfälle aus sog. Spiegeleinträgen müssen je nach Abfallzusammensetzung als gefahrenrelevant oder nicht gefahrenrelevant eingestuft werden. Dabei werden gefahrenrelevante Eigenschaften anhand der Konzentrationen der Abfallinhaltsstoffe oder anhand einer Prüfung ermittelt. Für das Gefährlichkeitsmerkmal HP 14 (ökotoxisch) gibt es auf EU-Ebene keine konkreten Vorgaben für eine Einstufung anhand von Prüfungen (Biotests). In Deutschland wurde 2013 eine Handlungsempfehlung des UBA zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen veröffentlicht. Ziel des vorliegenden Projekts war es, Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung dieser Handlungsempfehlung zu erarbeiten. Eine Literaturrecherche wurde durchgeführt, um Biotest-basierte Strategien für die HP 14-Einstufung von Abfällen, Herangehensweisen bei Probenahme, Probenvorbehandlung und Elution sowie relevante ökotoxikologische Testverfahren zu identifizieren. Die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Strategie zur HP 14-Einstufung von Spiegeleinträgen wurde überprüft, und erste Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung wurden gemacht. Die Teststrategie wurde anschließend anhand der Beprobung, Aufbereitung und ökotoxikologischen Untersuchung von 10 Abfallproben aus Spiegeleinträgen (Filterstaub, Boden und Steine, Shredderleichtfraktionen und Staub) überprüft. Aufbauend auf den Ergebnissen und Erfahrungen und unter Berücksichtigung der Diskussionen mit dem projektbezogenen Begleitkreis wurden die Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung weiter ausgearbeitet. Sie betreffen Probenahme, Probenvorbehandlung, Teilung von Proben im Labor, Elution, ökotoxikologische Testung und Mindestanforderungen an Berichte. Außerdem wurden Punkte identifiziert, für die auf regulatorischer Ebene Handlungsbedarf besteht, und es wurden Vorschläge für Anpassungen der Testrichtlinien für die Biotests gemacht.

Abstract: HP 14 classification of mirror entries in the List of Wastes – elaboration of proposals for further developing the German ‘Recommendations for the ecotoxicological characterization of wastes’

Waste from so-called mirror entries has to be categorized as hazardous or non-hazardous depending on its composition. Hazard properties (HP) are determined based on concentrations of the waste constituents or testing. For the hazard property HP 14 (ecotoxic), there are no specific requirements at EU level for the classification based on testing (bioassays). In Germany, recommendations for the ecotoxicological characterization of wastes were published by UBA in 2013. The objective of the present project was to develop proposals for updating and further developing the UBA recommendations. A literature search was carried out to identify biotest-based strategies for the HP 14 classification of waste, approaches to sampling, sample pretreatment and elution as well as relevant ecotoxicological test methods. The strategy proposed in the UBA recommendations for HP 14 classification of mirror entries was verified, and initial suggestions were made for its update and further development. The strategy was then reviewed based on sampling, sample preparation and ecotoxicity testing of 10 waste samples from mirror entries (flue-gas dust, soil and stones, fluff-light fractions and dust). Based on the results and experiences and the discussions with the project advisory group, the proposals for updating and further developing the UBA recommendations were further elaborated. They relate to sampling, sample pretreatment, subsampling in the laboratory, elution, ecotoxicity testing, and minimum requirements for reporting. In addition, issues were identified for which there is a need for action at regulatory level and proposals were made for adjustments to the test guidelines for the biotests.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	10
Tabellenverzeichnis.....	14
Abkürzungsverzeichnis.....	17
Glossar.....	19
Zusammenfassung.....	20
Summary.....	27
1 Hintergrund und Ziele des Vorhabens.....	33
1.1 Regulatorischer Hintergrund.....	33
1.2 Ziele des Vorhabens.....	35
2 Vorgehensweise bei der HP 14 Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen laut aktueller UBA-Handlungsempfehlung.....	36
2.1 Probenahme.....	36
2.2 Probenvorbehandlung.....	36
2.3 Probenvorbereitung und -aufarbeitung, Teilung von Proben im Labor.....	37
2.4 Elution.....	37
2.5 Biotestung.....	37
2.6 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der eingesetzten Biotests.....	38
3 Literaturrecherche und erste Überprüfung der in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagenen Teststrategie.....	40
3.1 Strategien zur HP 14-Einstufung von Abfällen.....	40
3.1.1 Strategien in verschiedenen europäischen Staaten.....	40
3.1.1.1 Probenahme, Probenvorbehandlung, Herstellung von Eluaten.....	45
3.1.1.2 Ökotoxizitätstests.....	48
3.1.1.3 Testdesign und Grenzkonzentrationen.....	52
3.1.2 Vorschläge aus wissenschaftlichen Veröffentlichungen.....	59
3.2 Arbeiten zu ökotoxikologischen Testverfahren und -ergebnissen für die Abfallbeurteilung.....	60
3.2.1 Vorgehensweise bei der Recherche und Auswertung.....	60
3.2.2 Übersicht über den Inhalt der Excel-Tabelle und die verwendeten Methoden.....	62
3.2.3 Beantwortung relevanter Fragestellungen anhand der Daten.....	66
3.2.3.1 Sind zwei mikrobielle Testverfahren notwendig?.....	66
3.2.3.2 Einfluss des pH-Werts auf die HP 14-Einstufung.....	69
3.2.3.3 Möglichkeit der Nutzung des Auflauf- bzw. Wurzellängentests mit Kresse (<i>Lepidium sativum</i>).....	74

3.3	Erste Überprüfung der in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagenen Strategie zur HP 14-Einstufung von Spiegeleinträgen.....	75
3.3.1	Probenahme und Probenvorbehandlung	75
3.3.2	Biotestbatterie	76
4	Probenahme, Probenvorbereitung und ökotoxikologische Testung	78
4.1	Auswahl der zu untersuchenden Abfallarten	78
4.1.1	Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl	79
4.1.2	Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04).....	81
4.1.3	Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04).....	83
4.2	Probenahme und Probenvorbereitung.....	85
4.2.1	Berücksichtigung der zeitlich-räumlichen Heterogenität	86
4.2.2	Berücksichtigung der partikulären Heterogenität	87
4.2.3	Vorüberlegungen zur Probenahme	87
4.2.4	Vorüberlegungen zu Umfang und Anzahl der Einzelproben	89
4.2.5	Vorüberlegungen zur Probenmasse	90
4.2.6	Vorüberlegungen zu Probenvorbehandlung, Probenvorbereitung und Probenaufarbeitung.....	91
4.2.7	Durchführung der Probenahme und Probenvorbehandlung für die ausgewählten Abfallarten	93
4.2.7.1	Filterstäube (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl	94
4.2.7.2	Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04).....	94
4.2.7.3	Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04).....	95
4.2.8	Elution der Abfallproben für die Tests mit aquatischen Organismen	96
4.3	Durchführung der ökotoxikologischen Tests	97
4.3.1	Ökotoxizitätstests mit aquatischen Organismen.....	97
4.3.1.1	Generelle Vorgehensweise	97
4.3.1.2	Akuter Daphnientest.....	98
4.3.1.3	Algenwachstumshemmtest	99
4.3.1.4	Leuchtbakterientest.....	101
4.3.2	Ökotoxizitätstests mit terrestrischen Organismen	102
4.3.2.1	Feststoffkontakttest mit <i>Arthrobacter globiformis</i>	102
4.3.2.2	Wachstumshemmtest mit <i>Brassica rapa</i>	103
4.3.2.3	Vermeidungstest mit Regenwürmern	104
4.3.2.4	Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung	105
4.3.3	Statistische Auswertung	106

4.4	Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests	107
4.4.1	Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl	107
4.4.1.1	Filterstaub (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl.....	107
4.4.1.2	Filterstaub (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl.....	111
4.4.2	Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04).....	116
4.4.2.1	Geogener Aushub (17 05 03*).....	116
4.4.2.2	Straßenbankett (17 05 03*).....	121
4.4.2.3	Straßenbankett (17 05 04).....	125
4.4.3	Shredderleichtfraktion und Staub (19 10 03*/19 10 04).....	128
4.4.3.1	Shredderleichtfraktion (19 10 03*)	128
4.4.3.2	Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung).....	128
4.4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse der Ökotoxizitätstests	139
4.4.5	Ermittlung chronischer Effektkonzentrationen	141
4.5	Diskussion der Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests	142
4.5.1	Filterstäube (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl	142
4.5.2	Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04).....	143
4.5.3	Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04).....	143
5	Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung ..	147
5.1	Probenahme und Probenvorbehandlung	147
5.2	Probenvorbehandlung der Feldprobe zur Laborprobe.....	149
5.3	Probentransport und Probenlagerung.....	151
5.4	Teilung von Proben im Labor	151
5.4.1	Rechnerische Simulation beider Methoden zur Gewinnung einer Prüfprobe	152
5.5	Elution	156
5.6	Biotests.....	157
5.6.1	Generelle Vorgehensweise und Teststrategie.....	157
5.6.2	Biotestbatterie: Art und Umfang der einzusetzenden Testverfahren.....	157
5.6.3	Anwendungsbereich der Testrichtlinien für die Biotests	164
5.6.4	Aquatische Biotests: technische Details	165
	Einstellung des pH-Werts	165
	Weitere technische Details	166
5.6.5	Terrestrische Biotests: technische Details.....	167
5.6.6	HP 14-Einstufung anhand der Biotestergebnisse	167
5.7	Mindestanforderungen an Berichte	169

6	Möglichkeiten und Grenzen ökotoxikologischer Tests im Vergleich zur Berechnungsmethode	170
7	Quellenverzeichnis	174
A	Anhang	187
A.1	Kerninformationen zur Probennahme, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann	187
A.2	Kerninformationen zur Probenvorbehandlung, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann	193
A.3	Kerninformationen zur Elution von Abfallproben für aquatische Biotests, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann	196
A.4	Kerninformationen zu Biotests, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann.....	198

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Ablauf der Zuordnung eines Abfalls zu einem gefahrenrelevanten oder nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag.....	35
Abbildung 2:	Ablaufschema für die HP 14-Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen laut UBA-Handlungsempfehlung von 2013. .	38
Abbildung 3:	Überblick über verschiedene Testdesigns in Ökotoxizitätstests zur HP 14-Einstufung	52
Abbildung 4:	Boxplots zur pH-Wert-Verteilung in den mittels Schüttelverfahren (L/S = 10 L/kg, 24 h Dauer) gewonnenen Abfalleluaten (basierend auf der Literaturrecherche)	69
Abbildung 5:	ABANDA-Daten zu Eluatuntersuchungen von Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl.	80
Abbildung 6:	ABANDA-Daten zu Feststoffuntersuchungen von Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl	81
Abbildung 7:	ABANDA-Daten zu Eluatuntersuchungen von Boden und Steinen (17 05 03*/ 17 05 04).	82
Abbildung 8:	ABANDA-Daten zu Feststoffuntersuchungen von Boden und Steinen (17 05 03/ 17 05 04).	83
Abbildung 9:	ABANDA-Daten zu Eluatuntersuchungen von Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04).	84
Abbildung 10:	ABANDA-Daten zu Feststoffuntersuchungen von Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04).	85
Abbildung 11:	Probenahmestrategien nach CEN/TR 15310-1.....	89
Abbildung 12:	Mindestvolumen einer Einzelprobe nach CEN/TR 15310-1 und LAGA PN 98 im Vergleich.....	90
Abbildung 13:	Formel zur Bestimmung der Mindestprobenmasse nach CEN/TR 15310-1.....	91
Abbildung 14:	Probenvorbehandlung, Probenvorbereitung und Probenaufarbeitung für biologische Untersuchungen.....	92
Abbildung 15:	Grobpartikel aus Filterstaub (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl.....	94
Abbildung 16:	Überkorn in den aufbereiteten Proben des Straßenbanketts (17 05 03*/17 05 04).	95
Abbildung 17:	Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 04, Absiebung) aus Anlage A (Charge 2) und Anlage B.....	96
Abbildung 18:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>D. magna</i> . Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.....	107
Abbildung 19:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>R. subcapitata</i> . Hemmung der	

	Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.	108
Abbildung 20:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>A. fischeri</i> . Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.	109
Abbildung 21:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>A. globiformis</i> . Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Chargen 1 und 2.	109
Abbildung 22:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>B. rapa</i> . Nicht aufgelaufene Pflanzen bzw. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Chargen 1 und 2.	110
Abbildung 23:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>E. fetida</i> . Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Chargen 1 und 2.	111
Abbildung 24:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlage A gegenüber <i>D. magna</i> . Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil.	112
Abbildung 25:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlagen A und B gegenüber <i>R. subcapitata</i> . Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.	113
Abbildung 26:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlagen A und B gegenüber <i>A. fischeri</i> . Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.	113
Abbildung 27:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>A. globiformis</i> . (Hemmung der) Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Anlagen A und B.	114
Abbildung 28:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>B. rapa</i> . Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Anlagen A und B.	115
Abbildung 29:	Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber <i>E. fetida</i> . Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Anlagen A und B.	116
Abbildung 30:	Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber <i>D. magna</i> . Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil.	117
Abbildung 31:	Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber <i>R. subcapitata</i> . Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.	118

Abbildung 32:	Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber <i>A. fischeri</i> . Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.....	119
Abbildung 33:	Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber <i>A. globiformis</i> . Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil.....	119
Abbildung 34:	Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber <i>B. rapa</i> . Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil.	120
Abbildung 35:	Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber <i>E. fetida</i> . Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil.	121
Abbildung 36:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber <i>R. subcapitata</i> . Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.	122
Abbildung 37:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber <i>A. fischeri</i> . Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.....	122
Abbildung 38:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber <i>A. globiformis</i> . Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil.....	123
Abbildung 39:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber <i>B. rapa</i> . Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil. ...	124
Abbildung 40:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber <i>E. fetida</i> . Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil.	124
Abbildung 41:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber <i>R. subcapitata</i> . Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.	125
Abbildung 42:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber <i>A. fischeri</i> . Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.....	126
Abbildung 43:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber <i>A. globiformis</i> . Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil.	126
Abbildung 44:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber <i>B. rapa</i> . Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil. ...	127
Abbildung 45:	Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber <i>E. fetida</i> . Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil.	128
Abbildung 46:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A gegenüber <i>D. magna</i> . Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.....	129
Abbildung 47:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B gegenüber <i>D. magna</i> . Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil.....	129

Abbildung 48:	Toxizität der Shredderleichtfraktion Anlage A (19 10 04) gegenüber <i>R. subcapitata</i> . Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.	130
Abbildung 49:	Toxizität der Shredderleichtfraktion aus Anlage B (19 10 04) gegenüber <i>R. subcapitata</i> . Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.	131
Abbildung 50:	Toxizität der Shredderleichtfraktion Anlage A (19 10 04) gegenüber <i>A. fischeri</i> Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.	132
Abbildung 51:	Toxizität der Shredderleichtfraktion Anlage B (19 10 04) gegenüber <i>A. fischeri</i> Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.	132
Abbildung 52:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber <i>A. globiformis</i> . Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Anlage A, Chargen 1 und 2.	133
Abbildung 53:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber <i>A. globiformis</i> . Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Anlage B.	134
Abbildung 54:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber <i>B. rapa</i> . Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Anlage A, Chargen 1 und 2.	135
Abbildung 55:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber <i>B. rapa</i> . Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Anlage B.	136
Abbildung 56:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber <i>E. fetida</i> . Vermeidung (%) nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Anlage A, Chargen 1 und 2.	136
Abbildung 57:	Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber <i>E. fetida</i> . Vermeidung (%) nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Anlage B.	137
Abbildung 58:	Effekt der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) aus Anlage A auf die Nitrifikationsrate nach 6 h abhängig vom Abfallanteil für Charge 2.	138
Abbildung 59:	Simulation der auftretenden Varianzen bei der Herstellung von Prüfproben durch aufeinanderfolgende hälftige Teilungen ..	153
Abbildung 60:	Simulation der Varianz bei der Herstellung von Prüfproben durch Ziehung von Einzelproben aus der Laborprobe ..	154
Abbildung 61:	Variationskoeffizient (CV) des Merkmalsgehalts in einer Prüfprobe aus der quadratischen Aggregation der Variationskoeffizienten für Probenahme und Probenvorbereitung ..	155

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht über die Verwendung von Berechnungsmethode und Biotests bei der HP 14-Einstufung in verschiedenen europäischen (v. a. EU-) Staaten und das Vorliegen nationaler Leitfäden.....	41
Tabelle 2:	Verwendung von Berechnungsmethode und Ökotoxizitätstests bei der HP 14-Einstufung für die Staaten, in denen ökotoxikologische Testverfahren eingesetzt werden.	43
Tabelle 3:	Vorgaben zur Partikelgröße des zu eluierenden oder in terrestrischen Ökotoxizitätstests einzusetzenden Abfalls.	46
Tabelle 4:	Vorgaben zu den Auslaugungsverfahren zur Herstellung von Eluaten für aquatische Ökotoxizitätstests.....	47
Tabelle 5:	Einstellung des pH-Werts des Eluats oder der Verdünnungen.	48
Tabelle 6:	Eingesetzte Toxizitätstests mit aquatischen Organismen	50
Tabelle 7:	Eingesetzte Toxizitätstests mit terrestrischen Organismen	51
Tabelle 8:	Testdesign in den Ökotoxizitätstests mit aquatischen und terrestrischen Organismen.....	56
Tabelle 9:	Grenzkonzentrationen und Grenzwerte für Ökotoxizitätstests mit aquatischen Organismen	57
Tabelle 10:	Grenzkonzentrationen und Grenzwerte für Ökotoxizitätstests mit terrestrischen Organismen ^b	58
Tabelle 11:	Struktur der Excel-Tabelle zur Auswertung der im Zuge der Literaturrecherche identifizierten Arbeiten zu ökotoxikologischen Testverfahren und -ergebnissen für die Abfallbeurteilung.....	60
Tabelle 12:	Übersicht über die basierend auf der Literaturrecherche zur Abfalltestung eingesetzten aquatischen Testorganismen und -systeme.....	63
Tabelle 13:	Übersicht über die basierend auf der Literaturrecherche zur Abfalltestung eingesetzten terrestrischen Testorganismen und -systeme	64
Tabelle 14:	Arbeiten, in denen dieselbe Probe mit und ohne Anpassung des pH-Werts getestet wurde und Auswirkung auf die Ökotoxizität der Probe	71
Tabelle 15:	Anwendung Auflauf- bzw. Wurzellängentests mit Kresse (<i>Lepidium sativum</i>) in der Abfalltestung seit 2013.....	74
Tabelle 16:	Auf ihre Aktualität hin überprüfte Testbatterie aus der UBA-Handlungsempfehlung mit Testspezifikationen zur Ableitung von EC ₅₀ -Werten	76
Tabelle 17:	Ausgewählte Abfallarten (Spiegeleinträge).....	79

Tabelle 18:	Überblick über die Probenahmestrategien nach CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a).	88
Tabelle 19:	Im Projektverlauf beprobte und in ökotoxikologischen Tests untersuchte Abfälle.	93
Tabelle 20:	Überblick über die Durchführung des akuten Toxizitätstests mit <i>Daphnia magna</i>	98
Tabelle 21:	Überblick über die Durchführung des Algenwachstumshemmtests mit <i>Raphidocelis subcapitata</i> ...	100
Tabelle 22:	Überblick über die Durchführung des Leuchtbakterientests.	101
Tabelle 23:	Überblick über die Durchführung des Feststoffkontakttests mit <i>Arthrobacter globiformis</i>	103
Tabelle 24:	Überblick über die Durchführung des Wachstumshemmtests mit <i>Brassica rapa</i>	103
Tabelle 25:	Überblick über die Durchführung des Vermeidungstests mit Regenwürmern.	104
Tabelle 26:	Überblick über die Durchführung des Schnelltests zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung.	105
Tabelle 27:	Überblick über die Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests	140
Tabelle 28:	Chronische Effektkonzentrationen (EC ₁₀) im Algenwachstumshemmtest mit <i>R. subcapitata</i> sowie im Wachstumshemmtest mit <i>B. rapa</i> für den Testendpunkt Sprossfrischgewicht	141
Tabelle 29:	Überblick über die von Pandard et al. (2006) eingesetzten Tests	142
Tabelle 30:	Überblick über die von Deventer & Zipperle (2004) eingesetzten Biotests und die mit der Shredderleichtfraktion (19 10 04) ermittelten G-Werte.	143
Tabelle 31:	Überblick über die von Römbke et al. (2010) und Höss & Römbke (2019) eingesetzten Testsysteme und die mit Shredderleichtfraktion (19 10 04) ermittelten LID-Werte.	145
Tabelle 32:	Überblick über die von Deprez et al. (2012) und Weltens et al. (2014) eingesetzten Testsysteme und die mit Shredderstaub (19 10 03*) ermittelten Effektkonzentrationen.	145
Tabelle 33:	Überblick über die von OVAM (2018) eingesetzten Tests und die mit Shredderstaub (19 10 04) ermittelten Effektkonzentrationen.....	146
Tabelle 34:	Vergleich des zur Elution von Abfallproben empfohlenen Verfahrens mit den laut Mantelverordnung zur Elution von Bodenproben empfohlenen Verfahren.	156
Tabelle 35:	Anzahl von Replikaten in den laut UBA (2013) empfohlenen Biotests für die Testdurchführung mit ≥5 Verdünnungsstufen und für Limit-Tests.....	161

Tabelle 36:	Einordnung der vom UBA (2013) empfohlenen Biotests als akute bzw. chronische Tests und Möglichkeit, in diesen Tests chronische Effektkonzentrationen zu ermitteln.....	162
Tabelle 37:	Anwendungsbereich der Testrichtlinien für die aquatischen und terrestrischen Biotests hinsichtlich der Testung von Abfallproben.....	164
Tabelle 38:	Vergleich der Einstufung nach UBA-Handlungsempfehlung (2013) mit der Einstufung nach österreichischem Leitfaden (BMNT 2018).....	168
Tabelle 39:	Kriterien für die HP 14-Einstufung von Abfällen mit der Berechnungsmethode nach Verordnung (EU) 2017/997.....	170
Tabelle 40:	Möglichkeiten und Grenzen der Berechnungsmethode nach Verordnung (EG) 2017/997 und der ökotoxikologischen Testbatterie nach UBA (2013)	172

Abkürzungsverzeichnis

AFNOR	Association Française de Normalisation (offizielle französische Stelle für die Normung)
APA	Agência Portuguesa de Ambiente (Portugiesische Umweltagentur)
AVV	Abfallverzeichnis-Verordnung
BAC	Benzalkoniumchlorid
BMNT	Österreichisches Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus
CDF	<i>Normal-cumulative distribution function</i>
CEN	Comité Européen de Normalisation (Europäisches Komitee für Normung)
CEN/TC	Technical Committee (Technisches Komitee) der CEN
CEN/TR	Technical Report (Technischer Bericht) des CEN
CI	95%-Konfidenzintervall (<i>confidence interval</i>)
CLP	<i>Classification, Labelling and Packaging</i> (Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen)
CV	Variationskoeffizient
d₀₅	Nominelle Siebgröße von Partikeln: Sieblochdurchmesser, der 5% des Probengewichtes passieren lässt
d₉₅	Nominelle Siebgröße von Partikeln: Sieblochdurchmesser, der 95% des Probengewichtes passieren lässt
DIN	Deutsches Institut für Normung
DMSO	Dimethylsulfoxid
dw	Trockengewicht (<i>dry weight</i>)
EC_x	Effektkonzentration (EC) mit der Effektstärke von X%
EN	Europäische Norm
EP	Einzelprobe (in Publikationen des CEN/TC 292 auch Inkrement genannt)
fw	Feuchtgewicht (<i>fresh weight</i>)
g	Korrekturfaktor für die Partikelgrößenverteilung (CEN/TC 292)
G-Wert	Verdünnungsstufe mit der höchsten Konzentration des Abfalls oder Eluats, ab der kein ökotoxischer Effekt auf den betreffenden Organismus beobachtet wurde
HMV	Hausmüllverbrennung
HP	Gefahrenrelevante Eigenschaft (<i>Hazardous property</i>)
INERIS	Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (Französisches Nationales Institut für industrielle Umwelt und Risiken)
IPA	Informations-Portal-Abfallbewertung
ISO	Internationale Organisation für Normung
L/S	Liquid/Solid (Flüssig/Fest)
LAGA	Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Abfall
LC_x	Konzentration, die zu X% Mortalität führt
LID	Niedrigste, nicht wirksame Verdünnungsstufe (<i>lowest ineffective dilution</i>)
LOEC	<i>Lowest observed effect concentration</i> : niedrigste Testkonzentration, bei der signifikante Effekte festgestellt werden
LUFA	Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt

Mg	Megagramm (1 Mg = 1 t)
M	Masse
M_p	Mindestprobenmasse (Mindestumfang der Probe)
MP	Mischprobe
MITECO	Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (Spanisches Ministerium für den ökologischen Wandel und die demografische Herausforderung)
ISPRA	Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (Italienisches Institut für Umweltschutz und Forschung)
NOEC	<i>No observed effect concentration</i> : höchste Testkonzentration, bei der keine signifikanten Effekte festgestellt werden
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
p	Anteil der Merkmalsträger
PAK	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
PE	Polyethylen
PN	Probenahme
POP	Persistenter organischer Schadstoff (<i>Persistent organic pollutant</i>)
PP	Polypropylen
REACH	Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung von Chemikalien (<i>Registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals</i>)
RFU	Relative Fluoreszenzeinheiten
ρ_s	Schüttdichte (kg/dm ³)
ρ_p	Partikeldichte des Festkörpers (kg/dm ³)
ρ_R	Rohdichte des porösen Festkörpers (kg/dm ³)
σ	Standardabweichung
σ²	Varianz
SAG	Sammlung von Algenkulturen an der Universität Göttingen
SEPA	<i>Scottish Environment Protection Agency</i> (Schottische Umweltschutzbehörde)
SNPA	Sistema Nazionale per la Protezione dell’Ambiente (Italienisches Nationales System zum Schutz der Umwelt)
T1, T2 usw.	Testdurchlauf 1, Testdurchlauf 2 usw.
TCS	<i>Toxicity classification system</i> (System zur Klassifizierung der Toxizität)
TU	<i>Toxic unit</i> (toxische Einheit)
UBA	Umweltbundesamt
UNI	Ente Italiano di Normazione (Italienische Normungsbehörde)
V	Volumen
V_{LP}	Mindestprobenvolumen
Z2	Zuordnungswert einer Bodenanalyse nach LAGA

Glossar

Einzelprobe	Stichprobe, die bei einem einzelnen Probenentnahmevergange entnommen wird und örtlich und zeitlich auf eine Entnahmestelle begrenzt ist (auch als Inkrement bezeichnet)
Erwartungswert	Wert, den der gesuchte Parameter wahrscheinlich im Mittel annimmt. Schätzwert für den wahren Wert einer Merkmalsausprägung
Feldprobe	Material, das bei Probenahmen in Form von Einzel-, Misch- und Sammelprobe(n) aus einer Grundmenge entsteht
Grundmenge (Grundgesamtheit)	Konkrete zur Untersuchung anstehende Materialmenge, die räumlich und/oder zeitlich abgrenzbar ist
Laborprobe	Probe oder Teilprobe, die dem Labor ggf. nach einer Probenvorbehandlung zur Verfügung gestellt wird
Merkmal	Unterscheidbare Eigenschaft von Elementen einer Grundgesamtheit
Mischprobe	Probe, die durch Vereinigen und Vermischen von Einzelproben einer Grundmenge entsteht, um ein Durchschnittsergebnis für eine bestimmte Kenngröße zu erhalten
Partikuläre Heterogenität	Durch Vermischung nicht heilbare stoffliche Heterogenität, die auf der Merkmalsfracht der Partikel beruht. Eine Homogenisierung erfordert Zerkleinerung
Probenvorbehandlung	Herstellung von Laborprobe(n) aus der Feldprobe. Kann die Prozesse Mischen, Homogenisieren, Teilen, Trocknen, Verjüngen, Sortieren, Zerkleinern, Sieben und auch Konservieren umfassen.
Probenvorbereitung	Herstellung einer Prüfprobe aus der Laborprobe. Kann die Prozesse Trocknen, Sieben, Homogenisieren und/oder Teilen umfassen
Probenaufarbeitung	Herstellen der Analysen-, Untersuchungs- bzw. Messproben. Umfasst nach DIN 19747 in der Regel Trocknung und ggf. Feinzerkleinerung
Prüfprobe	Aus der Laborprobe hergestellte Probe, von der für die Prüfung oder Analyse Prüfmengen entnommen werden
Repräsentativität	Qualitatives Maß für das Ausmaß, in dem der Merkmalsgehalt in einer Probe dem Merkmalsgehalt der definierten Grundmenge entspricht. Ist durch den Variationskoeffizienten (CV)
Schätzwert	Das Ergebnis einer Stichprobenuntersuchung ist als Erwartungswert ein Schätzwert für den wahren Wert

Zusammenfassung

Hintergrund und Ziele

Das europäische Abfallverzeichnis (Entscheidung 2000/532/EG, geändert durch Beschluss 2014/955/EG) wurde mit der Abfallverzeichnis-Verordnung (AVV) in deutsches Recht umgesetzt und enthält eine nicht abschließende Liste von Abfallarten. Diese sind in absolut gefahrenrelevante Einträge, absolut nicht gefahrenrelevante Einträge und Spiegeleinträge eingeteilt. Spiegeleinträge sind paarweise aufgeführte Abfallarten, deren Bezeichnung sich nur durch den Hinweis auf im Abfall enthaltende gefährliche Stoffe unterscheidet. Die betreffenden Abfälle müssen je nach konkreter Sachlage bzw. Abfallzusammensetzung dem gefahrenrelevanten oder nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag zugeordnet werden. Dabei werden gefahrenrelevante Eigenschaften rechnerisch anhand der Konzentrationen der Abfallinhaltsstoffe oder anhand einer Prüfung ermittelt. Wenn eine gefahrenrelevante Eigenschaft eines Abfalls sowohl anhand der Konzentration gefährlicher Stoffe als auch mittels einer Prüfung bewertet wurde, sind nach derzeitiger Rechtslage die Ergebnisse der Prüfung ausschlaggebend für die Einstufung als gefährlicher oder nicht gefährlicher Abfall. Für das Gefährlichkeitsmerkmal HP 14 (ökotoxisch) enthält die Verordnung (EU) 2017/997 konkrete Vorgaben für die Berechnungsmethode (einschließlich Schwellenwerten für die Einstufung anhand des Gehalts an Stoffen, die die Ozonschicht schädigen oder akut bzw. chronisch wassergefährdend sind). Für eine HP 14-Einstufung anhand von Prüfungen gibt es auf EU-Ebene hingegen keine konkreten Vorgaben, d. h. es ist nicht spezifiziert, welche Biotests eingesetzt werden sollen und welche Ergebnisse zu einer HP 14-Einstufung führen sollen. Daher liegen Entscheidungen über die Annehmbarkeit und Auslegung der Ergebnisse biologischer Prüfungen mit Abfallproben derzeit in der Verantwortung der EU-Mitgliedstaaten. In Deutschland wurde zu diesem Zweck auf Basis umfangreicher Arbeiten zur Bewertung der Umweltrisiken von Abfällen eine Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen erstellt (UBA 2013).

Ziel des vorliegenden Projekts war es, Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung dieser UBA-Handlungsempfehlung zu erarbeiten und offene Punkte zu identifizieren. Dazu wurden zunächst verschiedene Biotest-basierte Ansätze für die HP 14-Einstufung im europäischen Kontext verglichen. Die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Strategie zur HP 14-Einstufung von Spiegeleinträgen wurde überprüft und erste Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung wurden gemacht. Die Teststrategie wurde anschließend anhand der Beprobung, Aufbereitung und ökotoxikologischen Untersuchung von 10 Abfallproben aus Spiegeleinträgen überprüft. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der experimentellen Arbeiten und der Diskussionen mit dem projektbezogenen Begleitkreis wurden die Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung weiter ausgearbeitet.

Literaturrecherche und erste Überprüfung der in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagenen Teststrategie

Eine Literatur- und Internetrecherche wurde durchgeführt, um Biotest-basierte Strategien für die HP 14-Einstufung von Abfällen, Herangehensweisen bei Probenahme, Probenvorbehandlung und Elution sowie relevante ökotoxikologische Testverfahren zu identifizieren. Informationen zu Strategien bei der HP 14-Einstufung wurden für Belgien (Flandern), Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Großbritannien, Italien, Österreich, Portugal, Schweden, Serbien, die Slowakei, Spanien und Tschechien auf Basis einer CEN/AFNOR-Umfrage und nationaler Leitfäden zusammengestellt. Die Herangehensweisen bei der HP 14-Einstufung von Abfällen in den verschiedenen europäischen Ländern sind sehr heterogen. Die Unterschiede betreffen die

Kriterien für den Einsatz ökotoxikologischer Tests, Vorgaben für die maximale Partikelgröße des zu testenden Abfalls, die Elutionsverfahren, Vorgaben zur Einstellung des pH-Werts vor Durchführung der aquatischen Tests, die Art der eingesetzten ökotoxikologischen Testverfahren, das Testdesign und die Grenzkonzentrationen für die HP 14-Einstufung. Auch die in wissenschaftlichen Veröffentlichungen vorgeschlagenen Strategien und Methoden sind divers.

Die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Vorgehensweise wurde vor dem Hintergrund der Ergebnisse der Recherche und neuer Richtlinien überprüft. Die Probenahme betreffend wurden in den letzten 10 Jahren auf europäischer Ebene etliche Richtlinien veröffentlicht (EN 14899, CEN/TR 15310-1 bis -5). Diese basieren auf der auf Pierre Gy zurückgehenden ‚Theory of Sampling‘, die neben der LAGA-Richtlinie PN 98 auch bereits die Grundlage für die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Vorgehensweise ist. Hinsichtlich der Vorgaben zur Partikelgröße und zur Herstellung von Abfalleluaten ist die Vorgehensweise laut UBA (2013) in Übereinstimmung mit aktuellen europäischen Normen (EN 12457-2, EN 14735), nach denen auch in mehreren anderen europäischen Staaten verfahren wird und die in etlichen veröffentlichten Studien zur Ökotoxizität von Abfällen eingesetzt wurden. Die Empfehlung des UBA (2013), aquatische Biotests zunächst ohne pH-Einstellung durchzuführen und das Ergebnis aus dem Test ohne pH-Einstellung für die HP 14-Einstufung zu verwenden, entspricht den Vorgaben der EN 14735. Die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Biotestbatterie gehört im Vergleich mit anderen europäischen Staaten zu den umfangreicheren Testbatterien. Abgesehen vom Auflauf- bzw. Wurzellängentests mit Kresse, für den jedoch weitere experimentelle Untersuchungen nötig wären, wurden zunächst keine weiteren Testsysteme mit einer hohen Relevanz für die Aufnahme in die Testbatterie identifiziert. Es gab keinen Anlass dazu, den Umfang der Biotestbatterie zu reduzieren oder das Testdesign (Tests mit mindestens 5 Verdünnungsstufen des Abfalls bzw. Abfalleluats zur Ermittlung der EC₅₀) zu ändern. Nach der UBA-Handlungsempfehlung ist ein Abfall als ökotoxisch (HP 14) einzustufen, wenn in mindestens einem der durchgeführten Biotests eine EC₅₀ von ≤10% Abfall- bzw. Eluatanteil ermittelt wird. Diese oder eine ähnliche Vorgehensweise wird auch in mehreren anderen europäischen Staaten eingesetzt und ist in etlichen veröffentlichten Studien zur Ökotoxizität von Abfällen beschrieben.

Probenahme, Probenvorbereitung und ökotoxikologische Testung

Basierend auf Vorschlägen von UBA, BMUV, dem projektbezogenen Begleitkreis und den Projektnehmern wurden folgende Abfallarten (Spiegeleinträge) ausgewählt: Filterstaub (10 09 09*/10 09 10), Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04) und Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04). Es wurde angestrebt, je Abfallart mindestens eine Probe des gefahrenrelevanten Spiegeleintrags und mindestens eine des nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrags zu untersuchen. Im Verlauf des Projekts konnte jedoch kein Erzeuger für Abfälle, die der Abfallart 19 10 03* zugeordnet wurden, identifiziert werden. Folgende Abfälle wurden beprobt und in ökotoxikologischen Tests untersucht:

- ▶ Filterstaub (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl: Altmaterial (Lagerdauer >4 Wochen) und Frischmaterial (Lagerdauer <4 Wochen)
- ▶ Filterstaub (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl: Material aus zwei verschiedenen Gießereien (Anlagen A und B)
- ▶ Boden und Steine (17 05 03*): geogener Aushub aus einem Braunkohletagebau und Straßenbankett von einer Bundesstraße
- ▶ Boden und Steine (17 05 04): Straßenbankett von einer Nebenstraße

- ▶ Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 04): Material (Absiebungen <10 mm) aus zwei verschiedenen Anlagen (Anlage A: zwei Chargen, Anlage B: eine Charge)

Die Zuordnung der Abfälle zum gefahrenrelevanten bzw. nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag erfolgte durch den Abfallbesitzer und beruhte nicht notwendigerweise auf dem Kriterium HP 14.

Bei der Probenahme und Probenvorbereitung wurden die Vorgaben der LAGA PN 98 und europäischer Normen (CEN/TR 15310, EN 14735) erfüllt. In den aquatischen Ökotoxizitätstests wurden wässrige Eluate der Abfallproben eingesetzt, die mittels einstufigem Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 10 L/kg Abfalltrockengewicht und einer Dauer von 24 h hergestellt wurden. In den terrestrischen Ökotoxizitätstests wurden die festen Abfallproben (Partikelgröße <2 mm im mikrobiellen Test und <4 mm in den anderen Tests) eingesetzt. Proben der o.g. 10 Abfälle wurden in folgenden Biotests untersucht:

- ▶ Aquatische Biotests: akuter Daphnientest (DIN EN ISO 6341), Algenwachstumshemmtest in der Mikrotiterplatte (DIN 38412-59) und Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2)
- ▶ Terrestrische Biotests: Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* (ISO 18187), Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa* (ISO 11269-2) und Vermeidungstest mit Regenwürmern (ISO 17512-1)

Für die aquatischen Biotests wurden bis zu 3 Testdurchläufe durchgeführt. Im ersten Testdurchlauf für jede Abfallprobe wurden die Eluate in folgenden Verdünnungsstufen geprüft: 50%, 25%, 12,5%, 6,3% und 3,1% (alle Tests) sowie zusätzlich 1,6%, 0,8% und 0,4% (Leuchtbakterientest). Wenn in allen Verdünnungsstufen Effekte >50% auftraten, wurden im folgenden Testdurchlauf höhere Verdünnungsstufen eingesetzt, um die EC₅₀ berechnen zu können. Der erste Testdurchlauf für jede Abfallprobe wurde ohne pH-Anpassung durchgeführt. Wenn Toxizität in Verdünnungsstufen auftrat, deren pH außerhalb des vom Testorganismus tolerierten Bereichs lag, erfolgte ein weiterer Testdurchlauf mit pH-Anpassung. Der pH-Wert wurde dabei jeweils nur in den Verdünnungsstufen eingestellt, deren pH außerhalb des Toleranzbereichs für die betreffende Art lag. Parallel zu jedem Testdurchlauf mit angepassten pH-Werten wurde ein zusätzlicher Testdurchlauf ohne pH-Anpassung durchgeführt, um die Rezipierbarkeit der Ergebnisse zu untersuchen. Weitere Wiederholungen der aquatischen Toxizitätstests (auch für Eluate ohne toxische Effekte im ersten Testdurchlauf) dienten ebenfalls dazu, die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse zu untersuchen.

Für die terrestrischen Tests wurde ein Test pro Abfallprobe durchgeführt, in dem jeweils fünf Verdünnungsstufen des Abfalls (als Feststoff) eingesetzt wurden: 25, 12,5, 6,3, 3,1 und 1,6%. Eine Abfallprobe wurde zusätzlich mit einem Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung und Hemmung der Nitrifizierung mittels Ammoniumoxidation (DIN EN ISO 15685) untersucht.

Die Ergebnisse der durchgeführten Biotests mit den 10 Abfallproben zeigen, dass die aquatischen Tests sehr gut reproduzierbar sind (eine Untersuchung der Reproduzierbarkeit der terrestrischen Tests war im Rahmen des vorliegenden Projekts nicht vorgesehen). In den meisten Fällen waren Algen- und Daphnientests sensitiver als der Leuchtbakterientest. Die terrestrischen Testverfahren waren tendenziell etwas weniger empfindlich als die aquatischen.

Die vom Abfallbesitzer dem gefahrenrelevanten Spiegeleintrag zugeordneten Abfallproben wurden in 3 von 4 Fällen anhand der Biotests als gefährlich nach HP 14 eingestuft. Die einzige Ausnahme war das Straßenbankett (17 05 03*), das in allen eingesetzten Biotests keine

Toxizität zeigte. Hier könnte die fehlende Toxizität in den durchgeführten Biotests mit dem hohen Lehmgehalt der Abfallprobe zusammenhängen.

Abfallproben, die vom Abfallbesitzer dem nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag zugeordnet worden waren, wurden in 5 von 6 Fällen anhand der Biotestergebnisse als gefährlich nach HP 14 eingestuft. In 4 dieser Fälle lagen dabei die Ergebnisse von mehr als einem Testverfahren unterhalb der Grenzkonzentration ($EC_{50} \leq 10\%$ Abfall- bzw. Eluatanteil). Auffällig war v. a. die hohe Toxizität der untersuchten Absiebungen der Shredderleichtfraktionen (19 10 04).

Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung

Auf Basis der Ergebnisse der Literaturrecherche und der Erfahrungen, die bei der Probenahme, Probenvorbereitung, Elution und ökotoxikologischen Untersuchung der 10 Abfallproben gewonnen wurden, wurden Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung ausgearbeitet. Dabei wurden die Diskussionen mit dem projektbezogenen Begleitkreis berücksichtigt. Die Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung betreffen Probenahme, Probenvorbehandlung, Teilung von Proben im Labor, Elution, ökotoxikologische Testung und Mindestanforderungen an Berichte. Außerdem wurden Punkte identifiziert, für die auf regulatorischer Ebene Handlungsbedarf besteht, und es wurden Vorschläge für Anpassungen der Testrichtlinien für die Biotests gemacht.

Probenahme und Probenvorbehandlung

Die Probenahme betreffend wird in der UBA-Handlungsempfehlung von 2013 bereits auf einen in der Erarbeitung befindlichen europäischen Standard hingewiesen. Inzwischen liegen die technischen Berichte CEN/TR 15310 vor. Es wird vorgeschlagen, die Handlungsempfehlung im Hinblick auf den Anteil von Merkmalsträgern und die angestrebte Aussagesicherheit an die in diesen europäischen Regelwerken vorgeschlagene Vorgehensweise anzupassen. Der Gewinnung von Proben für die ökotoxikologische Untersuchung von Abfällen sollte eine sorgfältige Probenahmeplanung nach CEN/TR 15310-1 vorausgehen. Es sollten mindestens 16 probabilistischen Einzelproben entnommen und zu einer Mischprobe vereinigt werden. Enthält diese Probe Material (Überkorn) >4 mm, sollte unter Verwendung der Mindestprobenmasseformel der CEN/TR 15310-1 entschieden werden, ob das Überkorn verworfen oder zerkleinert und der Probe wieder zugeführt wird.

Teilung von Proben im Labor

Um Proben für die Durchführung einzelner Biotests zu gewinnen, gibt es grundsätzlich zwei Wege: (a) die Teilung (Verjüngung) der Laborprobe und (b) die Entnahme von Einzelproben aus der Laborprobe und anschließende Vereinigung zu einer Mischprobe. Um die Auswirkungen auf die Varianz von Merkmalsgehalten in Prüfproben abschätzen zu können, wurde eine Simulation mit Zufallszahlen unter Verwendung von Näherungsverteilungen für Parametergehalte durchgeführt. Auf Basis der Simulationsergebnisse und in Analogie zur Vorgehensweise bei der Probenahme wird empfohlen, mindestens 16 Einzelproben aus der sorgfältig homogenisierten Laborprobe zu entnehmen und diese zu einer Mischprobe zu vereinigen.

Elution

Vom UBA (2013) wird – in Übereinstimmung mit der Norm EN 14735 – die Elution von Abfällen mittels einstufigem Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 10 L/kg Abfalltrockengewicht und einer Dauer von 24 h nach DIN EN 12457-2 vorgeschlagen. Sowohl in der UBA-Handlungsempfehlung als auch in der EN 14735 sollte spezifiziert werden, ob bzw. in welchem Umfang sich dieses Verfahren dazu eignet, organische Schadstoffe und schwer lösliche anorganische Schadstoffe aus Abfallproben zu eluieren.

Biotests

Die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Testbatterie deckt für das aquatische und das terrestrische Kompartiment jeweils die taxonomischen Gruppen Pflanzen, wirbellose Tiere und Mikroorganismen und die trophischen Ebenen Produzenten, Konsumenten und Destruenten ab. Im Vergleich mit anderen europäischen Staaten gehört sie zu den umfangreicheren Testbatterien.

Für die untersuchten 10 Abfallproben waren die aquatischen Biotests tendenziell sensitiver als die terrestrischen. Wie die Ergebnisse des UBA-Projekts PROSOIL gezeigt haben, sind aquatische Tests aber nicht in allen Fällen für Bodenorganismen protektiv. Durch die zusätzliche Durchführung terrestrischer Biotests bei Vorliegen von ausschließlich negativen Ergebnissen der aquatischen Tests können zudem ggf. toxische Effekte schwer wasserlöslicher Abfallinhaltsstoffe auf Bodenorganismen detektiert werden. Biotests mit terrestrischen Organismen sollten deshalb Teil der Testbatterie bleiben.

Im Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* wurde häufig eine hohe Variabilität der Ergebnisse festgestellt, v. a. in Tests mit heterogenen Abfällen (Shredderleichtfraktionen). Die sehr kleinen Probenmengen, die in diesem Test eingesetzt werden, sind die wahrscheinlichste Ursache für die festgestellte Variabilität. Der Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung nach Richtlinie DIN EN ISO 15685 könnte eine mögliche Alternative zum Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* sein. Um die Eignung dieses Tests zu überprüfen, wären zunächst methodische Anpassungen und weitere vergleichende experimentelle Untersuchungen nötig.

Effekte auf terrestrische Wirbeltiere sollten durch andere gefahrenrelevante Eigenschaften abgedeckt sein (HP 5: spezifische Zielorgan-Toxizität, HP 6: akute Toxizität, HP 10: Reproduktionstoxizität). Mögliche Effekte auf Fische werden hingegen nicht durch andere gefahrenrelevante Eigenschaften abgedeckt. Wenn die Biotestbatterie für die HP 14-Einstufung von Abfällen in Spiegeleinträgen um einen Test mit der taxonomischen Gruppe der Fische ergänzt werden soll, wird vorgeschlagen, zu prüfen, ob sich eine der vorliegenden Alternativmethoden (der Fischeitertest nach DIN EN ISO 15088, der Fischembryotest nach OECD-Testrichtlinie 236 oder der Fischzellinientest nach OECD-Testrichtlinie 249) eignet. Hier wären zunächst experimentelle Untersuchungen und ggf. methodische Anpassungen nötig.

Die UBA-Handlungsempfehlung gibt vor, dass die aquatischen und terrestrischen Biotests mit mindestens fünf Verdünnungsstufen des zu prüfenden Abfalls bzw. Abfalleluats durchgeführt werden sollen, um EC₅₀-Werte zu ermitteln. Vom Begleitkreis wurde angeregt, zu prüfen, ob die Durchführung von Limit-Tests eine Option sein könnte. Limit-Tests könnten z.B. mit einem Eluat- bzw. Abfallanteil von 12,5% durchgeführt werden. Analog zur Umweltrisikoausschätzung für chemische Substanzen sollten Limit-Tests mit Abfällen bzw. Abfalleluaten dazu dienen, die Abwesenheit ökotoxischer Effekte zu belegen. Wenn in einem Limit-Test ein signifikanter Effekt auftritt, sollte ein Test mit fünf Abfall- bzw. Eluatverdünnungen durchgeführt werden, um die EC₅₀ zu ermitteln.

Laut Entscheidung 2000/532/EG sind die Ergebnisse der Prüfung ausschlaggebend für die Einstufung eines Abfalls, wenn die betreffende gefahrenrelevante Eigenschaft anhand der Konzentration gefährlicher Stoffe und mittels einer Prüfung bewertet wurde. Aus dieser Vorgabe ergibt sich die Möglichkeit, einen Abfall, der mit der Berechnungsmethode als ökotoxisch eingestuft wurde, über Biotests zu entlasten. Diese Möglichkeit ist jedoch nur z. T. sinnvoll:

- ▶ Wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode ausschließlich wegen akut gewässer-gefährdender Inhaltsstoffe als HP 14 eingestuft wird, aber in keinem der Biotests der Testbatterie ökotoxisch ist, ist eine Entlastung dieses Abfalls auf Basis der Biotestergebnisse

sinnvoll. In diesem Fall könnte eine geringe Bioverfügbarkeit der Grund für die fehlende Ökotoxizität in den Biotests sein. Nur wenn die Einstufung als akut gewässergefährdend ausschließlich auf der Fischtoxizität basiert, sollte keine Entlastung anhand einer Biotestbatterie, die keinen Fischtest enthält, möglich sein.

- ▶ Wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode aufgrund chronisch gewässergefährdender Inhaltsstoffe als HP 14 eingestuft wurde, ist eine Entlastung anhand der mit der aktuellen Biotestbatterie ermittelten akuten Effektkonzentrationen nicht sinnvoll. Abfälle, die mit der Berechnungsmethode aufgrund der Ergebnisse chronischer Ökotoxizitätstests mit einzelnen Abfallinhaltsstoffen als chronisch gewässergefährdend eingestuft wurden, sollten nur mit Ergebnissen chronischer Ökotoxizitätstests mit dem Abfalleluat entlastet werden können.
- ▶ Auch wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode wegen Ozon schädigender Inhaltsstoffe als HP 14 eingestuft wurde, ist eine Entlastung mittels Biotests nicht sinnvoll.

Die beiden zuletzt genannten Punkte betreffend sollte auf EU-Ebene geregelt werden, in welchen Fällen eine HP 14-Einstufung nach der Berechnungsmethode durch die Ergebnisse welcher Biotests revidiert (entlastet) werden kann.

Die Abfalltestung wird zurzeit nur in der Richtlinie für den Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* explizit erwähnt. Es wird empfohlen, die Testung von Abfallproben bzw. -eluaten auch in den Anwendungsbereich der Testrichtlinien für die anderen Tests der UBA-Testbatterie aufzunehmen und Hinweise zum methodischen Umgang mit Abfallproben bzw. -eluaten zu ergänzen.

In der UBA-Handlungsempfehlung sollte spezifiziert werden, dass der pH-Wert im ersten, für die HP 14-Einstufung relevanten Test nicht eingestellt werden soll, auch wenn laut Testrichtlinie eine pH-Einstellung möglich bzw. empfohlen ist, wie im Algen- und Leuchtbakterientest. Hier wäre außerdem zu überlegen, ob für die verschiedenen Tests pH-Bereiche angegeben werden sollten, außerhalb derer eine Testdurchführung nicht mehr sinnvoll ist, weil allein aufgrund des pH-Werts mit einer starken Toxizität zu rechnen ist.

Der Wachstumshemmtest mit *B. rapa* soll laut ISO 11269-2 mit 12 Verdünnungsstufen durchgeführt werden. Um zu ermitteln, ob die $EC_{50} \leq$ oder $>$ der Grenzkonzentration von 10% Abfallanteil ist, reichen jedoch 5 Verdünnungsstufen aus.

Die Grenzkonzentration betreffend wäre eine Harmonisierung zwischen den verschiedenen EU-Mitgliedstaaten wünschenswert, auch in Hinblick auf den grenzüberschreitenden Transport von Abfällen.

Mindestanforderungen an Berichte

Auf Anregung des projektbezogenen Begleitkreises wurde zusammengestellt, welche Kerninformationen Berichte zu Probenahme, Probenaufbereitung, -lagerung, -teilung, Elution und Biotestung enthalten müssen, damit die zuständige Behörde die Ergebnisse bewerten kann. Entsprechende Vorgaben sind bereits in detaillierter Form in den Normen bzw. Testrichtlinien für die betreffenden Verfahren enthalten. Diese Informationen wurden in tabellarischer Form zusammengestellt. Informationen zu den Mindestanforderungen an Berichte könnten ein Anhang zur überarbeiteten UBA-Handlungsempfehlung werden.

Möglichkeiten und Grenzen ökotoxikologischer Tests im Vergleich zur Berechnungsmethode

In die Berechnungsmethode zur HP 14-Einstufung gehen chemisch-analytisch bestimmte Konzentrationen von laut CLP-Verordnung als Ozonschicht schädigend (H420), akut wässergefährdend (H400) und/oder chronisch wässergefährdend (H410-H413) eingestuften

Abfallinhaltsstoffen ein. Dabei werden als akut oder chronisch gewässergefährdend eingestufte Abfallinhaltsstoffe nur berücksichtigt, wenn ihre Konzentrationen relativ hohe Berücksichtigungsgrenzwerte (H400, H410: 1 g/kg Abfallfeuchtgewicht; H411-H413: 10 g/kg Abfallfeuchtgewicht) erreichen oder überschreiten. In die Berechnung gehen außerdem nur die Stoffe ein, die eine entsprechende harmonisierte Einstufung haben oder für die Selbsteinstufungen vorliegen. Bei den chemisch-analytischen Untersuchungen, die die Grundlage für die Berechnungsmethode sind, werden nur die Stoffe erfasst, nach denen – auf Grundlage der vorliegenden Informationen zur Abfallzusammensetzung – gesucht wird. Andere ggf. vorhandene Schadstoffe bleiben unberücksichtigt. Schadstoffe, die in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze der verwendeten analytischen Methode vorliegen, haben ebenfalls keine Auswirkung auf die HP 14-Einstufung.

Anhand von ökotoxikologischen Testverfahren kann eine Aussage über die kombinierten Effekte aller unter Testbedingungen bioverfügbaren toxischen Stoffe im Abfall getroffen werden. Im Unterschied zur Berechnungsmethode schließt dies Stoffe ein, deren Konzentrationen unterhalb der Berücksichtigungsgrenzwerte oder der chemisch-analytischen Nachweisgrenzen liegen oder die mit dem verwendeten chemisch-analytischen Verfahren nicht erfasst werden. In die Ergebnisse von Biotests gehen außerdem mögliche Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Abfallinhaltsstoffen ein. Mit der vom UBA (2013) empfohlenen Testbatterie wird zusätzlich zur akuten Toxizität für aquatische Organismen auch die akute Toxizität für terrestrische Organismen erfasst. Um chronische Effekte zu erfassen, müsste die Biotestbatterie angepasst werden. Eine Schädigung der Ozonschicht kann mit Biotests nicht erfasst werden.

Insgesamt sind die Berechnungsmethode und der Einsatz von Biotests zur HP 14-Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen also zwei sich ergänzende Ansätze. Es wäre wünschenswert, wenn die Vorgehensweise zur HP 14-Einstufung von Spiegeleinträgen auf EU-Ebene unter Berücksichtigung der Möglichkeiten und Grenzen von Berechnungsmethode und Biotests weiterentwickelt werden würde.

Summary

Background and objectives

The European List of Wastes (Decision 2000/532/EC, amended by Decision 2014/955/EC) was adopted into German law (Abfallverzeichnis-Verordnung, AVV) and contains a list of waste types. These are categorised into absolute hazardous entries, absolute non-hazardous entries and mirror entries. Mirror entries are waste types listed in pairs; their designation only differs with regard to the reference to hazardous substances contained in the waste. Depending on the specific case or waste composition, the respective waste has to be allocated to the hazardous or non-hazardous mirror entry. Hazardous properties are determined by calculation based on the concentrations of the waste constituents or based on testing. If a hazardous property of a waste has been assessed both based on the concentrations of hazardous substances and by testing, the results of the tests are crucial for the classification as hazardous or non-hazardous waste according to the current legal situation. For the hazard property (HP) 14 (ecotoxic), Regulation (EU) 2017/997 contains specific requirements for the calculation method (including concentration limits for classification based on the content of substances that are ozone-depleting or acutely and/or chronically hazardous to water organisms). However, at EU level there are no specific requirements for HP 14 classification based on testing, i.e., it is not specified which bioassays should be used and which results should lead to an HP 14 classification. Therefore, decisions on the acceptability and interpretation of the results of biological tests with waste samples are currently under the responsibility of the EU member states. In Germany, recommendations for the ecotoxicological characterization of wastes were developed (UBA 2013) based on extensive work on the assessment of the environmental risks of waste.

The objective of the present project was to elaborate proposals for updating and further developing these UBA recommendations and to identify open issues. To this end, various biotest-based approaches for HP 14 classification were first compared in a European context. The strategy proposed in the UBA recommendations for HP 14 classification of mirror entries was verified, and initial suggestions were made for its update and further development. The test strategy was then reviewed based on the sampling, sample preparation and ecotoxicological testing of 10 waste samples from mirror entries. Considering the results of the experimental work and the discussions with the project advisory group, proposals for an update and further development of the UBA recommendations were further elaborated.

Literature search and initial review of the testing strategy proposed in the UBA recommendations

A literature and internet search was performed to identify biotest-based strategies for HP 14 classification of waste, and approaches regarding sampling, sample pretreatment and elution as well as relevant ecotoxicological test methods. Information on strategies for HP 14 classification was compiled for Austria, Belgium (Flanders), the Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Italy, Portugal, Serbia, Slovakia, Spain, Sweden, and the United Kingdom, based on a CEN/AFNOR survey and national guidance documents. In the different European countries, approaches for HP 14 classification of waste are very heterogeneous. There are differences regarding the criteria for using ecotoxicity tests, the specifications of the maximum particle size of the waste to be tested, the elution methods, specifications for pH adjustment prior to aquatic testing, the types of ecotoxicity tests used, test design, and limit concentrations for HP 14 classification. Similarly, strategies and methods proposed in scientific publications are diverse.

The approach proposed in the UBA recommendations was reviewed in the light of the results of the literature review and new guidelines. Over the last 10 years, several guidelines regarding sampling were published at the European level (EN 14899, CEN/TR 15310-1 to -5). These are based on the 'Theory of Sampling' dating back to Pierre Gy, which, in addition to the LAGA

guideline PN 98, has also been the basis for the approach proposed in the UBA recommendations. With regard to the specifications on particle size and the elution of waste, the procedure suggested by UBA (2013) is in accordance with current European standards (EN 12457-2, EN 14735), which are also used in several other European countries, and which were used in several published studies on the ecotoxicity of waste. The recommendation of UBA (2013) to initially perform aquatic bioassays without pH adjustment and to use the result from these tests for HP 14 classification corresponds to the specifications provided in EN 14735. In comparison to other European countries, the test battery proposed in the UBA recommendations is one of the more comprehensive test batteries. With the exception of the emergence and root length test with cress, for which further experimental investigations would first need to be performed, no test systems with a high relevance for inclusion in the test battery were identified. Likewise, there was no reason to reduce the number of tests in the test battery or to change the test design (tests with at least 5 dilution levels of the waste or waste eluate to determine the EC₅₀). According to the UBA recommendations, a waste is classified as ecotoxic (HP 14), if an EC₅₀ of ≤10% waste or eluate content is determined in at least one of the bioassays. Identical or similar procedures are also used in several other European countries and are described in several published studies on the ecotoxicity of waste.

Sampling, sample preparation and ecotoxicological testing

Based on suggestions of UBA, BMUV, the project advisory group and the project team, the following waste types (mirror entries) were selected: flue-gas dust (10 09 09*/10 09 10), soil and stones (17 05 03*/17 05 04) and fluff-light fraction and dust (19 10 03*/19 10 04). The aim was to analyse at least one sample of the hazardous and non-hazardous mirror entry for each waste type. However, no producer of 19 10 03* waste could be identified during the project. The following wastes were sampled and investigated in ecotoxicity tests:

- ▶ Flue-gas dust (10 09 09*) from iron and steel casting: aged material (storage period >4 weeks) and fresh material (storage period <4 weeks)
- ▶ Flue-gas dust (10 09 10) from iron and steel casting: material from two foundries (plants A and B)
- ▶ Soil and stones (17 05 03*): excavated geogenic material from an open-cast lignite mine and material from the side verges of a federal road
- ▶ Soil and stones (17 05 04): material from the side verges of a secondary road
- ▶ Fluff-light fraction and dust (19 10 04): material (sieved to <10 mm) from two plants (plant A: two batches, plant B: one batch)

The classification of the sampled wastes as hazardous or non-hazardous mirror entry was carried out by the waste owners and was not necessarily based on the HP 14 criterion.

During sampling and sample preparation, the requirements of LAGA guideline PN 98 and European standards (CEN/TR 15310, EN 14735) were met. In the aquatic ecotoxicity tests, aqueous eluates of the waste samples were used, which were prepared using a one-stage batch procedure with a liquid to solid ratio of 10 L/kg waste dry weight and a duration of 24 h. In the terrestrial ecotoxicity tests, solid waste samples (particle size <2 mm in the microbial test and <4 mm in the other tests) were used. Samples of the 10 wastes mentioned above were analysed in the following bioassays:

- ▶ Aquatic bioassays: acute *Daphnia* test (DIN EN ISO 6341), algal growth inhibition test in microtiter plates (DIN 38412-59) and luminescent bacteria test (DIN EN ISO 11348-2).

- Terrestrial bioassays: solid contact test with *Arthrobacter globiformis* (ISO 18187), growth inhibition test with *Brassica rapa* (ISO 11269-2) and avoidance test with earthworms (ISO 17512-1)

For the aquatic bioassays, up to three test runs were carried out. In the first test run for each waste sample, the eluates were tested at the following dilution levels: 50, 25, 12.5, 6.3 and 3.1% (all tests) and, additionally, 1.6, 0.8 and 0.4% (luminescent bacteria test). If effects >50% were recorded at all dilution levels, higher dilution levels were tested in the following test run for deriving an EC₅₀. The first test run for each waste sample was performed without pH adjustment. If toxicity was observed at dilution levels, where pH was outside the range tolerated by the test species, a further test run was performed with pH adjustment. In this test run, pH was only adjusted for dilution levels with pH values outside the tolerance range for the respective species. Parallel to each test run with adjusted pH, an additional test run without pH adjustment was carried out to evaluate reproducibility of the results. Further test repeats of the aquatic toxicity tests (also for eluates without toxic effects in the first test run) were performed to investigate reproducibility of the test results.

For the terrestrial tests, one test was carried out for each waste sample, with five dilution levels of the (solid) waste: 25, 12.5, 6.3, 3.1 and 1.6%. One waste sample was additionally analysed using a rapid test to determine potential nitrification and inhibition of nitrification by means of ammonium oxidation (DIN EN ISO 15685).

The results of the bioassays with the 10 waste samples showed that the aquatic tests are highly reproducible (an evaluation of reproducibility of the terrestrial tests was not part of the present project). In most cases, the algal and the *Daphnia* tests were more sensitive than the luminescent bacteria test. The terrestrial tests tended to be slightly less sensitive than the aquatic tests.

In 3 out of 4 cases, the waste samples assigned by the waste owner to the hazardous mirror entry were classified as hazardous by HP 14 based on the bioassays. The only exception was the material from the side verges of a federal road, which showed no toxicity in any of the bioassays. This lack of toxicity might be related to the high clay content of the waste sample.

Waste samples assigned by the waste owner to the non-hazardous mirror entry were classified as hazardous by HP 14 in 5 out of 6 cases based on the bioassay results. In 4 of these cases, the results obtained with more than one test method were below the limit concentration (EC₅₀ ≤10% waste or eluate content). The high toxicity of the samples of fluff-light fraction and dust (19 10 04) was particularly remarkable.

Proposals for an update and further development of the UBA recommendations

Based on the results of the literature search and the experience gained during sampling, sample preparation, elution and ecotoxicity testing of the 10 waste samples, suggestions were made for updating and further developing the UBA recommendations. The discussions with the project advisory group were considered. The proposals for an update and further development of the UBA recommendations relate to sampling, sample pretreatment, subsampling in the laboratory, elution, ecotoxicological testing, and minimum requirements for reports. In addition, issues were identified, for which there is a need for action at regulatory level, and proposals were made for adaptations of some of the test guidelines for the bioassays.

Sampling and sample pretreatment

Regarding sampling, the UBA recommendations from 2013 already refer to a European standard being developed. Meanwhile, the technical reports CEN/TR 15310 are available. Concerning the fraction of particles with the characteristic to be determined, and the desired reliability of the results, it is proposed that the UBA recommendations are adapted to the approach described in

these European technical reports. Sampling for ecotoxicological evaluation of waste should be carefully planned in accordance with CEN/TR 15310-1. At least 16 probabilistic individual samples should be taken and combined to a composite sample. If the sample contains material (oversized particles) >4 mm, a decision needs to be taken using the minimum sample mass formula of CEN/TR 15310-1 as to whether the oversized particles should be discarded or crushed/shredded and included in the sample.

Subsampling in the laboratory

Basically, there are two approaches to obtain samples for performing individual bioassays: (a) dividing the laboratory sample to obtain a subsample (test sample), and (b) taking several (smaller) subsamples from the laboratory sample and combining them to a composite (test) sample. A simulation with random numbers was carried out using approximate distributions for parameter contents to estimate the effects of these two approaches on the variance of the characteristic's contents in the samples used for bioassays. Based on the simulation results and in analogy to the sampling procedure described above, it is recommended to take at least 16 individual samples from the carefully homogenised laboratory sample and to combine them into a composite test sample.

Elution

In line with EN 14735, UBA (2013) proposes to elute waste using the one-stage batch procedure with a liquid to solid ratio of 10 L/kg waste dry weight and a duration of 24 h according to EN 12457-2. Both the UBA recommendations and EN 14735 should specify whether or, more specifically, to what extent this method is suitable for eluting organic substances and poorly soluble inorganic substances from waste samples.

Biotests

For the aquatic and the terrestrial compartment, the test battery proposed in the UBA recommendations covers the taxonomic groups of plants, invertebrates and microorganisms, and the trophic levels of producers, consumers and destruents. Compared to other European countries, it is one of the more comprehensive test batteries.

For the 10 waste samples analysed, the aquatic bioassays tended to be more sensitive than the terrestrial ones. However, as the results of the UBA project PROSOIL have shown, aquatic tests are not in all cases protective for soil organisms. By additionally performing terrestrial biotests in cases where all results from aquatic tests are negative, toxic effects of poorly water-soluble waste constituents on soil organisms can be detected. Bioassays with terrestrial organisms should therefore remain part of the test battery.

In the solid contact test with *A. globiformis*, a high variability of results was frequently recorded, especially in tests with heterogeneous waste (fluff-light fractions). This variability was most likely caused by the very small amounts of waste used in this test. The rapid test to determine potential nitrification according to DIN EN ISO 15685 could be a possible alternative to the solid contact test with *A. globiformis*. To verify the suitability of this test, an adaptation of the method and further comparative experimental studies would be necessary.

Effects on terrestrial vertebrates should be covered by other hazard-relevant properties (HP 5: specific target organ toxicity, HP 6: acute toxicity, HP 10: toxic for reproduction). However, possible effects on fish are not covered by other hazard properties. If a test with the taxonomic group of fish is to be added to the bioassay battery for the HP 14 classification of wastes in mirror entries, it is proposed to check whether one of the available alternative methods is suitable (the fish egg test according to DIN EN ISO 15088, the fish embryo test according to

OECD test guideline 236, or the fish cell line test according to OECD test guideline 249). In this case, experimental studies and, possibly, methodological adaptations would be necessary.

The UBA recommendations specify that the aquatic and terrestrial bioassays should be carried out with at least five dilution levels of the waste or waste eluate to determine EC₅₀ values. The project advisory group suggested that it should be examined whether limit tests could be an option. Limit tests could, for example, be performed with an eluate or waste content of 12.5%. In analogy to the environmental risk assessment for chemical substances, limit tests with waste or waste eluates should be used to verify the absence of ecotoxic effects. If a significant effect is found in a limit test, a test with five waste or eluate dilutions should be performed to determine the EC₅₀.

According to Decision 2000/532/EC, the results of testing are crucial for the classification of a waste, if the respective hazardous property has been assessed based on the concentrations of hazardous substances and based on testing. This opens the possibility of using biotests to exonerate a waste classified as ecotoxic using the calculation method. However, this option is only partly justified:

- ▶ When a waste is classified as HP 14 using the calculation method solely because of substances that are acutely hazardous to water organisms but lacks ecotoxicity in all bioassays of the test battery, it appears justified to exonerate this waste based on the test results. In this case, a low bioavailability could be the reason for the lack of ecotoxicity in the bioassays. Only in cases where the classification as acutely hazardous to water organisms is based on fish toxicity only, it should not be possible to exonerate the waste based on the results obtained with a bioassay battery that does not contain a fish test.
- ▶ When a waste has been classified as HP 14 using the calculation method due to substances with a long-term hazard to the aquatic environment, it does not appear justified to exonerate this waste based on acute effect concentrations determined with the current bioassay battery. To exonerate a waste, which – using the calculation method – has been classified as long-term hazardous to the aquatic environment based on the results of chronic ecotoxicity tests with individual waste constituents, results of chronic ecotoxicity tests with the waste eluate should be required.
- ▶ When a waste has been classified as HP 14 using the calculation method due to ozone-depleting substances, it is not justified to exonerate this waste using bioassays.

These last two points should be addressed at EU level: it should be specified in which cases the results of bioassays can prevail over the results obtained with the calculation method.

Currently, waste testing is only explicitly mentioned in the guideline for the solid contact test with *A. globiformis*. It is recommended to also include the testing of waste samples or eluates in the scope of the guidelines for the other tests of the UBA test battery and to add information on handling of waste samples or eluates.

In the UBA recommendations it should be specified that the pH should not be adjusted in the tests relevant for HP 14 classification, even if the test guideline states that a pH adjustment is possible or recommended, as is the case in the algal and luminescent bacteria test. In addition, it should be considered if for each biotest pH ranges should be specified, outside of which it does not make sense to perform the test, since the pH alone is likely to lead to severe toxicity.

According to ISO 11269-2, the growth inhibition test with *B. rapa* should be carried out with 12 dilution levels. However, to determine whether the EC₅₀ is ≤ or > the limit concentration of 10% waste content, 5 dilution levels are sufficient.

Harmonisation between the different EU member states regarding the limit concentration would be desirable, also regarding the transboundary transport of waste.

Minimum requirements for reports

Following a suggestion of the project advisory group, an overview was compiled of key information that reports on sampling, sample preparation, storage, subsampling, elution and ecotoxicity testing should contain to enable the competent authority to evaluate the results. The corresponding specifications are given in detailed form in the standards and test guidelines for the relevant methods. Information on minimum requirements for reports was compiled in a tabular form, and could become an annex to the revised UBA recommendations.

Possibilities and limitations of ecotoxicity tests compared to the calculation method

For the calculation method for HP 14 classification, chemically analysed concentrations of those waste constituents are used that are classified as hazardous to the ozone layer (H420), acutely hazardous to the aquatic environment (H400) and/or long-term hazardous to the aquatic environment (H410-H413) in accordance with the CLP Regulation. Waste constituents classified as acutely or long-term hazardous to the aquatic environment are only considered, if their concentrations reach or exceed relatively high cut-off values (H400, H410: 1 g/kg waste wet weight; H411-H413: 10 g/kg waste wet weight). In the calculation method, only those substances are included, for which a harmonized or a notified classification ('self-classification') is available. When performing chemical analyses, which are the basis for the calculation method, the substances to be analysed are selected based on the available information on the composition of the waste. Other pollutants that may be present in the waste are not considered. In addition, substances present in concentrations below the detection limit of the used analytical method have no impact on HP 14 classification.

Based on the results of ecotoxicity tests, a statement can be made about the combined effects of all toxic substances in the waste that are bioavailable under test conditions. In contrast to the calculation method, this includes substances with concentrations below the cut-off values of the calculation method or below the detection limits of the analytical method, and substances that are not detected with the used analytical method. The bioassay results also reflect possible interactions between different waste constituents. In addition to acute toxicity to aquatic organisms, the test battery recommended by UBA (2013) also covers acute toxicity to terrestrial organisms. To evaluate chronic effects, the bioassay battery would need to be adapted. Potential hazards to the ozone layer cannot be detected with bioassays.

Overall, the calculation method and the use of bioassays for HP 14 classification of waste from mirror entries are therefore complementary approaches. A further development of the procedures for HP 14 classification of mirror entries at EU level would be desirable, considering the possibilities and limitations of the calculation method and biotests.

1 Hintergrund und Ziele des Vorhabens

1.1 Regulatorischer Hintergrund

Abfälle im Sinne des Kreislaufwirtschaftsgesetzes (KrWG 2023)^{1, 2} sind „alle Stoffe oder Gegenstände, deren sich ihr Besitzer entledigt, entledigen will oder entledigen muss“. Das europäische Abfallverzeichnis (Entscheidung 2000/532/EG, geändert durch Beschluss 2014/955/EG; EG 2014, 2015), das mit der Abfallverzeichnis-Verordnung (AVV 2020) in deutsches Recht umgesetzt wurde, enthält eine nicht abschließende Liste von Abfallarten³. Diese sind in absolut gefahrenrelevante Einträge, absolut nicht gefahrenrelevante Einträge (*absolute hazardous* und *absolute non-hazardous entries*) sowie Spiegeleinträge (*mirror entries*) eingeteilt. Absolut gefährliche Abfallarten sind ohne weitere Bewertung als gefährlich zu betrachten, absolut nicht gefährliche Abfallarten ohne weitere Bewertung als nicht gefährlich⁴. Spiegeleinträge sind paarweise im Abfallverzeichnis und in der AVV aufgeführte Abfallarten, deren Bezeichnung sich nur durch den Hinweis auf im Abfall enthaltende gefährliche Stoffe unterscheidet⁵. Die betreffenden Abfälle müssen je nach konkreter Sachlage bzw. Abfallzusammensetzung dem gefahrenrelevanten oder nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag zugeordnet werden (EU 2018, Abschnitt 2.1.2). Wenn ein Abfall eine oder mehrere der gefahrenrelevanten Eigenschaften (*hazardous properties*, HP 1 bis HP 15⁶) aufweist oder bestimmte persistente organische Schadstoffe (POPs) in Konzentrationen oberhalb der festgelegten Grenzwerte enthält, ist er als gefährlicher Abfall einzustufen (EG 2015, EU 2018, AVV 2020, siehe auch Abbildung 1). Absolut gefahrenrelevante Abfallarten und gefahrenrelevante Spiegeleinträge (*mirror hazardous*) sind mit einem Sternchen gekennzeichnet (EU 2018, AVV 2020, § 3, Absatz 1).

Um einen Abfall zu einem gefahrenrelevanten oder nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag zuzuordnen, müssen – wie im technischen Leitfaden zur Abfalleinstufung (EU 2018, S. 10) spezifiziert – zunächst hinreichende Informationen über das Vorhandensein und den Anteil gefährlicher Stoffe in diesem Abfall beschafft werden (Abbildung 1). Relevant sind z. B. Informationen zum Prozess, durch den der Abfall entsteht, zu Eingangsstoffen und Zwischenprodukten dieses Prozesses, Angaben der ursprünglichen Hersteller von Stoffen/Gegenständen, bevor diese zu Abfall wurden (z. B. Sicherheitsdatenblätter, Produktdatenblätter) sowie Informationen aus Datenbanken zu Abfallanalysen und chemisch-analytische Daten zu dem Abfall. Gefahrenrelevante Eigenschaften von Abfällen können entweder anhand der Konzentrationen der Inhaltsstoffe des Abfalls oder anhand einer Prüfung ermittelt werden (Entscheidung der Kommission 2000/532/EG, EG 2015, siehe auch AVV 2020, Anlage zu § 2, Abs. 1, Abschnitt 2.2.2). Die dabei einzusetzenden Prüfmethoden sollen in Einklang mit der

¹ Siehe auch Abfallrahmenrichtlinie (Richtlinie 2008/98/EG, EG 2018, Artikel 3).

² In diesem Bericht beziehen wir uns i.d.R. auf die konsolidierten Fassungen von Richtlinien und anderen Rechtsvorschriften, die zum Zeitpunkt der Bearbeitung des betreffenden Arbeitspakets des Projekts aktuell waren.

³ Der technische Leitfaden 2018/C 124/01 (EU 2018) enthält Erläuterungen zur korrekten Auslegung und Anwendung der relevanten Rechtsvorschriften zur Einstufung von Abfällen.

⁴ In Einzelfällen kann die zuständige Behörde eine abweichende Einstufung vornehmen. Abweichende Einstufungen müssen dem Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz gemeldet werden (AVV 2020, § 3).

⁵ Beispiel für ein Eintragspaar: 10 01 14* Rost- und Kesselasche, Schlacken und Kesselstaub aus der Abfallmitverbrennung, die gefährliche Stoffe enthalten; 10 01 15 Rost- und Kesselasche, Schlacken und Kesselstaub aus der Abfallmitverbrennung mit Ausnahme derjenigen, die unter 10 01 14 fallen.

⁶ HP 1: explosiv, HP 2: brandfördernd, HP 3: entzündbar, HP 4: reizend – Hautreizung und Augenschädigung, HP 5: spezifische Zielorgan-Toxizität (STOT)/Aspirationsgefahr, HP 6: akute Toxizität, HP 7: karzinogen, HP 8: ätzend, HP 9: infektiös, HP 10: reproduktionstoxisch, HP 11: mutagen, HP 12: Freisetzung eines akut toxischen Gases, HP 13: sensibilisierend, HP 14: ökotoxisch, HP 15: Abfall, der eine der oben genannten gefahrenrelevanten Eigenschaften entwickeln kann, die der ursprüngliche Abfall nicht unmittelbar aufweist.

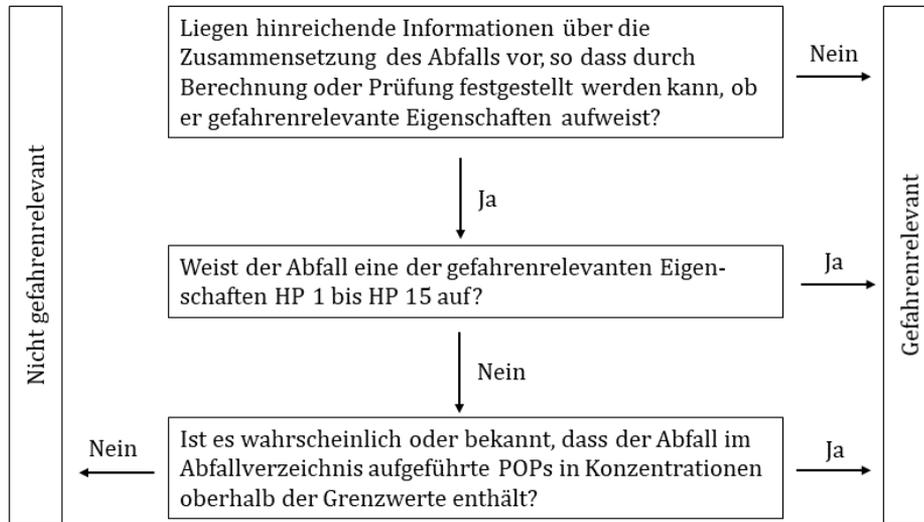
Verordnung EG/440/2008 (REACH-Prüfmethoden, EG 2019) oder anderen international anerkannten Prüfmethoden und Leitlinien sein. Tierversuche dürfen – analog zur CLP-Verordnung ((EG) 1272/2008, Artikel 7; EG 2021) – nur durchgeführt werden, wenn es keine geeignete Alternativmethode gibt. Wenn eine gefahrenrelevante Eigenschaft eines Abfalls sowohl anhand der Konzentration gefährlicher Stoffe als auch mittels einer Prüfung bewertet wurde, sind die Ergebnisse der Prüfung ausschlaggebend für die Einstufung als gefährlicher oder nicht gefährlicher Abfall (EG 2015, AVV 2020).

Für das Gefährlichkeitsmerkmal HP 14 („ökotoxisch: Abfall, der unmittelbare oder mittelbare Gefahren für einen oder mehrere Umweltbereiche darstellt oder darstellen kann“, Richtlinie 2008/98/EG, EG 2018) wurde in der Verordnung (EU) 2017/997 (EU 2017, S. 4) konkretisiert, wie eine Einstufung erfolgen soll. Die Verordnung enthält Vorgaben zur Berechnungsmethode, einschließlich Konzentrationsgrenzwerten für die Einstufung anhand des Gehalts an Stoffen, die die Ozonschicht schädigen (Gefahrenhinweis H420) oder akut (H400) bzw. chronisch wassergefährdend (H410-H413) sind (siehe auch Abschnitt 6). Diese Vorgaben sind mit der CLP-Verordnung ((EG) 1272/2008, EG 2021) harmonisiert. Für eine HP 14-Einstufung anhand von Prüfungen sollen REACH-Prüfmethoden laut EG (2019; s.o.) oder andere international anerkannte Methoden verwendet werden. Außerdem wird auf das europäische Abfallverzeichnis (EG 2015) und auf die CLP-Verordnung (Artikel 12, Buchstabe b: Berücksichtigung einer fehlenden Bioverfügbarkeit bei der Bewertung) verwiesen. Die Verordnung (EU) 2017/997 enthält keine konkreteren Vorgaben zur HP 14-Einstufung anhand von Prüfungen (Biotests), d. h. es ist nicht spezifiziert, welche Biotests eingesetzt werden sollen und ab welcher Grenzkonzentration eine HP 14-Einstufung erfolgen soll.

Der technische Leitfaden zur Abfalleinstufung (EU 2018) enthält Hinweise zu Probenahme, Elution und chemischer Analytik sowie zur HP 14-Einstufung mittels der Berechnungsmethode, jedoch nicht zu Biotests. Es wird festgestellt, dass es von Seiten der Europäischen Kommission noch keine spezifischen Empfehlungen für eine HP 14-Einstufung anhand von biologischen Prüfungen gibt. Infolgedessen müssen Mitgliedstaaten über Annehmbarkeit und Auslegung der Ergebnisse biologischer Prüfungen mit Abfallproben entscheiden (Einzelfallentscheidungen). Dabei sollen laut Anhang 3.14 des technischen Leitfadens ggf. Erwägungen zu Bioverfügbarkeit berücksichtigt werden wie in Verordnung (EU) 2017/997 (EU 2017) vorgegeben (s.o.).

In einigen deutschen Bundesländern liegen Vollzugshinweise zur Zuordnung von Abfällen zu Abfallarten eines Spiegeleintrags vor (IPA 2021, siehe auch Abschnitt 3.1.1).

Abbildung 1: Ablauf der Zuordnung eines Abfalls zu einem gefahrenrelevanten oder nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH, basierend auf EU (2018), vereinfacht

1.2 Ziele des Vorhabens

Im vorliegenden Projekt wurden Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der ‚Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen‘ des Umweltbundesamts (UBA 2013) erarbeitet und offene Punkte identifiziert. Dabei wurden die Abschnitte bis einschließlich Abschnitt 6.1 ‚Identifikation gefährlicher Abfälle in Spiegeleinträgen der Abfallverzeichnisverordnung hinsichtlich des Kriteriums HP 14‘) der Handlungsempfehlung betrachtet. Die Abschnitte 6.2 (‚Detaillierte ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen‘) und 7 (‚Ökotoxikologische Charakterisierung im Rahmen einer Risikobewertung von Abfallentsorgungsszenarien‘) waren nicht Gegenstand dieses Vorhabens.

Basierend auf einer Literaturrecherche wurden dazu zunächst verschiedene Biotest-basierte Ansätze für die HP 14-Einstufung im europäischen Kontext verglichen (Abschnitt 3). Die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Strategie zur HP 14-Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen wurde überprüft und erste Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung wurden gemacht. Die Teststrategie wurde anschließend anhand der Beprobung, Aufbereitung und ökotoxikologischen Untersuchung von 10 Abfallproben aus Spiegeleinträgen überprüft (Abschnitt 4). Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der experimentellen Arbeiten und der Diskussionen mit dem projektbezogenen Begleitkreis wurden die Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung weiter ausgearbeitet (Abschnitt 5). Dabei konzentrieren sich die Vorschläge für eine Überarbeitung der Handlungsempfehlung auf die Ermöglichung einer (verbesserten) technischen Umsetzung. Möglichkeiten und Grenzen der ökotoxikologischen Testbatterie nach UBA (2013) im Vergleich zur Berechnungsmethode wurden diskutiert (Abschnitt 6). Etwaige Lücken in der derzeit aktuellen Gesetzgebung wurden im Rahmen des Vorhabens identifiziert so weit möglich, konnten aber im Rahmen dieses Forschungsprojektes nicht bearbeitet werden.

2 Vorgehensweise bei der HP 14 Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen laut aktueller UBA-Handlungsempfehlung

Zur Bewertung der Umweltrisiken von Abfällen wurden in den letzten 15 Jahren durch das Umweltbundesamt (UBA) umfangreiche Arbeiten initiiert (v. a. Moser & Römbke 2009, Römbke et al. 2009, Römbke & Ketelhut 2014). Auf Basis dieser Arbeiten wurde eine Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen erstellt (UBA 2013). Diese Handlungsempfehlung ist nicht rechtsverbindlich. Die im Rahmen des vorliegenden Projekts wesentlichen Punkte der Handlungsempfehlung sind in den folgenden Abschnitten zusammenfassend dargestellt.

2.1 Probenahme

Im Hinblick auf die Probenahme basiert die UBA-Handlungsempfehlung auf der Richtlinie PN 98 (LAGA 2004)⁷ und der auf Pierre Gy zurückgehenden ‚*Theory of Sampling*‘ (Gy 1979, 1992, 2004a, b). Die UBA-Handlungsempfehlung entstand in dem Bemühen, die positiven Aspekte beider Ansätze abzubilden. Sie beinhaltet hinsichtlich der Probenahme zusammenfassend folgende Hinweise:

- ▶ Bei der Probenahme sollen mindestens 16 Einzelproben genommen werden, die als Zufallsstichproben zu gewinnen sind. Jedes Partikel soll eine identische Chance besitzen, Teil der Probe zu werden.
- ▶ Die Probenahme soll idealerweise aus dem fallenden Strom erfolgen, notfalls auch aus dem Haufwerk. Die Probenahme kann aus einem mittels Radlader hergestelltem Probenahmeteppich erfolgen.
- ▶ Die Summe der Einzelproben bildet eine Mischprobe, die gleich der Feldprobe ist.

2.2 Probenvorbehandlung

Die Probenvorbehandlung umfasst alle Arbeitsschritte, die unternommen werden, um aus der Feldprobe eine Laborprobe zu erstellen. Es können im Rahmen der Probenvorbehandlung Prozesse wie Mischen, Homogenisieren, Teilen, Verjüngen, Sortieren, Zerkleinern, Trocknen und Sieben eingesetzt werden (DIN 19747, 2009a). Die UBA-Handlungsempfehlung (UBA 2013) sieht folgende Maßnahmen vor:

- ▶ Um keine frischen Oberflächen zu schaffen, sollte die Probe im Rahmen der Probenvorbehandlung möglichst nicht zerkleinert werden.
- ▶ Sofern der d_{95} des Materials bei >4 mm liegt gibt es zwei Optionen: Bei heterogenen Abfällen mit geringem Massenanteil <4 mm ist das Material zu brechen, jedoch nicht fein zu vermahlen. Bei hinreichend großen Probenanteilen <4 mm können unter Wichtung des Massenanteils Absiebungen <4 mm untersucht werden.
- ▶ Wenn eine Trocknung erforderlich ist, soll die Trocknungstemperatur bei $<40^{\circ}\text{C}$ liegen

⁷ Die PN liegt inzwischen in aktualisierter, an die aktuelle Rechtslage angepasster Form vor (LAGA 2019).

- ▶ Werden Störstoffe abgetrennt, sind sie in Stückzahl und Gewicht sowie fotografisch zu dokumentieren.
- ▶ Eine Probenverjüngung ohne vorherige Reduktion der Partikelgröße sollte grundsätzlich nicht erfolgen.

Die Laborproben sollten bei einer Temperatur von $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ transportiert werden und innerhalb von 48 Stunden nach der Probenahme das Labor erreichen.

2.3 Probenvorbereitung und -aufarbeitung, Teilung von Proben im Labor

Im Labor findet eine Probenvorbereitung statt, die in der Regel eine Homogenisierung und eine Probenteilung zur Prüfprobe umfasst. Dabei kann im Einzelfall auch eine Zerkleinerung und Siebung erfolgen. Im Rahmen der Probenaufarbeitung kommen typischerweise Prozesse wie Trocknung und ggf. Feinzerkleinerung zum Einsatz (vgl. DIN 19747, 2009a). Bei ökotoxikologische Untersuchungen erfolgt in der Regel keine weitere Zerkleinerung.

In der UBA-Handlungsempfehlung wird festgestellt, dass im Rahmen der Probenvorbereitung ggf. eine weitere Verjüngung bzw. Teilung der Probe notwendig ist, da für die einzelnen Biotests ggf. nur geringe Messprobenmassen benötigt werden. Es wird empfohlen, Proben mittels Riffelteiler oder Kegeln und Vierteln zu teilen. Da die Repräsentativität der in den Biotests eingesetzten Proben im Hinblick auf die untersuchten Eigenschaften vorab nicht bekannt sind, können bei Bedarf durch Paralleluntersuchungen Anhaltspunkte zur Aussagesicherheit der Ergebnisse gewonnen werden (vgl. UBA 2013, Abschnitt 5.2.4).

2.4 Elution

Die Herstellung von Abfalleluaten, wässrigen Extrakten, anhand derer die Ökotoxizität der kurzfristig wasserelulierbaren Abfallbestandteile untersucht wird, wird in Abschnitt 5.2.5 der UBA-Handlungsempfehlung (UBA 2013) behandelt. Es werden zwei Elutionsverfahren erwähnt:

- a) Einstufiges Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis (L/S) von 10 L/kg Abfalltrockengewicht und einer Dauer von 24 h nach DIN EN 12457-2 (2003a). Dieses Verfahren soll auch laut DIN EN 14735 (Charakterisierung von Abfällen – Herstellung von Abfallproben; DIN EN 2022) verwendet werden. Während je Elution laut DIN EN 14735 (Abschnitt 11.2.1) 90 ± 5 g Abfalltrockenmasse eingesetzt werden sollen, wird in UBA (2013) empfohlen, 100-200 g Abfalltrockenmasse einzusetzen. Bei Bedarf sollen parallel mehrere Eluate gewonnen und vermischt werden.
- b) Gewinnung von Säuleneluaten, z. B. nach DIN 19528 (2023a). Hier wird jedoch einschränkend angemerkt, dass Erfahrungen zur Biotestung und zu Grenzkonzentrationen fehlen.

2.5 Biotestung

Laut UBA (2013, Abschnitt 6.1) ist die Durchführung von Biotests erforderlich, wenn die vorliegenden Daten zur Abfallzusammensetzung und zur Ökotoxizität der einzelnen Bestandteile des betreffenden Abfalls (Spiegeleintrag) nicht ausreichen, um den Abfall hinsichtlich seiner Ökotoxizität einzustufen. In diesem Fall werden zunächst mit einem Eluat des einzustufenden Abfalls drei aquatische Biotests mit Organismen unterschiedlicher trophischer Ebenen und taxonomischer Gruppen durchgeführt: der Leuchtbakterienhemmtest nach DIN EN

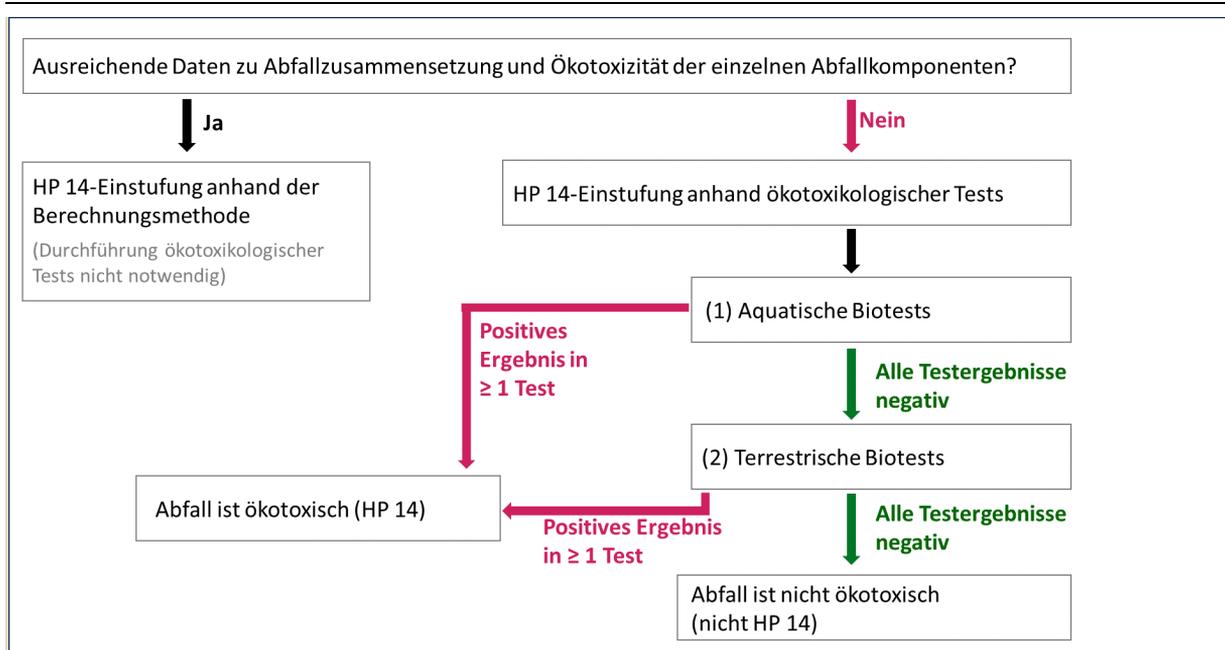
ISO 11348-2 (2009)⁸, der Algenwachstumshemmtest nach DIN EN ISO 8692 (2012) und der akute Daphnientest nach DIN EN ISO 6341 (2013a) (siehe Abschnitt 3.3.2). Wenn die Ergebnisse aller aquatischen Tests negativ sind (d. h. wenn die ermittelten EC_{50} -Werte $>10\%$ Eluat sind), werden zusätzlich drei terrestrische Ökotoxizitätstests durchgeführt: der Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* nach ISO 18187 (2016a), der Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa* nach ISO 11269-2 (2012a) und der Vermeidungstest mit Regenwürmern nach ISO 17512-1 (2008a) (siehe Abschnitt 3.3.2).

Bei allen sechs Biotests handelt es sich um schon seit etlichen Jahren standardisierte Verfahren (vgl. auch Abschnitt 2.6). Alternativ zu den o. g. Biotests können laut Handlungsempfehlung auch andere standardisierte Testverfahren eingesetzt werden, für die entsprechende Erfahrungen mit der Testung von Abfalleluaten bzw. Abfällen vorliegen (UBA, 2013, Abschnitt 6.1.3).

Ein Abfall wird als ökotoxisch (HP 14) eingestuft, wenn in mindestens einem der durchgeführten Ökotoxizitätstests eine EC_{50} von $\leq 10\%$ Abfall- bzw. Eluatanteil ermittelt wird.

Die Ökotoxizitätstests werden mit jeweils mindestens 5 Verdünnungsstufen des Abfalleluats bzw. des Abfalls durchgeführt; Limit-Tests sind in UBA (2013) nicht vorgesehen. In den aquatischen Toxizitätstests soll der pH-Wert der Eluate bzw. Eluatverdünnungen nicht eingestellt werden. Falls toxische Effekte in Verdünnungen auftreten, deren pH-Wert außerhalb des für den Testorganismus geeigneten Bereichs liegt, können die Tests mit pH-Einstellung wiederholt werden. Ergebnisse der Tests mit pH-Einstellung sind jedoch für die HP 14-Einstufung nicht relevant (UBA 2013, Abschnitt 6.1.2).

Abbildung 2: Ablaufschema für die HP 14-Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen laut UBA-Handlungsempfehlung von 2013.



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH, basierend auf UBA (2013), vereinfacht

2.6 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der eingesetzten Biotests

Die in der UBA-Handlungsempfehlung genannten und im vorliegenden Vorhaben verwendeten Biotests nach ISO-Standards sind überwiegend seit Jahrzehnten etabliert. Meist sind gleichartige

⁸ Aktuelle Fassung der Richtlinie: DIN EN ISO 11348-2 (2023).

Verfahren auch als OECD-Richtlinien zur Prüfung von Chemikalien standardisiert. Ihre oft verpflichtende Verwendung ist bereits in anderen Bereichen gesetzlich geregelt. Zu nennen sind hier insbesondere die Umweltrisikobewertung von Chemikalien, Pflanzenschutzmitteln, Bioziden und Arzneimitteln sowie Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchungen zur Beurteilung von Umweltproben.

Die Durchführung von Laborvergleichs- und Ringtests ist als Voraussetzung für die Veröffentlichung einer Standardmethode Teil des Standardisierungsprozesses. Außerdem ist z. B. im Rahmen der Akkreditierung gemäß ISO 17025 (DIN EN ISO/IEC 2018) eine regelmäßige Teilnahme an Ringtests vorgesehen. Die meisten ISO- und OECD-Richtlinien beinhalten die Testung einer Referenzsubstanz (Positivkontrolle) mit einem im Rahmen der Ringtestung ermittelten bekanntem Wirkungsbereich, entweder regelmäßig (z. B. zweimal pro Jahr) oder parallel in jedem Testdurchlauf. Die Einhaltung des Zielbereichs (z. B. für die EC₅₀ für die jeweilige Referenzsubstanz) ist Voraussetzung für die Gültigkeit (Validität) der mit den zu beurteilenden Substanzen oder Proben durchgeführten Tests.

Für die Testung von Abfallproben wurde ein internationaler Ringtest durchgeführt (Moser & Römbke 2009). Dieser wurde durch das UBA organisiert, es nahmen 60 Labore aus 15 Ländern teil. In diesem Ringtest wurden drei verschiedene Abfallarten getestet: hauptsächlich mit Schwermetallen belastete Hausmüllverbrennungsasche (HMV-Asche), mit polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) belasteter Boden sowie mit Kupfer-basierten Holzschutzmitteln belastetes Altholz. Die Basistestbatterie bestand aus dem Algenwachstumshemmtest, dem akuten Daphnientest, dem Leuchtbakterientest, dem akuten Regenwurmtest sowie dem Wachstumshemmtest mit höheren Pflanzen. Zusätzlich wurden in einigen Laboren je fünf weitere aquatische und terrestrische Testverfahren eingesetzt (u.a. der Vermeidungstest mit Regenwürmern und der Feststoffkontakttest mit *A. globiformis*).

3 Literaturrecherche und erste Überprüfung der in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagenen Teststrategie

Eine Literatur- und Internetrecherche wurde durchgeführt, um Strategien zur HP 14-Einstufung von Abfällen anhand der Berechnungsmethode und ökotoxikologischer Testverfahren (einschließlich Handlungsempfehlungen anderer Mitgliedstaaten), potenziell für die Bewertung der Toxizität von Abfallproben geeignete neue Testverfahren sowie Arbeiten zu ökotoxikologischen Tests mit verschiedenen Arten von Abfällen zu identifizieren. Hierbei wurden sowohl wissenschaftliche Zeitschriften mit Begutachtungsverfahren als auch sogenannte graue Literatur wie Berichte, Tagungsbeiträge oder universitäre Abschlussarbeiten berücksichtigt⁹.

3.1 Strategien zur HP 14-Einstufung von Abfällen

3.1.1 Strategien in verschiedenen europäischen Staaten

Von CEN/AFNOR wurde 2020 eine Umfrage zu den Herangehensweisen bei der HP 14-Einstufung von Abfällen in den verschiedenen europäischen Ländern (v. a. EU-Mitgliedstaaten, aber auch Beitrittskandidaten) durchgeführt. Es wurde u.a. abgefragt, ob die HP 14-Klassifikation anhand von Berechnungsformeln und/oder Biotests erfolgt, welche Grenzkonzentrationen für Biotests festgelegt wurden, ob nur aquatische oder auch terrestrische Testverfahren eingesetzt werden, welches Auslaugungsverfahren und welches Testdesign verwendet werden und ob der pH-Wert des Eluats eingestellt wird (CEN 2020, 2021a). Basierend auf der o. g. Umfrage, Berichten von Sander et al. (2008) und Planchon et al. (2015) und einer Internetrecherche wurden nationale Leitfäden zur HP 14-Einstufung identifiziert¹⁰.

Die folgende Auswertung basiert v. a. auf nationalen Leitfäden für die HP 14-Einstufung und auf der CEN/AFNOR-Umfrage. Informationen aus den ausgewerteten nationalen Leitfäden und CEN (2020, 2021a) stimmen nicht in allen Fällen überein. In solchen Fällen wurden Informationen aus den nationalen Leitfäden verwendet. In einigen Fällen decken sich die Angaben im Hauptteil und Annex („Raw results“) von CEN (2021a) nicht. In diesen Fällen wurde auf die Informationen aus dem Annex zurückgegriffen. Im Rahmen des vorliegenden Projekts wurde nicht ausgewertet, ob die identifizierten nationalen Leitfäden rechtsverbindlich sind.

Informationen zur HP 14-Einstufung wurden für Belgien (Flandern), Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Großbritannien, Italien, Österreich, Portugal, Schweden, Serbien, die Slowakei, Spanien und Tschechien gefunden. Die Berechnungsmethode zur HP 14-Einstufung wird in fast allen diesen Staaten eingesetzt; die einzige Ausnahme ist die Slowakei¹¹. Biotests (ökotoxikologische Tests) werden in 11 der 14 Staaten verwendet (siehe Tabelle 1). Nationale Leitfäden zur HP 14-Einstufung liegen in 8 der o. g. Staaten vor, die aktuellen Versionen dieser Leitfäden wurden in den meisten Fällen innerhalb der letzten Jahre veröffentlicht. In Belgien und Dänemark sind nationale Leitfäden in Vorbereitung (CEN 2021a).

⁹ Die Recherche wurde Ende 2021/Anfang 2022 durchgeführt.

¹⁰ Die von Sander et al. (2008) und Planchon et al. (2015) genannten Leitfäden liegen inzwischen weitgehend in aktualisierter Form vor.

¹¹ In der Slowakei wird laut CEN (2021a) die HP 14-Einstufung ausschließlich anhand von Biotests durchgeführt. Eine Begründung für diese Vorgehensweise wird in CEN (2021a) nicht gegeben.

Tabelle 1: Übersicht über die Verwendung von Berechnungsmethode und Biotests bei der HP 14-Einstufung in verschiedenen europäischen (v. a. EU-) Staaten und das Vorliegen nationaler Leitfäden.

Staat	Berechnungsmethode ^a	Ökotoxikologische Testung ^a	Nationaler Leitfaden
Belgien (Flandern)	Ja ^b	Ja ^b	In Vorbereitung ^b
Dänemark	Ja ^b	Nein ^b	In Vorbereitung ^b
Deutschland	Ja	Ja	UBA (2013)
Finnland	Ja ^b	Ja ^b	Ministry of the Environment (2019) ^{b, c}
Frankreich	Ja	Ja	INERIS (2016)
Großbritannien	Ja ^b	Nicht empfohlen, sehr selten eingesetzt ^f	Natural Resources Wales, SEPA, Environment Agency (2021)
Italien	Ja ^b	Ja ^b	SNPA (2020)
Österreich	Ja ^b	Ja ^b	BMNT (2018)
Portugal	Ja ^b	Nein ^d	APA (2020)
Schweden	Ja ^b	Ja ^b	Nein ^b
Serbien ^e	Ja ^b	Nein ^b	Umsetzung von CEN/TR 16110 ^b
Slowakei	Nein ^b	Ja ^b	Nein ^b
Spanien	Ja	Ja	MITECO (2021)
Tschechien	Ja ^b	Ja ^b	Nein ^b

^a Wenn keine andere Quelle genannt ist, stammen die Informationen aus dem in Spalte 4 genannten nationalen Leitfaden; ^b laut CEN (2021a); CEN/TR 16110 (CEN 2010); ^c Leitfaden vermutlich in finnischer Sprache (mittels Internet-Recherche nicht gefunden); ^d laut Bandarra et al. (2021); ^e Beitrittskandidat, Teilnahme an CEN/AFNOR-Umfrage; ^f die Berechnungsmethode wird bevorzugt, da die Abfallzusammensetzung meist bekannt sei und Tierversuche sowie die Testung von Mischungen vermieden werden sollen (siehe auch Tabelle 2).

Vorgaben, in welchen Fällen eine HP 14-Einstufung anhand der Berechnungsmethode erfolgen soll und in welchen Fällen Ökotoxizitätstests eingesetzt werden sollen, wurden für 6 Staaten identifiziert (Tabelle 2). In Deutschland, Finnland, Frankreich, Österreich und Spanien werden Ökotoxizitätstests eingesetzt, wenn keine Einstufung mittels Berechnungsmethode möglich ist, weil keine ausreichenden Informationen zur Zusammensetzung des Abfalls vorliegen (UBA 2013, BMNT 2018, CEN 2021a, MITECO 2021). Das ist z. B. der Fall, wenn der Abfall unbekannte organische Substanzen enthält (MITECO 2021). Laut UBA-Handlungsempfehlung sind Ökotoxizitätstests außerdem nötig, wenn Abfallkomponenten gefahrstoffrechtlich nicht eingestuft sind (UBA 2013, Abschnitt 6.1.1). Nach den zwischen Berlin und Brandenburg harmonisierten Vollzugshinweisen zur Zuordnung von Abfällen zu Spiegeleinträgen ist zunächst eine Zuordnung aufgrund von (a) gefahrstoffrechtlicher Einstufung, (b) Vollzugserfahrungen und (c) chemisch-analytischen Untersuchungen vorgesehen. Wenn „weder analytisch noch argumentativ“ eine Zuordnung möglich ist, sind Prüfmethode anzuwenden (Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und Klima 2020, Senatsverwaltung für Umwelt, Verkehr und Klimaschutz 2020, S. 4 und 9).

Wenn die vorliegenden Informationen zur Abfallzusammensetzung ausreichend sind, kann in Deutschland, Finnland und Frankreich eine HP 14-Einstufung anhand der Berechnungsmethode allein erfolgen (UBA 2013, CEN 2021a). Es besteht jedoch die Möglichkeit, zusätzlich Ökotoxizitätstests durchzuführen. In Finnland und Österreich können Biotests eingesetzt werden, wenn der Verdacht besteht, dass die aquatische Toxizität der bioverfügbaren Substanzen vom Ergebnis der Berechnungsmethode abweicht (BMNT 2018, CEN 2021a). Im österreichischen Leitfaden wird ausgeführt, dass für Abfälle, die laut Berechnungsmethode gewässergefährdend¹² sind, Biotests durchgeführt werden können, um die fehlende Bioverfügbarkeit der Schadstoffe zu belegen und den Abfall als nicht gewässergefährdend einzustufen. Wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode als nicht gewässergefährdend eingestuft wurde, sind keine Ökotoxizitätstests nötig (BMNT 2018).

In Belgien können Abfälle laut CEN/AFNOR-Umfrage anhand der Berechnungsmethode, Ökotoxizitätstests oder einer auf der Bioverfügbarkeit basierenden Methode¹³ klassifiziert werden. Angaben, wann welche Methode eingesetzt werden soll, fehlen jedoch. In Großbritannien erfolgt die HP 14-Einstufung aufgrund von Vorbehalten gegenüber Biotests (siehe Tabelle 2 und Natural Resources Wales, SEPA, Environment Agency 2021, S. C50) i. Allg. mittels Berechnungsmethode.

¹² Hier wird im österreichischen Leitfaden nicht zwischen laut Berechnungsmethode als (a) akut gewässergefährdend und (b) chronisch gewässergefährdend eingestuften Abfällen differenziert (BMNT 2018, S. 8-10).

¹³ Nähere Informationen zu dieser Methode, die zum Zeitpunkt der CEN/AFNOR-Umfrage (CEN 2021a) noch in Diskussion war (Tabelle 2), wurden nicht gefunden.

Tabelle 2: Verwendung von Berechnungsmethode und Ökotoxizitätstests bei der HP 14-Einstufung für die Staaten, in denen ökotoxikologische Testverfahren eingesetzt werden.

Staat	Verwendung von Berechnungsmethode und Ökotoxizitätstests ^a	Anmerkung	Referenz
Belgien (Flandern)	Drei alternative Optionen: Einstufung anhand von (1) Berechnungsmethode, (2) Ökotoxizitätstests, (3) einer auf der Bioverfügbarkeit basierenden Methode	Methode (3) ist noch in Diskussion; k. A., wann welche Methode eingesetzt werden soll.	CEN (2021a)
Deutschland	Wenn ausreichende Daten zur Abfallzusammensetzung vorliegen, kann die HP 14-Einstufung mittels Berechnungsmethode erfolgen, und es müssen keine ökotoxikologischen Tests durchgeführt werden. Liegen keine ausreichenden Informationen zur Abfallzusammensetzung vor oder sind Abfallkomponenten gefahrstoffrechtlich nicht eingestuft, ist eine Klassifikation mittels ökotoxikologischer Tests nötig.	Siehe Ablaufschema in UBA (2013), basierend auf Pandard & Römbke (2013)	UBA (2013)
Finnland	Die HP 14-Einstufung kann anhand der Berechnungsmethode allein erfolgen. Ökotoxizitätstests können durchgeführt werden, wenn (1) eine HP 14-Einstufung anhand der Berechnungsmethode nicht möglich ist, weil die chemische Zusammensetzung des Abfalls nicht ausreichend bekannt ist oder (2) der Verdacht besteht, dass die aquatische Toxizität der bioverfügbaren Substanzen vom Ergebnis der Berechnungsmethode abweicht.	–	CEN (2021a)
Frankreich	Die HP 14-Einstufung kann anhand der Berechnungsmethode allein erfolgen, wenn die Abfallzusammensetzung ausreichend bekannt ist: der Anteil chemisch-analytisch bestimmbarer organischer und anorganischer Substanzen muss bei mindestens 90% liegen (laut XP X30-489, AFNOR 2013). Wenn das nicht der Fall ist: Einstufung anhand von Ökotoxizitätstests. Eine HP 14-Einstufung anhand von Ökotoxizitätstests allein (ohne Durchführung der Berechnungsmethode) ist auch möglich.	Keine entsprechenden Vorgaben im nationalen Leitfaden (INERIS 2016)	CEN (2021a)
Großbritannien	Die HP 14-Einstufung erfolgt i. Allg. anhand der Berechnungsmethode. Es wird davon ausgegangen, dass die in Abfällen enthaltenen Chemikalien in fast allen Fällen bekannt sind. Von ökotoxikologischen Tests wird abgeraten, da (a) Tests mit Wirbeltieren (Fischen), d. h. Tierversuche, vermieden werden sollen und (b) die Testung von Mischungen schwierig ist und vermieden werden soll. Die ökotoxikologische Testung von ‚water accommodation fractions‘ ist nicht ausreichend, um Abfall (d. h. eine Mischung) zu bewerten. Informationen zur Abbaubarkeit (<i>rapid degradability</i>) und zum Bioakkumulationspotenzial können auch nötig sein.	Im Ablaufschema im nationalen Leitfaden sind aquatische Ökotoxizitätstests erwähnt, aber es wird von diesen Tests abgeraten (siehe links).	Natural Resources Wales, SEPA, Environment Agency (2021)

Staat	Verwendung von Berechnungsmethode und Ökotoxizitätstests ^a	Anmerkung	Referenz
Italien	k.A.	Keine über 2000/532/EG, 2008/98/EG und 2017/997 hinausgehenden Handlungsempfehlungen.	ISPRA (2018), SNPA (2020), CEN (2021a)
Österreich	(1) Durchführung von Ökotoxizitätstests, wenn eine HP 14-Einstufung mit der Berechnungsmethode (a) unter Verwendung bereits vorliegender Daten zu den Inhaltsstoffen und (b) nach umfassender chemisch-analytischer Untersuchung des Abfalls nicht möglich ist, z. B. weil der Abfall unbekannte organische Substanzen enthält. (2) Wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode als gefährlich eingestuft wurde, können Ökotoxizitätstests durchgeführt werden, um die fehlende Bioverfügbarkeit der Schadstoffe zu belegen und den Abfall als nicht gewässergefährdend einzustufen. Wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode als nicht gewässergefährdend eingestuft wurde, sind keine Ökotoxizitätstests nötig.	Siehe Ablaufschema in BMNT (2018)	BMNT (2018), CEN (2021a)
Schweden	k.A.	Verweis auf Direktive 2008/98/EC (Annex III) und die darin zitierten Dokumente. Keine darüberhinausgehenden Handlungsempfehlungen.	CEN (2021a)
Spanien	Durchführung von Ökotoxizitätstests, wenn eine HP 14-Einstufung anhand der Berechnungsmethode nicht möglich ist, z. B. weil keine ausreichenden Daten zur Abfallzusammensetzung vorliegen und es nicht möglich ist, diese mittels chemischer Analytik zu generieren.	–	MITECO (2021)

^a In Fällen, in denen die Informationen aus dem ausgewerteten nationalen Leitfaden und CEN (2021a) nicht übereinstimmen, basiert die Tabelle auf dem nationalen Leitfaden. Für die Slowakei und Tschechien enthält CEN (2021a) keine entsprechenden Informationen.

3.1.1.1 Probenahme, Probenvorbereitung, Herstellung von Eluaten

In der UBA-Handlungsempfehlung wird darauf eingegangen, dass die Gewinnung repräsentativer Abfallproben eine anspruchsvolle Aufgabe ist. Für heterogene Abfallgemische wird davon ausgegangen, dass lediglich die Gewinnung von abfallcharakterisierenden Proben möglich ist. Diese Proben genügen den Ansprüchen an Repräsentativität (Präzision, Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit) ggf. nicht vollumfänglich (siehe auch PN 98, LAGA 2019). Für die Gewinnung abfallcharakterisierender Proben zur HP 14-Einstufung wurde eine Empfehlung erarbeitet, die den Rahmenbedingungen der biologischen Untersuchungen entgegenkommt, und anhand derer systematische Fehler vermieden werden. Proben sollten nach Möglichkeit aus Stoffströmen an zufälligen Zeitpunkten über den gesamten Querschnitt des fallenden Stromes oder wie in Abschnitt 2.1 spezifiziert aus einem Haufwerks gewonnen werden (UBA 2013).

Die übrigen ausgewerteten nationalen Leitfäden enthalten keine Vorgaben zur Probenahme. Dies liegt vermutlich daran, dass sich der Rahmen der vorliegenden Richtlinien und Empfehlungen in den vergangenen 10 Jahren weiter ausdifferenziert hat. So verweist der zwischenzeitlich veröffentlichte technische Leitfaden zur Abfalleinstufung (EU 2018) auf die Norm EN 14899 (CEN 2005) sowie eine Reihe von technischen Berichten (CEN/TR 15310-1 bis -5, CEN 2006a-e). Dabei handelt es sich im Einzelnen um:

- ▶ EN 14899 (CEN 2005) und CEN/TR 15310-5 (CEN 2006e): Erstellung eines Probenahmeplans
- ▶ CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a): Kriterien für die Probenahme unter verschiedenen Bedingungen, Probenahmetechniken
- ▶ CEN/TR 15310-2 (CEN 2006b): Probenahmemethoden und -verfahren für verschiedene Abfallarten
- ▶ CEN/TR 15310-3 (CEN 2006c): Teilprobenahme im Gelände
- ▶ CEN/TR 15310-4 (CEN 2006d): Verpackung, Lagerung, Konservierung und Transport von Proben

Die Entwicklung auf europäischer Ebene (CEN Technical Committee 292) folgt dem Ansatz von Pierre Gy (Gy 1979, 1992, 2004a,b). Im technischen Leitfaden (EU 2018) wird erwähnt, dass andere Verfahren akzeptabel sind, wenn sie zu ähnlich zuverlässigen Ergebnissen führen. LAGA PN 98 ist in einer Fußnote genannt. Für ökotoxikologische Untersuchungen ist außerdem EN 14735 (CEN 2021b)¹⁴ zur Herstellung von Abfallproben für ökotoxikologische Untersuchungen zu beachten.

Die Vorgaben für die Partikelgröße des zu eluierenden oder in terrestrischen Ökotoxizitätstests einzusetzenden Abfalls reichen von <1 mm bis <10 mm, wobei in den meisten Staaten mit <4 mm laut EN 12457-2 (CEN 2002a)¹⁵ gearbeitet wird (Tabelle 3).

¹⁴ Deutsche Fassung: DIN EN 14735 (2022).

¹⁵ Deutsche Fassung: DIN EN 12457-2 (2003).

Tabelle 3: Vorgaben zur Partikelgröße des zu eluierenden oder in terrestrischen Ökotoxizitätstests einzusetzenden Abfalls.

Partikelgröße	Staat	Anmerkung ^a	Referenz
<1 mm	Italien	–	CEN (2021a)
	Schweden	–	CEN (2021a)
<2 mm	Deutschland	Für mikrobielle Tests im Boden	UBA (2013), CEN (2021a)
<4 mm	Belgien (Flandern)	EN 12457-2	CEN (2021a)
	Deutschland	EN 12457-2	UBA (2013), CEN (2021a)
	Finnland	EN 12457-2	CEN (2021a)
	Frankreich	EN 12457-2	INERIS (2016), CEN (2021a)
	Slowakei	EN 12457-2	CEN (2021a)
	Spanien	EN 12457-2, EN 12457-4	MITECO (2021)
<10 mm	Österreich	EN 12457-4	CEN (2021a)
	Tschechien	EN 12457-4	CEN (2021a)

^a EN 12457-2 (CEN 2002a), Deutsche Fassung: DIN EN 12457-2 (2003); EN 12457-4 (CEN 2002b), Deutsche Fassung: DIN EN 12457-4 (2002b).

Zur Herstellung von Eluaten für aquatische Ökotoxizitätstests werden in den meisten Staaten einstufige Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis (L/S) von 10 L/kg und einer Dauer von 24 h eingesetzt (siehe Tabelle 4).

In Schweden wird laut CEN/AFNOR-Umfrage ein Elutionsverfahren mit einem deutlich höheren Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis (bis zu 1.000.000 L/kg), einer längeren Dauer (28 Tage) und einem pH von 5,5 eingesetzt. Dieses Verfahren wurde auch verwendet, um Eluate für chemisch-analytische Untersuchungen herzustellen (Stiernström et al. 2015 zitiert in Wahlström et al. 2016).

In der UBA-Handlungsempfehlung (UBA 2013) ist neben dem einstufigen Schüttelverfahren (DIN EN 12457-2) die Säulenelution (z. B. DIN 19528, 2023a) als Option erwähnt. Allerdings wird angemerkt, dass Erfahrungen mit ökotoxikologischen Tests mit Säuleneluaten fehlen (Abschnitt 2.4).

Für Italien und Spanien wird in Hinblick auf die Eluatherstellung auf das OECD ‚Guidance document on aqueous-phase aquatic toxicity testing of difficult test chemicals‘ (OECD 2019) verwiesen: In Italien werden ‚water-accommodated fractions‘ schwer löslicher, metallischer Abfallbestandteile hergestellt (100 mg/L, d. h. 10.000 L/kg; Pivato et al. 2020, CEN 2021a). Im spanischen Leitfaden (MITECO 2021; Abschnitt 15.2.1.1) wird auf den Abschnitt ‚Multi-component substances‘ des o. g. OECD Guidance documents verwiesen, es ist aber nicht klar, was das praktisch in Hinblick auf die Elution bedeutet.

Tabelle 4: Vorgaben zu den Auslaugungsverfahren zur Herstellung von Eluaten für aquatische Ökotoxizitätstests

Methode	Staat	Anmerkung	Referenz
Einstufiges Schüttelverfahren, L/S = 10 L/kg, Dauer: 24 h	Belgien (Flandern)	EN 12457-2, EN 14735	CEN (2021a)
	Deutschland	EN 12457-2, EN 14735. In Gentoxizitätstests kann ein Festphasenextrakt des wässrigen Eluates eingesetzt werden.	UBA (2013), CEN (2021a)
	Finnland	EN 12457-2, EN 14735	CEN (2021a)
	Frankreich	EN 12457-2, EN 14735 Eluate werden filtriert: (a) 100 µm; (b) zusätzlich 0,45 µm für alle Testorganismen außer <i>Daphnia magna</i>	INERIS (2016), CEN (2021a)
	Österreich	ÖNORM S 2117 (basiert auf EN 14735, aber Partikelgröße <10 mm laut EN 12457-4) ^a	BMNT (2018), CEN (2021a)
	Schweden	EN 12457-2	CEN (2021a)
	Slowakei	EN 12457-2, EN 14735	CEN (2021a)
	Spanien	EN 12457-2, EN 12457-4	MITECO (2021)
	Tschechien	EN 12457-4	CEN (2021a)
L/S = 1.000.000 L/kg (z.T. niedriger), Dauer: 28 Tage, pH 5,5 (z.T. niedriger)	Schweden	Methode noch in der Entwicklung, basierend auf CLP-Verordnung	CEN (2021a)
Säulenelution	Deutschland	z. B. DIN 19528 (2023a) Optional, bisher keine Erfahrung zu Biotests mit Säuleneluaten und Grenzkonzentrationen für die Einstufung	UBA (2013)
OECD Guidance document 23 (OECD 2019)	Italien	Herstellung von ‚water-accommodated fractions‘ für schwer lösliche, metallische Bestandteile	CEN (2021a)
	Spanien	Verweis auf Abschnitt 7.9 ‚Multi-component substances‘ ^b	MITECO (2021)

L/S: Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis. ^a Austrian Standards International (2018); ^b zusätzlich zum einstufigen Schüttelverfahren (EN 12457-2 und -4).

Während in Belgien (Flandern) und Italien der pH-Wert des Eluats generell nicht eingestellt wird (CEN 2021a), erfolgt in den meisten anderen Staaten eine Einstellung des pH-Werts, wenn dieser zu stark von dem vom Testorganismus tolerierten Bereich abweicht. In Deutschland, Finnland, Schweden und der Slowakei wird laut DIN EN 14735 zunächst ein Test ohne pH-Einstellung durchgeführt. Wenn toxische Effekten in den Verdünnungen auftreten, deren pH außerhalb des vom Testorganismus tolerierten Bereichs liegt, wird ein zweiter Test mit eingestelltem pH zur Identifikation der Ursache der Toxizität durchgeführt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Einstellung des pH-Werts des Eluats oder der Verdünnungen.

pH-Einstellung	Details	Staat	Referenz
Nein	–	Belgien (Flandern)	CEN (2021a)
		Italien	CEN (2021a)
Ja	Einstellung des pH-Werts des Eluats, wenn er <5,5 oder >8,5 ist	Frankreich	INERIS (2016), CEN (2021a)
		Tschechien	CEN (2021a)
	Laut EN 14735: erster Test ohne pH-Einstellung. Bei toxischen Effekten in den Verdünnungen, deren pH außerhalb des vom Testorganismus tolerierten Bereichs liegt, zweiter Test mit eingestelltem pH zur Identifikation der Ursache der Toxizität	Deutschland	UBA (2013)
		Finnland	CEN (2021a)
		Schweden	CEN (2021a)
		Slowakei	CEN (2021a)
<u>Leuchtbakterien- und Daphnientest:</u> Einstellung des pH erlaubt, wenn pH des Eluats unter 6,0 oder über 8,5 (Leuchtbakterien) bzw. 9,0 (Daphnien) <u>Algentest:</u> Einstellung des pH der wässrigen Probe auf 8,1 notwendig, wenn pH des Eluats unter 6,0 oder über 8,5	Österreich	BMNT (2018)	
In Diskussion	–	Großbritannien	CEN (2021a)

3.1.1.2 Ökotoxizitätstests

Der folgende Abschnitt gibt einen Überblick über die aquatischen und terrestrischen Ökotoxizitätstests und die Grenzkonzentrationen für die HP 14-Einstufung in den verschiedenen Staaten. Für Frankreich ist in (CEN 2021a) neben der aktuellen (INERIS 2016) eine alternative Testbatterie aufgeführt, die wie die deutsche Testbatterie (UBA 2013) auf Pandard & Römbke (2013) basiert und zurzeit implementiert wird. Für Tschechien enthält CEN (2021a) Informationen zu zwei verschiedenen Testbatterien mit unterschiedlichen Grenzkonzentrationen; der Besitzer des Abfalls kann entscheiden, welche der beiden Testbatterien verwendet wird. Laut Information von M. Svobodová (Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture, Brno, Tschechien, pers. Mitt., 11.03.2022) kann nach einem Übergangszeitraum nur noch eine der beiden Testbatterien eingesetzt werden und die Grenzkonzentrationen wurden modifiziert¹⁶.

In Belgien (Flandern), Deutschland, Finnland, Frankreich, Italien, Österreich, Schweden, der Slowakei, Spanien und Tschechien werden aquatische Toxizitätstests zur HP 14-Einstufung von Abfällen eingesetzt (UBA 2013, INERIS 2016, BMNT 2018, CEN 2021a, MITECO 2021, M. Svobodová, pers. Mitt., 11.03.2022). Dabei werden in den meisten dieser Staaten ausschließlich Kurzzeittests durchgeführt (Tabelle 6). Der Wachstumshemmtest mit Algen¹⁷ und der akute

¹⁶ Die folgenden Tabellen enthalten Informationen zur der Testbatterie und den Grenzkonzentrationen, die zum Zeitpunkt der CEN/AFNOR-Umfrage (CEN 2021b) in Tschechien aktuell waren.

¹⁷ Aufgrund der kurzen Generationszeit der Algen umfasst der Algentest (Testdauer: 72 Stunden) mehrere Generationen und ist daher als chronischer Test einzustufen (EC 2018, ECHA 2023a). Aus diesem Test können auch chronische Effektkonzentrationen (NOEC, EC₁₀, EC₂₀) abgeleitet werden. Für die HP 14-Einstufung wird in den o. g. Staaten jedoch nur die EC₅₀ herangezogen (siehe Tabelle 9).

Daphnientest sind in allen genannten Staaten Teil der Testbatterie, der Leuchtbakterienhemmtest wird in 7 von 10 Staaten eingesetzt. Akute Fischtests werden hingegen nur in Italien und in der Slowakei verwendet.

Chronische Toxizitätstests mit aquatischen Organismen werden nur in zwei Staaten eingesetzt: ein chronischer Toxizitätstest mit *Ceriodaphnia dubia* in Frankreich (aktuelle Testbatterie) und ein Reproduktionstest mit *Daphnia magna* in Spanien (Tabelle 6). In Spanien wird die chronische Toxizität für aquatische Organismen nur dann bewertet, wenn die akuten aquatischen Toxizitätstests negativ sind, d. h. keine Toxizität anzeigen (MITECO 2021).

Terrestrische Ökotoxizitätstests werden deutlich seltener zur HP 14-Klassifizierung eingesetzt als aquatische. Insgesamt werden sie nur in 6 der 10 o. g. Staaten verwendet (Tabelle 7). In Deutschland und Frankreich werden Tests mit terrestrischen Organismen durchgeführt, wenn alle Tests mit aquatischen Organismen negativ sind (UBA 2013, CEN 2021a). Pflanzentests werden in Deutschland, Frankreich, der Slowakei, Spanien und Tschechien durchgeführt. Tests mit dem terrestrischen Mikroorganismus *Arthrobacter globiformis* werden in Deutschland, Frankreich (alternative Testbatterie) und Spanien eingesetzt. Der Vermeidungstest mit Regenwürmern ist Teil der deutschen Testbatterie und soll in Frankreich den akuten Regenwurmtest ersetzen (UBA 2013, INERIS 2016, CEN 2021a, MITECO 2021, M. Svobodová, pers. Mitt., 11.03.2022).

Tabelle 6: Eingesetzte Toxizitätstests mit aquatischen Organismen

Ökotoxizitätstest ^a	Belgien (Flandern)	Deutschland	Finnland	Frankreich		Italien	Österreich	Schweden	Slowakei	Spanien	Tschechien
				Aktuelle Testbatterie	Alternative Testbatterie ^b						
Hemmwirkung auf Lichtemission von <i>Aliivibrio fischeri</i> (ehem. <i>Vibrio fischeri</i>)	X	X	X	X	X	–	X	X	–	–	X
Wachstumshemmtest mit Grünalgen	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Hemmung der Mobilität von <i>Daphnia magna</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Akuter Fischtoxizitätstest	–	–	–	–	–	X	–	– ^c	X	–	–
Chronischer Toxizitätstest mit <i>Ceriodaphnia dubia</i>	–	–	–	X	–	–	–	–	–	–	–
<i>Daphnia magna</i> Reproduktionstest	–	–	–	–	–	–	–	–	–	X	–
Referenz	CEN (2021a)	UBA (2013)	CEN (2021a)	INERIS (2016), CEN (2021a)	CEN (2021a)	CEN (2021a)	BMNT (2018), CEN (2021a)	CEN (2021a)	CEN (2021a)	MITECO (2021)	M. Svobodová, pers. Mitt., 11.03.2022

^a Wenn nationale Leitfäden vorliegen, basieren die Daten i.d.R. auf diesen. Für Informationen aus CEN (2021a): in einigen Fällen decken sich die Angaben im Hauptteil und Annex („raw results“) von CEN (2021a) nicht. In diesen Fällen wurden die Informationen aus dem Annex verwendet. ^b Laufende Arbeiten zur Implementierung der von Pandard & Römbke (2013) vorgeschlagenen Testbatterie. ^c In Schweden wird laut Hauptteil von CEN (2021a) der akute Fischtest eingesetzt, laut Annex aber ein Test mit dem Nematoden *Caenorhabditis elegans*. Weitere Information zu dem Test mit *C. elegans* fehlen. Es ist z. B. nicht klar, ob es sich um einen akuten oder chronischen Test handelt und ob der Test in Wasser oder Boden durchgeführt wird. Daher wurde dieser Test nicht mit in die Tabelle aufgenommen.

Tabelle 7: Eingesetzte Toxizitätstests mit terrestrischen Organismen

Ökotoxizitätstest ^a	Belgien (Flandern)	Deutschland	Finnland	Frankreich		Italien	Österreich	Schweden ^c	Slowakei	Spanien	Tschechien
				Aktuelle Testbatterie	Alternative Testbatterie ^b						
Dehydrogenase-Aktivität von <i>Arthrobacter globiformis</i>	–	X	–	–	X	–	–	–	–	X	–
Wurzelwachstums von <i>Lactuca sativa</i> in Boden	–	–	–	–	–	–	–	–		–	X
Saataufbau und Wachstum höherer Pflanzen	–	X	–	X	X	–	–	–	(X) ^c	X	–
Akuter Test mit Regenwürmern	–	–	–	X	–	–	–	–	–	–	–
Vermeidungstest mit Regenwürmern	–	X	–	–	X	–	–	–	–	–	–
Referenz	CEN (2021a)	UBA (2013)	CEN (2021a)	INERIS (2016), CEN (2021a)	CEN (2021a)	CEN (2021a)	BMNT (2018), CEN (2021a)	CEN (2021a)	CEN (2021a)	MITECO (2021)	M. Svobodová, pers. Mitt., 11.03.2022

^a Wenn nationale Leitfäden vorliegen, basieren die Daten auf diesen. Für Informationen aus CEN (2021a): in einigen Fällen decken sich die Angaben im Hauptteil und Annex („raw results“) von CEN (2021a) nicht. In diesen Fällen wurden die Informationen aus dem Annex verwendet. ^b Laufende Arbeiten zur Implementierung der von Pandard & Römbke (2013) vorgeschlagenen Testbatterie.

^c Laut CEN (2021a) wird ein terrestrischer Pflanzentest durchgeführt. Nähere Angaben zu diesem Test fehlen jedoch.

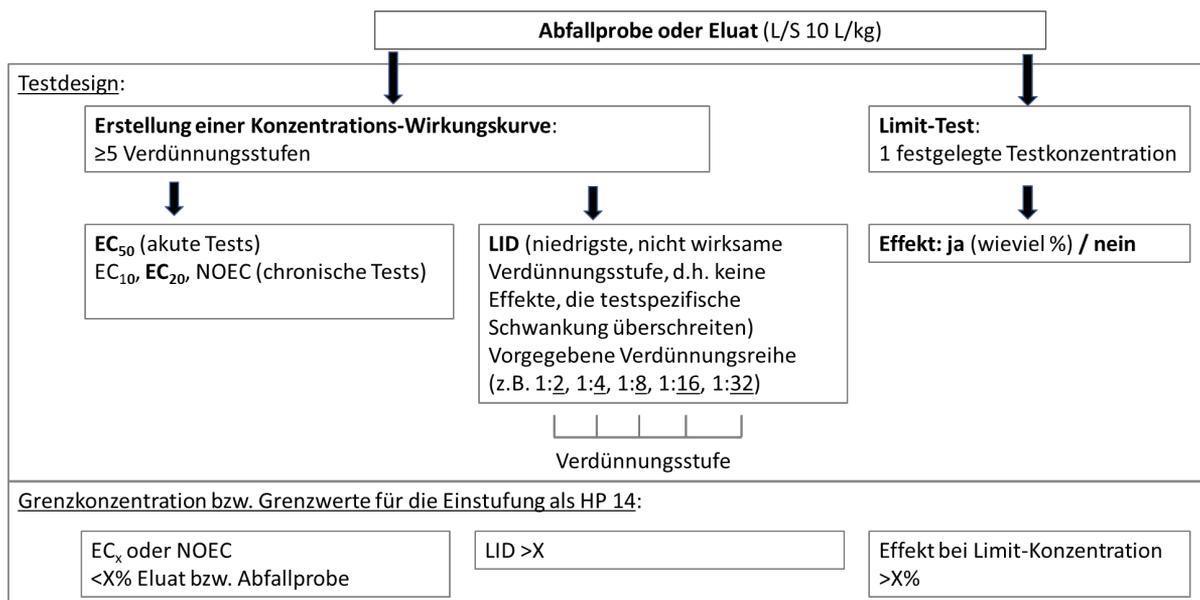
3.1.1.3 Testdesign und Grenzkonzentrationen

Die in den verschiedenen Staaten eingesetzten Ökotoxizitätstests zur HP 14-Einstufung unterscheiden sich in ihrem Testdesign (siehe Überblick in Abbildung 3 sowie Tabelle 8). In den meisten Staaten werden vollständige Konzentrations-Wirkungskurven mit mindestens 5 Verdünnungsstufen des Abfalls bzw. Abfalleluats erstellt. Aus akuten Ökotoxizitätstests wird eine EC_{50} abgeleitet (die Konzentration, die zu einem 50%igem Effekt auf den betreffenden Testendpunkt führt), aus chronischen Tests eine EC_{20} ¹⁸ oder eine NOEC (die höchste Testkonzentration, bei der keine signifikanten Effekte auf die Testendpunkte festgestellt werden; siehe Tabelle 9).

In einigen Staaten werden die Ökotoxizitätstests mit einer vorgegebenen Verdünnungsreihe durchgeführt und es wird die sog. niedrigste, nicht wirksame Verdünnungsstufe (*lowest ineffective dilution, LID*) ermittelt¹⁹.

In zwei Staaten werden Limit-Tests mit nur einer festgelegten Testkonzentration²⁰ durchgeführt (zum Teil mit der Option, einen EC_x -Test durchzuführen, wenn im Limit-Test ein Effekt auftritt; siehe Tabelle 8).

Abbildung 3: Überblick über verschiedene Testdesigns in Ökotoxizitätstests zur HP 14-Einstufung



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

¹⁸ In chronischen Ökotoxizitätstests wird i. Allg. die EC_{10} oder die NOEC ermittelt. Als Grenzkonzentration für chronische aquatische Toxizitätstests ist in Frankreich jedoch eine $EC_{20} < 1\%$ Eluatanteil festgelegt (siehe auch Tabelle 9).

¹⁹ Die LID ist die niedrigste Probenverdünnungsstufe, die nicht zu Effekten führt, die die testspezifische Schwankung überschreiten (siehe z.B. DIN EN ISO 8692, 2012b, Abschnitt 3.3). Dabei wird der Umfang der testspezifischen Schwankungen für den betreffenden Test in der Regel in Voruntersuchungen ermittelt und dann in der Testrichtlinie festgelegt. So ist z.B. im Algenwachstumshemmtest nach DIN EN ISO 8692 die LID die niedrigste Verdünnungsstufe, bei der keine oder eine weniger als 5%ige Hemmung des Algenwachstums festgestellt wird.

²⁰ In Hinblick auf die Durchführung und v. a. die Auswertung unterscheiden sich diese Limit-Tests von Limit-Tests, die für Umweltrisikoausschätzungen für chemischen Substanzen durchgeführt werden. Letztere dienen dazu, die Abwesenheit ökotoxischer Effekte zu belegen (siehe Abschnitt 5.6.2). Dazu wird eine statistische Auswertung der Testergebnisse durchgeführt. Wenn in einem Limit-Test kein statistisch signifikanter Effekt der betreffenden Substanz auf den Testendpunkt bzw. die Testendpunkte festgestellt wird, kann geschlossen werden, dass die betreffende Substanz für den Testorganismus nicht akut bzw. nicht chronisch toxisch ist. In Limit-Tests mit Abfällen bzw. Abfalleluaten wird der Effekt bei der eingesetzten Konzentration mit einem Grenzwert verglichen, es wird keine statistische Auswertung durchgeführt (siehe Abbildung 3).

Für akute aquatische Ökotoxizitätstests sind in etlichen Staaten Grenzkonzentrationen oder Grenzwerte festgelegt, ab denen ein getesteter Abfall als ökotoxisch eingestuft wird. Diese unterscheiden sich allerdings zum Teil deutlich (vgl. Tabelle 9):

In den meisten Staaten erfolgt eine HP 14-Einstufung, wenn die EC_{50} aus einem aquatischen Kurzzeittest $<$ oder \leq einem Eluatanteil von 10% im Testmedium ist oder wenn die LID >8 (d. h. $>12,5\%$ Eluatanteil) ist.

In Tschechien werden Limit-Tests mit 10% Eluat (100 mL Eluat/L Testmedium) durchgeführt. Ein Abfall wird als ökotoxisch klassifiziert, wenn im Limit-Test eine mindestens 50%ige Hemmung auftritt. Diese Grenzkonzentration entspricht der o. g. $EC_{50} < 10\%$ Eluatanteil. Durch die Verwendung eines Limit-Tests und das dadurch bedingte Fehlen einer Konzentrations-Wirkungskurve ist die Unsicherheit bei der HP 14-Einstufung allerdings höher als bei einer Einstufung auf der Grundlage eines Tests mit mindestens 5 Verdünnungsstufen des Abfalleluats²¹.

In Österreich und Spanien sind die Grenzkonzentrationen für die HP 14-Einstufung deutlich niedriger. Im Folgenden wird die Vorgehensweise in diesen beiden Ländern zunächst beschrieben und anschließend diskutiert.

Nach dem österreichischen Leitfaden (BMNT 2018) wird im Limit-Test eine sehr niedrige Eluatkonzentration eingesetzt. Dazu wird das mit einem L/S-Verhältnis von 10 hergestellte Abfalleluat (vgl. Abschnitt 3.1.1.1) um den Faktor 1000 verdünnt. Laut BMNT (2018) wird die Elution als 10fache Verdünnung des Abfalls betrachtet, so dass die Gesamtverdünnung bezogen auf die feste Abfallprobe bei 1:10.000 liegt. Die resultierende Eluatverdünnung (0,1% Eluatanteil) enthält daher laut BMNT (2018) eine Konzentration von 100 mg der festen Abfallprobe pro L Testmedium. Mit dieser Eluatverdünnung wird ein Limit-Test durchgeführt. Eine HP 14-Einstufung erfolgt, wenn in diesem Test ein Effekt von mindestens 10, 20 oder 25% festgestellt wird (je nach Testspezies bzw. Testrichtlinie, BMNT 2018, vgl. Tabelle 9). Wenn im Limit-Test ein Effekt auftritt und die Option genutzt wird, anschließend einen EC_x -Test durchzuführen (siehe Tabelle 8), wird ein Abfall nur dann als ökotoxisch klassifiziert, wenn die EC_{50} bei $\leq 0,1\%$ Eluatanteil bzw. ≤ 100 mg der festen Abfallprobe pro L Testmedium liegt. Die im Limit-Test eingesetzte Konzentration und die Grenzkonzentration orientieren sich laut BMNT (2018) an den in der CLP-Verordnung genannten Kriterien für die Einstufung von Stoffen als gewässergefährdend (EG 2021, Abschnitt 4.1.2.6, Tabelle 4.1.0, Punkt b, iii): chemische Substanzen, deren EC_{50} - und LC_{50} -Werte²² über 100 mg/L liegen, werden nicht als gewässergefährdend eingestuft.

In Spanien erfolgt eine HP 14-Einstufung (Kategorie: akut aquatisch toxisch) nach dem technischen Leitfaden (MITECO 2021) nur, wenn mindestens eine $EC_{50} \leq 1$ mg Abfallfrischgewicht pro L Testmedium ist (siehe Tabelle 9). Auch diese Grenzkonzentration wurde aus der CLP-Verordnung übernommen. Dabei bezieht sich MITECO (2021) auf einen Grenzwert der CLP-Verordnung für die Einstufung von Gemischen anhand akuter aquatischer Toxizitätsdaten (Kategorie akut 1, vgl. EG 2021, Abschnitt 4.1.3.3.3). Wenn sowohl akute als auch chronische Ökotoxizitätstests durchgeführt werden, sind Abfälle nach MITECO (2021) nicht als HP 14 einzustufen, wenn alle NOEC-Werte aus chronischen Tests >1 mg Abfallfrischgewicht pro L Testmedium und alle EC_{50} -Werte aus akuten Tests >100 mg Abfallfrischgewicht pro L Testmedium liegen. Es wird also mit zwei unterschiedlichen Grenzkonzentrationen für die akute Ökotoxizität gearbeitet (siehe Tabelle 9).

²¹ Siehe dazu auch Fußnote 20 und Abschnitt 5.6.2.

²² Im akuten Fischtest wird eine LC_{50} ermittelt, eine EC_{50} für den Endpunkt Mortalität.

In den rechtlichen Vorgaben für die HP 14-Einstufung von Abfällen wird auf bestimmte Aspekte der CLP-Verordnung (EG 2021) und der REACH-Verordnung (EG 2022) verwiesen: Die Einstufung mittels einer Prüfung betreffend sind das (a) die Verwendung von REACH-Prüfmethoden, (b) die Vermeidung von Tierversuchen und (c) die Berücksichtigung einer fehlenden Bioverfügbarkeit bei der Bewertung (Abschnitt 1.1). Bei der Einstufung mit der Berechnungsmethode sind die Schwellenwerte und die Berücksichtigungsgrenzwerte für die Konzentrationen vom im Abfall enthaltenen chemischen Substanzen, die die Ozonschicht schädigen oder akut bzw. chronisch wassergefährdend sind, mit der CLP-Verordnung harmonisiert (siehe Abschnitte 1.1 und 5.6.6).

Bei der Vorgehensweise laut österreichischem (BMNT 2018) und spanischen Leitfaden (MITECO 2021) werden Grenzwerte, die für chemische Substanzen bzw. Mischungen von chemischen Substanzen definiert wurden, auf den Abfall als Ganzes angewandt. Abfälle gelten jedoch nicht als Stoffe, Gemische oder Erzeugnisse im Sinne der CLP-Verordnung (EG 2021, Artikel 1)²³ und der REACH-Verordnung (EG 2022, Artikel 2)²⁴ (siehe auch EU 2018, S. 10). In Abfällen sind ggf. enthaltene ökotoxische Stoffe im Allgemeinen in eine (nicht ökotoxische) Matrix wie z.B. Boden eingebettet.

Im österreichischen Leitfaden ist die Möglichkeit erwähnt, Biotests für Abfälle durchzuführen, die laut Berechnungsmethode gewässergefährdend sind, um die fehlende Bioverfügbarkeit der Schadstoffe zu belegen (siehe Tabelle 2). Wenn diese Möglichkeit genutzt wird, werden vermutlich die meisten Abfälle durch die Biotests, die mit hohen Verdünnungen des Abfalleluats durchgeführt werden, entlastet werden (siehe dazu auch Abschnitt 5.6.6).

Wie in Abschnitt 3.1.1.2 erwähnt, werden nur in Frankreich und Spanien chronische Toxizitätstests mit aquatischen Organismen zur HP 14-Einstufung durchgeführt. Als Grenzkonzentration wird in Frankreich (aktuelle Testbatterie) eine $EC_{20} < 1\%$ Eluatanteil verwendet (INERIS 2016).

In Spanien werden laut MITECO (2021) Abfälle als HP 14 (Kategorie: chronisch aquatisch toxisch) klassifiziert, wenn die mit dem durchgeführten chronischen aquatischen Test ermittelte $NOEC \leq 1 \text{ mg/L}$ ist²⁵ oder wenn mindestens einer der in den akuten aquatischen Tests ermittelten EC_{50} -Werte $\leq 100 \text{ mg/L}$ beträgt (beides bezogen auf das Frischgewicht des Abfalls pro L Testmedium, vgl. Tabelle 9). Wie oben diskutiert, sind diese Grenzwerte so niedrig, dass Abfälle vermutlich nur in sehr wenigen Fällen als HP 14 eingestuft werden.

In den meisten Ländern, in denen neben aquatischen auch terrestrische Biotests zur HP 14-Einstufung herangezogen werden, sind die Grenzkonzentrationen für beide Kompartimente analog: eine $EC_{50} < \text{oder} \leq 10\%$ Abfallanteil im Testsubstrat, eine $LID > 8$ (Deutschland, Frankreich: aktuelle Testbatterie, Slowakei) oder $> 30\%$ Hemmung im Limit-Test mit 10% Abfallanteil (Tschechien; siehe Tabelle 10). Eine Grenzkonzentration für chronische terrestrische Ökotoxizität wurde nur für Frankreich (aktuelle Testbatterie) identifiziert ($EC_{20} < 1\%$ Abfallanteil, INERIS 2016). In Spanien sind keine Grenzkonzentrationen für terrestrische Tests festgelegt.

In Belgien (Flandern), Deutschland, Frankreich, Österreich, Spanien und Tschechien werden Abfälle als ökotoxisch eingestuft, wenn mindestens ein Biotestergebnis positiv ist (UBA 2013,

²³ „Abfall im Sinne der Richtlinie 2006/12/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 5. April 2006 über Abfälle gilt nicht als Stoff noch Gemisch oder Erzeugnis im Sinne des Artikels 2 dieser Verordnung“ (Verordnung (EG) 1272/2008, EG 2021, Artikel 1, Absatz 3).

²⁴ „Abfall im Sinne der Richtlinie 2006/12/EG des Europäischen Parlaments und des Rates gilt nicht als Stoff, oder Erzeugnis im Sinne des Artikels 3 der vorliegenden Verordnung“ (Verordnung (EG) 1907/2006, EG 2022, Artikel 2, Absatz 2).

²⁵ Dieser Grenzwert basiert laut MITECO (2021) auf dem Grenzwert der CLP-Verordnung für die Einstufung von Gemischen anhand chronischer aquatischer Toxizitätsdaten (vgl. EG 2021, Abschnitt 4.1.3.3.4).

INERIS 2016, BMNT 2018, CEN 2021a, MITECO 2021). Für Finnland, Italien, Schweden und die Slowakei fehlt eine entsprechende Information zur für die HP 14-Einstufung notwendigen Anzahl positiver Tests.

Fazit

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Herangehensweisen bei der HP 14-Einstufung von Abfällen in den verschiedenen europäischen Ländern sehr heterogen sind. Leitfäden zur HP 14-Einstufung liegen nicht in allen europäischen Staaten vor (vgl. auch Beggio et al. 2021, Bishop & Hennebert 2021). Die Unterschiede betreffen die Kriterien für den Einsatz ökotoxikologischer Tests, Vorgaben für die max. Partikelgröße des zu testenden Abfalls, die Elutionsverfahren, die Art der eingesetzten ökotoxikologischen Testverfahren, das Testdesign und die Grenzkonzentrationen für die HP 14-Einstufung. Diese Punkte sollten möglichst auf EU-Ebene harmonisiert werden (siehe auch Grenni et al. 2020), auch in Hinblick auf den grenzüberschreitenden Transport von Abfällen.

Tabelle 8: Testdesign in den Ökotoxizitätstests mit aquatischen und terrestrischen Organismen

Testdesign ^{a, b}	Belgien (Flandern)	Deutschland	Finnland	Frankreich		Italien	Österreich	Slowakei	Spanien	Tschechien
				Aktuelle Testbatterie	Alternative Testbatterie ^c					
EC _x (bzw. NOEC)	–	X	X ^d	X	X	X	X wenn Effekte im Limit-Test ^e	X	X	–
LID	X	–	(X) ^d	(x)	–	–	–	–	–	–
Limit-Test (eingesetzte Konzentration)	–	–	–	–	–	–	X (100 mg/L) ^f	–	–	X (100 mL/l; 100 g dw/kg dw)
Referenz	CEN (2021a)	UBA (2013)	CEN (2021a)	INERIS (2016), CEN (2021a)	CEN (2021a)	CEN (2021a)	BMNT (2018), CEN (2021a)	CEN (2021a)	MITECO (2021)	M. Svobodová, pers. Mitt., 11.03.2022

^a In einigen Fällen decken sich die Angaben im Hauptteil und Annex („raw results“) von CEN (2021a) nicht. In diesen Fällen wurden die Informationen aus dem Annex verwendet. ^b CEN (2021a) enthält keine Informationen zum Testdesign in Schweden. ^c Laufende Arbeiten zur Implementierung der von Pandard & Römbke (2013) vorgeschlagenen Testbatterie. ^d EC_x bevorzugt. LID, falls das Probenvolumen für eine vollständige Verdünnungsserie zur Bestimmung der EC₅₀ nicht ausreicht. ^e Wenn im Limit-Test eine signifikante Wirkung festgestellt wurde, kann die EC₅₀ für den betreffenden Testorganismus ermittelt werden. ^f Verdünnung des gemäß ÖNORM S 2117 hergestellten Eluats um den Faktor 1.000, d. h. die Gesamtverdünnung (bezogen auf die feste Abfallprobe) beträgt laut BMNT (2018) 1:10.000.

Tabelle 9: Grenzkonzentrationen und Grenzwerte für Ökotoxizitätstests mit aquatischen Organismen

	Belgien (Flandern)	Deutsch- land	Finnland	Frankreich		Österreich	Slowakei	Spanien	Tschechien
				Aktuelle Testbatterie	Alternative Testbatterie				
Eluatherstellung	L/S = 10								
Grenzkonzentration ^a oder Grenzwert (% Eluat oder Verdünnungsstufe des Eluats, wenn nicht anders angegeben) ^{b, c}	<u>Akute Toxizität:</u> LID >8	<u>Akute Toxizität:</u> EC ₅₀ ≤10%	<u>Akute Toxizität:</u> EC ₅₀ <10% bzw. LID >8	<u>Akute Toxizität:</u> EC ₅₀ <10%, LID >8 <u>Chronische Toxizität:</u> EC ₂₀ <1%	In Diskussion	<u>Akute Toxizität:</u> <u>Limit-Tests (100 mg/L):</u> <i>A. fischeri</i> : ≥20% Hemmung Grünalgen: ≥20% (ISO 8692, 2012b) bzw. ≥25% (Methode laut Verordnung (EU) 440/2008, Anhang C.3, EG 2019) Hemmung <i>D. magna</i> : ≥10% Immobilisierung <u>ECx-Tests:</u> EC ₅₀ ≤100 mg/L (d. h. 0,1% Eluat)	<u>Akute Toxizität:</u> EC ₅₀ ≤10% ^d	<u>Akute Toxizität:</u> EC ₅₀ ≤1 mg/L ^{*,e} <u>Chronische Toxizität:</u> NOEC ≤1 mg/L ^e oder EC ₅₀ ≤100 mg/L ^e [*] <u>Aber:</u> Ein Abfall wird nicht als HP 14 eingestuft, wenn alle NOEC-Werte >1 mg/L und alle EC ₅₀ -Werte >100 mg/L ^f	<u>Akute Toxizität:</u> ≥50% Hemmung im Limit Test mit 10% Eluat
Referenz	CEN (2021a)	UBA (2013)	CEN (2021a)	INERIS (2016), CEN (2021a)	CEN (2021a)	BMNT (2018), CEN (2021a)	CEN (2021a)	MITECO (2021)	M. Svobodová, pers. Mitt., 11.03.2022

LID: niedrigste, nicht wirksame Verdünnungsstufe (*lowest ineffective dilution*). ^a Die Grenzkonzentration ist die Effektkonzentration, ab der der getestete Abfall als ökotoxisch eingestuft wird. ^b In einigen Fällen decken sich die Angaben im Hauptteil und Annex („raw results“) von CEN (2021a) nicht. In diesen Fällen wurden die Informationen aus dem Annex verwendet. ^c CEN (2021a) enthält keine Informationen zu den Grenzkonzentrationen in Italien und Schweden. ^d *Toxicity units* (TU) ≥10 (TU = 100/EC₅₀ [%]). ^e Für feste Abfälle muss bei der Angabe der Effektkonzentrationen das L/S-Verhältnis von 10 L/kg bei der Elution berücksichtigt werden, d. h. das Testergebnis muss durch 10 geteilt werden. Außerdem muss der Wassergehalt der ursprünglichen Probe berücksichtigt werden (MITECO 2021). ^f Hier wird also mit zwei unterschiedlichen Grenzkonzentrationen für die akute Ökotoxizität gearbeitet (siehe MITECO 2021, S. 128).

Tabelle 10: Grenzkonzentrationen und Grenzwerte für Ökotoxizitätstests mit terrestrischen Organismen^b

	Deutschland	Frankreich		Slowakei	Spanien	Tschechien
		Aktuelle Testbatterie	Alternative Testbatterie			
Grenzkonzentration ^{a, b} (% Abfall im Testsubstrat bzw. Verdünnungsstufe des Abfalls)	EC ₅₀ ≤10%	<u>Akute Toxizität:</u> EC ₅₀ <10%, LID >8 <u>Chronische Toxizität:</u> EC ₂₀ <1%	In Diskussion	EC ₅₀ ≤10% ^c	Keine Grenzkonzentrationen festgelegt	≥50% Hemmung im Limit-Test mit 10% Abfall im Testsubstrat
Referenz	UBA (2013)	INERIS (2016), CEN (2021a)	CEN (2021a)	CEN (2021a)	MITECO (2021)	M. Svobodová, pers. Mitt., 11.03.2022

LID: niedrigste, nicht wirksame Verdünnungsstufe (*lowest ineffective dilution*). ^a Die Grenzkonzentration ist die Effektkonzentration, ab der der getestete Abfall als ökotoxisch eingestuft wird. ^b In einigen Fällen decken sich die Angaben im Hauptteil und Annex („raw results“) von CEN (2021a) nicht. In diesen Fällen wurden die Informationen aus dem Annex verwendet. ^c Toxicity units (TU) ≥10 (TU = 100/EC₅₀ [%]).

3.1.2 Vorschläge aus wissenschaftlichen Veröffentlichungen

Auch in der wissenschaftlichen Gemeinschaft fehlt bisher ein Konsens über eine Herangehensweise zur HP 14-Einstufung von Abfällen (siehe auch Hennebert 2019, Bandarra et al. 2021, Beggio et al. 2021): ähnlich wie die im vorherigen Abschnitt diskutierten nationalen Leitfäden unterscheiden sich auch die in Publikationen vorgeschlagenen Ansätze und Methoden.

Bei der Auswahl der Testorganismen wird oft angestrebt, die wesentlichen trophischen und taxonomischen Gruppen abzudecken – mit einer Ausnahme: Fischtests werden selten zur HP 14-Klassifikation eingesetzt, zum einen, da es sich um Tierversuche handelt, die vermieden werden sollen (siehe Abschnitt 1.1), zum anderen, da für diese Test ein relativ hohes Eluatvolumen benötigt wird (Pandard & Römbke 2013, Römbke et al. 2018).

Aquatische Tests werden insgesamt häufiger eingesetzt als terrestrische. Das wird z. T. damit begründet, dass die Einstufung nach CLP-Verordnung ausschließlich anhand von aquatischen Ökotoxizitätstests erfolgt (Wahlström et al. 2016, Römbke et al. 2018). Terrestrische Tests sollten allerdings Teil der HP 14-Biotestbatterie sein, um mögliche toxische Effekte schwer wasserlöslicher Abfallinhaltsstoffe zu erfassen (Pandard & Römbke 2013, Planchon et al. 2015; siehe dazu auch Abschnitt 5.6.2). Auf die eingesetzten aquatischen und terrestrischen Biotests wird im Abschnitt 3.2 eingegangen.

Zum Teil sind die in Publikationen vorgeschlagenen Herangehensweisen in nationale Leitfäden eingeflossen. So basieren die deutsche und die alternative französische Biotestbatterie auf dem Vorschlag von Pandard & Römbke (2013).

Die Teststrategie und -batterie von Pandard & Römbke (2013) wurden auch von etlichen anderen Autoren verwendet (z. B. Hennebert 2018, 2019, Pivato et al. 2020, Beggio et al. 2021), z. T. in etwas modifizierter Form. In Hinblick auf die pH-Einstellung vor der Durchführung aquatischer Tests schlug Hennebert (2019) vor, pH-Wert-Einstellungen nicht am Eluat, sondern nur an den Verdünnungen vorzunehmen, die in einem ersten Test ohne pH-Einstellung ökotoxisch sind. Auf diese Weise kann die Ausfällung potenziell toxischer Elemente minimiert werden. Hennebert (2018, 2019) modifizierte außerdem die Grenzkonzentrationen für die HP 14-Einstufung für einige der von Pandard & Römbke (2013) vorgeschlagenen Tests. Basierend auf der Testung von 10 als ‚nicht HP 14‘ eingestuften Abfällen wurde der maximale Effekt in den 6 Tests der o. g. Testbatterie ermittelt (2,25 bis 15,8%, je nach Test). Diese Werte wurden direkt (Hennebert 2018) oder in gerundeter Form (5-15%, je nach Test; Hennebert 2019) als Grenzkonzentration verwendet.

In der Mehrzahl der Arbeiten wird vorgeschlagen, einen Abfall bei Vorliegen von einem positiven Testergebnis als HP 14 einzustufen (vgl. Übersicht von Römbke et al. 2018).

3.2 Arbeiten zu ökotoxikologischen Testverfahren und -ergebnissen für die Abfallbeurteilung

3.2.1 Vorgehensweise bei der Recherche und Auswertung

Die Recherche nach Arbeiten zu ökotoxikologischen Testverfahren und -ergebnissen für die Abfallbeurteilung erfolgte zum einen innerhalb der bei der ECT im Zuge von Vorgängervorhaben gesammelten Literatur. Zum anderen wurde eine durch die Verwendung des Suchstrings „waste ecotox* test*“ sehr breit angelegte Suche im *Web of Science* durchgeführt. Diese ergab insgesamt ca. 1.660 Treffer, die gesichtet wurden, um Arbeiten zu identifizieren, die für das vorliegende Vorhaben relevant erschienen. Ausgeschlossen wurden Arbeiten zu flüssigen Abfällen (z. B. Deponiesickerwasser), weil es problematisch ist, diese in terrestrischen Tests zu untersuchen, und Abfällen mit hohen Anteilen an organischem Material wie Gülle, Klärschlamm und Kompost, da diese erfahrungsgemäß aufgrund von Sauerstoffzehrung in Biotests problematisch sind. Der Fokus wurde auf Arbeiten aus dem europäischen Raum gelegt. Besonderes Augenmerk wurde auf die Identifikation von Arbeiten gelegt, die seit 2013 (d. h. seit der Veröffentlichung der UBA-Handlungsempfehlung) erschienen sind. Auf diese Weise wurden ca. 80 Literaturquellen identifiziert und ausgewertet. Die extrahierten Informationen wurden in eine Excel-Tabelle eingepflegt. Da einige der Arbeiten identische Testergebnisse enthielten, finden sich in der Tabelle Informationen aus insgesamt 67 verschiedenen Quellen²⁶. Die Excel-Tabelle, deren Struktur in Tabelle 11 dargestellt ist, wurde auf Englisch geführt, weil die meisten der Arbeiten in englischer Sprache vorliegen. Die Excel-Datei wurde dem UBA zusammen mit diesem Abschlussbericht zur Verfügung gestellt.

Das Ziel der Auswertung war unter anderem, eine Übersicht über folgende Aspekte zu gewinnen:

- ▶ die bislang mit ökotoxikologischen Methoden getesteten Abfallarten,
- ▶ Methoden zu Probenahme, Probenaufarbeitung und Probenelution,
- ▶ die verwendeten Testmethoden und -batterien,
- ▶ die angewandten Beurteilungskriterien zur HP 14-Einstufung.

Die Auswertung diente weiterhin dazu, die Eignung und Aktualität der Biotestbatterie laut UBA (2013) und der vorgeschalteten Probenaufbereitung zu überprüfen und ggf. Empfehlungen für Anpassungen zu geben.

Tabelle 11: Struktur der Excel-Tabelle zur Auswertung der im Zuge der Literaturrecherche identifizierten Arbeiten zu ökotoxikologischen Testverfahren und -ergebnissen für die Abfallbeurteilung

Spalte	Erläuterung
Reference	Literaturquelle (Verweis auf separate Liste)
Sample ID	Bezeichnung der Probe
Sample description	Beschreibung der Probe

²⁶ Eine der ECT vorliegende Arbeit wurde als vertraulich eingestuft. Daher wurden die darin enthaltenen Daten zwar ausgewertet, die enthaltenen Ergebnisse wurden aber nicht mit in diesen Bericht übernommen.

Spalte	Erläuterung
Particle size	Partikelgröße der Probe
Sample type	Art der Probe, z. B. Feststoff, Eluat, Sickerwasser
EWC chapter	Kapitel der Abfallschlüsselnummer
EWC code	Abfallschlüsselnummer
EWC derived	ja: Abfallschlüsselnummer aus Probenbeschreibung abgeleitet; nein: Abfallschlüsselnummer in Literaturquelle genannt
Sampling method	Methode der Abfallbeprobung
Sample preparation methods	Methode der Probenherstellung (z. B. Elutionsverfahren)
pH correction	pH-Wert Einstellung vor Testdurchführung (ja/nein)
pH original	ursprünglicher pH-Wert der Probe
pH adjusted to	pH-Wert der Probe eingestellt auf
Test organism	Testart (z. B. <i>Daphnia magna</i> , <i>Eisenia fetida</i> , <i>Lemna minor</i>)
Compartment	Kompartiment (aquatisch/terrestrisch)
Group	Organismengruppe (Algen, Mikroorganismen, Pflanzen, Tiere)
Measurement endpoint	Beobachtungsendpunkt (z. B. Mortalität, Reproduktion, Wachstum)
Test duration	Testdauer in Tagen, Stunden oder Minuten
Test system	Testsystem (z. B. Algenwachstumstest, Regenwurmvermeidungstest)
Guideline/reference	Richtlinie/Referenz für das Testsystem
Assessment endpoint	Beurteilungsendpunkt (z. B. EC ₅₀ , G-Wert, LID, NOEC)
Endpoint unit	Einheit des Beurteilungsendpunkts (z. B. % Abfall, g/kg, mg/L)
Endpoint value	Zahlenwert des Beurteilungsendpunkts
Assessment criterion	Angewandtes Beurteilungskriterium (Grenzkonzentration, Grenzwert, z. B. LID >4 oder NOEC <10% Abfallgehalt)
Classification	Einstufung (nicht ökotoxisch/ökotoxisch)
Original classification	Ursprünglich verwendete Klassifikation bezüglich der Ökotoxizität (z. B. mit verfeinerter Abstufung oder Punktesystem)
Remarks	Bemerkungen

3.2.2 Übersicht über den Inhalt der Excel-Tabelle und die verwendeten Methoden

Die Excel-Tabelle enthält insgesamt ca. 3.500 Zeilen, wobei eine Zeile durch die eindeutige Kombination der in den jeweiligen Spalten enthaltenen Informationen zu Probe, Elutionsverfahren, pH-Wert-Einstellung, Testorganismus, Beobachtungsendpunkt und Beurteilungsendpunkt definiert ist. Etwa 60% der Zeilen enthalten Daten zu aquatischen und 40% zu terrestrischen Testergebnissen aus 58 bzw. 39 Literaturquellen. Es wurden ca. 600 verschiedene Proben aus ca. 90 verschiedenen Abfallarten getestet, wobei 43 verschiedene Arten von Testorganismen verwendet wurden, 20 aquatische und 23 terrestrische (Tabelle 12). Die auf den ersten Blick erstaunlich hohe Anzahl terrestrischer Testspezies ist dabei auf viele verschiedene Pflanzenarten zurückzuführen, die insbesondere im Testsystem ‚Saataufbau und frühes Wachstum höherer Pflanzen‘ (ISO 11269-2, 2012a und OECD 208, 2006a) eingesetzt wurden (Tabelle 13).

Am häufigsten getestet wurden Wasserflöhe (*D. magna*; 39 Literaturquellen), gefolgt von Leuchtbakterien (vor allem *Aliivibrio fischeri*; 35 Quellen) sowie einzelligen Grünalgen (*Desmodesmus subspicatus*, *Raphidocelis subcapitata* (früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*); 33 Quellen). In aquatischen Testbatterien wurden am häufigsten Algen und Daphnien (28 Literaturquellen), unter zusätzlicher Verwendung von Leuchtbakterien (22 Quellen) und (deutlich weniger häufig) Wasserlinsen (*Lemna minor*; 7 Quellen) kombiniert. In den seltener verwendeten terrestrischen Testbatterien wurden meist der Test auf Saataufbau und frühes Wachstum mit verschiedenen Pflanzenarten und dem Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* kombiniert (8 Literaturquellen), teilweise unter Hinzunahme des Regenwurm-Vermeidungstests mit *Eisenia fetida* oder *Eisenia andrei* (5 Quellen). In der vom UBA (2013) empfohlenen Testbatterie werden also die in der Praxis gängigsten Methoden eingesetzt.

Zu der verwendeten Probenahmemethode fanden sich nur sehr selten aussagekräftige Angaben in der ausgewerteten Literatur. Die Elution erfolgte in der überwiegenden Anzahl der Arbeiten mit dem auch in UBA (2013) genannten Schüttelverfahren mit einem L/S-Verhältnis von 10 L/kg und einer Schütteldauer von 24 h, vor allem gemäß EN 12457-2 (19 Literaturquellen) oder DIN 38414-4 (10 Quellen), bei einer Partikelgröße der Abfallprobe von meist <4 mm (15 Quellen; jedoch auch häufig ohne Angabe).

Die am häufigsten getestete Abfallart waren Rost- und Kesselaschen sowie Schlacken (Spiegeleintrag 19 01 11*/19 01 12) mit ca. 80 verschiedenen Proben. Die verwendeten Beurteilungsendpunkte waren NOEC/LOEC, EC/LC_x, *toxic units* (TU) und G- bzw. LID-Werte. In etwa der Hälfte der ausgewerteten Arbeiten erfolgte keine Einordnung der untersuchten Abfallproben als ökotoxisch oder nicht ökotoxisch, weil dort kein Beurteilungskriterium (Grenzkonzentration bzw. Grenzwert) festgelegt wurde. In den übrigen Arbeiten kam eine große Zahl an unterschiedlichen Beurteilungskriterien zum Einsatz, wobei am häufigsten das Kriterium EC_x ≤10% verwendet wurde (9 Literaturquellen), gefolgt von LID >4 bzw. >8 (je nach Testsystem, 7 Quellen) und dem *Toxicity Classification System* (TCS) nach Persoone (1999, unveröffentlicht, beschrieben in Lapa et al. 2002; 5 Quellen).

Tabelle 12: Übersicht über die basierend auf der Literaturrecherche zur Abfalltestung eingesetzten aquatischen Testorganismen und -systeme

Testorganismus	Testsystem	Testrichtlinien ^a , Testkits, Referenzen
<i>Aliivibrio fischeri</i>	Luminescent bacteria test	Blaise et al. (1994), DIN 38412-34, ISO 11348, Microtox u.a.
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Chronic toxicity test	ISO 20666
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Chronic toxicity test	ISO 20665
	Effect on survival and reproduction	Ferrari & Féraud (1996)
	Reproduction and survival	–
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Photosynthesis activity test	–
	Fluorescein diacetate test	Gilbert et al. (1992)
<i>Corophium volutator</i>	Acute toxicity test	ISO 16712
<i>Danio rerio</i>	Fish embryo toxicity test	Draft OECD proposal, modified according to Carlsson et al. (2009), DIN 38415-6
	Early life stage test	–
<i>Daphnia magna</i>	Acute test	Daphtoxkit, ISO 6341, OECD 202 u.a.
	Reproduction test	EPA 600/4-91-002 (US EPA 1984)
<i>Desmodesmus subspicatus</i> , <i>Raphidocelis subcapitata</i>	Algal growth inhibition test	Algaltoxkit, ISO 8692, OECD 201, Radetski et al. (1995) u.a.
<i>Escherichia coli</i> mutant	Microbial enzyme assay	ToxiChromopad, MetPAD/MetPLATE, Kwan (1995)
<i>Lemna minor</i>	Growth inhibition test	Devare & Bahadir (1994), ISO 20079, OECD 221 u.a.
<i>Leuciscus idus</i>	Acute toxicity test	DIN 38412-31
Microorganisms	Inhibition of the dehydrogenase activity of activated sludge microorganisms	DIN 38412-3
	Oxygen consumption of microorganisms	–
	Respiration activity test	Offhaus (1965)
<i>Nitocra spinipes</i>	Acute test	SIS SS-02-81-06
	Larval development test	Based on Breitholtz & Bengtsson (2001), Breitholtz & Wollenberger (2003), Breitholtz et al. (2007)

Testorganismus	Testsystem	Testrichtlinien ^a , Testkits, Referenzen
	(Sub)chronic test	Breitholtz & Bengtsson (2001), Breitholtz et al. (2007)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Marine algal growth inhibition test	ISO 10253
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Luminescent bacteria test	DIN 38412-34, ISO 11348-3, Microtox u.a.
<i>Pseudomonas putida</i>	Growth inhibition test	DIN 38412-8, ISO 10712
<i>Tetrahymena thermophila</i>	Protozoan inhibition test	Protozoan-TOXKIT
<i>Thamnocephalus platyurus</i>	Survival tests	Thamnotoxkit, Centeno et al. (1995)
<i>Xenopus laevis</i>	Acute toxicity test	–

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: DIN 38412-3 (2010), DIN 38412-8 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 1991a), DIN 38412-31 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 1989a), DIN 38412-34 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 1997), DIN 38415-6 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 2003), ISO 10253 (2016b), ISO 10712 (1995), ISO 11348-2 (2007a), ISO 11348-3 (2007b), ISO 16712 (2005a), ISO 20079 (2005b), ISO 20665 (2008c), ISO 20666 (2008b), ISO 6341 (2012c), ISO 8692 (2012b), OECD 201 (2011), OECD 202 (2004), OECD 221 (OECD 2006b), SIS SS 02 81 06 (1991).

Tabelle 13: Übersicht über die basierend auf der Literaturrecherche zur Abfalltestung eingesetzten terrestrischen Testorganismen und -systeme

Testorganismus	Testsystem	Testrichtlinien ^a , Referenzen
<i>Allium cepa</i>	Toxicity test	Fiskesjö (1985, 1995)
	Plant root elongation test	Fiskesjö (1997)
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Inhibition of dehydrogenase activity	DIN 38412-48, ISO 18187 u.a.
<i>Avena sativa</i> , <i>Brassica campestris</i> var. <i>chinensis</i> , <i>Brassica napus</i> , <i>Brassica oleracea</i> , <i>Brassica rapa</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Lepidium</i> sp., <i>Lolium perenne</i> , <i>Lycopersicon esculentum</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Raphanus sativus</i> , <i>Trifolium pratense</i>	Effects on emergence and early growth	ISO 11269-2, OECD 208
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Effects on growth, fertility and reproduction	ISO 10872
<i>Eisenia andrei</i> , <i>Eisenia fetida</i>	Acute toxicity	ISO 11268-1
	Effects on behaviour	ISO 17512-1

Testorganismus	Testsystem	Testrichtlinien ^a , Referenzen
<i>Enchytraeus albidus, Enchytraeus crypticus</i>	Effects on reproduction	ISO 11268-2
	Growth, sexual development, cocoon production and survival	–
	Avoidance test	–
	Reproduction test	ISO 16387
<i>Folsomia candida</i>	Feeding inhibition test	Domene et al. (2007), Domene (2007)
	Reproduction test	ISO 11267
<i>H. vulgare, Lactuca sativa, Sinapis alba, Triticum aestivum</i>	Inhibition of root growth	ISO 11269-1
<i>L. sativa, Lepidium sativum, T. aestivum</i>	Seed germination assay	AFNOR X31-201, modification of US-EPA 600/3-88-029 (US EPA 1988), Stephenson et al. (2000)
<i>L. sativum</i>	Germination test	Pinho et al. (2017)
	Growth test	–
	Phytotoxicity test	Phytotoxkit, UNI 10780
	Root growth test	Neururer (1975), based on Devare & Bahadir (1994)
<i>L. perenne</i>	Toxicity test	Based on EPA/600/3-88/029 (US EPA 1988) and ASTM-E1963-09
Microorganisms	Dehydrogenase activity test	Shaw & Burns (2006)
	Abundance and activity of soil microflora using respiration curves	ISO 17155
<i>S. alba</i>	Growth inhibition test	STN 838303

Testorganismus	Testsystem	Testrichtlinien ^a , Referenzen
<i>Trifolium repens</i>	Root elongation toxicity test	CEMD (2003)
	Germination test	–

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: AFNOR X31-201 48 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 1982), ASTM E1963-09 (2014), DIN 38412-48 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 2002), ISO 10872 (2020), ISO 11267 (2023), ISO 11269-1 (2012e), ISO 11268-1 (2012d), ISO 11268-2 (2023), ISO 16387 (2023), ISO 17155 (2012f), ISO 17512-1 (2008a), ISO 18187 (2016a), ISO 11269-2 (2012a), OECD 208 (2006a), STN 838303 (1999), UNI 10780 (1998).

3.2.3 Beantwortung relevanter Fragestellungen anhand der Daten

Anhand der im Rahmen der Literaturrecherche gewonnenen Daten wurden folgende für das Vorhaben relevante Fragestellungen beantwortet.

3.2.3.1 Sind zwei mikrobielle Testverfahren notwendig?

In der Testbatterie laut UBA (2023) finden sich mit dem (aquatischen) Leuchtbakterientest mit *A. fischeri* gemäß ISO 11348-2 (2007a)²⁷ und dem (terrestrischen) Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* gemäß ISO 18187 zwei mikrobielle Testverfahren. Insbesondere im Hinblick auf die vorgesehene sequenzielle Anwendung der aquatischen und terrestrischen Tests stellt sich die Frage, ob die Verwendung des Feststoffkontakttests zusätzlich zum Leuchtbakterientest und weiteren terrestrischen Testverfahren sinnvoll ist.

Vergleich des Feststoffkontakttests mit dem Leuchtbakterientest

Zunächst wurde untersucht, ob der Leuchtbakterien- und der Feststoffkontakttest unterschiedliche Informationen hinsichtlich der Ökotoxizität von Abfallproben liefern. Es wurden sechs Publikationen identifiziert, in denen dieselben Proben mit beiden Testverfahren untersucht wurden. In diesen wurden insgesamt 77 Proben aus 32 verschiedenen Abfallarten getestet. Bezüglich der Einstufung der Proben als (nicht) ökotoxisch waren 86 direkte Vergleiche möglich (teilweise wurde sowohl die EC₅₀ als auch die LID bestimmt). In 60 Fällen ergab der Vergleich eine übereinstimmende Aussage: 29-mal war die jeweilige Probe sowohl im Leuchtbakterien- als auch im Feststoffkontakttest als ökotoxisch sowie 31-mal als nicht ökotoxisch einzustufen. In 10 Fällen war die Probe im Leuchtbakterientest ökotoxisch, jedoch nicht im Feststoffkontakttest. Demgegenüber war in 16 Fällen die Probe im Leuchtbakterientest nicht ökotoxisch, zeigte jedoch im Feststoffkontakttest eine Ökotoxizität. Dies betraf vor allem Hausmüllverbrennungaschen (HMV-Aschen; 19 01 11*/19 01 12; siehe Römbke & Moser 2007). In vier Fällen war die jeweilige Probe sogar in allen drei aquatischen Tests (Leuchtbakterie, Daphnie, Alge) nicht ökotoxisch, aber im Feststoffkontakttest ökotoxisch. Damit lässt sich schlussfolgern, dass der Feststoffkontakttest im Vergleich zum Leuchtbakterientest wertvolle Zusatzinformationen liefern kann.

Vergleich des Feststoffkontakttests mit weiteren terrestrischen Testverfahren

In einem zweiten Schritt wurde überprüft, ob der Feststoffkontakttest im Vergleich zu weiteren terrestrischen Testverfahren zusätzliche Informationen für die HP 14-Einstufung von Abfallproben liefern kann.

Deventer & Zipperle (2004) testeten 24 Proben aus 13 verschiedenen Abfallarten. Neben dem Feststoffkontakttest wurde der Test auf Saatauflauf und frühes Wachstum höherer Pflanzen

²⁷ Zu dieser Richtlinie liegt ein Amendment von 2018 vor.

gemäß OECD-Richtlinie 208 mit Hafer (*Avena sativa*), Gemüsekohl (*Brassica oleracea*) und Tomate (*Lycopersicon esculentum*) angewendet. Zunächst war keine Differenzierung möglich, da die Proben in fast allen Fällen ökotoxisch waren (in 21 von 23 Fällen in allen Tests). In einem Fall wurde die Probe nur anhand des Feststoffkontakttests und des Pflanzentests mit Hafer als ökotoxisch eingestuft. Hierbei wurde allerdings ein sehr konservatives Beurteilungskriterium (LID >2) angelegt, ab dem eine Probe als ökotoxisch angesehen wurde. Würde man dieses Kriterium stattdessen auf LID >8 setzen, wie in anderen Literaturquellen und nationalen Leitfäden häufig verwendet (siehe auch Abschnitte 3.1.1.3), ergibt sich ein differenzierteres Bild. In diesem Fall wären 15 Proben in allen Testsystemen ökotoxisch, 3 Proben nicht ökotoxisch bzw. nicht eindeutig einzuordnen (Angabe eines Bereichs für die LID, z. B. 2-10, vermutlich aufgrund von Testwiederholungen), sowie 3 Proben in mehreren aber nicht allen Testsystemen ökotoxisch. Drei Proben würden allein aufgrund des Feststoffkontakttests als ökotoxisch eingestuft werden, womit dieser das insgesamt empfindlichste Testsystem war.

Römbke & Moser (2007) untersuchten 12 verschiedene HMV-Aschen mit dem Feststoffkontakttest, dem Test auf Saataufbau und frühes Wachstum (ISO 11269-2) mit Hafer (*A. sativa*) und Raps (*Brassica napus*) und dem Regenwurm-Akutttest (ISO 11268-1) mit *Eisenia fetida*. Als Bewertungskriterium wurde eine LID >8 angelegt. Eine Probe war in allen Tests ökotoxisch, eine in allen Testsystemen außer dem Regenwurm-Akutttest, zwei Proben waren im Feststoffkontakt- und dem Pflanzentest mit Hafer ökotoxisch. Vier Proben waren nur im Feststoffkontakttest ökotoxisch, weitere vier Proben erwiesen sich in keinem der Testsysteme als ökotoxisch. Somit war der Feststoffkontakttest das empfindlichste Testsystem. Demgegenüber waren der Regenwurm-Akutttest und der Pflanzentest mit Raps relativ unempfindlich.

Moser & Römbke (2009) testeten 3 Proben aus 3 Abfallarten (HMV-Asche, PAK-kontaminierter Boden, v.a. mit kupferbasiertem Holzschutzmittel behandeltes Altholz) in einem internationalen Ringtest unter Beteiligung von 60 Laboratorien aus 15 Ländern. Es wurden die folgenden Tests durchgeführt:

- ▶ Feststoffkontakttest (ISO 18187) mit *A. globiformis*,
- ▶ Test auf Saataufbau und frühes Wachstum (ISO 11269-2) mit Hafer (*A. sativa*) und Rübse (*B. rapa*),
- ▶ Regenwurm-Akutttest (ISO 11268-1) mit *E. fetida*,
- ▶ Regenwurm-Vermeidungstest (ISO 17512-1) mit *E. fetida*,
- ▶ Regenwurm-Reproduktionstest (ISO 11268-2) mit *E. fetida*,
- ▶ Enchytraeiden-Reproduktionstest (ISO 16387) mit *Enchytraeus* sp.,
- ▶ Collembolen-Reproduktionstest (ISO 11267) mit *Folsomia candida*.

Berichtet wurde der geometrische Mittelwert der von den einzelnen Laboratorien bestimmten Effektkonzentrationen pro Testsystem und Probe. Die Autoren haben kein Bewertungskriterium festgelegt, daher wurde hier für den Vergleich der Testsysteme eine EC₅₀ bzw. LC₅₀ <10% Abfall im Testsubstrat als Grenzkonzentration verwendet (siehe Abschnitt 3.1.1.3). Asche und Boden waren in allen Tests nicht ökotoxisch, während Holz in allen Tests außer dem Regenwurm-Akutttest und dem Enchytraeiden-Reproduktionstest ökotoxisch war, womit sich letztere als vergleichsweise unempfindlich erwiesen.

Römbke et al. (2010) untersuchten 23 Proben aus 20 verschiedenen Abfallarten. Neben dem Feststoffkontakttest wurden der Test auf Saataufbau und frühes Wachstum (ISO 11269-2) mit Raps (*Brassica napus*) sowie der Regenwurm-Vermeidungstest (ISO 17512-1) mit *E. fetida* angewendet. Als Grenzwert wurde eine LID >8 verwendet. Elf Proben waren in allen drei Testsystemen ökotoxisch, sieben Proben waren in allen Tests nicht ökotoxisch. Je eine Probe war nur im Feststoffkontakt- bzw. im Regenwurm-Vermeidungstest ökotoxisch. Zwei Proben waren sowohl im Feststoffkontakt- als auch im Pflanzentest ökotoxisch. Je eine Probe war im Feststoffkontakttest und Regenwurm-Vermeidungstest bzw. im Pflanzentest und Regenwurm-Vermeidungstest ökotoxisch. Somit lieferte der Pflanzentest im Vergleich zu den beiden anderen Testsystemen keine Zusatzinformation, da alle Proben auch anhand des Feststoffkontakttests und des Regenwurm-Vermeidungstests als (nicht) ökotoxisch hätten eingestuft werden können.

Hennebert (2018) testete 28 Proben aus 16 verschiedenen Abfallarten mit dem Feststoffkontakttest, dem Test auf Auflaufen und frühes Wachstum (ISO 11269-2) mit Hafer (*A. sativa*) und Raps (*B. napus*) sowie dem Regenwurm-Vermeidungstest (ISO 17512-1) mit *E. fetida*. Als Bewertungskriterium wurden modifizierte, testsystemspezifische Grenzkonzentrationen verwendet (siehe Abschnitt 3.1.2):

- ▶ Feststoffkontakttest: $EC_{50} < 2,25\%$,
- ▶ Pflanzentest mit Hafer: $EC_{50} < 20,2\%$,
- ▶ Pflanzentest mit Raps: $EC_{50} < 13,7\%$,
- ▶ Regenwurm-Vermeidungstest: $EC_{50} < 3,75\%$.

Sieben Proben waren in allen Testsystemen ökotoxisch, 10 Proben in allen Tests nicht ökotoxisch. Drei Proben waren nur im Feststoffkontakttest nicht ökotoxisch, zwei Proben nur im Feststoffkontakttest ökotoxisch. Drei Proben waren nur in den beiden Pflanzentests ökotoxisch, eine weitere nur im Pflanzentest mit Hafer. Je eine Probe war im Pflanzentest mit Hafer und im Regenwurm-Vermeidungstest bzw. im Feststoffkontakttest und Pflanzentest mit Hafer ökotoxisch. Hier wären somit nur der Feststoffkontakttest und der Pflanzentest mit Hafer für die Einstufung der Proben als (nicht) ökotoxisch ausreichend gewesen.

In einem Bericht der Öffentlichen Abfallagentur der Region Flandern (OVAM 2018) wurde die Testung von acht Proben aus vier verschiedenen Abfallarten mit dem Feststoffkontakttest, dem Regenwurm-Vermeidungstest (ISO 17512-1) mit *E. fetida* sowie einem Wachstumshemmtest mit *Lepidium* sp. basierend auf OECD-Testrichtlinie 208 beschrieben. Als Grenzwert wurde eine LID >8 angewendet. Drei Proben wurden mit allen drei Testsystemen als nicht ökotoxisch eingestuft. Weitere drei Proben waren nur im Regenwurm-Vermeidungstest ökotoxisch. Je eine Probe war im Feststoffkontakttest und Regenwurm-Vermeidungstest bzw. im Pflanzentest und Regenwurm-Vermeidungstest ökotoxisch. Damit wäre für diese Proben der Regenwurm-Vermeidungstest für die Einstufung als (nicht) ökotoxisch ausreichend gewesen.

Rebischung et al. (2018) testeten eine Probe aus Zigarettenstummeln mit dem Test auf Saataufbau und frühes Wachstum (ISO 11269-2) mit Rübsen (*B. rapa*) und Gartensalat (*Lactuca sativa*), dem Regenwurm-Akut- (ISO 11268-1) sowie dem Regenwurm-Vermeidungstest (ISO 17512-1) mit *E. fetida*. Das angelegte Bewertungskriterium war eine EC_{10} bzw. LC_{10} von kleiner 10% Abfallanteil. Es war keine Differenzierung möglich, da die Probe in allen Tests ökotoxisch war.

Fazit des Vergleichs des Feststoffkontakttests mit dem Leuchtbakterientest und weiteren terrestrischen Testverfahren

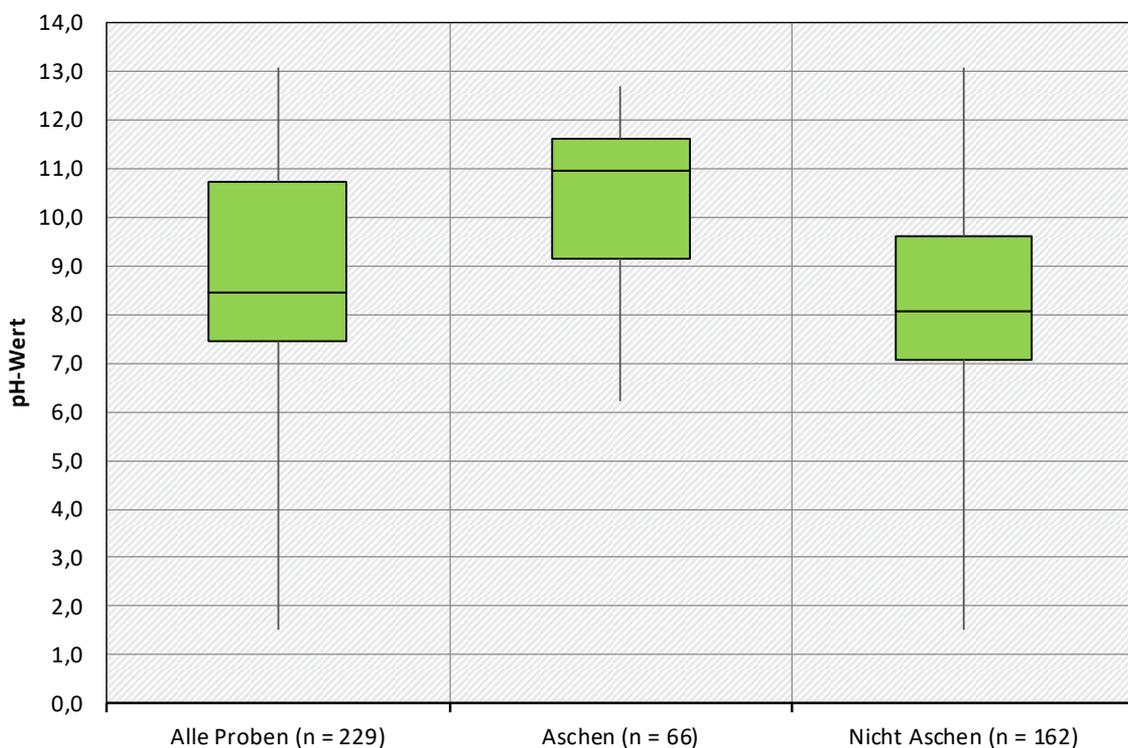
Aus den oben aufgeführten Vergleichen lässt sich insgesamt schlussfolgern, dass der Feststoffkontakttest ein empfindliches Testsystem ist, das sowohl gegenüber dem Leuchtbakterientest als auch anderen terrestrischen Testsystemen Zusatzinformationen bezüglich der Ökotoxizität von Abfallproben liefern kann und daher Teil der im vorliegenden Projekt eingesetzten Testbatterie sein sollte.

3.2.3.2 Einfluss des pH-Werts auf die HP 14-Einstufung

Im Hinblick auf die Diskussion zur Rolle des pH-Werts bei der HP 14-Einstufung von Abfällen und (unterschiedliche) Empfehlungen zur Anpassung des pH-Werts in Eluaten von Abfallproben für die Biotestung (siehe Abschnitt 3.1.1.1) wurde das pH-Wert-Spektrum der in der Literaturrecherche identifizierten Proben näher betrachtet. In diesem Zusammenhang soll angemerkt werden, dass pH-Werte ≤ 2 bzw. $\geq 11,5$ Indizwirkung für die Einstufung nach HP 4 (reizend) und HP 8 (ätzend) haben (AVV 2020). Daher wären in diesen Fällen i.d.R. keine weiteren Tests auf HP 14 nötig.

Für Eluate, die mittels Schüttelverfahren mit L/S = 10 L/kg und 24 h Dauer gewonnen wurden, lagen die pH-Werte vor allem bei Aschen (10 01 01, 10 01 02, 10 01 14*/10 01 15, 10 01 16*/10 01 17, 19 01 11*/19 01 12, 19 01 13*/19 01 14) teilweise oberhalb des Toleranzbereichs der Testorganismen ($>8,5$). In einigen Fällen wurde auch ein pH-Wert $\geq 11,5$ erreicht (insbesondere bei Eluaten aus Ascheproben), während pH-Werte im stark sauren Bereich nur in wenigen Fällen vorlagen (siehe Abbildung 4).

Abbildung 4: Boxplots zur pH-Wert-Verteilung in den mittels Schüttelverfahren (L/S = 10 L/kg, 24 h Dauer) gewonnenen Abfalleluaten (basierend auf der Literaturrecherche)



Die Boxen werden durch das obere und das untere Quartil begrenzt; der Strich innerhalb der Box ist der Median; die

Antennen erstrecken sich bis zum Minimal- bzw. Maximalwert. Die Summe der Probenzahlen für Aschen und nicht Aschen entspricht nicht der Summe aller Proben, da eine Probe nicht eindeutig zuordenbar war (Abfallart 19 01).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

In der Folge wurde untersucht, in wie vielen Fällen eine Einstellung des pH-Werts in einer Änderung der Toxizität mündete. Es wurden 6 Publikationen identifiziert, in denen dieselbe Probe mit und ohne Anpassung des pH-Werts getestet wurde (Tabelle 14). Insgesamt wurden 12 verschiedene Proben getestet, von denen 10 ursprünglich pH-Werte ≥ 10 und zwei pH-Werte < 5 hatten. Diese wurden jeweils auf einen für die Testorganismen optimalen Bereich (pH 7,0 bis 8,0) eingestellt. Es waren 18 direkte Vergleiche möglich, von denen 10 auf den Leuchtbakterientest und acht auf andere aquatische Testsysteme entfielen. In nur einem Fall wurde eine Zunahme der Toxizität beobachtet (Bandarra et al. 2019), in 12 Fällen eine Abnahme der Toxizität, in den übrigen fünf Fällen keine wesentliche Änderung. Für sechs der Eluate führte die Abnahme der Toxizität zu einer Änderung der HP 14-Einstufung von ökotoxisch zu nicht ökotoxisch (Lapa et al. 2002), was den potenziell starken Einfluss einer pH-Wert Einstellung unterstreicht.

Tabelle 14: Arbeiten, in denen dieselbe Probe mit und ohne Anpassung des pH-Werts getestet wurde und Auswirkung auf die Ökotoxizität der Probe

Referenz	Abfallprobe (Abfallschlüssel)	Elutions- bzw. Extraktions- methode ^a	pH original	pH eingestellt auf	Testorganismus, Testendpunkt (Testdauer)	Effektkonzentration		Auswirkung	
						ohne pH- Anpassung	mit pH- Anpassung		
Bandarra et al. 2019	Sulfitschlämme (aus der Rückgewinnung von Kochlaugen) (03 03 02)	EN 12457-2 (variierendes L/S-Verhältnis)	10,4	7,0	<i>Lepidium sativum</i> , Keimungsindex (48 h)	EC ₅₀ (L/S- Verhältnis bzw. L/kg)	124	>500	Zunahme der Toxizität (ökotoxisch)
					<i>Aliivibrio fischeri</i> , Lumineszenzhemmung (30 min)		<10	<10	Keine Änderung (nicht ökotoxisch)
					<i>Lemna minor</i> , Frondanzahl (7 d)		>320	246	Keine Änderung (ökotoxisch)
					<i>Daphnia magna</i> , Immobilisierung (48 h)		130	36	Abnahme der Toxizität (ökotoxisch)
Bernardo et al. 2010	Feste Fraktion der Rückstände aus der Pyrolyse eines Gemischs aus 30% (w/w) Kiefernbiomasse, 30% (w/w) Altreifen und 40% Kunststoffen (19 01 17*/19 01 18)	mit Dichlormethan extrahiert und mit CaCl ₂ - Lösung ausgelaugt (L/S 10 L/kg)	4,8	7,4	<i>A. fischeri</i> , Lumineszenzhemmung (30 min)	EC ₅₀ (mg Eluat/L)	2,4	3,6	Keine Änderung (ökotoxisch)
			ausgelaugt mit CaCl ₂ -Lösung (L/S 10 L/kg)	4,9			7,4	0,6	

Referenz	Abfallprobe (Abfallschlüssel)	Elutions- bzw. Extraktions- methode ^a	pH original	pH eingestellt auf	Testorganismus, Testendpunkt (Testdauer)	Effektkonzentration			Auswirkung
							ohne pH- Anpassung	mit pH- Anpassung	
Dias et al. 2017	Holzkohle aus dem Vergasungsbett, hergestellt mit 100% relativer Luftfeuchtigkeit bei 850°C (19 01)	EN 12457-2 (L/S 10)	10	8,0	<i>A. fischeri</i> , Lumineszenzhemmung (30 min)	EC ₅₀ (% Eluat)	34,8	>99	Abnahme der Toxizität (nicht ökotoxisch)
Lapa et al. 2002	Rost- und Kesselaschen aus Müllverbrennungsanlagen (19 01 11*/19 01 12)	EN 12457-2 (L/S 10)	12,2	7,4	<i>Photobacterium phosphoreum</i> , Lumineszenzhemmung (15 min)	EC ₅₀ (% Eluat)	<1,0	77,7	Abnahme der Toxizität, nicht ökotoxisch nach Anpassung
			11,4	7,4			9,3	>99,0	
			10,6	7,6			<1,0	75,3	
			12,0	7,4			<1,0	>99,0	
			12,5	7,4			<1,0	59,2	
			11,4	7,7			<1,0	>99,0	
Ferrari et al. 1999	Rost- und Kesselaschen aus Verbrennungsanlage für feste Siedlungsabfälle (19 01 11*/19 01 12)	XP X31-210 (L/S 10)	>11	8,0	<i>Raphidocelis subcapitata</i> , Wachstumshemmung (72 h)	EC ₅₀ (% Eluat)	0,91	2,86	Abnahme der Toxizität (ökotoxisch)

Referenz	Abfallprobe (Abfallschlüssel)	Elutions- bzw. Extraktions- methode ^a	pH original	pH eingestellt auf	Testorganismus, Testendpunkt (Testdauer)	Effektkonzentration		Auswirkung	
						ohne pH- Anpassung	mit pH- Anpassung		
Mocová et al. 2019	Betonabfälle, recycelter Beton (17 01 01)	EN 12457-4 (L/S 10)	11,6	7,0	<i>D. magna</i> , Immobilisierung (48 h)	EC ₅₀ (% Eluat)	<6,25	<6,25	Keine Änderung (ökotoxisch)
					<i>Desmodesmus subspicatus</i> , Wachstumshemmung (72 h)		50	100	Abnahme der Toxizität (nicht ökotoxisch bzw. unklar)
					<i>L. minor</i> , Wachstumsrate (7 d)		12,5	100	
					<i>L. minor</i> , Chlorophyllgehalt (7 d)		6,25	12,5	

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: XP X31-210 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: AFNOR 1998a), EN 12457-2 (CEN 2002a), EN 12457-4 (CEN 2002b).

3.2.3.3 Möglichkeit der Nutzung des Auflauf- bzw. Wurzellängentests mit Kresse (*Lepidium sativum*)

Bei der Überprüfung, ob seit dem Erscheinen der Handlungsempfehlung von 2013 weitere für die Abfalltestung relevante Testverfahren in der Literatur publiziert wurden, fiel insbesondere der Auflauf- bzw. Wurzellängentests mit Kresse (*Lepidium sativum*) auf. Dieser wurde in sieben Arbeiten in unterschiedlichen Varianten für die Abfalltestung verwendet (Tabelle 15).

Tabelle 15: Anwendung Auflauf- bzw. Wurzellängentests mit Kresse (*Lepidium sativum*) in der Abfalltestung seit 2013

Quelle	Probe	Matrix	Endpunkt	Dauer	Basierend auf ^a
Bandarra et al. 2019	Eluat	Filterpapier	Keimrate	48 h	Pinho et al. 2017
Bandarra et al. 2020	Eluat	Filterpapier	Keimrate	48 h	Pinho et al. 2017
Barbale et al. 2021	Eluat	Filterpapier	Keimrate, Wurzellänge	72 h	UNI 10780
Kepys et al. 2021	Eluat	Filterpapier	Keimrate, Wurzellänge	72 h	k.A.
OVAM 2018	Fester Abfall	Standardboden	Biomasse	4 d	OECD 208
Pinho et al. 2017	Eluat	Filterpapier	Keimrate, Wurzellänge	48 h	k.A.
Werle & Dudziak 2015	Eluat	Filterpapier	Wurzellänge	24 h	Phytotoxkit

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: OECD 208 (2006a), UNI 10780 (1998).

Um das Potential dieses Tests für die Aufnahme in eine zukünftige terrestrische Testbatterie zu beurteilen, wurde dessen Empfindlichkeit im Vergleich zu anderen Testsystemen untersucht. Leider erfolgte in den Arbeiten von Werle & Dudziak (2015), Pinho et al. (2017), Bandarra et al. (2019, 2020) und Barbale et al. (2021) keine Testung derselben Proben mit weiteren terrestrischen Testsystemen. Kepys et al. (2021) führten die Tests nur parallel mit Senf (*Sinapis alba*) durch, wobei die gleiche Methode verwendet wurde und in allen Fällen beide Testspezies eine übereinstimmende Aussage ergaben. In der Studie von OVAM (2018) wurde *Lepidium sp.* im Unterschied zu den übrigen Arbeiten nicht auf eluatgetränktem Filterpapier, sondern im Boden exponiert, in Anlehnung an OECD-Testrichtlinie 208 mit der Biomasse der gekeimten Pflanzen nach vier Tagen als Endpunkt. Dort wurden acht feste Abfallproben aus vier verschiedenen Abfallarten untersucht. Außer dem Test mit *Lepidium sp.* wurden der Regenwurm-Vermeidungstest (ISO 17512-1) mit *E. fetida* sowie der Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* (ISO 10871) durchgeführt. Als Grenzwert wurde eine LID von >8 verwendet. Drei der Proben wurden in allen drei Testsystemen als nicht ökotoxisch eingestuft, weitere drei Proben waren nur im Regenwurm-Vermeidungstest ökotoxisch, je eine zusätzlich im Feststoffkontakt- und im Kresstest. Somit wäre für diese Proben die Durchführung des Regenwurm-Vermeidungstests für die korrekte Einstufung ausreichend gewesen.

Damit lässt sich keine belastbare Aussage zur Empfindlichkeit des Kresstests im Vergleich zu anderen terrestrischen Testsystemen treffen. Dennoch könnte die Testung mit *L. sativum* aufgrund der kürzeren Laufzeit und des geringen experimentellen Aufwands eine interessante Alternative zum Pflanzentest mit *B. rapa* sein, was in künftigen Untersuchungen näher überprüft

werden sollte. Mit der DIN EN 16086-2 (Bodenverbesserungsmittel und Kultursubstrate – Bestimmung der Pflanzenverträglichkeit – Teil 2: Petrischalentest mit Kresse; DIN EN 2012) liegt zudem eine europäische Norm vor, die ggf. an die Abfalltestung angepasst werden könnte.

3.3 Erste Überprüfung der in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagenen Strategie zur HP 14-Einstufung von Spiegeleinträgen

Laut UBA-Handlungsempfehlung sollen zur HP 14-Einstufung von Abfällen in Spiegeleinträgen Ökotoxizitätstests eingesetzt werden, wenn keine Einstufung mittels Berechnungsmethode möglich ist, weil ausreichende Informationen zur Abfallzusammensetzung fehlen (UBA 2013, siehe auch Abschnitt 3.1.1). Auf die Möglichkeit, einen mit der Berechnungsmethode als HP 14 klassifizierten Abfall durch Ökotoxizitätstests zu entlasten, wird in der UBA-Handlungsempfehlung nicht eingegangen. Diese Möglichkeit besteht, da die Ergebnisse der Biotests ausschlaggebend für die Einstufung sind (EG 2015). Wie auf dem Begleitkreistreffen am 09.03.2022 diskutiert wurde, wird diese Möglichkeit von Abfallbesitzern genutzt. Sie ist problematisch, wenn die Ergebnisse akuter Ökotoxizitätstests (die aktuelle Testbatterie besteht im aquatischen Bereich überwiegend aus akuten Testverfahren; siehe Abschnitte 3.3.2 und 5.6.2) verwendet werden, um Abfälle zu entlasten, die laut Berechnungsmethode chronisch wassergefährdend sind (H410-H413).

In diesem Zusammenhang ist anzumerken, dass die Einstufung von Substanzen als chronisch gewässergefährdend nach der neuesten Fassung der CLP-Verordnung (EG 2021) anhand von Ergebnissen chronischer aquatischer Tests erfolgt. Nur wenn keine chronischen aquatischen Toxizitätsdaten vorliegen, erfolgt die Einstufung auf Basis akuter aquatischer Toxizitätsdaten in Kombination mit Daten zur Abbaubarkeit und dem Bioakkumulationspotential wie in der ersten Fassung der CLP-Verordnung von 2008 beschrieben (siehe ECHA 2017 und EG 2021).

Abfälle, die mit der Berechnungsmethode aufgrund von chronischen Biotests mit einzelnen Abfallinhaltsstoffen als chronisch gewässergefährdend eingestuft wurden, sollten auch nur mit Ergebnissen chronischer aquatischer Toxizitätstests entlastet werden können. Hier besteht Handlungsbedarf auf EU-Ebene. Konkret bedarf es einer Regelung, in welchen Fällen eine Einstufung nach der Berechnungsmethode durch die Ergebnisse welcher Biotests revidiert (entlastet) werden kann. Auf diesen Aspekt wird im Abschnitt 5.6.2 näher eingegangen.

3.3.1 Probenahme und Probenvorbehandlung

Im technischen Leitfaden zur Abfalleinstufung (EU 2018) wird eine Probenahme entsprechend der europäischen Norm EN 14899 und der technischen Berichte CEN/TR 15310-1 bis -5 empfohlen. Die UBA-Handlungsempfehlung bezieht sich hingegen im Wesentlichen auf die LAGA PN 98. Eine Probenahme gemäß LAGA PN 98 ist laut EU (2018) akzeptabel, wenn sie zu ähnlich zuverlässigen Ergebnissen führt (siehe Abschnitt 3.1.1.1).

Hinsichtlich der Vorgaben zur Partikelgröße (<4 mm²⁸) und zur Herstellung von Abfalleluaten (einstufiges Schüttelverfahren, L/S = 10 L/kg, 24 h²⁹) ist die Vorgehensweise laut UBA (2013) in Übereinstimmung mit aktuellen europäischen Normen (EN 12457-2, EN 14735), nach denen auch in etlichen anderen europäischen Staaten verfahren wird (Abschnitt 3.1.1.1). In diesem Zusammenhang soll jedoch darauf hingewiesen werden, dass das einstufige Schüttelverfahren (EN 12457-2) entwickelt wurde, um überwiegend anorganische Abfallbestandteile zu untersuchen. Es ist nicht darauf ausgerichtet, unpolare organische Substanzen zu eluieren (siehe

²⁸ Mikrobielle Tests: <2 mm.

²⁹ Alternativ kann die Säulenelution eingesetzt werden (siehe Abschnitt 3.1.1.1).

DIN EN 12457-2, 2003a). Die mit diesem Verfahren hergestellten Eluate enthalten kurzfristig wasser verfügbare Inhaltsstoffe (UBA 2013)^{30,31}. Wie auf dem Begleitkreistreffen angesprochen wurde, kann das z. B. dazu führen, dass Abfälle, die aufgrund ihres Gehalts an Zinkoxid mit der Berechnungsmethode als chronisch gewässergefährdend (H410) eingestuft wurden, mit Biotests entlastet werden, da das schwer lösliche Zinkoxid mit dem o. g. Schüttelverfahren nicht erfasst wird (siehe dazu auch Abschnitt 5.5).

3.3.2 Biotestbatterie

Die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Biotestbatterie gehört im Vergleich mit anderen europäischen Staaten zu den umfangreicheren Testbatterien (vgl. Abschnitt 3.1.1.2). Bei den empfohlenen aquatischen Ökotoxizitätstests handelt es sich um Kurzeittests; für die HP 14-Einstufung werden die EC₅₀-Werte herangezogen. Aus dem Algentest (DIN EN ISO 8692, 2012) kann jedoch auch eine chronische Effektkonzentration (z. B. EC₁₀ oder NOEC) abgeleitet werden. Auch die empfohlenen terrestrischen Tests sind mit Ausnahme des Tests auf Saataufbau und frühes Wachstum höherer Pflanzen Kurzeittests. Auch hier werden für die HP 14-Einstufung EC₅₀-Werte verwendet; die Ableitung chronischer Effektkonzentrationen ist z.T. möglich (siehe Abschnitt 5.6.2). Die Empfindlichkeit des Regenwurm-Vermeidungstests ist zudem durchaus vergleichbar mit dem chronischen Regenwurm-Reproduktionstest (Testdauer: 56 Tage) gemäß ISO 11268-2 (ISO 2023a) bzw. OECD-Richtlinie 222 (OECD 2016a; vgl. Scheffczyk et al. 2014) und damit deutlich höher als jene des Regenwurm-Akutttests (Testdauer: 14 Tage) gemäß ISO 11268-1 (ISO 2012d) bzw. OECD 207 (OECD 1984).

Die in der UBA-Handlungsempfehlung genannten Tests wurden auf ihre Aktualität hin überprüft; die aktuellen Richtlinien sind in Tabelle 16 aufgeführt. Mit der eventuellen Ausnahme des Auflauf- bzw. Wurzellängentests mit Kresse³² (siehe Abschnitt 3.2.3.3) wurden keine weiteren Tests mit einer hohen Relevanz für die Aufnahme in die Testbatterie identifiziert. Umgekehrt gab es keinen Anlass, den Umfang der Testbatterie für die im aktuellen Vorhaben durchgeführten ökotoxikologischen Arbeiten zu verkleinern (siehe z. B. Abschnitt 3.2.3.1). Die eingesetzten Testverfahren werden im Abschnitt 5.6.2 ausführlicher diskutiert.

Tabelle 16: Auf ihre Aktualität hin überprüfte Testbatterie aus der UBA-Handlungsempfehlung mit Testspezifikationen zur Ableitung von EC₅₀-Werten

Test	Testrichtlinie	Expositions-dauer	Anzahl Verdünnungs-stufen (plus Kontrolle)	Replikate pro Verdünnungs-stufe (Replikate in der Kontrolle)
Aquatische Ökotoxizitätstests (Untersuchung von Abfalleluaten)				
Hemmung der Bewegungsfähigkeit von <i>Daphnia magna</i>	DIN EN ISO 6341 (2013a), entspricht ISO 6341 (2012c)	48 h	5	4 (4)

³⁰ Das gilt auch für die Säulenelution.

³¹ Es wird daher darauf hingewiesen, dass bei der ökotoxikologischen Charakterisierung für die Risikobewertung einer umweltoffenen Verwertung von Abfällen Methoden eingesetzt werden müssen, die die Randbedingungen bei dieser Verwertung abbilden (UBA 2013)

³² Um zu untersuchen, ob der Kressetest möglicherweise den aufwändigeren Test mit terrestrischen Pflanzen nach ISO 11269-2 (ISO 2012a) ersetzen könnte, sind zunächst experimentelle Untersuchungen nötig.

Test	Testrichtlinie	Expositions-dauer	Anzahl Verdünnungs-stufen (plus Kontrolle)	Replikate pro Verdünnungs-stufe (Replikate in der Kontrolle)
Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen (<i>Raphidocelis subcapitata</i>) ^a	DIN EN ISO 8692 (2012), entspricht ISO 8692 (2012b)	72 h	5	3 (6)
Hemmwirkung auf die Lichtemission von <i>Aliivibrio fischeri</i> (ehem. <i>Vibrio fischeri</i>)	DIN EN ISO 11348-2 (2009 bzw. 2023) ^b , entspricht ISO 11348-2 (2007a) ^c	30 min	8	2 (2)

Terrestrische Ökotoxizitätstests (Untersuchung von Abfallproben)

Hemmung der Dehydrogenaseaktivität von <i>Arthrobacter globiformis</i>	DIN EN ISO 18187 (2018), entspricht ISO 18187 (2016a)	6 h	5	4 (4)
Wirkung auf Saataufbau und frühes Wachstum höherer Pflanzen (<i>Brassica rapa</i>)	DIN EN ISO 11269-2 (2013b), entspricht ISO 11269-2 (2012a)	14 d	12 ^d	2 (6)
Vermeidungsprüfung zur Bestimmung der Auswirkungen auf das Verhalten von Regenwürmern (<i>Eisenia fetida</i>)	DIN EN ISO 17512-1 (2020), entspricht ISO 17512-1 (2008a)	48 h	5	5 (5)

^aFür den Algenwachstumshemmtest lag zu Projektbeginn ein Normentwurf zur Durchführung in Mikrotiterplatten vor (DIN 38412-59, 2021); inzwischen liegt diese Norm in finalisierter Form vor (DIN 2022). ^bAktualisierung der Richtlinie nach Abschluss der experimentellen Arbeiten im Projekt. ^cMit Amendment ISO 11348-2:2007/Amd 1:2018. ^dUm zu ermitteln, ob die EC₅₀ ≤ oder > der Grenzkonzentration von 10% Abfallanteil ist, ist eine so hohe Anzahl von Verdünnungsstufen nicht notwendig.

4 Probenahme, Probenvorbereitung und ökotoxikologische Testung

Im vorliegenden Vorhaben sollen 10 Abfallproben aus Spiegeleinträgen ökotoxikologisch untersucht werden, um die in der UBA-Handlungsempfehlung vorgeschlagene Biotestbatterie und – soweit möglich – auch die Teststrategie zur HP 14-Einstufung zu überprüfen.

4.1 Auswahl der zu untersuchenden Abfallarten

Je Abfallart sollten mindestens 2 Proben aus unterschiedlichen Quellen untersucht werden, möglichst jeweils mindestens eine Probe des gefahrenrelevanten Spiegeleintrags und mindestens eine des nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrags. Bei der Auswahl der zu untersuchenden Abfallproben wurden Erfahrungen aus vorangegangenen Projekten (v. a. Moser & Römbke 2009, Römbke et al. 2009, Römbke 2018) und Vorschläge für zu untersuchende Abfälle von UBA, BMUV und dem Begleitkreis des Projektes berücksichtigt.

Die Auswahl der Abfälle wurde unter Berücksichtigung der folgenden Aspekte vorgenommen:

- ▶ Die Abfälle sollten in Hinblick auf die jährlich anfallenden Mengen sowie die Verbreitung in Deutschland und Europa relevant sein (z. B. gemessen an der Anzahl und Lage der mit der jeweiligen Abfallart befassten Entsorgungsanlagen).
- ▶ Es sollte Zugang zum gefahrenrelevanten und nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag vorhanden sein.
- ▶ Es sollte keine Bedenken hinsichtlich technischer Probleme bei der Probenahme geben.
- ▶ Im vorliegenden Projekt konnten keine chemisch-analytischen Untersuchungen durchgeführt werden. Daher sollen Abfälle untersucht werden, für die Daten zur chemischen Analytik vorliegen (Analysendatenbank ABANDA) bzw. von den Abfalllieferanten zur Verfügung gestellt werden konnten (idealerweise für einen Zeitraum von 2-3 Jahren).
- ▶ Abfälle mit hohem organischem Anteil (z. B. Klärschlamm, Kompost) sind aufgrund ihres hohen Nährstoffgehalts und der dadurch hohen Sauerstoffzehrung nicht sinnvoll in Biotests zu untersuchen und wurden daher ausgeschlossen.
- ▶ Flüssige und wässrige Abfälle (z. B. Deponie-Sickerwasser) stellen technisch ein Problem für die Untersuchung in terrestrischen Tests dar (eine Trocknung ist innerhalb von 24 Stunden nicht möglich) und wurden daher ausgeschlossen.

Basierend auf Vorschlägen von UBA, BMUV, Begleitkreis und Projektnehmern wurden auf dem Projekttreffen am 10.02.2022 vier Abfallarten (Spiegeleinträge) ausgewählt: Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl, Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04), Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04) und Holz aus Abfallbehandlungsanlagen (19 12 06*/19 12 07). Diese Vorschläge wurden auf dem Begleitkreistreffen am 09.03.2022 diskutiert. Vom Begleitkreis wurde angeregt, im Vorhaben nur Abfälle zu untersuchen, die allein aufgrund des Kriteriums HP 14 als gefährlich eingestuft werden. Entsprechende Daten stehen jedoch unseres Wissens nicht öffentlich zur Verfügung. In Hinblick auf die Abfallart Holz aus Abfallbehandlungsanlagen (19 12 06*/19 12 07) wurden von Seiten des Begleitkreises sowie des UBA und des BMUV wegen möglicher Überschneidungen mit der Altholzverordnung (AltholzV 2020) Bedenken angemeldet. Daher wurde diese Abfallart im weiteren Verlauf des Projekts nicht untersucht. Tabelle 17 gibt einen Überblick über die

ausgewählten Spiegeleinträge. Im weiteren Verlauf des Projekts musste die Auswahl der Abfälle teilweise etwas modifiziert werden (siehe Abschnitt 4.2.7).

Tabelle 17: Ausgewählte Abfallarten (Spiegeleinträge).

Abfallschlüssel	Abfallart	Anmerkungen
10 09 09*/ 10 09 10	Filterstaub (vom Gießen von Eisen und Stahl)	Enthält eluierbare Schwermetalle (ggf. hohe Konzentrationen).
17 05 03*/ 17 05 04	Boden und Steine	Massenabfall mit erheblicher Messunsicherheit. Laut Berechnungsmethode oft gefährlich. Interessant war aus Sicht der Auftragnehmer v. a. Straßenbankett (Aushub am Rand von Straßen, z. B. durch Reifenabrieb belastet).
19 10 03*/ 19 10 04	Shredderleichtfraktionen und Staub (SLF)	Massenabfall, sehr heterogene Zusammensetzung, anspruchsvolle Probenvorbereitung. Verschiedene Quellen verfügbar (Material ist prozessspezifisch).

4.1.1 Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl

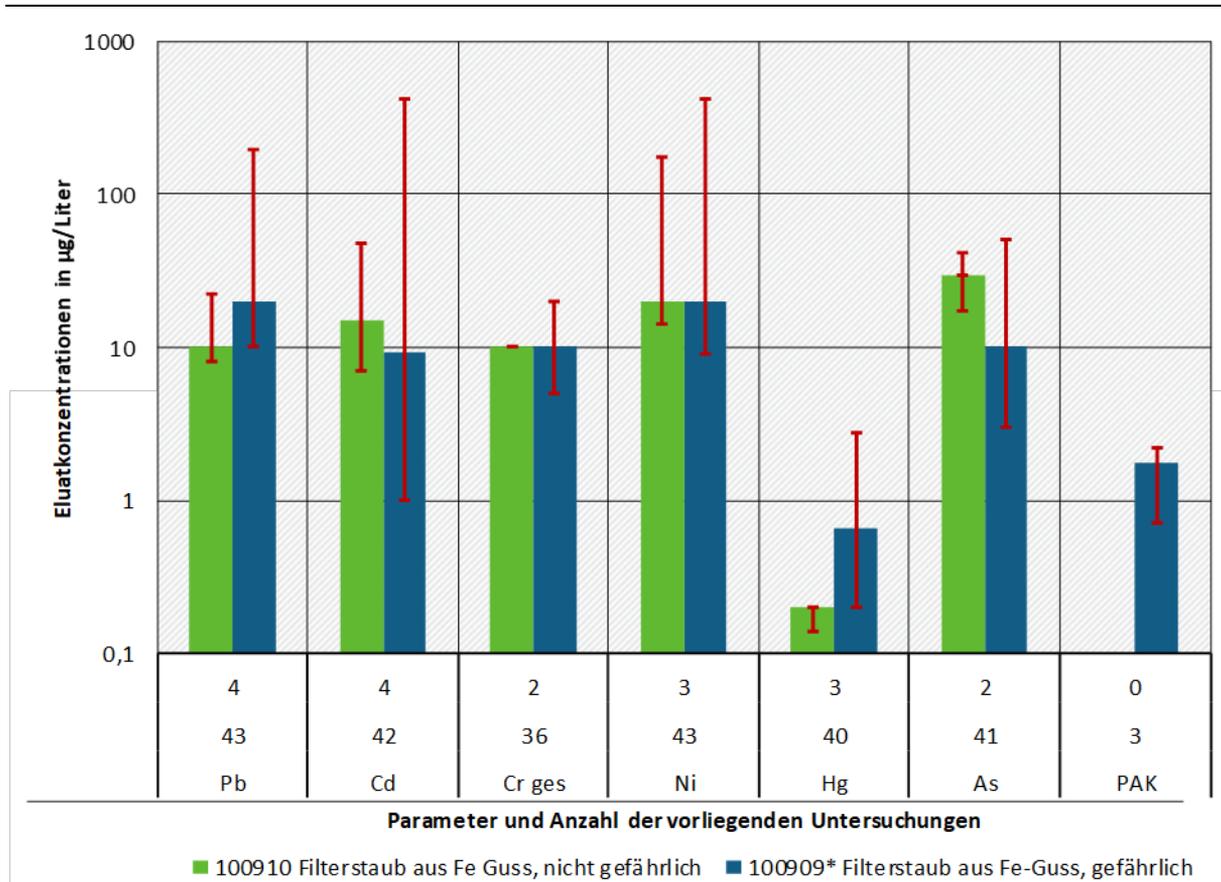
Gemäß Angaben des Statistischen Bundesamtes (Destatis 2022) wurden im Jahr 2019 insgesamt 62.400 t Filterstäube von Gießen aus Eisen und Stahl in Abfallentsorgungsanlagen angeliefert. Auf den Abfallschlüssel 10 09 09* entfielen davon 12% (7.400 t). Das Material ist in 24 verschiedene Anlagen gelangt. Es handelt sich um sieben Deponien, fünf chemisch-physikalische Anlagen und zwölf sonstige Anlagen. Unter dem Abfallschlüssel 10 09 10 wurden im Jahr 2019 insgesamt 55.000 t in Abfallentsorgungsanlagen angeliefert, 34% davon (18.700 t) haben die Anlagen als Abfälle zur Verwertung wieder verlassen.

Im Hinblick auf die vorliegenden Analysenergebnisse für den Abfallschlüssel 10 09 09*/10 09 10 ist zu Projektbeginn im November 2021 die Analysendatenbank ABANDA abgefragt worden, die als Hilfsmittel zur Abfallbeurteilung entwickelt wurde. In dieser Datenbank werden die verfügbaren Informationen zu Herkunft, Verbleib und Zusammensetzung von Abfällen gesammelt, geordnet und gespeichert. Die in ABANDA verfügbaren Ergebnisse zu 10 09 09*/10 09 10-Abfällen sind in Abbildung 5 und Abbildung 6 zusammenfassend dargestellt; die Art der Darstellung ist im Folgenden erläutert:

- ▶ Vor dem Hintergrund der Gefahrstoffeigenschaften werden in den Spiegeleinträgen vergleichend die Elemente Blei (Pb), Cadmium (Cd), Chrom gesamt (Cr), Nickel (Ni), Quecksilber (Hg) und Arsen (As) sowie die polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) betrachtet.
- ▶ Die Anzahl der vorliegenden Untersuchungen ist in der Legende der x-Achse oberhalb der Untersuchungsparameter aufgeführt. Oben ist die Anzahl der Untersuchungen für den ungefährlichen Spiegeleintrag angegeben, darunter jene für den gefährlichen Spiegeleintrag.
- ▶ Die Medianwerte der vorliegenden Daten für den ungefährlichen Abfall sind als grüne Balken dargestellt, während die blauen Balken die Mediane der gefährlichen Abfälle darstellen.
- ▶ Die in roter Farbe dargestellten Schwankungsbreiten umfassen den Bereich vom 20er- bis zum 80er Perzentil.
- ▶ Die Skalierung der y-Achse ist aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit logarithmisch.

Die nachfolgenden Abbildungen liefern jeweils zunächst die Daten zu den Eluatuntersuchungen und darunter jene für die Feststoffe.

Abbildung 5: ABANDA-Daten zu Eluatuntersuchungen von Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl.

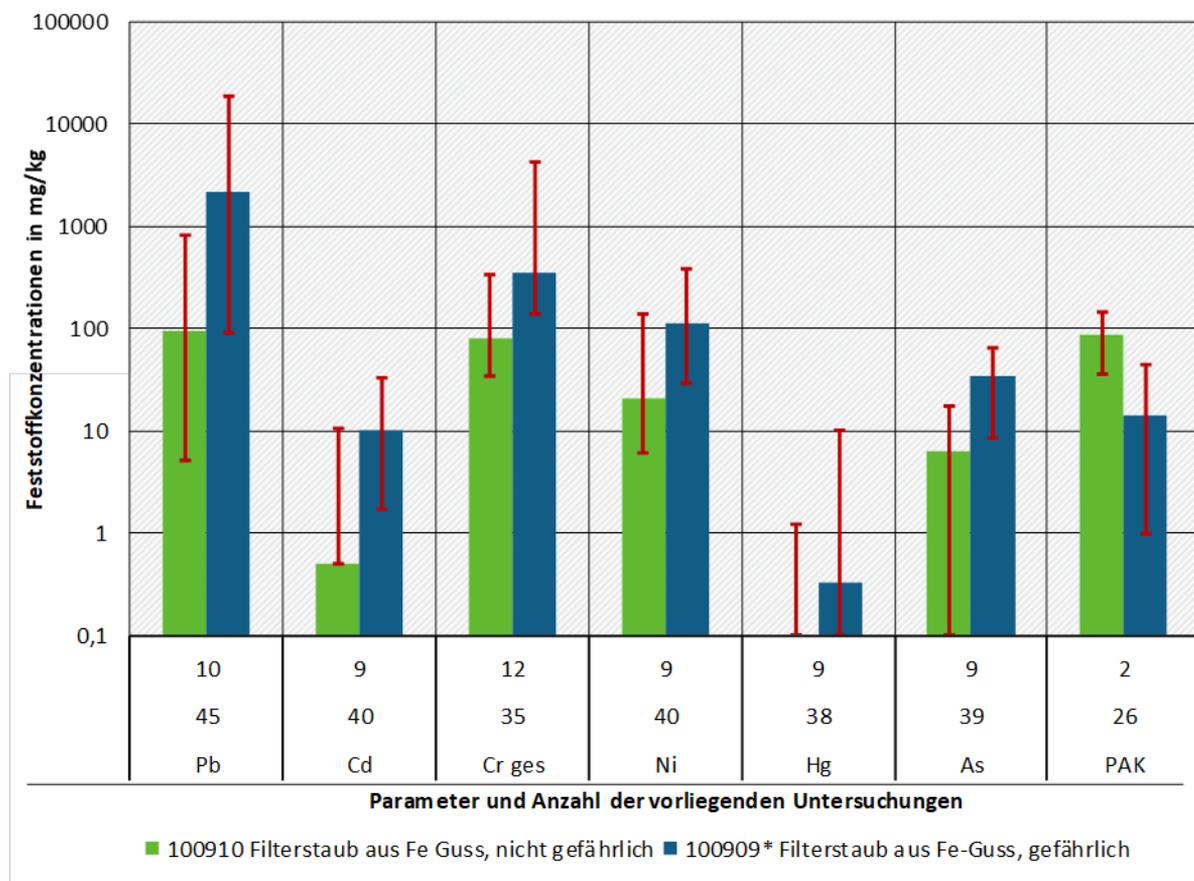


Grüne Balken: Medianwerte der vorliegenden Daten für den ungefährlichen Abfall; blaue Balken: Medianwerte für den gefährlichen Abfall. Beschriftung der x-Achse, oben: Anzahl der Untersuchungen für den ungefährlichen Spiegeleintrag, darunter: Anzahl der Untersuchungen für den gefährlichen Spiegeleintrag. Rote Balken: Schwankungsbreiten (20er- bis 80er Perzentil).

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf ABANDA 11/21.

Für die Eluatuntersuchungen ist auffällig, dass nur sehr wenige Untersuchungen für den nicht gefährlichen Spiegeleintrag vorliegen. Die Eluatkonzentrationen im gefährlichen und nicht gefährlichen Spiegeleintrag liegen in einer vergleichbaren Größenordnung.

Abbildung 6: ABANDA-Daten zu Feststoffuntersuchungen von Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl



Grüne Balken: Medianwerte der vorliegenden Daten für den ungefährlichen Abfall; blaue Balken: Medianwerte für den gefährlichen Abfall. Beschriftung der x-Achse, oben: Anzahl der Untersuchungen für den ungefährlichen Spiegeleintrag, darunter: Anzahl der Untersuchungen für den gefährlichen Spiegeleintrag. Rote Balken: Schwankungsbreiten (20er- bis 80er Perzentil).

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf ABANDA 11/21.

Im Hinblick auf die Feststoffuntersuchungen geht die Einstufung als gefährlicher Abfall offenbar mit deutlich erhöhten Gehalten an Schwermetallen und hier insbesondere mit hohen Konzentrationen an Blei einher. Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe spielen in den gefährlichen Filterstäuben vom Gießen von Eisen und Stahl offenbar eine eher untergeordnete Rolle.

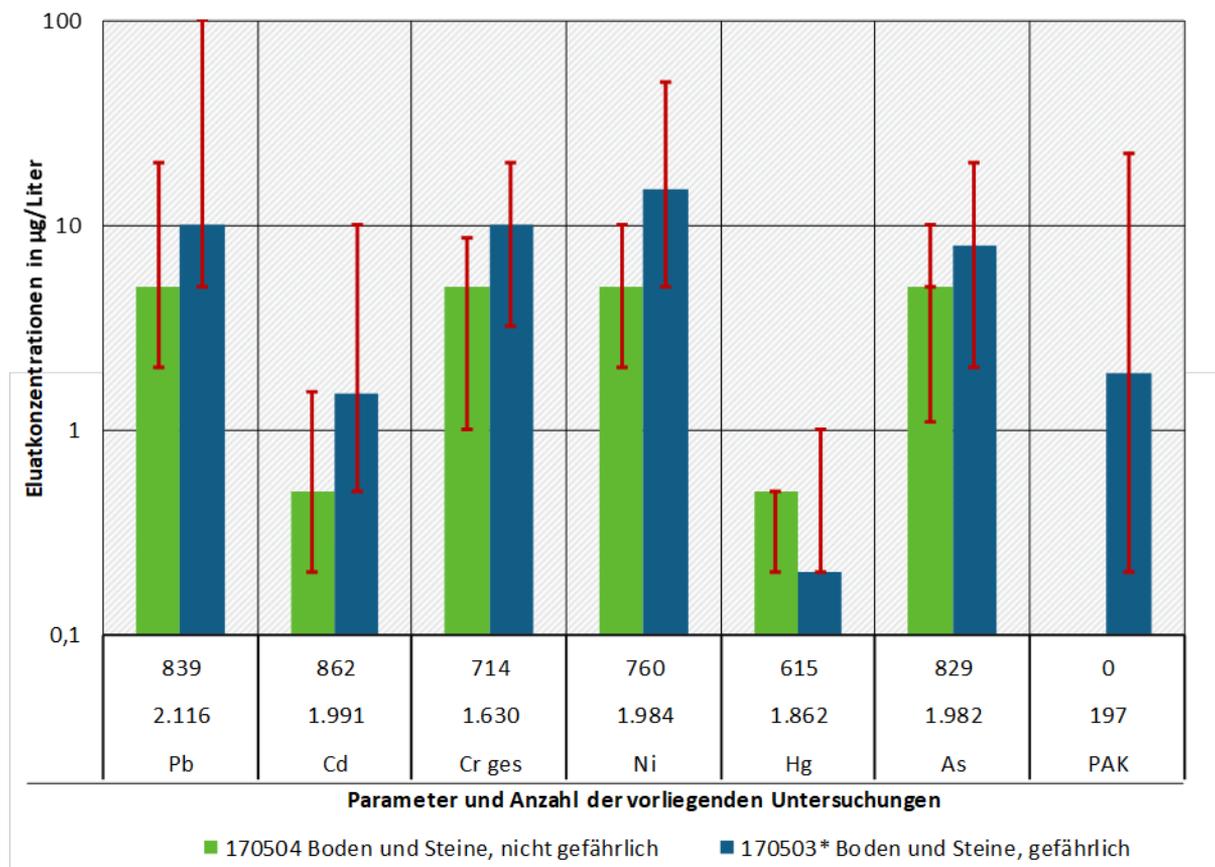
4.1.2 Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04)

Für Boden und Steine gibt es eine Vielzahl von Behandlungs- und Aufbereitungsanlagen. In der Nettobilanz (Input-Output) aller Anlagen (ohne übertägige Abbaustätten³³) zeigen die Daten für 2019 einen Mengenstrom von insgesamt 20,4 Mio t Boden, der zu mehr als 90% auf Deponien abgelagert wird. Von den auf Deponien abgelagerten Böden sind 6,5% (1,2 Mio t) als gefährlich eingestuft.

Dem hohen Mengenaufkommen entsprechend liefert die Analysendatenbank ABANDA eine Vielzahl an Daten (siehe Abbildung 7 und Abbildung 8).

³³ Übertägige Abbaustätten sind Tagebaue/Gruben, aus denen Rohstoffe (z.B. Sand, Kies, Braunkohle) gewonnen werden oder wurden (Statistisches Landesamt, Freistaat Sachsen, 2013).

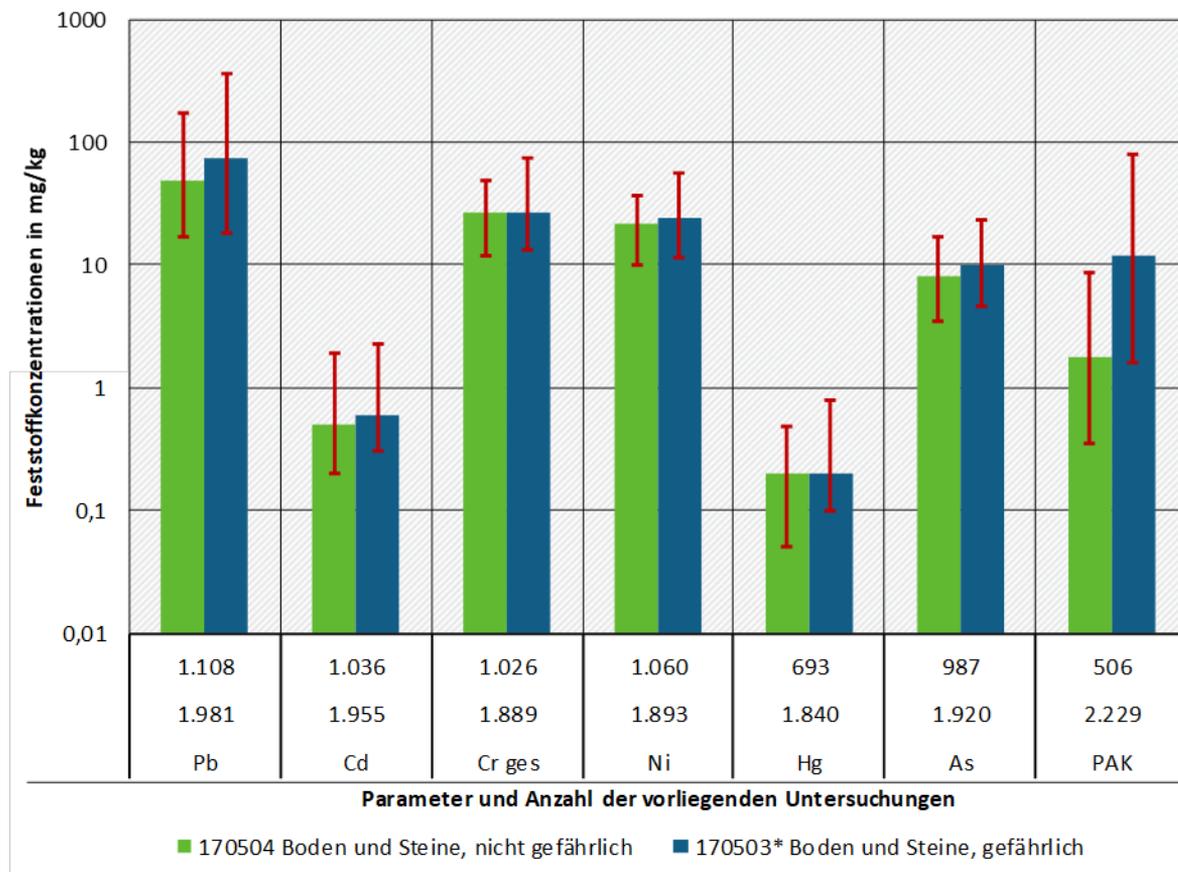
Abbildung 7: ABANDA-Daten zu Eluatuntersuchungen von Boden und Steinen (17 05 03*/ 17 05 04).



Grüne Balken: Medianwerte der vorliegenden Daten für den ungefährlichen Abfall; blaue Balken: Medianwerte für den gefährlichen Abfall. Beschriftung der x-Achse, oben: Anzahl der Untersuchungen für den ungefährlichen Spiegeleintrag, darunter: Anzahl der Untersuchungen für den gefährlichen Spiegeleintrag. Rote Balken: Schwankungsbreiten (20er- bis 80er Perzentil).

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf ABANDA 11/21.

Abbildung 8: ABANDA-Daten zu Feststoffuntersuchungen von Boden und Steinen (17 05 03/ 17 05 04).



Grüne Balken: Medianwerte der vorliegenden Daten für den ungefährlichen Abfall; blaue Balken: Medianwerte für den gefährlichen Abfall. Beschriftung der x-Achse, oben: Anzahl der Untersuchungen für den ungefährlichen Spiegeleintrag, darunter: Anzahl der Untersuchungen für den gefährlichen Spiegeleintrag. Rote Balken: Schwankungsbreiten (20er- bis 80er Perzentil).

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf ABANDA 11/21.

Die vorliegenden Feststoffuntersuchungen zeigen für Böden kaum Unterschiede in den Schwermetallkonzentrationen. Auffällig sind dagegen die in den gefährlichen Abfällen deutlich erhöhten Werte für PAKs.

4.1.3 Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04)

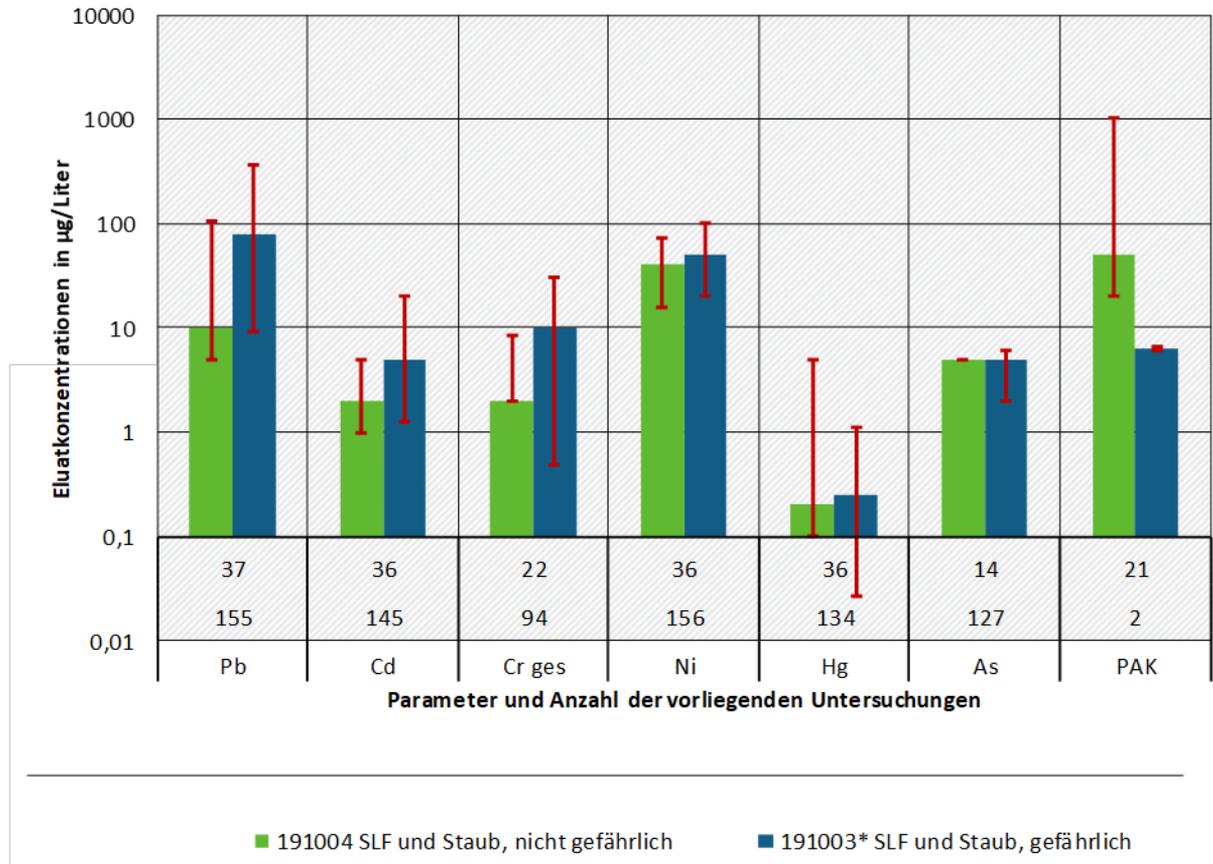
Metallshredder werden zum mechanischen Aufschluss von eisen- und aluminiumhaltigen Abfällen und zunehmend auch für Elektroabfälle eingesetzt. Bei Shredderleichtfraktionen handelt es sich um Material, das nach dem Aufschluss durch Windsichtung³⁴ abgetrennt wird. Shredderleichtabfall enthält einen Kunststoffanteil von etwa 30%, außerdem u.a. Gummi, Holz, Textilien, Glas und Metalle, wie sie im Automobilbau und in Elektrogeräten verbaut werden.

Eine belastbare Mengenabschätzung für das Aufkommen an Shredderleichtfraktionen ist aus den Daten des Statistischen Bundesamtes nicht ableitbar. Schätzungen von Experten weisen darauf hin, dass jährlich ca. 600.000 t Shredderleichtfraktionen anfallen, die die unterschiedlichsten Aufbereitungs- und Verwertungswege durchlaufen (Flamme 2019). Jährlich

³⁴ Windsichtung ist ein mechanisches Trennverfahren, bei dem Partikel anhand des Verhältnisses von Massenkraft und Strömungswiderstand in einem Gasstrom sortiert werden.

gelangen ca. 15.000 t Shredderleichtabfall in Müllverbrennungsanlagen. Davon sind etwa 40% als gefährlicher Abfall deklariert. Weitere 150.000 t pro Jahr gelangen in sonstige Anlagen, davon sind 23% als gefährlicher Abfall eingestuft.

Abbildung 9: ABANDA-Daten zu Eluatuntersuchungen von Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04).

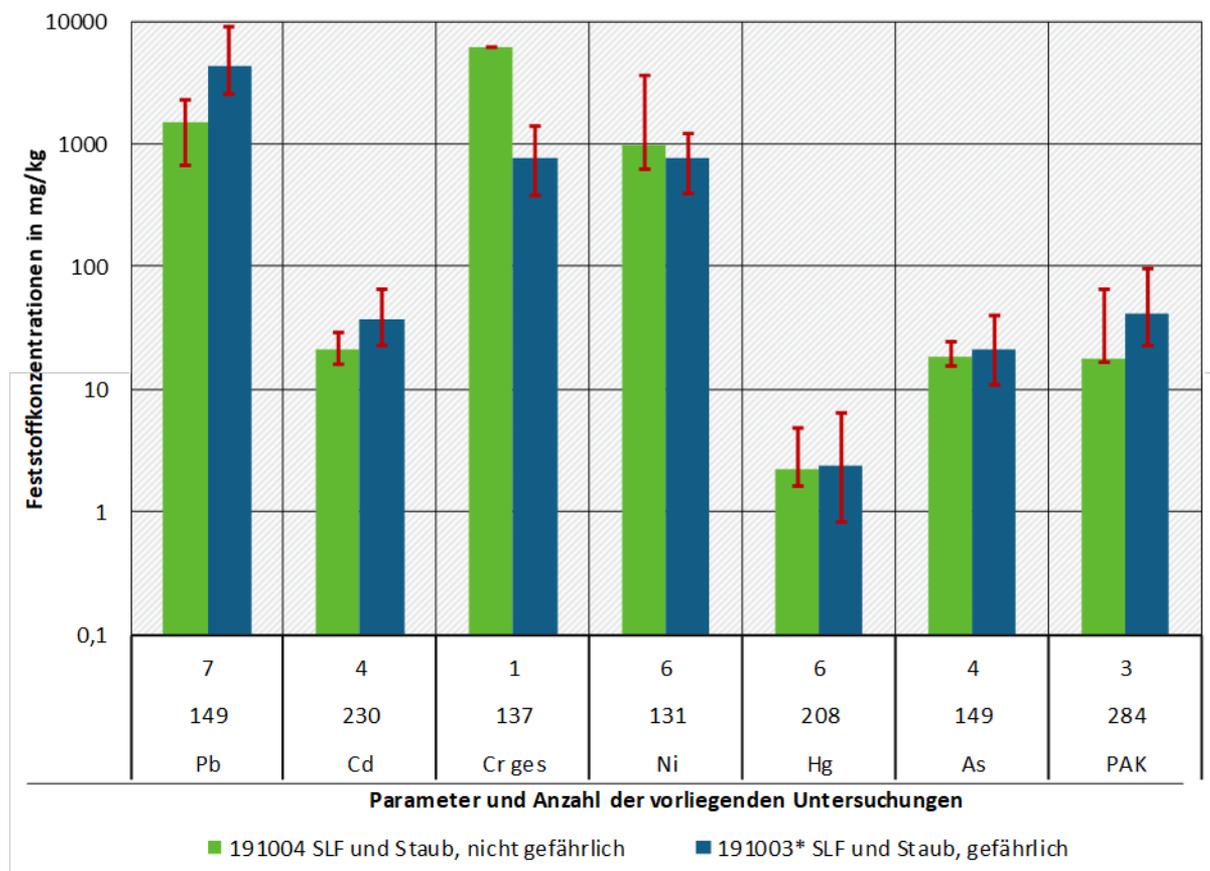


Grüne Balken: Medianwerte der vorliegenden Daten für den ungefährlichen Abfall; blaue Balken: Medianwerte für den gefährlichen Abfall. Beschriftung der x-Achse, oben: Anzahl der Untersuchungen für den ungefährlichen Spiegeleintrag, darunter: Anzahl der Untersuchungen für den gefährlichen Spiegeleintrag. Rote Balken: Schwankungsbreiten (20er- bis 80er Perzentil).

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf ABANDA 11/21.

Die Eluate zeigen für die als gefährlich eingestuft Abfälle leicht erhöhte Konzentrationen für die Schwermetalle. Es gibt jedoch stets Überlappungsbereiche. Bei den PAK liegen nur 2 Untersuchungen für gefährliche Abfälle vor (Abbildung 9).

Abbildung 10: ABANDA-Daten zu Feststoffuntersuchungen von Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04).



Grüne Balken: Medianwerte der vorliegenden Daten für den ungefährlichen Abfall; blaue Balken: Medianwerte für den gefährlichen Abfall. Beschriftung der x-Achse, oben: Anzahl der Untersuchungen für den ungefährlichen Spiegeleintrag, darunter: Anzahl der Untersuchungen für den gefährlichen Spiegeleintrag. Rote Balken: Schwankungsbreiten (20er- bis 80er Perzentil).

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf ABANDA 11/21.

Als gefährlich eingestufte Shredderleichtfraktionen fallen durch erhöhte PAK-Gehalte auf. Hinsichtlich der Schwermetallgehalte überschreiten die 80er-Perzentile für die Elemente Blei, Chrom und Nickel in diesen Shredderleichtfraktionen (19 10 03*) 1.000 mg/kg. Ergebnisse chemischer Analysen von nicht als gefährlich eingestuften Shredderleichtfraktionen erreichen ebenfalls diese Größenordnung, allerdings ist die Anzahl vorliegender Analysen hier sehr gering (siehe Abbildung 10).

4.2 Probenahme und Probenvorbereitung

Im vorliegenden Projekt wird angestrebt, dem normativen europäischen Hintergrund (CEN/TR 15310, EN 14735) ebenso gerecht zu werden wie der in Deutschland überwiegend angewandten Probenahme nach den Vorgaben der LAGA PN 98. In Hinblick auf die Probenahme und Probenvorbehandlung sind die im Folgenden diskutierten Aspekte wesentlich in Bezug auf die Gewinnung von Proben zur Erzielung reproduzierbarer Ergebnisse (siehe auch Ketelhut 2013).

Die Ergebnisse von chemisch-analytischen Messungen von Merkmalsgehalten und von Biotests sind die Grundlage für Entscheidungen hinsichtlich der weiteren Verwertung oder Behandlung von Abfällen. Dies erfordert, dass die Untersuchungsergebnisse ausreichend verlässlich sind. Die

Messergebnisse aus den gewonnenen Proben sollten daher innerhalb von akzeptablen Fehlergrenzen reproduzierbar sein.

Jede Messung in heterogenen Stoffgemischen bedarf der Festlegung von Zielsetzung und Grundgesamtheit. Bei einer Grundgesamtheit handelt es sich um Material, für das mit hinreichender Sicherheit angenommen werden kann, dass es im Hinblick auf den Abfallschlüssel, die Herkunft sowie wesentliche Eigenschaften als einheitlich angesprochen werden kann. Grundsätzlich kommen in Frage:

- ▶ ein Stoffstrom,
- ▶ ein Haufwerk oder
- ▶ eine sonstige Ablagerung

Bei Abfällen mit identischer Herkunft, identischem Abfallschlüssel und identischer Charge ist von einer gewissen Einheitlichkeit auszugehen. Diese Einheitlichkeit muss sich auch in den Abfalluntersuchungen reproduzierbar widerspiegeln lassen. Bestehen Zweifel an der Einheitlichkeit, so ist das Material nachvollziehbar begründet in mehrere Grundgesamtheiten aufzuteilen. Die maximale Größe einer Grundgesamtheit ist vor dem Hintergrund der vorliegenden Informationen und Rahmenbedingungen von einem Sachkundigen im Probenahmeplan (EU 2018 sowie EN 14899) festzulegen. Gemäß CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a) soll der Probenahmeplan dabei folgende technische Zielsetzungen abdecken:

- ▶ Definition der Grundgesamtheit
- ▶ Beschreibung auftretender Varianzen
- ▶ Entscheidung für eine Probenahmestrategie
- ▶ Skalierung der auftretenden Heterogenität
- ▶ Abschätzung von Aussagesicherheit und Vertrauensbereich

Grundlage einer belastbaren Untersuchung ist die Gewinnung von Zufallsstichproben. Eine Zufallsstichprobe ist eine Teilmenge der Grundgesamtheit, die jedem Element der Grundgesamtheit die gleiche Chance gibt, Bestandteil der Probe zu werden (CEN 2006a). Bei Stoffströmen sind die Zufallsstichproben daher zeitlich, bei ruhenden Massen räumlich zufällig zu verteilen. Für die Probenahme zur Ermittlung mittlerer Merkmalsgehalte und ihrer Wirkungen ist es sinnvoll, zwei Arten der Heterogenität zu unterscheiden (CEN 2006a):

1. zeitlich-räumliche Heterogenität und
2. partikuläre Heterogenität.

4.2.1 Berücksichtigung der zeitlich-räumlichen Heterogenität

Die zeitlich-räumliche Heterogenität ist eine Gemischheterogenität. Sie beschreibt Schwankungen in der Zusammensetzung eines Materialgemisches, das aus verschiedenen, aber von der Zusammensetzung her identischen oder zumindest vergleichbaren Grundbestandteilen besteht. Dies können zum Beispiel einzelne Lieferchargen eines Abfalls sein, die in Bezug auf die enthaltenen Bestandteile grundsätzlich vergleichbar sind, aber je nach Charge unterschiedliche Anteile dieser Bestandteile enthalten. Bei technisch erzeugten Stoffströmen aus kontinuierlich arbeitenden Anlagen können z. B. die Dosierungen von Teilströmen oder kurzzeitige technische Defekte auf die aktuelle Abfallzusammensetzung durchschlagen. Diese zeitlich-räumliche Heterogenität kann sich auf die Merkmalsgehalte in Zufallsstichproben auswirken.

Bezogen auf die Grundgesamtheit kann diese Heterogenität durch Durchmischung eines Haufwerkes behoben werden, so dass in hinreichend großen Mischproben lediglich ein zufallsbedingter Merkmalsunterschied messbar wäre. Soll in einer festgelegten Grundgesamtheit ein mittlerer Merkmalsgehalt bestimmt werden, muss eine hinreichende Zahl von Einzelproben als Zufallsstichproben entnommen werden.

4.2.2 Berücksichtigung der partikulären Heterogenität

Die partikuläre Heterogenität ist die Heterogenität der Merkmalsgehalte (M) der einzelnen, die Grundgesamtheit ausmachenden Partikel. Sie ist nicht durch Mischung zu beheben, da die Merkmalsfracht unmittelbar an die einzelnen Partikel gebunden ist. Ist der Partikel in der Probe enthalten, geht seine gesamte Fracht (Gewicht x Merkmalsgehalt) in den Messwert ein. Die Merkmalsgehalte einzelner Partikel sind in der Regel nicht zufällig, sondern bei Naturstoffen geologisch oder biologisch und bei synthetischen Materialien rezepturbedingt mehr oder weniger definiert.

Da die partikuläre Heterogenität durch Vermischung nicht zu beheben ist, muss eine Probe zu jedem Zeitpunkt so umfangreich sein, dass die zufällig durch ein einzelnes Partikel in die Probe eingetragene Merkmalsfracht die Summe der Merkmalsfrachten aller Partikel nicht signifikant beeinflusst. In der Praxis hat es sich bewährt, die Proben anhand von mit potenziellen „Merkmalsträgern“ eingetragenen „Merkmalsfrachten“ zu dimensionieren.

Die Merkmalsfracht in einer Mischprobe ist die Summe der Frachten aller Partikel in dieser Probe. Daher ist es von Belang, wie sich das mittlere Gewicht der Frachtträger in Relation zum mittleren Gewicht aller Partikel verhält. So tragen zum Beispiel Metalle aufgrund ihrer hohen Dichte in der Regel überproportionale Frachten ein. Um die Merkmalsfracht nicht vom zufälligen Gewicht einzelner Frachtträger beeinflussen zu lassen, sollte in einer Probe immer eine hinreichende Anzahl von Frachtträgern enthalten sein.

4.2.3 Vorüberlegungen zur Probenahme

Ziel der Probenahme ist es, eine Zufallsstichprobe herzustellen, d. h. jedem Partikel der Grundgesamtheit eine möglichst identische Chance zu geben, Bestandteil der Probe zu werden. Die ideale Probenahme erfolgt aus dem fallenden Strom aus dem Bandabwurf einer Förderanlage. Dabei müssen die Zufallsstichproben den gesamten Zeitraum abdecken, in dem die Grundgesamtheit produziert wird. Die Entnahmezeitpunkte sollten über den gesamten Zeitraum gestreut, aber hinreichend zufällig sein. Von einer exakten Taktung wird abgeraten, um nicht Gefahr zu laufen, mit einer etwaigen Anlagentaktung parallel zu laufen.

Sollte eine Probenahme aus dem Bandabwurf nicht möglich sein, muss die Probenahme aus ruhendem Materialien (Haufwerken oder sonstigen Ablagerungen) erfolgen. Da nicht bekannt ist, inwieweit durch die Haufwerksbildung eine Materialentmischung stattgefunden hat, wird empfohlen, von einer direkten Probenahme aus dem Haufwerk Abstand zu nehmen. Zur Gewinnung von Zufallsstichproben aus ruhenden Materialien bieten sich folgende Möglichkeiten an:

Ablagerungen

- ▶ Abbildung in einem dreidimensionalen Koordinatensystem,
- ▶ Bestimmung der Koordinaten für die Einzelproben aus Zufallszahlen für jede Dimension.

Haufwerke

Um der möglichen Entmischung durch die Haufwerksbildung entgegenzuwirken, wird empfohlen, in Haufwerken mit Radladern und großen Massen zu arbeiten. Der Radlader dient dabei zur Gewinnung der Einzelproben, wobei das Haufwerk in seinen Gesamtdimensionen erfasst werden soll. Grundsätzlich gilt: je heterogener das Material in den Abmessungen ist, desto größer ist die Gefahr der Entmischung und desto mehr Aufwand sollte zur Homogenisierung getrieben werden.

Kleinere Haufwerke können beprobt werden, indem das dreidimensionale Haufwerk mittels Radlader in ein möglichst zweidimensionales flächiges Gebilde (Probenahmet Teppich) mit einer Höhe überführt wird, die es ermöglicht, mit einem geeigneten Probenahmegerät (z. B. einem Stechzylinder) an einem zufälligen Punkt des Teppichs eine Einzelprobe zu gewinnen. Das Haufwerk wird mittels Radlader auf einem geeigneten Untergrund gut durchmischt und dann durch Rückwärtsfahren mit auf die Zielhöhe abgesenkter Schaufel ausgebreitet. Auf der entstehenden Fläche von beispielsweise 3 x 10 m können dann mittels Zufallszahlen Punkte ausgewählt werden, die mit Hilfe eines Stechzylinders geeigneter Größe vollständig über die gesamte Höhe des Teppichs beprobt werden.

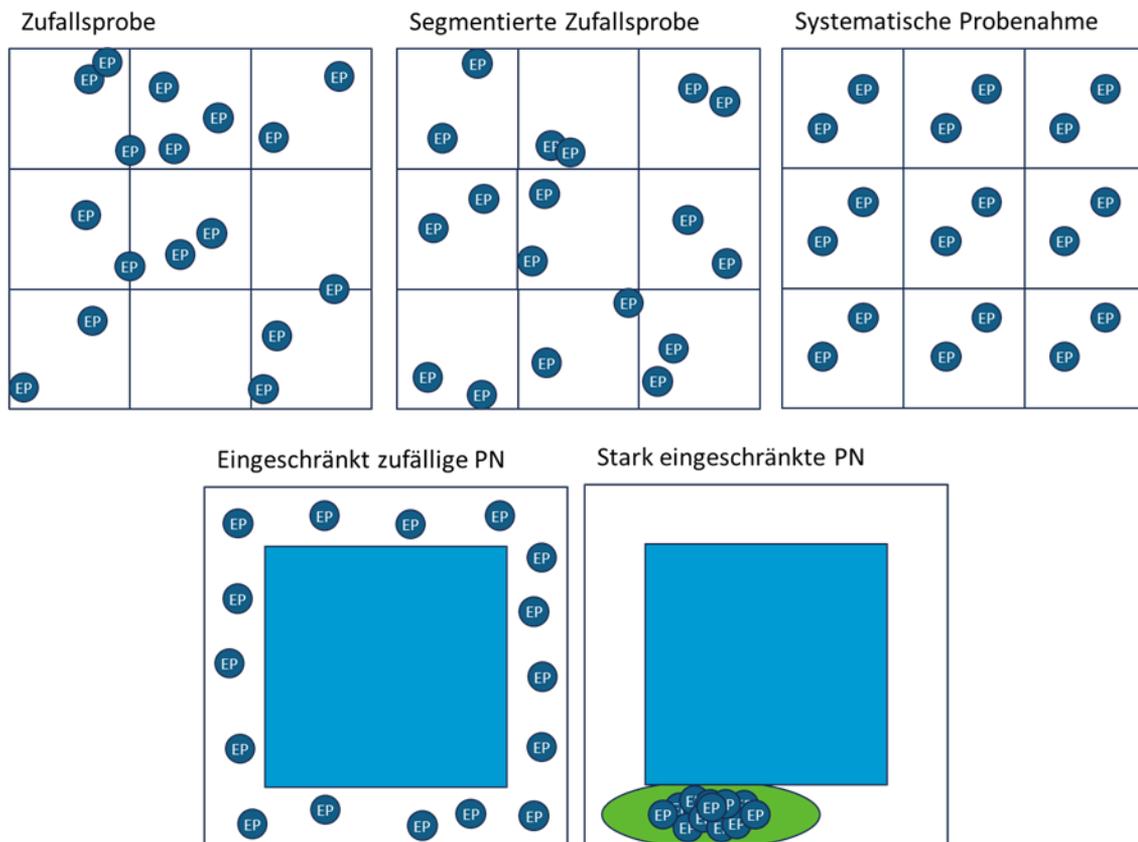
Bei größeren Haufwerken gestaltet sich die Probenahme schwieriger. Sofern es gelingt, senkrechte Bruchkanten zu erzeugen, kann mit der Radladerschaufel aus einer Bruchkante von unten nach oben eine Einzelprobe von etwa 200 bis 500 dm³ gewonnen werden. Mindestens 16 derartig gewonnene Einzelproben werden auf einem geeigneten Untergrund vereinigt und durchmischt. Die Mischprobe kann dann zu einem Probenahmet Teppich ausgebreitet werden und mittels geeignetem Stechzylinder beprobt werden (wiederum mindestens 16 Einzelproben). Alternativ kann die Radladmischprobe auch über ein Förderband geführt werden, so dass die Probenahme aus dem fallenden Strom erfolgen kann.

Welche Vorgehensweise schließlich gewählt wird, hängt von der Zielsetzung, den konkreten Rahmenbedingungen und technischen Möglichkeiten zur Probenahme ab. Wichtig ist, die gewählte Probenahmestrategie zu definieren und zu dokumentieren. Nach CEN/TR 15310-1 gibt es die in Tabelle 18 und Abbildung 11 dargestellten Varianten der Probenahme.

Tabelle 18: Überblick über die Probenahmestrategien nach CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a).

Benennung	Beschreibung
Einfache Zufallsprobe (<i>simple random sampling</i>)	Einzelproben sind vollständig zufällig über die Grundgesamtheit verteilt.
Segmentierte Zufallsstichprobe (<i>stratified random sampling</i>)	Einzelproben sind in definierten zeitlich/räumlich vorgegebenen Segmenten zufällig verteilt.
Systematische Probenahme (<i>systematic sampling</i>)	Einzelproben sind gleichmäßig über definierte zeitlich/räumlich vorgegebenen Segmente verteilt.
Eingeschränkt zufällige Probenahme (<i>judgemental sampling</i> (1))	Zufällige Probenahme aus einem zeitlich/räumlich eingeschränkten Bereich.
Stark eingeschränkte Probenahme (<i>judgemental sampling</i> (2))	Zufällige Probenahme aus einem zeitlich/räumlich stark eingeschränkten Bereich.

Abbildung 11: Probenahmestrategien nach CEN/TR 15310-1



EP: Einzelprobe, PN: Probenahme.

Quelle: Eigene Darstellung Ralf Ketelhut, Stoffstromdesign, nach CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a).

Aus der Darstellung der Probenahmestrategien wird deutlich, dass die Vorgabe, jedem Partikel eine identische Chance einzuräumen, Bestandteil der Probe zu werden, zunehmend eingeschränkt wird. Je nach angetroffenen Rahmenbedingungen muss eine Entscheidung über die Probenahmestrategie getroffen und begründet werden.

4.2.4 Vorüberlegungen zu Umfang und Anzahl der Einzelproben

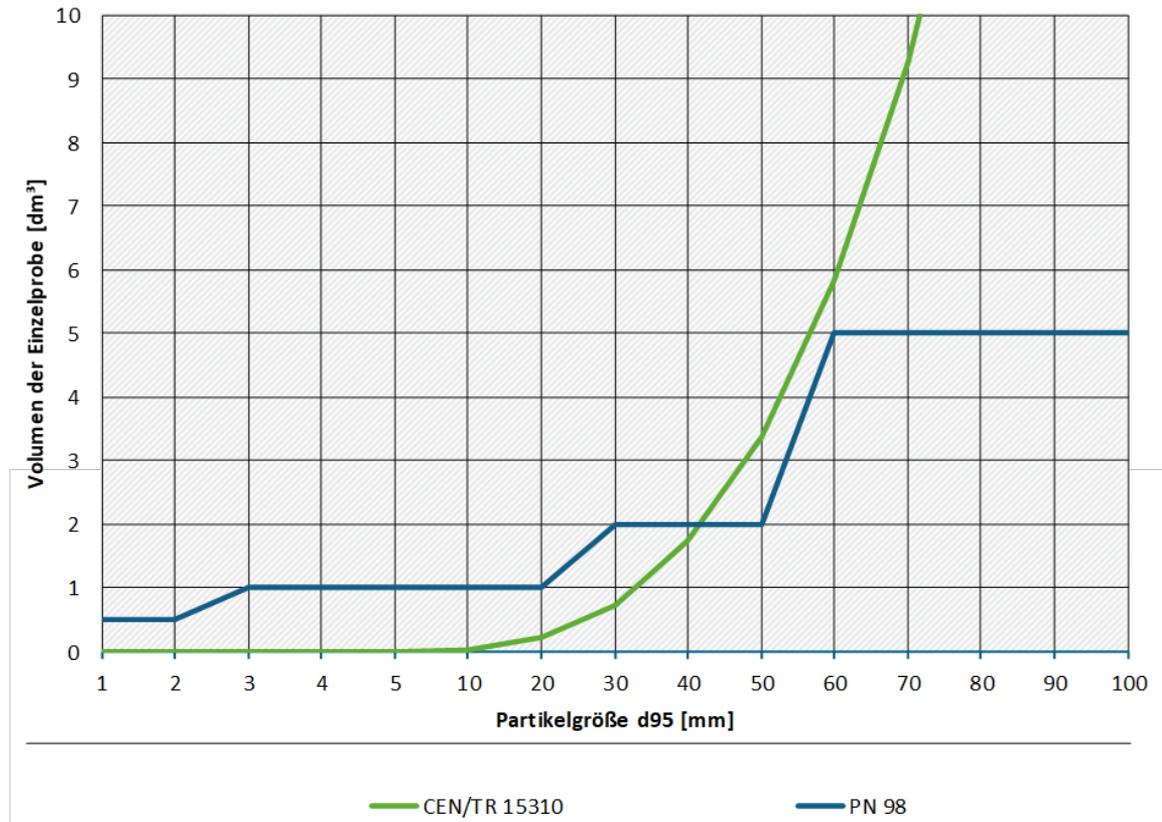
Die Größe und Anzahl der Einzelproben bzw. deren Mindestprobenmasse stehen in direktem Zusammenhang mit der partikulären sowie der zeitlich/räumlichen Heterogenität (CEN/TR 15310-1, Annex D). Zur Vorgehensweise bei der Gewinnung von Einzelproben macht die CEN/TR 15310-1 folgende Vorgaben:

- ▶ Das Probenahmegerät für Partikelgrößen $d_{95} \leq 3$ mm sollte eine Größe von mindestens 10 mm in allen Raumrichtungen aufweisen.
- ▶ Für Partikelgrößen $d_{95} > 3$ mm soll das Probenahmegerät mindestens den 3-fachen Durchmesser des Größtkorns aufweisen.

Die Festlegung der Mindestmasse einer Einzelprobe (Inkrement) erfolgt laut CEN/TR 15310-1 abhängig von der Schüttdichte und der Partikelgröße (d_{95}) des Materials. Die Mindestmasse einer Einzelprobe soll dabei mindestens 50-mal höher sein als jene eines kugelförmigen Partikels mit dem Durchmesser des d_{95} .

Laut LAGA PN 98 orientiert sich das Mindestvolumen einer Einzelprobe ebenfalls an der Partikelgröße des Materials. Hier wird das Mindestvolumen allerdings nicht direkt rechnerisch ermittelt, sondern ausgehend von einem volumenproportionalen Ansatz festgelegt (LAGA 2019). Unter Rückgriff auf die Schüttdichte des Materials können beide Ansätze vergleichend nebeneinandergestellt werden (Abbildung 12).

Abbildung 12: Mindestvolumen einer Einzelprobe nach CEN/TR 15310-1 und LAGA PN 98 im Vergleich.



Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a) und LAGA PN 98 (2019).

Beide Ansätze liefern für Partikelgrößen zwischen 20 und 60 mm annähernd vergleichbare Mindestvolumina. Für Partikelgrößen <20 mm liegen die Mindestvolumina nach LAGA PN 98 deutlich über jenen nach CEN/TR 15310-1, für Partikelgrößen >60 mm ist es umgekehrt. Partikel mit einer Größe >120 mm sollen laut LAGA PN 98 als Einzelprobe untersucht oder gemäß LfULG (2014) sortieranalytisch behandelt werden.

4.2.5 Vorüberlegungen zur Probenmasse

In der ‚Theory of Sampling‘ nach Pierre Gy wird ein vorzugebender Variationskoeffizient („Fundamentalfehler“) definiert. Auf Basis dieses Variationskoeffizienten kann in Verbindung mit Informationen zu Partikeldimensionen, Partikeldichte, Gewichtsverteilung sowie der vermuteten Häufigkeit der Merkmalsfracht der Partikel eine Mindestprobenmasse abgeschätzt werden (CEN/TR 15310-1, Abbildung 13).

Abbildung 13: Formel zur Bestimmung der Mindestprobenmasse nach CEN/TR 15310-1

$$M_P = \frac{\pi}{6} \cdot d_{95}^3 \cdot \rho_P \cdot g \cdot \frac{(1 - p)}{CV^2 \cdot p}$$

d_{95} Siebmasche mit 95 Gewichts% Durchgang [cm]
 ρ_P Partikeldichte [g/cm³]
 g Korrekturfaktor ≤ 1 aus d_{95}/d_{05}
 p Anteil Merkmalsträger [%]
 CV Variationskoeffizient

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a).

Der Variationskoeffizient definiert, mit welcher Aussagesicherheit gemessen werden soll. In der Regel wird ein Variationskoeffizient von 10% herangezogen. Der Anteil der Merkmalsträger (p) gibt an, wie die Merkmalsfracht unter den Partikeln der Grundgesamtheit verteilt ist. Wenn der Anteil der Merkmalsträger nicht bekannt ist, wird in der Praxis üblicherweise mit einem Wert 10% gearbeitet. Für den Standardfall, dass man ein Merkmal, das von 10% der Partikel getragen wird, mit einer Aussagesicherheit von $\pm 20\%$ im Rahmen der zweifachen Standardabweichung messen möchte, liegt die erforderliche Mindeststückzahl in einer Probe laut der oben angegebenen Formel bei 900 Partikeln. Wird ein Variationskoeffizient von 5%, also ein statistischer Messfehler von $\pm 10\%$, gewünscht, sind dafür bei identischem Anteil der Merkmalsträger 1900 Partikel erforderlich.

Der im linken Teil der Formel abgebildete Schätzwert für die Mindestprobenmasse (M_P) basiert auf dem Gewicht einer Kugel mit derselben Dichte wie die Partikel in der Probe. Da der d_{95} die mittlere Partikeldimension überschätzt, dient der Faktor g im Wesentlichen dazu, den Wert von d_{95} auf d_{Mittel} herunterzukalieren. Der Wert für g kann daher maximal den Wert 1 erreichen. Aus den Schätzwerten für die vor dem Hintergrund der gewünschten Aussagesicherheit notwendigen Stückzahl und dem mittleren Partikelgewicht entsteht so eine Abschätzung für die Mindestprobenmasse.

Aus der Tatsache, dass die Partikeldimension in der dritten Potenz in die Formel eingeht, wird deutlich, dass die Partikelgröße einen sehr großen Einfluss auf die Probenmasse hat. Für Material mit einer Partikeldichte von 1 g/cm³ und einem d_{95} von 1 cm wird gemäß der Formel 118 g Probenmasse benötigt. Weist das Material einen d_{95} von 2 cm auf, sind 942 g Probenmasse, also fast die achtfache Menge, erforderlich. Wird das Material auf einen d_{95} von 0,4 cm gebrochen oder abgesiebt, liegt die Mindestprobenmasse bei nurmehr 15 g.

Die in der Formel verwendete Partikeldimension von Zentimetern (statt Millimetern) für den d_{95} hat den Vorteil, dass kein Umrechnungsfaktor benötigt wird. Die Angabe der Partikeldichte in Gramm pro cm³ ist identisch mit dem Wert in kg/dm³, also kg/L bzw. Mg/m³.

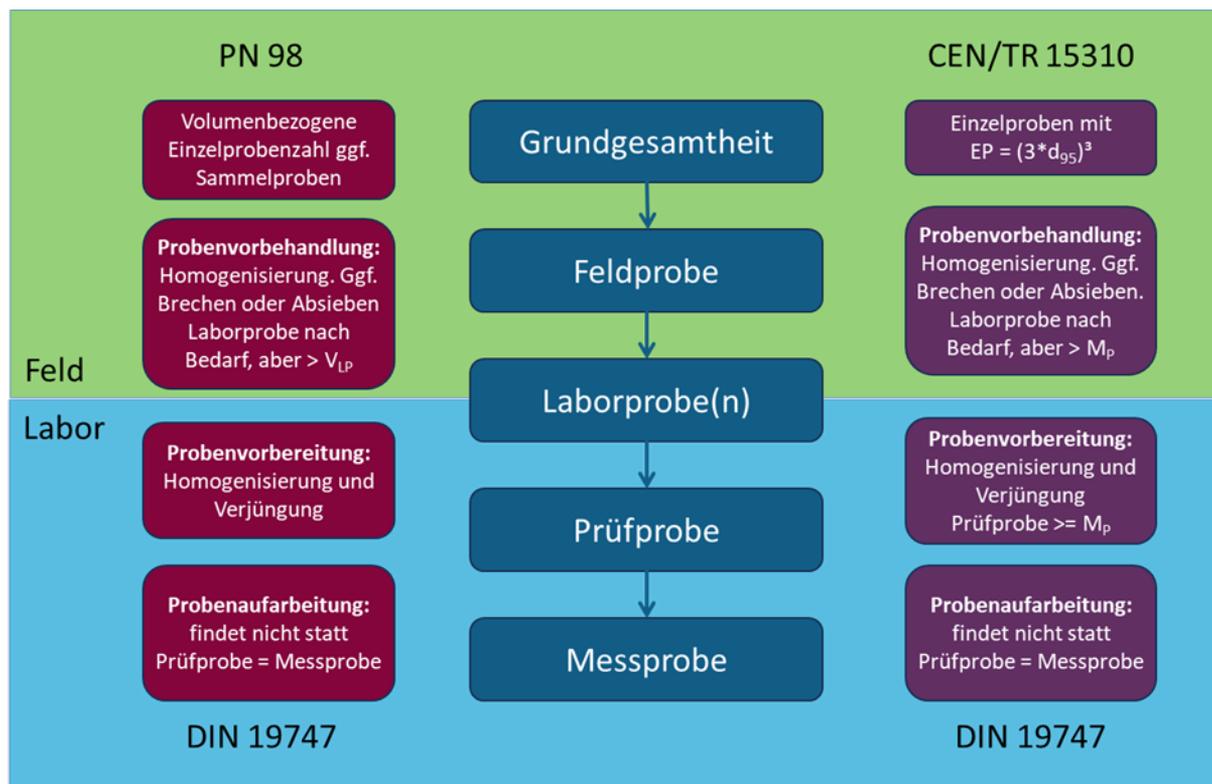
4.2.6 Vorüberlegungen zu Probenvorbehandlung, Probenvorbereitung und Probenaufarbeitung

Die Rahmenbedingungen für die Probenvorbehandlung (d. h. die Herstellung der Laborprobe(n) aus der Feldprobe) sowie die Probenvorbereitung zur Prüfprobe und deren Aufarbeitung zur Messprobe sind in der DIN 19747 (2009a) und der PN 98 (LAGA 2019) spezifiziert. So ist in beiden Richtlinien eine Tabelle mit identischen Werten zum Mindestvolumen der Laborprobe auf Basis der Partikelgröße enthalten. Je größer die enthaltenen Partikel, desto mehr Probenmasse ist erforderlich (s.o. und Abbildung 12).

Zielsetzung der DIN 19747 (2009a) ist es, zu vergleichbaren, richtigen und reproduzierbaren Ergebnissen zu gelangen, die den unterschiedlichen Abfällen gerecht werden. Dabei sind explizit physikalisch-chemische und biologische Untersuchungen adressiert.

Abbildung 14 stellt die Vorgehensweise nach DIN 19747 im Zusammenhang mit LAGA PN 98 und CEN/TR 15310 dar und beschreibt die Probenvorbehandlung, Probenvorbereitung und Probenaufarbeitung für biologische Untersuchungen.

Abbildung 14: Probenvorbehandlung, Probenvorbereitung und Probenaufarbeitung für biologische Untersuchungen



EP: Einzelprobe(n), M_p : Mindestprobenmasse, V_{LP} : Mindestprobenvolumen.

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign, basierend auf CEN/TR 15310-1 (CEN 2006a), DIN 19747 (DIN 2009a) and PN 98 (LAGA 2019)

Die Vermischung der Einzelproben sowie ggf. die Abtrennung von Störstoffen, das Sieben auf die Partikelgröße von ≤ 4 mm sowie ggf. ein Brechen oder anderes Zerkleinern des Überkorns sind Teil der Probenvorbehandlung.

Grundsätzlich wird in der PN 98 davon ausgegangen, dass die Probenmenge größer ist als für die Untersuchung (inklusive Rückstellproben) erforderlich ist. Dies ist für biologische Untersuchungen jedoch nicht der Fall. Die erforderliche Probenmenge für Biotests hängt von den verwendeten Testsystemen ab. In den meisten Fällen übersteigt sie den Mindestprobenumfang nach PN 98 deutlich.

In der DIN 19747 (2009a) wird ebenfalls davon ausgegangen, dass die Laborprobenmasse in der Regel größer ist als die Masse der benötigten Prüfproben einschließlich der Rückstellproben. Die Autoren der DIN 19747 sind sich darüber im Klaren, dass die Probenverjüngung zur Prüfprobe zu einem stochastischen Fehler führt, hoffen aber, durch die Homogenisierung (Durchmischung) der Proben vor der Verjüngung, die auftretenden Fehler kontrollieren zu können. Hier wären

Informationen hilfreich, wie weit eine Probe heruntergeteilt werden kann, ohne dass vorgegebene Fehlergrenzen überschritten werden.

Inzwischen gibt es deutliche Hinweise darauf, dass eine Teilung der Laborprobe ohne vorherige Zerkleinerung große Unsicherheiten in die Prüfprobe eintragen kann (Ketelhut 2013). Hier kann die Mindestprobenmasse nach CEN/TR 15310-1 hilfreich für eine erste Abschätzung des entstehenden Fehlers sein.

4.2.7 Durchführung der Probenahme und Probenvorbehandlung für die ausgewählten Abfallarten

Im Projektverlauf musste die ursprüngliche Auswahl der zu untersuchenden Abfälle (vgl. Abschnitt 4.1) teilweise etwas modifiziert und die Probenvorbehandlung angepasst werden. Wie im Abschnitt 4.1 erwähnt, sollte je Abfallart mindestens eine Probe des gefahrenrelevanten Spiegeleintrags und mindestens eine des nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrags untersucht werden. In diesem Zusammenhang soll darauf hingewiesen werden, dass die Zuordnung eines Abfalls zum gefahrenrelevanten bzw. nicht gefahrenrelevanten Spiegeleintrag nicht auf dem Kriterium HP 14 basieren muss. Der Hintergrund für die Einstufung des Abfalls wurde uns von den Abfallerzeugern nicht mitgeteilt.

In Tabelle 19 wird ein Überblick über die beprobten und in ökotoxikologischen Tests untersuchten Abfälle gegeben. In den folgenden Abschnitten werden die durchgeführten Probenahmen kurz beschrieben. Details zur Vorgehensweise für die einzelnen Abfallproben sind den Probenbegleitprotokollen zu entnehmen.

Tabelle 19: Im Projektverlauf beprobte und in ökotoxikologischen Tests untersuchte Abfälle.

Abfall-schlüssel	Abfallart	Abfallbezeichnung	Anmerkung	Probenahme
10 09 09*	Filterstaub	Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl, Charge 1	Altmaterial (Lagerdauer >4 Wochen)	Juli 2022
		Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl, Charge 2	Frischmaterial (Lagerdauer <4 Wochen)	Juli 2022
10 09 10	Filterstaub	Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl, Anlage A	–	Juni 2022
		Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl, Anlage B	–	Oktober 2022
17 05 03*	Boden und Steine	Geogener Aushub	Nickelhaltiger Abraum, Braunkohletagebau	Juni 2022
		Straßenbankett	Bundesstraße	Oktober 2022
17 05 04			Nebenstraße	Mai 2022
19 10 04	Shredderleichtfraktionen und Staub	Shredderleichtfraktionen, Absiebung (<10 mm)	Anlage A, Charge 1	Mai 2022
			Anlage A, Charge 2	Februar 2023
			Anlage B	Februar 2023

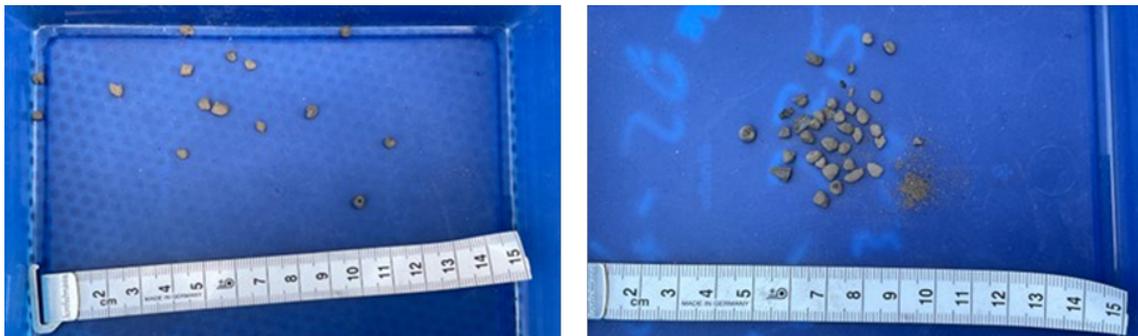
4.2.7.1 Filterstäube (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl

Die untersuchten Filterstäube (Abfallschlüssel 10 09 09*/ 10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl lagen in Big Bags vor, die durch den kontinuierlichen Anfall rieselnder Stäube gefüllt worden waren. Für den Abfallschlüssel 10 09 09* war ursprünglich geplant, Abfälle aus zwei unterschiedlichen Produktionsweisen (Grauguss und Lamellenguss) zu untersuchen. Da die geplante Separation der Stäube aus beiden Quellen im Vorfeld der Probenahme nicht realisiert werden konnte, wurden stattdessen folgende Proben untersucht:

- ▶ Altmaterial mit einer Lagerdauer >4 Wochen (Charge 1) und
- ▶ Frischmaterial mit einer Lagerdauer <4 Wochen (Charge 2).

Beide Proben enthielten eine Mischung von Abfall aus Grau- und Lamellenguss. Die Unterscheidung von Alt- und Frischmaterial war durch getrennte Lagerorte sicher möglich. Das Material stellte sich sehr feinkörnig dar ($d_{95} < 1 \text{ mm}$). In einzelnen Proben mit der Schlüsselnummer 10 09 09* wurden einzelne Partikel >4 mm gefunden, die metallische Anteile enthielten (Abbildung 15). Wenn derartige Partikel zufällig Bestandteil der im Labor untersuchten Probe werden, könnten sie das Untersuchungsergebnis ggf. signifikant beeinflussen.

Abbildung 15: Grobpartikel aus Filterstaub (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl



Grobpartikel aus jeweils ca. 5 kg Probenmaterial der Abfallschlüsselnummer 10 09 09*.

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign.

Bei der Probenahme für die Abfallschlüsselnummer 10 09 10, also den nicht gefährlichen Abfall, wurde wie geplant Material aus zwei verschiedenen Gießereien (Anlagen A und B) beprobt. Das Material aus Anlage A stammte aus einem kürzeren Produktionszeitraum als das Material aus Anlage B.

4.2.7.2 Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04)

Die gewaltigen Mengenströme an anfallenden Bodenabfällen werden zum einen nach Abfallrecht, zum anderen auch nach Bodenschutzrecht beurteilt. Bodenproben zeichnen sich in der Regel dadurch aus, dass ihr Kornspektrum über eine 4 mm-Körnung hinausgeht.

Daher wurde die Probenaufbereitung des Straßenbanketts (17 05 04) so geplant, dass die Zerkleinerung des Überkorns mit einem Backenbrecher durchgeführt werden konnte. Die Zerkleinerung des Massenanteils von ca. 35 Gewichts-% Überkorn (>4 mm) verdeutlicht ein grundsätzliches Dilemma der Untersuchung heterogener Materialmischungen:

- ▶ In großen Partikelgrößenbereichen können durch einzelne Merkmalsträger vergleichsweise hohe Merkmalsfrachten in eine Probe eingetragen werden.

- ▶ In Siebfractionen mit geringen Stückzahlen kann es so zu ja/nein-Entscheidungen hinsichtlich der Präsenz von Frachtträgern kommen, die zur Folge haben, dass die Merkmalsfracht entweder über- oder unterschätzt wird.
- ▶ Für eine reproduzierbar aussagesichere Beurteilung von Grobfractionen sind daher sehr große Probenmassen erforderlich.

Der zweite beprobte Abfall des Spiegeleintrags ‚Boden und Steine‘ war ein geogener Abraum aus einem Braunkohlentagebau, der aufgrund seines geringen pH-Werts in Kombination mit der Einstufung als 17 05 03* von Interesse war. Hier kam der geringe Überkornanteil (ca. 5%) der Probenvorbehandlung entgegen, denn es stand vor Ort kein Backenbrecher zur Zerkleinerung des Probenmaterials zur Verfügung.

In dem als 17 05 03* eingestuften Bankettmaterial von einer Bundesstraße waren ton- bzw. lehmartige Partikel enthalten, die sich durch Agglomeration der Handsiebung entzogen und im Überkorn verblieben. Der Ton- bzw. Lehmanteil im Überkorn >10 mm wurde auf 84 Gewichts-% geschätzt, was einem Ton- bzw. Lehmanteil von ca. 15% in der Gesamtprobe entspricht. Der Ton bzw. Lehm wurde mit dem Überkorn verworfen. Er hätte sich auch der Vorbehandlung mit einem Backenbrecher entzogen. Dabei ist unklar, inwieweit mit diesem Material auch mögliche Wirkmerkmalsträger abgetrennt worden sind. Den Angaben der Schwellenwerte in der Bundesbodenschutzverordnung folgend enthalten lehmige und tonige Böden höhere Konzentrationen an Schwermetallen als sandige Böden (BBodSchV 2021, Anlage 1, Tabelle 1). Abbildung 16 veranschaulicht beispielhaft die Anteile des Überkorns in den untersuchten Bankettproben.

Abbildung 16: Überkorn in den aufbereiteten Proben des Straßenbanketts (17 05 03*/17 05 04).



Großpartikel aus 15 kg bzw. 11 kg Probenmaterial. Links: Überkorn >20 mm aus Straßenbankett (17 05 04); rechts Überkorn >10 mm aus Straßenbankett (17 05 03*).

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign.

4.2.7.3 Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04)

Shredderleichtfraktionen gelten als Extrembeispiel eines heterogenen Abfallmaterials, das von Metallen über Glas und mineralische Bestandteile bis hin zu Holz, Kunststoffen und Textilien alle klassischen Abfallfraktionen in sich vereint.

Nachdem in einem früheren UBA-Projekt noch ein Shredderleichtmaterial mit einem d_{95} von 20 mm untersucht worden war (vgl. Römbke et al. 2010), ist die Aufbereitung des Materials inzwischen deutlich weiter fortgeschritten: Die Abfallfraktionen werden in Siebschnitten getrennt und die enthaltenen Metalle sowie auch weitere Wertstoffe werden in automatischen

Sortieranlagen weitestgehend entzogen. Aus der Aufbereitung des Materials fällt eine Absiebung an, die einen d_{95} von nur noch 10 mm aufweist. Diese Absiebung wurde beprobt.

Nachdem im Mai 2022 Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung <10 mm) beprobt worden war, wurde versucht, eine Quelle für als gefährlich eingestufte Shredderleichtfraktion (19 10 03*) zu identifizieren. Die wegen des Konfliktes um die Ukraine stark gestiegenen Energiepreise haben jedoch dazu geführt, dass die ausgesprochen stromintensiven Shredderbetriebe ihre Aktivitäten deutlich reduziert haben. Daher konnte kein 19 10 03*-Abfall beprobt werden. In Rücksprache mit dem Projektträger wurde entschieden, zwei weitere Proben der als nicht gefährlich eingestuften Shredderleichtfraktionen (19 10 04) zu untersuchen, auch vor dem Hintergrund der hohen Ökotoxizität der ersten 19 10 04-Probe (siehe Abschnitt 4.4.3). Dabei wurde dieselbe Anlage wie bei der ersten Beprobung (Anlage A) sowie eine zweite Anlage (Anlage B) beprobt. Die Probenahme fand im Februar 2023 statt, wie bei der ersten Beprobung handelte es sich bei den Abfällen um Absiebungen (<10 mm). Zielsetzung war die Klärung der folgenden Fragestellungen:

- ▶ Ist das Ergebnis der Erstuntersuchung der Shredderleichtfraktion (19 10 04) reproduzierbar?
- ▶ Hat Material von einer anderen Shredder-Anlage eine ähnlich hohe Toxizität?

Für Anlage A lag der Überkornanteil >4 mm wie bei der ersten Probenahme in der Größenordnung von 15 bis 20 Gewichts-%. Im Material aus der Anlage B fielen ca. 14 Gewichts-%>4 mm an. Dieses Überkorn ist insbesondere durch den Gehalt von Metallpartikeln aber auch durch einen hohen Anteil fluffiger Textilfasern sehr inhomogen. Eine Zerkleinerung wäre nur unter kryogenen Bedingungen möglich. Abbildung 17 veranschaulicht die Heterogenität der untersuchten Shredderleichtfraktionen.

Abbildung 17: Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 04, Absiebung) aus Anlage A (Charge 2) und Anlage B.



Links: Abfallprobe aus Anlage A (Charge 2), rechts Abfallprobe aus Anlage B.

Quelle: Eigene Darstellung, Ralf Ketelhut Stoffstromdesign.

4.2.8 Elution der Abfallproben für die Tests mit aquatischen Organismen

In den Ökotoxizitätstests mit aquatischen Testorganismen (Leuchtbakterien, Algen, Daphnien) wurden wässrige Eluate der Abfallproben eingesetzt. Die Herstellung der Eluate erfolgte nach DIN EN 12457-2 (2003a) und DIN EN 14735 (2022) in einem einstufigen Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis (L/S) von 10 L/kg Abfalltrockengewicht und einer Dauer

von 24 h. Als Elutionsmittel wurde deionisiertes Wasser (Leitfähigkeit $<10 \mu\text{S}/\text{cm}$) bzw. Reinstwasser (ISO 3696 Grad 3 analytisches Reagens; Leitfähigkeit $\leq 1 \mu\text{S}/\text{cm}$; ISO 1987) verwendet³⁵. Die ersten drei Elutionen wurden mit einer Abfalleinwaage (Trockengewicht) von 50 g (17 05 04: Straßenbankett, 19 10 04: Shredderleichtfraktion, Anlage A, Charge 1, erste Elution) bzw. 20 g (19 10 04: Shredderleichtfraktion, Anlage A, Charge 1, zweite Elution) durchgeführt, alle weiteren Elutionen mit einer Abfalleinwaage von 90 ± 5 g (Trockengewicht). Das dem o. g. Trockengewicht entsprechende Abfallfeuchtgewicht wurde in eine 1 L-Weithalsflasche aus Glas eingewogen und die entsprechende Menge an Elutionsmittel hinzugegeben. Das Gefäß wurde verschlossen und 1-3 Mal über Kopf geschüttelt, bevor es bei einer Drehzahl von 10 Umdrehungen pro Minute für $24 \pm 0,5$ h bei $20 \pm 2^\circ\text{C}$ im Überkopfschüttler geschüttelt wurde. Anschließend wurde das Gefäß 15 ± 5 min zum Absetzen von suspendierten Feststoffen abgestellt. Der Überstand wurde dekantiert und unter Verwendung einer Vakuumpumpe mit einem Cellulosemischester-Membranfilter (Durchmesser: 47 mm, Porenweite: $0,45 \mu\text{m}$) filtriert. Wenn nach dem Absetzen keine Trennung der flüssigen und festen Phasen stattgefunden hatte, wurde zunächst versucht, eine Teilprobe des Eluats zu filtrieren. Wurde die in DIN EN 12457-2 (2003a) vorgegebene Durchflussrate (mindestens 30 mL pro cm^2 und h) nicht erreicht, wurde die Probe zentrifugiert (30 min bei 2000 g, bei Raumtemperatur). Eine Zentrifugation war für den Filterstaub (10 09 10) aus beiden Anlagen, beide Straßenbankett-Proben (17 03 03* und 17 05 04) und die Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B notwendig. Nach der Filtration bzw. Zentrifugation wurden Leitfähigkeit und pH-Wert bestimmt. In der Regel wurden mit einem Eluat jeweils ein akuter Daphnientest, ein Algenwachstumshemmtest und ein Leuchtbakterienhemmtest durchgeführt. Eluate wurden wie in DIN EN 14735 (2022) vorgegeben maximal 72 h im Kühlschrank gelagert.

4.3 Durchführung der ökotoxikologischen Tests

Die ausgewählten Abfallarten wurden – abgesehen von einer Ausnahme – mit den in Tabelle 16 (Abschnitt 3.3.2) aufgeführten aquatischen und terrestrischen Ökotoxizitätstests untersucht. Der Algenwachstumshemmtest wurde wie vom UBA auf dem 2. Projekttreffen vorgeschlagen nach dem zu diesem Zeitpunkt aktuellen Entwurf der DIN 38412-59 (2021) in 24-Well-Mikrotiterplatten durchgeführt³⁶.

4.3.1 Ökotoxizitätstests mit aquatischen Organismen

Alle Abfallproben wurden im akuten Daphnientest nach DIN EN ISO 6341 (2013a), im Algenwachstumshemmtest in der Mikrotiterplatte nach DIN 38412-59 (Entwurf, 2021) und im Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) in jeweils ein bis drei Testdurchläufen untersucht.

4.3.1.1 Generelle Vorgehensweise

Für die aquatischen Tests wurde zunächst ein Eluat je Abfallprobe hergestellt und in einem ersten Testdurchlauf in folgenden Verdünnungsstufen geprüft: 50%, 25%, 12,5%, 6,3% und 3,1% (alle Tests) sowie zusätzlich 1,6%, 0,8% und 0,4% (Leuchtbakterientest). Wenn in allen Verdünnungsstufen Effekte $>50\%$ auftraten, wurde ein zweiter Testdurchlauf mit höheren Verdünnungsstufen durchgeführt, um die EC_{50} berechnen zu können. Dabei wurde darauf geachtet, dass zwei Verdünnungsstufen sowohl im ersten als auch im zweiten Testdurchlauf

³⁵ Für die Elution des Straßenbanketts (17 05 04) und der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Anlage A, Charge 1) wurde deionisiertes Wasser verwendet, für die Elution aller anderen Abfallproben Reinstwasser (ISO 3696 Grad 3).

³⁶ Inzwischen liegt diese Norm in finalisierter Form vor (DIN 38412-59, veröffentlicht im Dezember 2022). Zwischen dem Normentwurf, nach dem die Algentests durchgeführt wurden, und der finalisierten Fassung der Norm gibt es keine wesentlichen inhaltlichen Unterschiede.

getestet wurden (z. B. 50, 25, 12,5, 6,3 und 3,1% im ersten Testdurchlauf und 6,3, 3,1, 1,6, 0,8 und 0,4% im zweiten Durchlauf).

Der erste Testdurchlauf für jede Abfallprobe wurde – wie in UBA (2013) und DIN EN 14735 (2022) vorgegeben – immer ohne pH-Anpassung durchgeführt, auch wenn der pH in einigen oder allen Verdünnungsstufen außerhalb des in der jeweiligen Testrichtlinie genannten für den betreffenden Testorganismus geeigneten pH-Bereichs lag (Daphnien: pH 6,0-9,0; Algen und Leuchtbakterien: pH 6,0-8,5). Wenn Toxizität in Verdünnungsstufen auftrat, deren pH außerhalb des vom Testorganismus tolerierten Bereichs lag, wurde ein zweiter Testdurchlauf mit pH-Anpassung durchgeführt. Um den Einfluss der Einstellung des pH-Werts und damit verbundene Veränderungen der Dissoziation von Stoffen sowie Fällungsreaktionen und Komplexbildungen zu minimieren, wurde dabei vorgegangen wie von Hennebert (2019) vorgeschlagen (siehe Abschnitt 3.1.2): Die pH-Einstellung wurde jeweils nur in den Verdünnungsstufen durchgeführt, deren pH außerhalb des Toleranzbereichs für die betreffende Art lag. In diesen Fällen wurde auf den pH des jeweiligen Testmediums eingestellt. Für die pH-Einstellung wurde 1- oder 10-molare Salzsäure bzw. -Natronlauge verwendet. Auftretende Ausfällungen wurden nicht entfernt, da sie potenziell toxische Elemente enthalten (Hennebert 2019). Testdurchläufe mit pH-Einstellung dienten nur dazu, die Ursache der Toxizität zu untersuchen; sie wurden nicht zur HP 14-Einstufung herangezogen (UBA 2013, DIN EN 14735).

Parallel zu jedem Testdurchlauf mit angepassten pH-Werten wurde ein zusätzlicher Testdurchlauf ohne pH-Anpassung durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu untersuchen. Weitere Wiederholungen der aquatischen Toxizitätstests (auch für Eluate ohne toxische Effekte im ersten Testdurchlauf) dienten ebenfalls dazu, die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse zu untersuchen.

4.3.1.2 Akuter Daphnientest

Der akute Daphnientest wurde nach DIN EN ISO 6341 (2013a) durchgeführt (Tabelle 20). Wasserflöhe (*Daphnia magna*, Alter bei Testbeginn <24 h) wurden dazu 48 h lang gegenüber fünf Verdünnungsstufen des Eluats exponiert. Als Kontrollmedium und zur Herstellung der Verdünnungen des Eluats wurde rekonstituiertes Wasser nach DIN EN ISO 6341 verwendet. Vor dem Einsetzen der Daphnien in die Testgefäße und bei Testende wurden Temperatur, Sauerstoffgehalt und pH-Wert gemessen. Nach 24- und 48-stündiger Exposition wurde die Bewegungsfähigkeit der Daphnien (Anzahl immobiler Daphnien) erfasst.

Zur Überprüfung der Sensitivität von *D. magna* wurde auf die Ergebnisse der in der ECT alle sechs Monate durchgeführten Referenztests zurückgegriffen. Die Sensitivität der Daphnien wurde durch drei Tests (März 2022, September 2022, März 2023) belegt. Die 24 h-EC₅₀ lag in den beiden ersten Referenztests bei 1,5 mg/L und im dritten Test bei 1,4 mg/L und damit innerhalb des von DIN EN ISO 6341 vorgegebenen Bereichs von 0,6-2,1 mg/L.

Tabelle 20: Überblick über die Durchführung des akuten Toxizitätstests mit *Daphnia magna*

Testparameter	Spezifikation
Testrichtlinie	DIN EN ISO 6341 (2013a)
Testorganismus	<i>Daphnia magna</i> Straus, Klon M10, Neonate (<24 h alt)
Testmedium	Rekonstituiertes Wasser nach DIN EN ISO 6341
Testendpunkt	Immobilität
Expositionsdauer	48 h

Testparameter	Spezifikation
Verdünnungsstufen	Erster Testdurchlauf: 3,1, 6,3, 12,5, 25, 50% Eluat; folgende Testdurchläufe: ggf. niedrigere Verdünnungsstufen (siehe Abschnitt 4.3.1.1)
Anzahl der Testorganismen je Testgefäß	5
Anzahl der Replikate je Verdünnung	4
Anzahl der Replikate in der Kontrolle	4
Testgefäße	50 mL-Bechergläser, mit Uhrglasschalen abgedeckt
Volumen der Testlösung pro Testgefäß	25 mL
Beleuchtungszyklus	16 h hell /8 h dunkel
Temperatur	20±2°C
Validitätskriterien	1) Immobilität in den Kontrollen ≤10% 2) 24 h-EC ₅₀ für K ₂ Cr ₂ O ₇ zwischen 0,6 mg/L und 2,1 mg/L ^a

^a Laut DIN EN ISO 6341 (2013a) sind Referenztests innerhalb eines Zeitraums von einem Monat vor oder nach jedem Test durchzuführen.

4.3.1.3 Algenwachstumshemmtest

Der Algenwachstumshemmtest wurde wie oben erwähnt nach dem zu diesem Zeitpunkt aktuellen Entwurf der DIN38412-59 (2021) in 24-Well-Mikrotiterplatten durchgeführt. Algen (*Raphidocelis subcapitata*) wurden über 72 h gegenüber fünf Eluatverdünnungen exponiert und die Hemmung der durchschnittlichen täglichen Wachstumsrate im Vergleich zur Kontrolle wurde erfasst (Tabelle 21).

Vier Tage vor dem Testansatz wurde eine Vorkultur mit *R. subcapitata* (0,5 x 10⁴ Algenzellen/mL) in Altenburger-Wachstumsmedium nach DIN 38412-59 (Entwurf, 2021) angesetzt, so dass sich die Algen bei Testbeginn in der exponentiellen Wachstumsphase befanden. Die Algenzellzahl in der Vorkultur wurde maximal 4 h vor Expositionsbeginn mikroskopisch bestimmt. Bei Testbeginn wurden Testlösungen mit Algen aus den jeweils benötigten Volumina von Eluat, 10fach konzentriertem Altenburger-Wachstumsmedium, sterilem deionisiertem Wasser und Algensuspension (0,5 x 10⁴ Algenzellen/mL) hergestellt. In jeder Mikrotiterplatte wurde eine Kontrolle (Altenburger-Wachstumsmedium), eine Positivkontrolle (K₂Cr₂O₇: 0,8 mg/L) und eine Blindprobe (Altenburger-Wachstumsmedium, ohne Algen) mitgeführt. Für den jeweils ersten Testdurchlauf mit einem Eluat wurde zusätzlich eine separate Platte mit denselben Eluatverdünnungen aber ohne Algen angesetzt, um zur ermitteln, ob das betreffende Eluat aufgrund von Färbung oder Trübung zu einem Fluoreszenzverlust führt oder eine Eigenfluoreszenz hat (Farb- bzw. Fluoreszenzkorrekturplatte). Die pH-Werte der Testlösungen wurden jeweils bei Testbeginn und nach 72 h gemessen.

Nach 0, 24, 48 und 72 h Exposition wurde der Inhalt aller Kavitäten der Testplatte (d. h. der Platte mit Algen) durch mehrfaches Aufziehen mit einer Pipette homogenisiert. Testplatte und Farb- bzw. Fluoreszenzkorrekturplatte wurden im Fluoreszenzmessgerät für 10 s geschüttelt. Nach Anregung bei 430 nm wurden die relativen Fluoreszenzeinheiten (RFUs) von oben gemessen. Pro Kavität wurde ein Mittelwert aus neun Einzelmessungen ermittelt. Für jeden Test wurde eine Kalibriergerade mit 0, 0,5, 2,5, 5, 25, 50 und 100 x 10⁴ Algenzellen/mL erstellt. Anhand der Regressionsgleichung wurden die gemessenen Fluoreszenzwerte in Zellzahlen/mL umgewandelt. Aus den Zellzahlen nach 0 h und 72 h wurde die durchschnittliche tägliche

Wachstumsrate ermittelt und aus dieser die prozentuale Hemmung der Wachstumsrate im Vergleich zur Kontrolle.

Bei der Testauswertung wurde eine Farb- bzw. Fluoreszenzkorrektur berücksichtigt, wenn ein Zusammenhang zwischen dem Eluatanteil und den Fluoreszenzmesswerten festgestellt wurde, der umgerechnet in Zellzahlen einen Anstieg³⁷ um $0,5 \times 10^4$ Algenzellen/mL³⁸ von der höchsten zur niedrigsten Abfallverdünnung entsprochen hätte.

Tabelle 21: Überblick über die Durchführung des Algenwachstumshemmtests mit *Raphidocelis subcapitata*

Testparameter	Spezifikation
Testrichtlinie	DIN 38412-59 (Entwurf, 2021)
Testorganismus	<i>Raphidocelis subcapitata</i> (SAG 61.81)
Testmedium	Altenburger Wachstumsmedium nach DIN 38412-59
Alter der Algenvorkultur am Testansatz	4 Tage
Testendpunkt	Wachstumsrate
Expositionsdauer	72±1 h
Verdünnungsstufen	Erster Testdurchlauf: 3,1, 6,3, 12,5, 25, 50% Eluat; folgende Testdurchläufe: ggf. niedrigere Verdünnungsstufen (siehe Abschnitt 4.3.1.1)
Zelldichte bei Testbeginn	ca. $0,5 \times 10^4$ Zellen/mL (lt. DIN 38412-59: $5 \cdot 10^3$ - 1×10^4 Zellen/mL)
Anzahl der Replikate je Verdünnung	3
Anzahl der Replikate in der Kontrolle	3
Positivkontrolle	0,8 mg/L $K_2Cr_2O_7$
Testgefäße	24-Well-Mikrotiterplatten mit 2 mL-Kavitäten
Volumen der Testlösung pro Kavität	2 mL
Schüttelfrequenz während Exposition	100±5/min
Beleuchtung	Permanent
Lichtintensität	60-120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ($\leq 10\%$ Schwankung)
Temperatur	23±2°C
Messung der relativen Fluoreszenzeinheiten	0, 24, 48 und 72±1 h nach Teststart
Validitätskriterien	1) Exponentielles Wachstum in den Kontrollen: mittlerer Variationskoeffizient der abschnittsweisen Wachstumsraten (0-24, 24-48 und 48-72 h) $\leq 35\%$ 2) Variationskoeffizient der Wachstumsrate in den Kontrollen nach 72 h $\leq 7\%$

³⁷ Die untersuchten Abfalleluate führten in keinem Fall zu einem durch Färbung oder Trübung verursachten Fluoreszenzverlust.

³⁸ Das entspricht der angeimpften Zelldichte.

Testparameter	Spezifikation
	3) Durchschnittliche Wachstumsrate der Kontrollen nach 72 h $\geq 1,2/d$ 4) 20-80% Hemmung in der Positivkontrolle ($K_2Cr_2O_7$: 0,8 mg/L)

4.3.1.4 Leuchtbakterientest

Der Leuchtbakterientest mit dem marinen Bakterium *A. fischeri* wurde nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) durchgeführt. Dabei wurden Leuchtbakterientestkits (BioFix® bzw. LUMISTOX, siehe Tabelle 22) verwendet, die aus flüssig getrockneter Leuchtbakteriensuspension und Reaktivierungslösung bestehen. Testendpunkt ist die Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min Expositionszeit.

Die Leitfähigkeiten der Eluate wurden gemessen und durch Zugabe von NaCl-Lösung auf 34 ± 4 mS/cm erhöht, pH-Wert und Sauerstoffgehalt wurden bestimmt. Die zu testenden Verdünnungsstufen wurden durch Verdünnung des Eluats mit 2%iger NaCl-Lösung entweder direkt in den Glasküvetten oder (wenn eine Messung und ggf. Einstellung des pH-Werts notwendig war) in Bechergläsern angesetzt. In jedem Test wurde eine Positivkontrolle ($K_2Cr_2O_7$: 22,6 mg/L) mitgeführt. Die gefriergetrockneten Leuchtbakterien wurden lt. Herstellerangaben reaktiviert. Mittels Luminometer wurde die Biolumineszenz bei Expositionsbeginn (0 min) und nach 30-minütiger Exposition gemessen.

Tabelle 22: Überblick über die Durchführung des Leuchtbakterientests

Testparameter	Spezifikation
Testrichtlinie	DIN EN ISO 11348-2 (2009)
Testorganismus	<i>Aliivibrio fischeri</i> (ehem. <i>Vibrio fischeri</i>), flüssig getrocknete Bakterien
Testkits	BioFix® (Macherey-Nagel), LUMISTOX (Hach)
Testmedium	2%ige NaCl-Lösung (pH $7,0 \pm 0,2$)
Testendpunkt	Hemmung der Biolumineszenz
Expositionsdauer	30 min
Verdünnungsstufen	Erster Testdurchlauf: 0,4, 0,8, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25, 50% Eluat; folgende Testdurchläufe: ggf. niedrigere Verdünnungsstufen (siehe Abschnitt 4.3.1.1) ^a
Anzahl der Replikate je Verdünnung	2
Anzahl der Replikate in der Kontrolle	2
Positivkontrolle	22,6 mg/L $K_2Cr_2O_7$
Testgefäße	Glasküvetten
Volumen der Testlösung pro Küvette	1 mL
Temperatur	$15 \pm 1^\circ C$
Messung der Biolumineszenz	Bei Teststart (0 min) und nach 30 min

Testparameter	Spezifikation
Validitätskriterien	1) f_{kt} -Wert ^b nach 30 min: 0,6-1,3 2) Abweichung der gemessenen Biolumineszenz der Kontrollreplikate von ihrem Mittelwert $\leq 3\%$ 3) Für alle Verdünnungsstufen, die für Ermittlung der EC_{50} relevant sind: Abweichung der gemessenen Biolumineszenz der Replikate von ihrem Mittelwert $\leq 3\%$ 4) Für jede Leuchtbakteriencharge: 20-80% Hemmung durch 4,5 mg/L 3,5-Dichlorphenol, 25 mg/L Zn (II) und 4 mg/L Cr (VI) ^c 5) Im aktuellen Test: 20-80% Hemmung in der Positivkontrolle (22,6 mg/L $K_2Cr_2O_7$)

^a In den Leuchtbakterientests mit Filterstaub (10 09 09*, Chargen 1 und 2), Filterstaub (10 09 10, Anlage A, 2. Testdurchlauf) und geogenem Aushub (2. und 3. Testdurchlauf) wurden um den Faktor 2 niedrigere Verdünnungen getestet (0,2-25% Eluat), da die Verdünnung während der Testdurchführung nicht berücksichtigt wurde. ^b Korrekturfaktor der Schwankung der in der Kontrolle gemessenen Leuchtintensitäten. ^c Dieses Validitätskriterium wurde von den Herstellern der Testkits überprüft.

4.3.2 Ökotoxizitätstests mit terrestrischen Organismen

Die drei terrestrischen Testverfahren – der Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* nach ISO 18187 (2016a), der Wachstumshemmtest mit *B. rapa* nach ISO 11269-2 (2012a) und der Vermeidungstest mit Regenwürmern nach ISO 17512-1 (2008a) – wurden mit den Abfallproben als Feststoff durchgeführt. Dabei wurde ein Test pro Abfallprobe durchgeführt, in dem jeweils fünf Verdünnungsstufen des Abfalls eingesetzt wurden (25%, 12,5%, 6,3%, 3,1% und 1,6%).

Eine Abfallprobe wurde zusätzlich mit einem Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung und Hemmung der Nitrifizierung mittels Ammoniumoxidation (Testrichtlinie DIN EN ISO 15685, 2021³⁹) untersucht.

4.3.2.1 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Im Feststoffkontakttest nach ISO 18187 (2016a) wurde die Hemmung der Dehydrogenaseaktivität im ubiquitären Bodenbakterium *A. globiformis* untersucht (Tabelle 23). Dazu wurden die Abfallproben gemäß ISO 18187 auf ≤ 2 mm abgesiebt. Die zu testenden Verdünnungsstufen wurden durch Mischen der Abfälle mit Quarzsand, Nährlösung laut ISO 18187 und *A. globiformis* hergestellt und für 2 h bei $30 \pm 1^\circ C$ inkubiert. Anschließend wurde der Farbstoff Resazurin zugegeben, der aufgrund der Dehydrogenaseaktivität der Bakterien zu Resorufin transformiert wird. Resorufin kann fluorometrisch detektiert werden. Abhängig von der Aktivität der Bakterien ändert sich die Farbe der Proben und damit ihre Fluoreszenz. Durch Messung der Fluoreszenz kann damit eine Hemmung des Bakterienwachstum im Vergleich zur Kontrolle quantifiziert werden.

Im Feststoffkontakttest wurden 5 Verdünnungsstufen des Abfalls (s.o.), Negativkontrollen (in LUFA Standardboden 2.2 und Quarzsand) sowie die Positivkontrolle Benzalkoniumchlorid (BAC; 600 mg/kg Abfalltrockengewicht; ebenfalls in LUFA Standardboden 2.2 und Quarzsand) eingesetzt. Außerdem wurden zwei verschiedene Blindproben mitgeführt: (a) eine Blindprobe zur Bestimmung der Eigenfluoreszenz des Substrats (diese wird dann von der Fluoreszenz der jeweiligen Behandlungen abgezogen) und (b) eine Blindprobe, um die Aktivität der Dehydrogenase in nicht pasteurisiertem Substrat und die Effizienz des vor Beginn der Messung durchgeführten Deaktivierungsschritts (Pasteurisierung) zu ermitteln.

³⁹ Entspricht ISO 15685 (ISO 2012g).

Tabelle 23: Überblick über die Durchführung des Feststoffkontakttests mit *Arthrobacter globiformis*

Testparameter	Spezifikation
Testrichtlinie	ISO 18187 (2016a)
Testorganismus	<i>Arthrobacter globiformis</i>
Testendpunkt	Hemmung der Aktivität des Enzyms Dehydrogenase
Testsubstrat	Quarzsand
Expositionsdauer	2 h
Verdünnungsstufen	25, 12,5, 6,3, 3,1 und 1,6%
Anzahl der Replikate je Verdünnungsstufe	4
Anzahl der Replikate in der Kontrolle	4
Testgefäße	24-Well Mikrotiterplatten mit Deckel
Substratmenge pro Well	600±6 mg Frischgewicht (gesiebt auf <2 mm)
Temperatur	30±1°C
Messung der Dehydrogenaseaktivität	Bei Teststart (0 min) und nach 15, 30, 45 und 60 min
Validitätskriterien	a) Mittlere Fluoreszenz der Negativkontrolle mindestens verfünffacht zwischen erster und letzter Messung b) Hemmung in der Positivkontrolle zwischen 30% und 80% c) Variationskoeffizient in der Negativkontrolle <15%

4.3.2.2 Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa*

Der Wachstumshemmtest mit höheren Pflanzen wurde nach ISO 11269-2 (2012a) durchgeführt, mit der folgenden Modifikation. Dabei wurde gemäß der UBA-Handlungsempfehlung anstelle einer monokotylen und einer dikotylen Pflanzenart nur eine dikotyle Art (*B. rapa*) getestet (Tabelle 24). Die Lichtintensität betrug $\geq 200 \mu\text{E} \times \text{m}^{-2} \times \text{s}^{-1}$ und die relative Luftfeuchtigkeit 30-70%. Diese Bedingungen gewährleisteten gutes Wachstum, wie in früheren Studien bestätigt wurde. Entsprechend der zu testenden Verdünnungsstufen wurde die jeweilige Abfallprobe mit Kontrollboden (LUFA Standardboden 2.3) vermischt und in Pflanztöpfe gegeben. Anschließend wurden pro Topf 10 Samen der Testspezies eingesetzt. Sieben Tage nach dem Auflaufen von mindestens 50% der Pflanzen in den Kontrolltöpfen wurden die Keimlinge auf fünf repräsentative Pflanzen pro Topf ausgedünnt, und der Test wurde für weitere 7 Tage fortgesetzt. Am Tag 14 erfolgte die Ernte und Bestimmung des Sprossfrischgewichts.

Tabelle 24: Überblick über die Durchführung des Wachstumshemmtests mit *Brassica rapa*

Testparameter	Spezifikation
Testrichtlinie	ISO 11269-2 (2012a)
Testorganismus	<i>Brassica rapa</i>
Testendpunkt	Emergenz, Sprossfrischgewicht
Testsubstrat	LUFA Standardboden 2.3
Expositionsdauer	14 Tage ab 50% Emergenz in den Kontrollen (= Tag 0)

Testparameter	Spezifikation
Verdünnungsstufen	25, 12,5, 6,3, 3,1 und 1,6%
Anzahl der Replikate je Verdünnungsstufe	2
Anzahl der Replikate in der Kontrolle	6
Testgefäße	Pflanztöpfe (Durchmesser: 11 cm)
Substratmenge pro Testgefäß	450 g Trockengewicht
Temperatur	23±3°C (eine breitere Spanne ist akzeptabel, solange die Pflanzen normal auflaufen und wachsen)
Messung von Emergenz	Bis Tag 14
Messung des Sprossfrischgewichts	Am Tag 14
Validitätskriterien	a) >70% Emergenz in den Kontrollen b) Keine sichtbaren phytotoxischen Effekte und normales Wachstum und Morphologie in den Kontrollen c) >90% Überleben der aufgelaufenen Keimlinge in den Kontrollen

4.3.2.3 Vermeidungstest mit Regenwürmern

Die Vermeidungstests mit Regenwürmern der Art *Eisenia fetida* wurden laut ISO 17512-1 (2008a) durchgeführt (Tabelle 25). Als Testorganismen wurde gesunde, adulte Tiere gleichen Alters mit einem Durchschnittsgewicht zwischen 300 und 600 mg verwendet. Die Abfallproben wurden mit Kunsterde (nach ISO 11268-2) gemischt, um Abfallanteile zwischen 1,6% und 25% zu erreichen. Als Kontrollsubstrat wurde Kunsterde verwendet.

Die befeuchteten Substrate wurden so in Testgefäße gefüllt, dass eine Hälfte der Gefäße Kontrollsubstrat und die andere Hälfte die entsprechende Abfallverdünnung enthielt. Je Gefäß wurden zehn Würmer auf die Grenze zwischen Kontrollsubstrat und Abfallverdünnung gelegt. Die Testgefäße wurden dann für 48 h (20±2°C, Beleuchtungszyklus: 16 h hell/8 h dunkel) inkubiert. Anschließend wurden in allen Gefäßen die sich in jeder Hälfte befindlichen Würmer gezählt.

Tabelle 25: Überblick über die Durchführung des Vermeidungstests mit Regenwürmern.

Testparameter	Spezifikation
Testrichtlinie	ISO 17512-1 (2008a)
Testorganismus	<i>Eisenia fetida</i>
Testendpunkt	Vermeidungsverhalten
Testsubstrat	Kunsterde nach ISO 11268-2
Expositionsdauer	48 h
Verdünnungsstufen	25, 12,5, 6,3, 3,1 und 1,6%
Anzahl der Replikate je Verdünnungsstufe	5
Anzahl der Replikate in der Kontrolle	5
Testgefäße	Bellaplastschalen (15,5 x 11 x 6 cm)

Testparameter	Spezifikation
Substratmenge pro Testgefäß	500 g Trockengewicht (je 250 g Kontroll- und Testboden)
Temperatur	20±2°C
Messung des Vermeidungsverhaltens	Nach 48 h
Validitätskriterien	a) Tote oder fehlende Würmer <10% in allen Behandlungsstufen b) Mittleres Verhältnis der Regenwürmer in den beiden Hälften der Kontrollreplikaten im Bereich von 60% zu 40%

4.3.2.4 Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung

Eine Probe der Shredderleichtfraktion aus Anlage A (Charge 2) wurde zusätzlich mit einem Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung und Hemmung der Nitrifizierung mittels Ammoniumoxidation (Testrichtlinie DIN ISO 15685, 2021) untersucht. Der Grund hierfür lag in der wiederholt festgestellten relativ hohen Varianz der Ergebnisse des Feststoffkontakttests mit *A. globiformis* (siehe Abschnitt 4.4), die vermutlich darauf zurückzuführen war, dass sich die Inhomogenität der Abfallproben aufgrund der geringen in den Test eingesetzten Probenmengen stark auf die Ergebnisse auswirkte. Daher sollte in einem Screening-Test überprüft werden, ob der Test zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung eine mögliche Alternative zum Feststoffkontakttest darstellt.

Die Vorteile gegenüber dem Feststoffkontakttest liegen in der größeren Probenmenge (25 g gegenüber 0,6 g Frischgewicht) sowie in der höheren ökologischen Relevanz, da das Testsystem nicht nur eine einzelne Spezies, sondern die natürlich im Boden vorhandene Mikroorganismengemeinschaft enthält. Da nur noch eine kleine Restmenge der Abfallprobe verfügbar war, wurden lediglich zwei Abfallverdünnungen (6,3% und 25% Abfall) im Test eingesetzt und die Anzahl der Replikate wurde auf zwei reduziert (Tabelle 26).

Tabelle 26: Überblick über die Durchführung des Schnelltests zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung.

Testparameter	Spezifikation
Testrichtlinie	DIN ISO 15685 (2021)
Testorganismus	Natürliche Mikroorganismengemeinschaft
Testendpunkt	Hemmung der Nitrifikationsrate
Testsubstrat	LUFA Standardboden 2.3
Expositionsdauer	6 h (permanent Schüttler, 175 U/min)
Verdünnungsstufen	25 und 6,3% (normalerweise 5 Verdünnungsstufen)
Anzahl der Replikate je Verdünnungsstufe	2 (normalerweise 4)
Anzahl der Replikate in der Kontrolle	2 (normalerweise 4)
Testgefäße	250 mL Polyethylen-Flaschen
Substratmenge pro Testgefäß	25 g Frischgewicht
Temperatur	25±2°C

Testparameter	Spezifikation
Messung des Nitritgehalts	Nach 2 h und nach 6 h
Validitätskriterien	Nicht definiert

4.3.3 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse der aquatischen und terrestrischen Ökotoxizitätstests wurden mit dem Programm ToxRat Professional 3.3.0 ausgewertet. Für alle Tests wurde die EC_{50} , die für die HP 14-Einstufung relevante Effektkonzentration, ermittelt. Für Tests, in denen die Effektstärke in allen getesteten Verdünnungsstufen unter bzw. über 50% lag, wird die EC_{50} als > der niedrigsten bzw. < der höchsten getesteten Verdünnung angegeben. Für aquatische Ökotoxizitätstests mit Einstellung des pH-Werts wurde kein EC_{50} -Wert ermittelt. Wie in Abschnitt 4.3.1.1 erwähnt sind diese Tests für die HP 14-Einstufung nicht relevant. Außerdem lagen in diesen Tests oft keine monotonen Konzentrations-Wirkungsbeziehungen vor, da der pH-Wert i.d.R. nur in einzelnen Verdünnungsstufen eingestellt wurde.

Für quantale Daten (akuter Daphnientest, Vermeidungstest mit Regenwürmern) wurden die EC_{50} -Werte und ihre 95%-Konfidenzintervalle (CI) mit einer linearen Regression (Probit-, Weibull- oder Logit-Analyse mit linearer *maximum likelihood* Regression) ermittelt. Für metrische Daten (Algenwachstumshemmtest, Leuchtbakterientest, Feststoffkontakttest mit *A. globiformis*, Wachstumshemmtest mit *B. rapa*) wurden zunächst nicht-lineare Regressionsverfahren (3-Parameter *normal-cumulative distribution function* (CDF), Weibull- oder Logit-CDF) angewendet. Wurde mit diesen Verfahren keine gute Kurvenanpassung erreicht, wurden die o. g. linearen Regressionsverfahren eingesetzt. Die Qualität der Kurvenanpassung wurde visuell sowie anhand der Ergebnisse des F-Tests und des χ^2 -Anpassungstests bewertet.

Im vorliegenden Vorhaben wurden die abgeleiteten Effektkonzentrationen mit drei signifikanten Stellen angegeben, um einen gesicherten Vergleich mit der Grenzkonzentration zu ermöglichen.

4.4 Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests

In den folgenden Abschnitten werden zunächst die Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests für die verschiedenen Abfallarten dargestellt (Abschnitte 4.4.1 bis 4.4.3). Anschließend wird ein Überblick über alle Ergebnisse gegeben (Abschnitt 4.4.4) und die Ergebnisse werden im Vergleich zu Literaturdaten diskutiert (Abschnitt 4.5).

4.4.1 Filterstaub (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl

Für diese Abfallart wurden jeweils zwei Proben des gefährlichen und des nicht gefährlichen Spiegeleintrags untersucht.

4.4.1.1 Filterstaub (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl

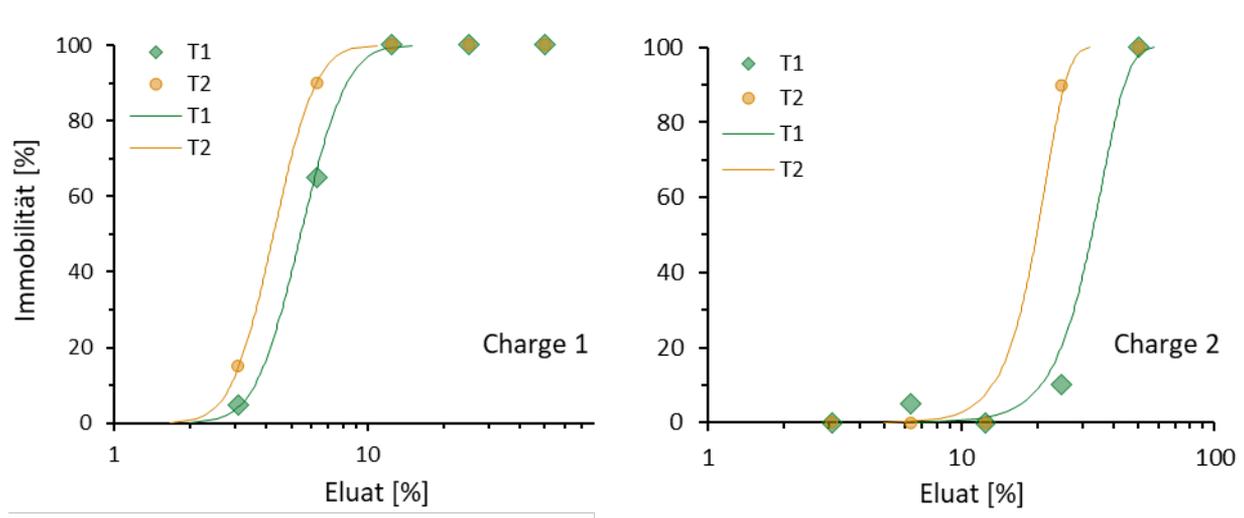
Vom Abfallbesitzer als gefährlich eingestuftes Filterstaub (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl wurde im Juli 2022 beprobt. Es wurden zwei Chargen untersucht: Altmaterial mit einer Lagerdauer >4 Wochen (Charge 1) und Frischmaterial mit einer Lagerdauer <4 Wochen (Charge 2).

4.4.1.1.1 Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) gegenüber aquatischen Organismen

4.4.1.1.1.1 Akuter Daphnientest

Im akuten Daphnientest wurden beide Chargen des Filterstaubs (10 09 09*) in zwei Testdurchläufen untersucht, die jeweils vergleichbare Ergebnisse zeigten (Abbildung 18). Für das Altmaterial (Charge 1) wurden EC_{50} -Werte von 5,45% (CI: 4,57-6,47%) und 4,26% (CI: 3,59-5,03%) ermittelt. Das Frischmaterial (Charge 2) erwies sich als deutlich weniger toxisch gegenüber *D. magna*. In beiden Testdurchläufen lagen die EC_{50} -Werte über der Grenzkonzentration: 32,8% (CI: nicht bestimmbar [n.b.]) und 19,8% (CI: 17,7-22,0%).

Abbildung 18: Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *D. magna*. Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.



Charge 1: Altmaterial, Charge 2: Frischmaterial. T1, T2: Testdurchläufe 1 und 2. Regression: Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 1), Weibull-Analysen mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 2). In allen dargestellten Tests lag die Immobilität in der Kontrolle bei 0%.

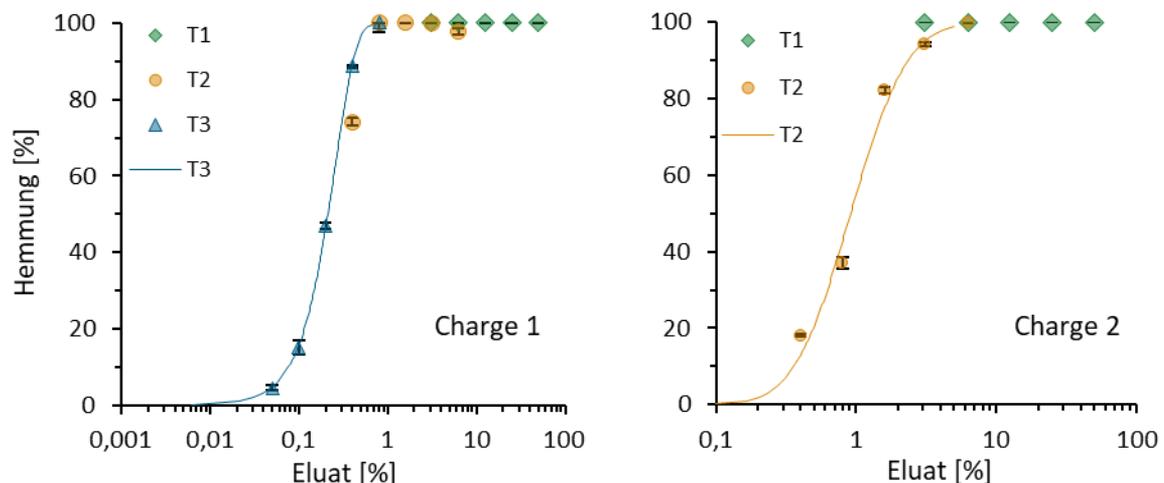
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.1.1.2 Algenwachstumshemmtest

Im Algenwachstumshemmtest wurde das Altmaterial (Charge 1) des Filterstaubs (10 09 09*) in drei Testdurchläufen untersucht (Abbildung 19). Im ersten Testdurchlauf wurde das Algenwachstum in allen Verdünnungsstufen (3,1-50% Eluat) vollständig gehemmt. Auch im zweiten Testdurchlauf (0,4-6,3% Eluat) wurden durchweg starke Hemmungen des Wachstums ($\geq 74\%$) festgestellt. Im dritten Testdurchlauf lagen die Hemmungen der Wachstumsrate zwischen 5% (0,05% Eluat) und 100% (0,8% Eluat), eine EC_{50} von 0,201% Eluat (CI: 0,200-0,203%) wurde ermittelt.

Das Frischmaterial (Charge 2) führte im ersten Testdurchlauf ebenfalls in allen Verdünnungsstufen (3,1-50% Eluat) zu einer vollständigen Hemmung des Algenwachstums (Abbildung 19). Im zweiten Testdurchlauf wurden Hemmungen zwischen 18% (0,4% Eluat) und 100% (6,3% Eluat) ermittelt. Die resultierende EC_{50} (0,913% Eluat; CI: 0,907-0,919%) lag auch hier über jener für das Altmaterial.

Abbildung 19: Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *R. subcapitata*. Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.



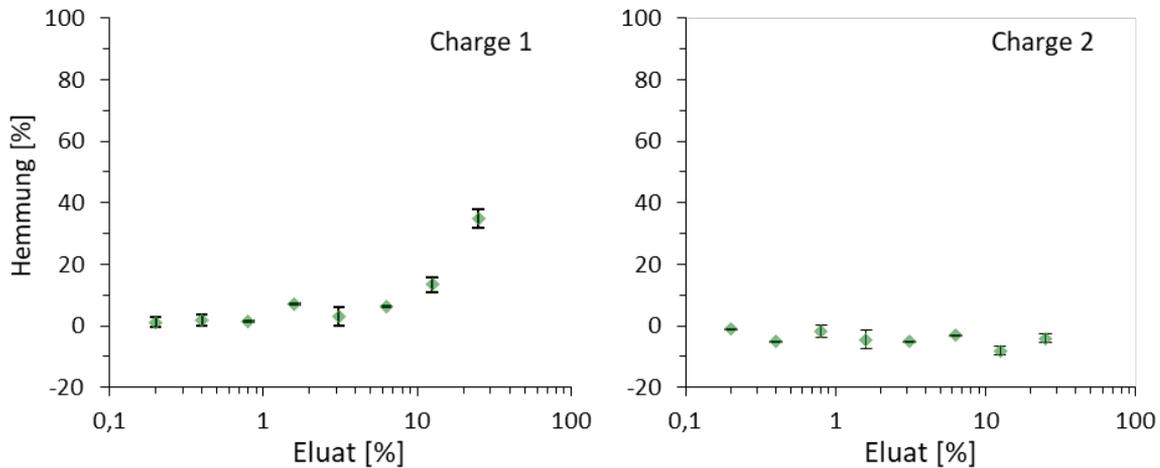
Hemmung der Wachstumsrate: Mittelwerte mit Standardabweichungen. Charge 1: Altmaterial, Charge 2: Frischmaterial. T1, T2, T3: Testdurchläufe 1, 2 und 3. Regression: Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 1), Probit-Analyse mit linearerer *maximum likelihood*-Regression (Charge 2).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.1.1.3 Leucht bakterientest

Beide Chargen des Filterstaubs (10 09 09*) wurden im Leucht bakterientest in jeweils in einem Testdurchlauf untersucht. Das Altmaterial führte in den geprüften Verdünnungsstufen (0,4-25% Eluat) zu einer maximal 35%igen Hemmung der Biolumineszenz. Das Frischmaterial zeigte keine Toxizität gegenüber *A. fischeri* (Abbildung 20). Die EC_{50} -Werte lagen damit für beide Chargen bei $>25\%$ Eluat.

Abbildung 20: Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *A. fischeri*. Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.



Hemmung der Biolumineszenz: Mittelwerte mit Standardabweichungen. Charge 1: Altmaterial, Charge 2: Frischmaterial. T1, T2 und T3: Testdurchläufe 1, 2 und 3. Keine Regression, da <50% Effekt in allen getesteten Verdünnungsstufen.

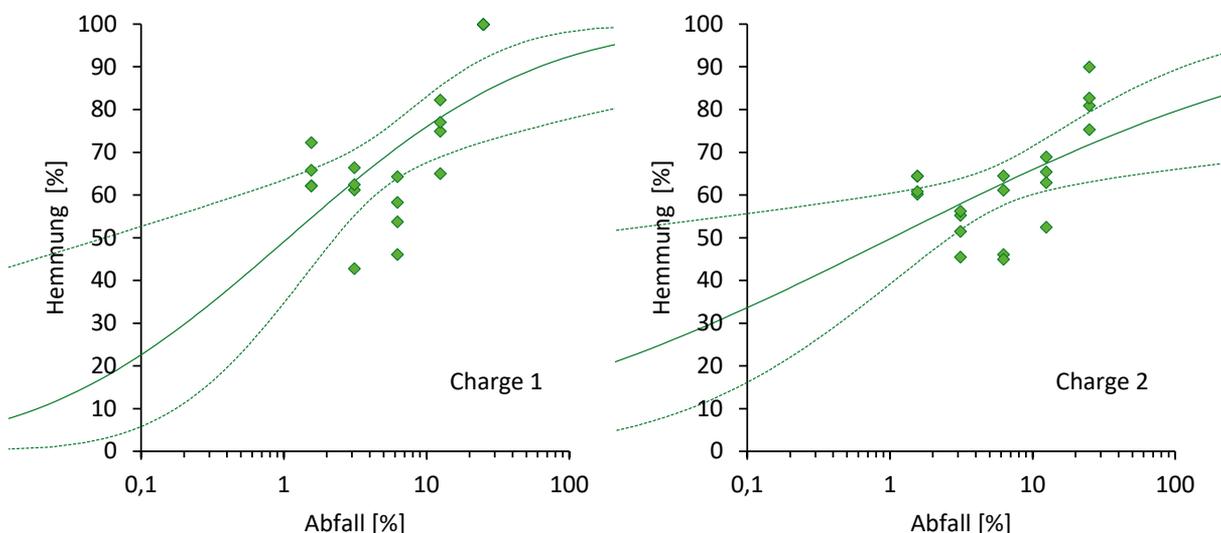
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.1.2 Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber terrestrischen Organismen

4.4.1.1.2.1 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Im Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* zeigten die Untersuchungen der beiden Chargen des Filterstaubs (10 09 09*) jeweils vergleichbare Ergebnisse. Es wurde eine klare, jedoch nicht-monotone Konzentrations-Wirkungsbeziehung beobachtet (Abbildung 21). Für das >4 Wochen alte Lagermaterial (Charge 1) wurde ein EC_{50} -Wert von 1,08% (CI: 0,056–2,29%) ermittelt und für das Frischmaterial (Charge 2) ein EC_{50} -Wert von 1,03% (CI: 0,005–2,61%). Für beide Chargen lagen die EC_{50} -Werte damit unter der Grenzkonzentration.

Abbildung 21: Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *A. globiformis*. Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Chargen 1 und 2.



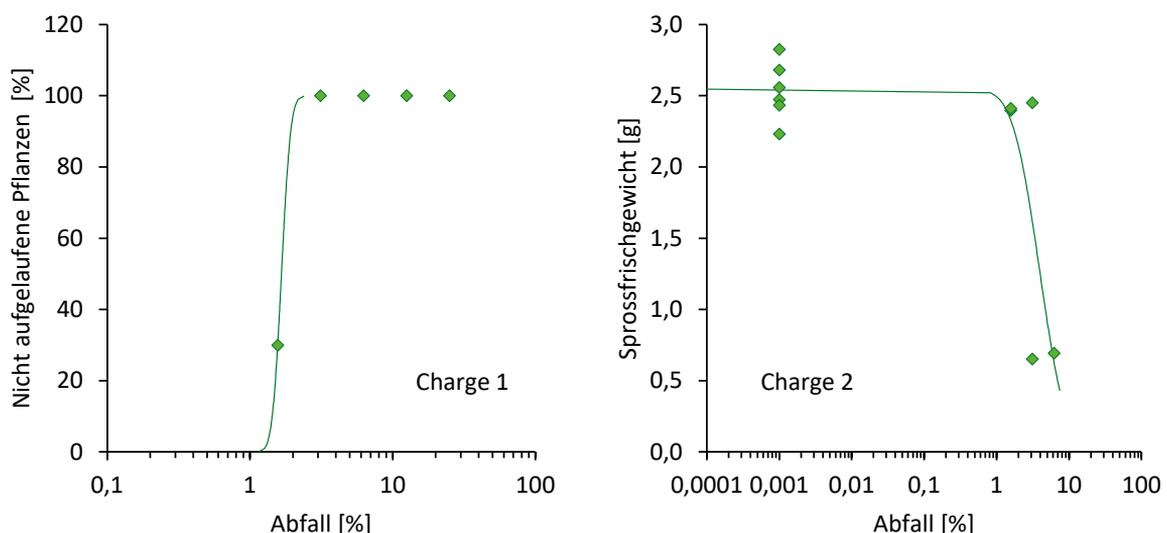
Charge 1: Altmaterial, Charge 2: Frischmaterial. Regression (inkl. 95%-CI): Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.1.2.2 Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa*

Im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* zeigten die Untersuchungen der beiden Chargen des Filterstaubs (10 09 09*) unterschiedliche Ergebnisse (Abbildung 22). Es trat jedoch in beiden Tests ein deutlicher Effekt auf die Emergenz auf. Für das Altmaterial (Charge 1) konnte für das Sprossfrischgewicht kein EC_{50} -Wert ermittelt werden, da nur in der höchsten Verdünnungsstufe (1,56% Abfall) Pflanzen aufgelaufen waren; der Effekt auf das Sprossfrischgewicht war hier <50%. Der EC_{50} -Wert für die Emergenz lag bei 1,66% (CI: n.b.). Für das Frischmaterial (Charge 2) wurde für das Sprossfrischgewicht ein EC_{50} -Wert von 3,93% (CI: n.b.) und für die Emergenz ein EC_{50} -Wert von 3,86% (CI: 1,06–11,3%) berechnet. Für beide Chargen lagen die EC_{50} -Werte damit unter der Grenzkonzentration von 10%. Zudem konnte für die Probe der Charge 2 ein chronischer Effektwert (EC_{10}) für das Sprossfrischgewicht von 1,67% (CI: 0,550–5,09%) bestimmt werden.

Abbildung 22: Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *B. rapa*. Nicht aufgelaufene Pflanzen bzw. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Chargen 1 und 2.



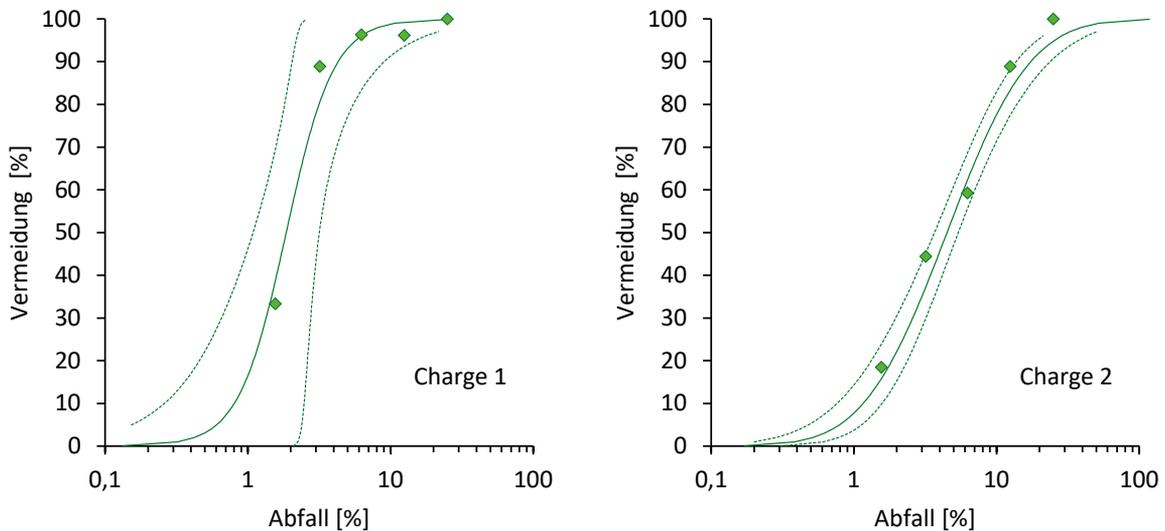
Sprossfrischgewicht: Mittelwert pro überlebender Pflanze und Topf. Charge 1: Altmaterial, Charge 2: Frischmaterial. Regression: Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 1), 3-Parameter *normal-cumulative distribution function* (Charge 2).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

4.4.1.1.2.3 Vermeidungstest mit Regenwürmern

Im Vermeidungstest mit *E. fetida* zeigten die Untersuchungen der beiden Chargen des Filterstaubs (10 09 09*) bezüglich der Konzentrations-Wirkungsbeziehung leicht unterschiedliche Ergebnisse (Abbildung 23). Für das Altmaterial (Charge 1) wurde ein EC_{50} -Wert von 1,86% (CI: 1,09–3,17%) ermittelt, für das Frischmaterial (Charge 2) ein etwas höherer EC_{50} -Wert von 4,49% (CI: 3,67–5,39%). Für beide Chargen lagen die EC_{50} -Werte damit unter der Grenzkonzentration von 10%.

Abbildung 23: Toxizität des Filterstaubs (10 09 09*) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *E. fetida*. Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Chargen 1 und 2.



Vermeidung: Mittelwerte aus fünf Replikaten. Charge 1: Altmaterial, Charge 2: Frischmaterial. Regression (inkl. 95%-CI): Logit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 1), Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 2).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.2 Filterstaub (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl

Beim als nicht gefährlich eingestuften Filterstaub (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl wurde Material aus zwei verschiedenen Gießereien untersucht (Anlage A wurde im Juni 2022 beprobt, Anlage B im Oktober 2022).

4.4.1.2.1 Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber aquatischen Organismen

4.4.1.2.1.1 Akuter Daphnientest

Für den Filterstaub (10 09 10) aus Anlage A hatten die beiden niedrigsten eingesetzten Verdünnungen pH-Werte außerhalb des in DIN EN ISO 6341 (2013a) angegebenen geeigneten pH-Bereichs für *D. magna* (pH 6,0-9,0). Bei einem Eluatanteil von 25% lag der pH bei 9,1, bei einem Eluatanteil von 50% bei 9,3 bzw. 9,6⁴⁰. Dieser Abfall wurde daher zunächst in einem Testdurchlauf ohne pH-Einstellung und anschließend in zwei parallelen Testdurchläufen (a) ohne und (b) mit pH-Einstellung getestet (vgl. Abschnitt 4.3.1.1). Dabei wurden die pH-Werte der zwei o. g. Verdünnungsstufen auf pH 8,4-8,5 eingestellt.

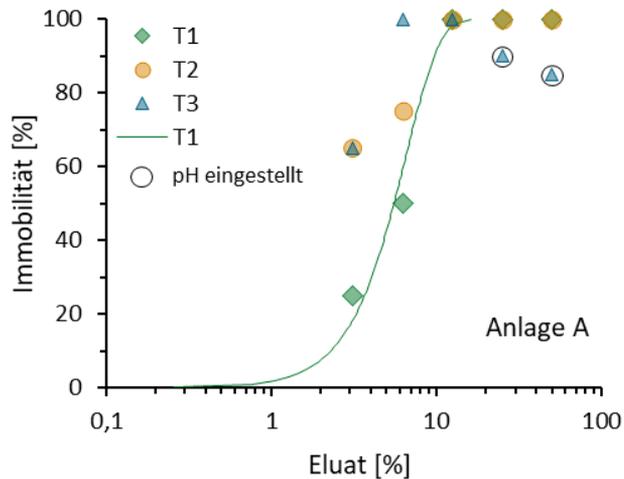
In den ersten beiden Testdurchläufen ohne pH-Einstellung und in den nicht pH-eingestellten Verdünnungsstufen des dritten Testdurchlaufs wurde eine ähnliche Toxizität festgestellt. Die Effekte waren jedoch im ersten Testdurchlauf (EC_{50} : 5,53%, CI: 4,12-6,76%) etwas geringer als im zweiten (EC_{50} <3,1%) und dritten Testdurchlauf⁴¹ (Abbildung 24). Die pH-Einstellung in den Verdünnungsstufen mit 25 und 50% Eluat führte zu einer leichten Reduktion der Toxizität.

Filterstaub (10 09 10) von der Anlage B hatte in beiden durchgeführten Testdurchläufen keine Effekte auf die Daphnien (EC_{50} : >50% Eluat).

⁴⁰ Erster Testdurchlauf mit dem ersten Abfalleuat: pH 9,6; zweiter Testdurchlauf mit dem zweiten Abfalleuat: pH 9,3.

⁴¹ Für Tests mit pH-Einstellung wurde keine EC_{50} ermittelt (siehe Abschnitt 4.3.1).

Abbildung 24: Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlage A gegenüber *D. magna*. Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil.



T1-T3: Testdurchläufe 1-3. T3 mit Einstellung des pH-Werts in den Verdünnungsstufen 25 und 50% Eluat. Regression: Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression. 0% Immobilität in der Kontrolle (T1⁴²-T3).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.2.1.2 Algenwachstumshemmtest

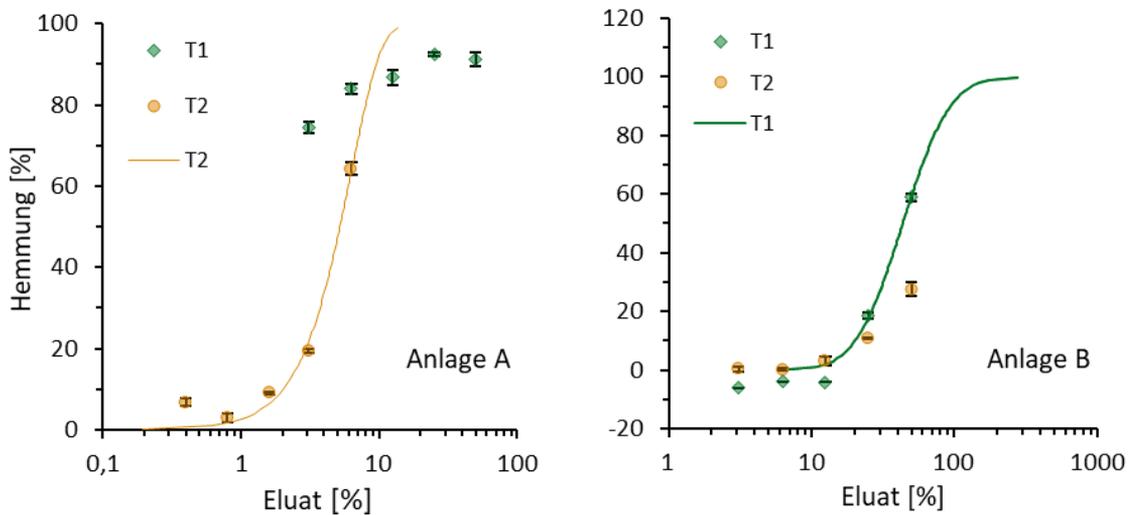
Im ersten Testdurchlauf⁴³ führte Filterstaub (10 09 10) von der Anlage A in allen Verdünnungsstufen zu einer mehr als 50%igen Hemmung der Algenwachstumsrate ($EC_{50} < 3,1\%$ Eluatanteil). Im zweiten Testdurchlauf mit höheren Verdünnungen lagen die Hemmungen der Wachstumsrate zwischen 3% (0,8% Eluat) und 64% (6,3% Eluat). Es wurde eine EC_{50} von 5,21% (CI: 5,10-5,32%) ermittelt. Die in beiden Testdurchläufen getesteten Verdünnungsstufen (3,1 und 6,3% Eluat) erwiesen sich im zweiten Testdurchlauf als weniger toxisch als im ersten (siehe Abbildung 25).

Im ersten und zweiten Testdurchlauf mit Filterstaub (10 09 10) von der Anlage B wurden Hemmungen von maximal 59% bzw. 28% festgestellt (Abbildung 25). Es wurden EC_{50} -Werte von 43,5% (CI: 43,1-43,9%) bzw. >50% ermittelt.

⁴² Erster Testdurchlauf: nur 15 Kontrolltiere.

⁴³ Im ersten Testdurchlauf mit dem Filterstaub (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlage B und dem Straßenbankett (17 05 03*) wurde dieselbe Positivkontrolle verwendet. Die $K_2Cr_2O_7$ -Konzentration in der Positivkontrolle betrug wegen einer um den Faktor 10 zu hohen Einwaage 8 mg/L anstelle von 0,8 mg/L. Die Hemmung der Wachstumsrate lag daher mit >100% über dem maximal geforderten Wert von $\geq 80\%$. Da die Sensitivität der Algen gegenüber $K_2Cr_2O_7$ (0,8 mg/L) in allen anderen Testdurchläufen durch eine Hemmung von 20-80% belegt werden konnte, wurden die Daten aus dem jeweils ersten Testdurchlauf trotzdem verwendet.

Abbildung 25: Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlagen A und B gegenüber *R. subcapitata*. Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.



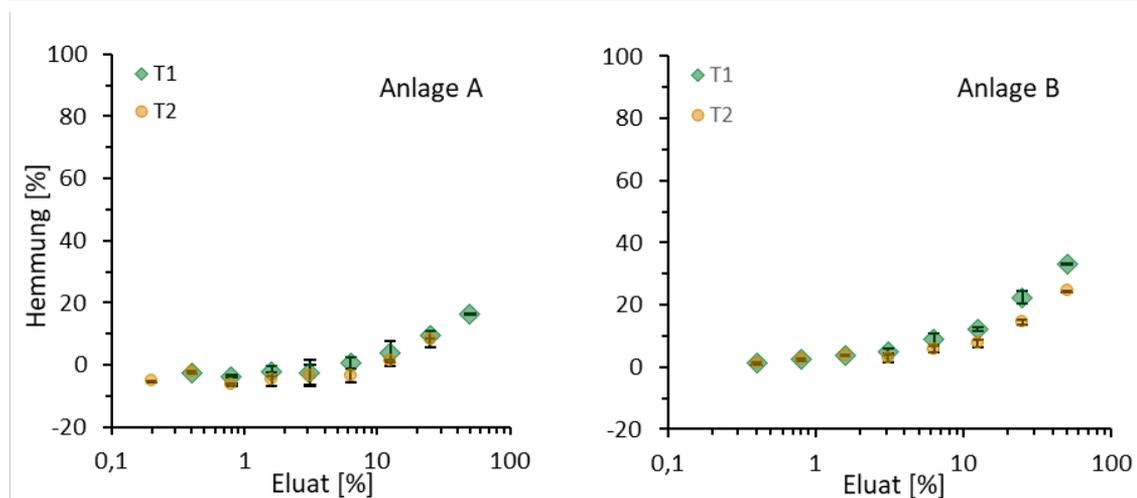
Hemmung der Wachstumsrate: Mittelwerte mit Standardabweichungen. T1 und T2: Testdurchläufe 1 und 2. Regression: Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Anlage A), Probit-Analyse mit linearerer *maximum likelihood*-Regression (Anlage B).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.2.1.3 Leuchtbakterientest

Filterstaub (10 09 10) aus Anlagen A und B wurde in jeweils zwei Testdurchläufen im Leuchtbakterientest untersucht. Beide Abfälle führten nur zu einer geringen Hemmung der Biolumineszenz (<20%, siehe Abbildung 26). Die EC_{50} -Werte liegen damit über der höchsten getesteten Verdünnungsstufe (>25% für Anlage A, 2. Testdurchlauf, >50% in den anderen drei Tests). Die Ergebnisse aus den beiden Testdurchläufen stimmen jeweils sehr gut überein.

Abbildung 26: Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlagen A und B gegenüber *A. fischeri*. Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.



Hemmung der Biolumineszenz: Mittelwerte mit Standardabweichungen. T1 und T2: Testdurchläufe 1 und 2.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

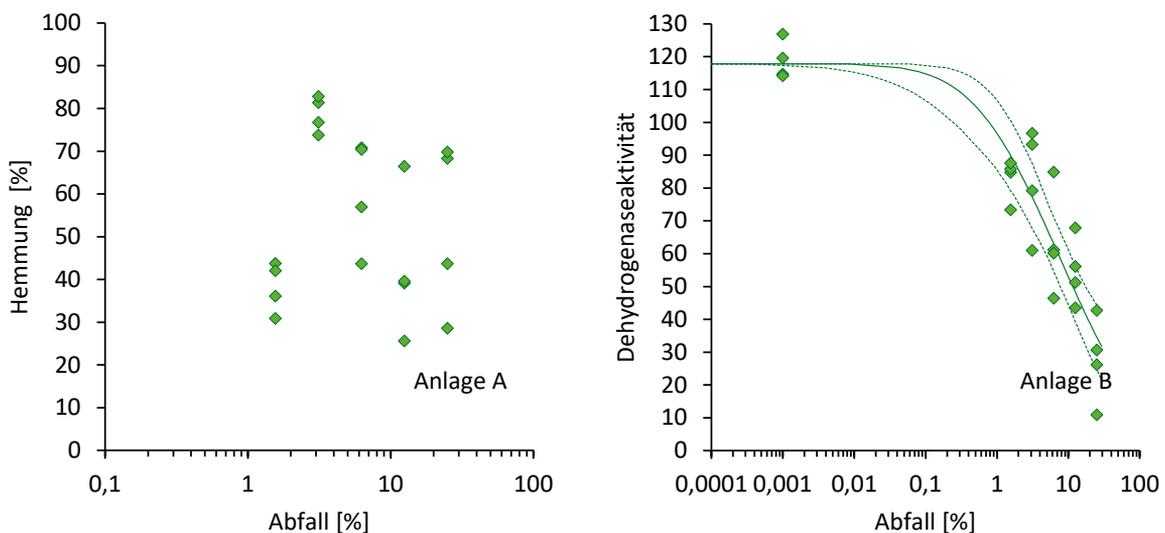
4.4.1.2.2 Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber terrestrischen Organismen

4.4.1.2.2.1 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Im Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* zeigten die Untersuchungen der Proben des Filterstaubs (10 09 10) aus den beiden Anlagen unterschiedliche Ergebnisse (Abbildung 27). Für das Material aus Anlage A war die Konzentrations-Wirkungsbeziehung nicht monoton, so dass kein EC₅₀-Wert berechnet werden konnte. Es wurde jedoch in mehreren Verdünnungsstufen eine Hemmung >50% beobachtet, weshalb hier von einer Ökotoxizität der Probe ausgegangen werden kann.

Für das Material aus Anlage B lag eine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung vor und ein EC₅₀-Wert von 7,56% (CI: 5,10–11,1%) wurde ermittelt, der unter der Grenzkonzentration von 10% lag. Hier ist jedoch zu beachten, dass dieser Testdurchlauf wegen einem fehlenden Effekt der Referenzsubstanz im LUFA 2.2-Boden formal nicht die Validitätskriterien erfüllte. Im Quarzsand wurde dagegen ein deutlicher Effekt der Referenzsubstanz beobachtet. Aus diesem Grund und aufgrund der Tatsache, dass das vorhandene Probenmaterial nach der Auswertung des Tests bereits über 2 Monate alt war, wurde auf eine Testwiederholung verzichtet.

Abbildung 27: Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *A. globiformis*. (Hemmung der) Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Anlagen A und B.



Regression (inkl. 95%-CI): Keine Regression, da Konzentrations-Wirkungsbeziehung nicht monoton (Anlage A), 3-Parameter *normal-cumulative distribution function* (Anlage B).

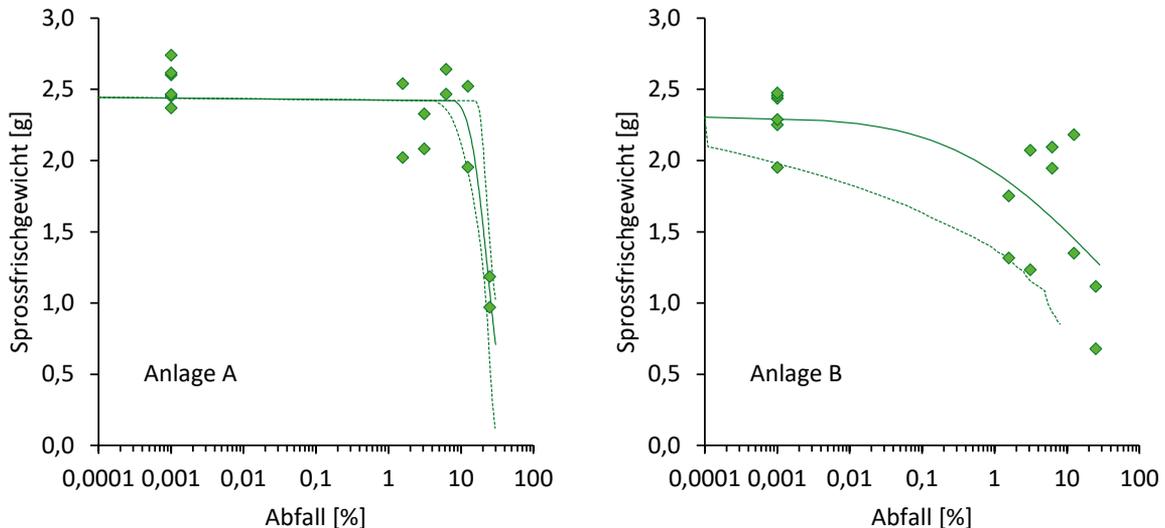
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.2.2.2 Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa*

Im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* zeigten die Untersuchungen der Proben des Filterstaubs (10 09 10) aus den beiden Anlagen leicht unterschiedliche Ergebnisse (Abbildung 28). Für das Material aus Anlage A wurde ein EC₅₀-Wert von 23,4% (CI: 20,0–27,4%) ermittelt, während die EC₅₀ für das Material aus Anlage B >25% lag. Damit waren die EC₅₀-Werte für beide Anlagen über der Grenzkonzentration. Für das Material aus Anlage A konnte zudem ein chronischer Effektwert (EC₁₀) von 13,2% (CI: 8,50–20,4%) bestimmt werden. Für Anlage B lag zwar eine Reduktion des Sprossfrischgewichts von >10% in allen Verdünnungsstufen vor, jedoch ohne

eine monotone Konzentrations-Wirkungs-Beziehung, sodass keine verlässliche EC_{10} bestimmbar war.

Abbildung 28: Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *B. rapa*. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Anlagen A und B.



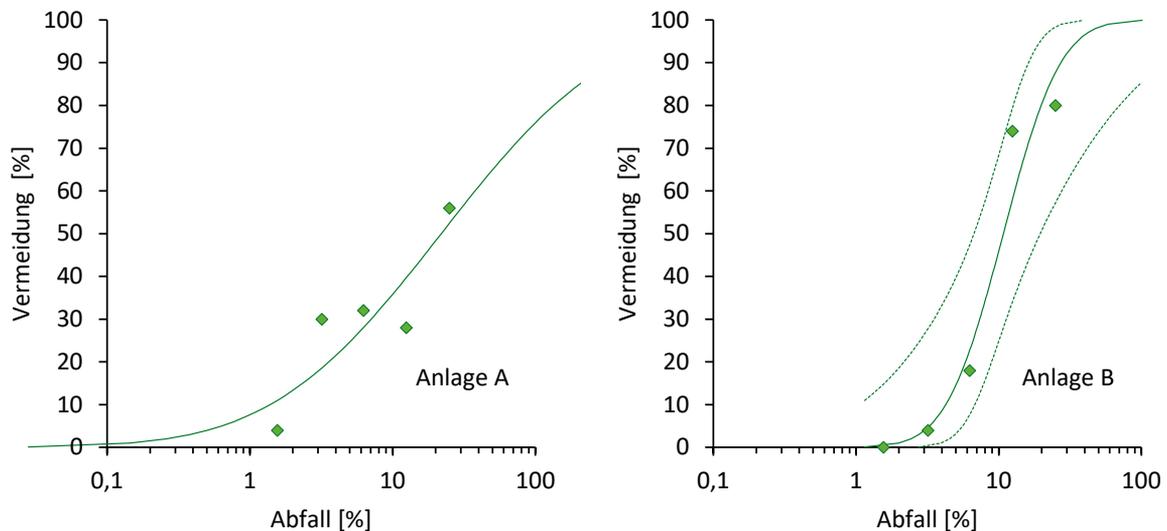
Sprossfrischgewicht: Mittelwert pro überlebender Pflanze und Topf. Regression (inkl. 95%-CI): 3-Parameter *normal-cumulative distribution function*.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.1.2.2.3 Vermeidungstest mit Regenwürmern

Im Vermeidungstest mit *E. fetida* zeigten die Untersuchungen der Proben des Filterstaubs (10 09 10) aus den beiden Anlagen ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse (Abbildung 29). Es lag eine klare, im Fall von Anlage A jedoch nicht-monotone, Konzentrations-Wirkungsbeziehung vor. Eine EC_{50} von 21,9% (CI: n.b.) wurde berechnet, wobei die Konzentrations-Wirkungsbeziehung statistisch nicht signifikant war, weshalb dieser Wert als wenig robust angesehen werden muss. Für das Material aus Anlage B wurde ein EC_{50} -Wert von 10,8% (CI: 6,70–19,5%) ermittelt. Für beide Anlagen lagen die EC_{50} -Werte damit über der Grenzkonzentration von 10%, im Fall von Anlage B allerdings nur knapp.

Abbildung 29: Toxizität des Filterstaubs (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl gegenüber *E. fetida*. Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Anlagen A und B.



Vermeidung [%]: Mittelwerte aus fünf Replikaten. Regression: Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Anlage B inkl. 95%-CI).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2 Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04)

Aus dem Spiegeleintrag Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04) wurden drei Abfallproben untersucht: geogener Aushub aus einem Braunkohletagebau (17 05 03*; Probenahme: Juni 2022) sowie zwei Straßenbankett-Proben, von denen eine durch den Abfallbesitzer als gefährlich (17 05 03*; Probenahme: Oktober 2022) und eine als ungefährlich (17 05 04; Probenahme: Mai 2022) eingestuft worden war.

4.4.2.1 Geogener Aushub (17 05 03*)

4.4.2.1.1 Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber aquatischen Organismen

Für den geogenen Aushub wurden mit allen aquatischen Testsystemen drei Testdurchläufe durchgeführt, davon jeweils einer (Testdurchlauf 3) mit pH-Anpassung.

4.4.2.1.1.1 Akuter Daphnientest

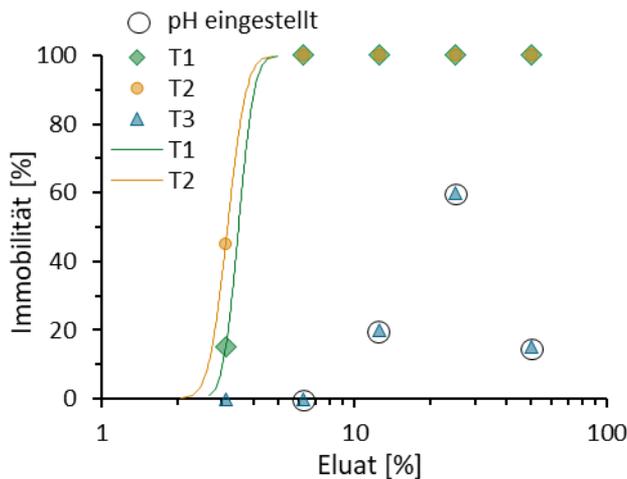
Die niedrigsten vier Verdünnungen (6,3–50%) des Eluats des geogenen Aushubs (17 05 03*) hatten pH-Werte außerhalb des in DIN EN ISO 6341 (2013a) angegebenen geeigneten pH-Bereichs für *D. magna*. Bei einem Eluatanteil von 6,3% lag der pH-Wert bei 4,7 bzw. 4,8⁴⁴, bei einem Eluatanteil von 50% bei 2,9. In den beiden Testdurchläufen ohne pH-Einstellung waren bei Eluatanteilen von 6,3 bis 50% alle Daphnien immobil (Abbildung 30). Es wurden EC₅₀-Werte von 3,49% (CI: n.b.) bzw. 3,15% (CI: n.b.) ermittelt.

Im dritten Testdurchlauf wurden die pH-Werte der o. g. vier Verdünnungsstufen auf den pH des Testmediums eingestellt. Die Neutralisierung führte zum Ausfall von orange-braunen Flocken (vermutlich Eisenhydroxide) und zur Bildung von zwei Phasen: einer klaren Phase im oberen Bereich der Testgefäße und einer flockigen, orange-braunen Phase im unteren Bereich. Mit ansteigendem Eluatanteil kam es zu einer stärkeren Flockenbildung und zu einer stärkeren

⁴⁴ Erster Testdurchlauf mit dem ersten Abfalleuat: pH 4,7; zweiter Testdurchlauf mit dem zweiten Abfalleuat: pH 4,8.

Trennung der beiden Phasen. Parallel dazu wurde ein Abfall des Sauerstoffgehalts festgestellt. In der höchsten Eluatkonzentration (50%) lag der O₂-Gehalt bei 4,0 mg/L (Kontrolle: 9,9 mg/L). Am Ende der Exposition war der Sauerstoffgehalt in allen Verdünnungsstufen wieder im selben Bereich wie in der Kontrolle (9,6–9,8 mg/L). Durch die pH-Anpassung reduzierte sich die Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) deutlich (siehe Abbildung 30). Dabei ist die sehr starke Reduktion des Effekts bei 50% Eluat auffällig. Möglicherweise hat die starke Trennung zwischen der flockigen, unteren Phase und der klaren, oberen Phase dazu geführt, dass die Daphnien weniger stark durch die Ausfällungen beeinträchtigt wurden.

Abbildung 30: Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber *D. magna*. Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil.



T1-T3: Testdurchläufe 1–3; T3 mit Einstellung des pH-Werts in den Verdünnungsstufen 6,3–50% Eluat. Regression: Probit-Analysen mit linearer *maximum likelihood*-Regression. 0% Immobilität in den Kontrollen (T1⁴⁵-T3).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

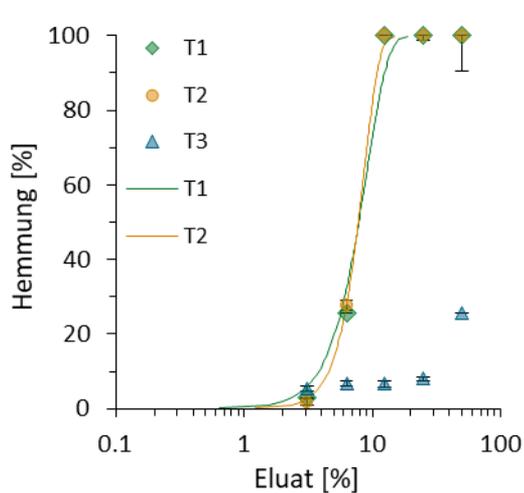
4.4.2.1.1.2 Algenwachstumshemmtest

Im Algenwachstumshemmtest lag der pH bei einem Eluatanteil von 6,3% an der unteren Grenze des laut DIN 38412-59 (2021) angegebenen geeigneten pH-Bereichs von 6,0–8,5. Bei Eluatanteilen von 12,5–50% waren die pH-Werte $\leq 3,7$. In den beiden Testdurchläufen ohne pH-Einstellung wurde das Algenwachstum in den drei Verdünnungsstufen mit dem höchsten Eluatanteil (12,5–50% Eluat) vollständig gehemmt (Abbildung 31). Im ersten Testdurchlauf wurde eine EC₅₀ von 7,85% (CI: 6,66–9,08%) und im zweiten Testdurchlauf eine EC₅₀ von 7,77% (CI: 7,56–7,99%) ermittelt.

In dritten Testdurchlauf wurden die pH-Werte in den Verdünnungsstufen mit einem Eluatanteil von 6,3–50% eingestellt. Wie im Daphnientest traten auch hier orange-braune Ausfällungen auf. Diese Ausfällungen führten zu einem Fluoreszenzverlust, der für die Messung bei Testbeginn (0 h) zu negativen Zellzahlen geführt hätte. Da sich der Fluoreszenzverlust ausschließlich auf die Messung zu Testbeginn auswirkte, wurde die Fluoreszenzkorrekturplatte in diesem Fall bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Stattdessen wurden die Zellzahlen der 0 h-Messung auf den Wert des angeimpften Zelltiters ($0,5 \times 10^4$ Zellen/ml) gesetzt. Wie in Abbildung 31 zu erkennen, führte die Einstellung der pH-Werte zu einer starken Reduktion des Effekts des geogenen Aushubs auf die Algen.

⁴⁵ Erster Testdurchlauf enthielt nur 15 Kontrolltiere.

Abbildung 31: Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber *R. subcapitata*. Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.



Hemmung der Wachstumsrate: Mittelwerte mit Standardabweichungen. T1–T3: Testdurchläufe 1–3. T3 mit Einstellung des pH-Werts in den Verdünnungsstufen 6,3–50% Eluat. Regression: Weibull-Analysen mit linearer *maximum likelihood*-Regression.

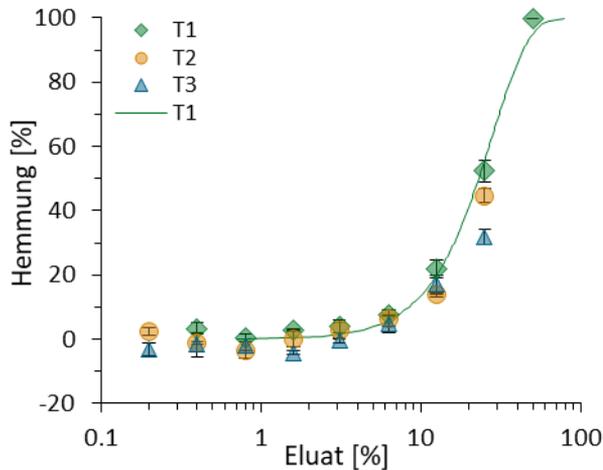
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.1.1.3 Leuchtbakterientest

Im Leuchtbakterientest hatte nur die Verdünnung mit dem niedrigsten Eluatanteil (0,4%) einen pH >6,0. Die pH-Werte bei 0,8–50% Eluat lagen im deutlich sauren Bereich (pH 5,4 bei 0,8% Eluat, pH 2,7 bei 50% Eluat). Die beiden Testdurchläufe, die ohne pH-Einstellung durchgeführt wurden, zeigten sehr ähnliche Ergebnisse. Im ersten Testdurchlauf wurde eine EC_{50} von 22,9% (CI: 20,7–25,3%) ermittelt, im zweiten eine EC_{50} >25% Eluat (Abbildung 32).

Obwohl die ermittelten EC_{50} -Werte über der Grenzkonzentration von 10% Eluat lagen, wurde auch im Leuchtbakterientest ein dritter Testdurchlauf mit pH-Anpassung durchgeführt. Dabei wurde abweichend von der in Abschnitt 4.3.1.1 beschriebenen Vorgehensweise der pH-Wert des Eluats eingestellt, da aufgrund der fehlenden Pufferkapazität des im Leuchtbakterientest verwendeten Testmediums (2%iger NaCl-Lösung) der pH in 7 von 8 Verdünnungsstufen deutlich im sauren Bereich lag (s.o.). Infolge der Neutralisation bildeten sich grün-bräunliche Flocken im Eluat und der O_2 -Gehalt sank auf 0,4 mg/L. Vor der Herstellung der Verdünnung wurde das Eluat 30 min gerührt, was dazu führte, dass der O_2 -Gehalt auf 5,2 mg/L anstieg und die Flocken eine orange Färbung annahmen. Die Einstellung des pH-Werts führte zu einer Reduktion der Toxizität in der niedrigsten getesteten Verdünnung (25% Eluat; Abbildung 20). In allen weiteren getesteten Verdünnungsstufen (0,2–12,5%) konnte kein deutlicher Effekt festgestellt werden.

Abbildung 32: Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber *A. fischeri*. Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.



Hemmung der Biolumineszenz: Mittelwerte mit Standardabweichung. T1, T2 und T3: Testdurchläufe 1, 2 und 3, Regression: Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression. In T2 und T3 wurden Verdünnungen von 0,2 bis 25% Eluat (statt 0,4–50%) eingesetzt, da die Verdünnung während der Testdurchführung nicht berücksichtigt wurde. In T3 wurde der pH-Wert des Eluats eingestellt.

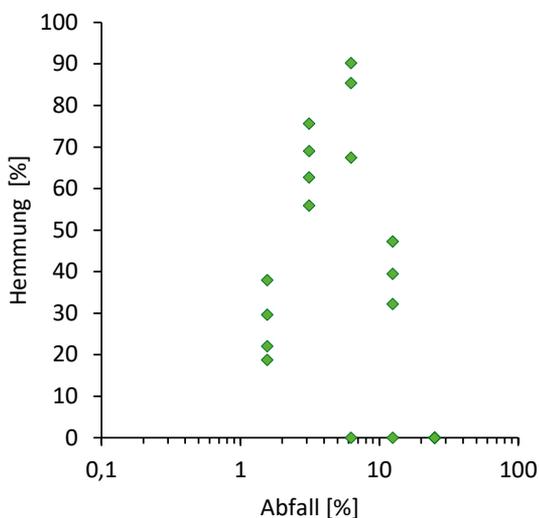
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.1.2 Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber terrestrischen Organismen

4.4.2.1.2.1 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Im Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* zeigte die Untersuchung der Probe des geogenen Aushubs (17 05 03*) eine umgekehrt U-förmige Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 33). Während bei höheren Verdünnungsstufen eine Hemmung von bis zu 65% beobachtet wurde, trat in der niedrigsten Verdünnungsstufe (25% Abfallanteil) eine Förderung der Dehydrogenaseaktivität auf. Eventuell wurde das Bakterienwachstum durch den Eisengehalt der Probe gefördert. Es konnte keine EC_{50} berechnet werden. Basierend auf dem fehlenden Effekt in der niedrigsten Verdünnungsstufe wurde angenommen, dass die EC_{50} bei >25% liegt.

Abbildung 33: Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber *A. globiformis*. Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil.



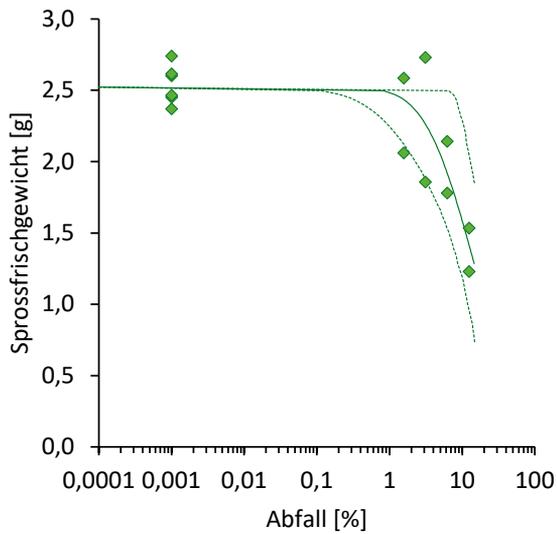
Keine Regression, da Förderung der Dehydrogenaseaktivität in der niedrigsten Verdünnungsstufe.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.1.2.2 Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa*

Im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* zeigte die Untersuchung der Probe des geogenen Aushubs (17 05 03*) eine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 34). Für das Sprossfrischgewicht wurde ein EC_{50} -Wert von 15,1% (CI: 8,46–26,8%) ermittelt. Dieser Wert lag etwas über der niedrigsten Verdünnungsstufe, in der noch Pflanzen aufgelaufen waren (12,5% Abfall). Daher wird die EC_{50} als >12,5% angegeben. Zusätzlich konnte ein chronischer Effektwert (EC_{10}) von 3,05% (CI: 1,08–8,60%) bestimmt werden.

Abbildung 34: Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber *B. rapa*. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil.



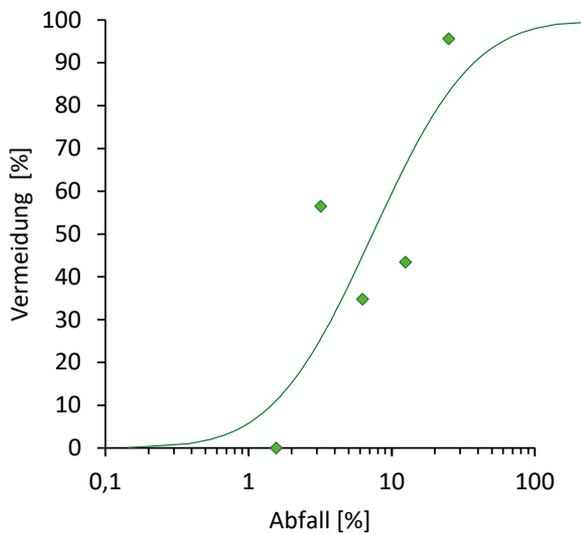
Sprossfrischgewicht: Mittelwert pro überlebender Pflanze und Topf. Regression (inkl. 95%-CI): 3-Parameter *normal-cumulative distribution function*.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.1.2.3 Vermeidungstest mit *Regenwürmern*

Im Vermeidungstest mit *E. fetida* zeigte die Untersuchung der Probe des geogenen Aushubs (17 05 03*) eine Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 35), die jedoch statistisch nicht signifikant war. Der berechnete EC_{50} -Wert von 7,36% (CI: n.b.) ist somit als wenig robust anzusehen.

Abbildung 35: Toxizität des geogenen Aushubs (17 05 03*) gegenüber *E. fetida*. Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil.



Vermeidung [%]: Mittelwerte aus fünf Replikaten. Regression: Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression.
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.2 Straßenbankett (17 05 03*)

4.4.2.2.1 Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber aquatischen Organismen

Für das vom Abfallbesitzer als gefährlich eingestufte Straßenbankett (17 05 03*) wurden mit allen aquatischen Testsystemen zwei Testdurchläufe durchgeführt.

4.4.2.2.1.1 Akuter Daphnientest

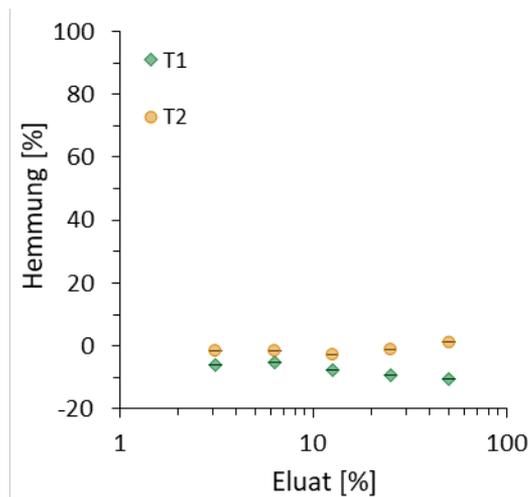
Die Ergebnisse beider Testdurchläufe zeigen übereinstimmend, dass das Straßenbankett (17 05 03*) nicht akut toxisch gegenüber *D. magna* ist ($EC_{50} > 50\%$ Eluat). Die Immobilität in den Kontrollen lag in beiden Tests bei 0%.

4.4.2.2.1.2 Algenwachstumshemmtest

Aufgrund der Eigenfluoreszenz des Eluats des Straßenbanketts (17 05 03*) wurde bei der Auswertung der beiden Algenwachstumshemmtests eine Fluoreszenzkorrektur berücksichtigt. Eluat des Straßenbanketts erwies sich in beiden Testdurchläufen als nicht algentoxisch⁴⁶. Die EC_{50} -Werte lagen über 50% Eluat. Wie in Abbildung 36 zu erkennen, kam es z.T. zu einer leichten Förderung des Wachstums von *R. subcapitata*.

⁴⁶ Im ersten Testdurchlauf mit dem Filterstaub (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlage B und dem Straßenbankett (17 05 03*) wurde dieselbe Positivkontrolle verwendet. Die $K_2Cr_2O_7$ -Konzentration in der Positivkontrolle betrug wegen einer um den Faktor 10 zu hohen Einwaage 8,0 mg/L anstelle von 0,8 mg/L. Die Hemmung der Wachstumsrate (100%) lag daher über dem geforderten Bereich (20-80% Hemmung). Da die geforderte Sensitivität der Algen gegenüber $K_2Cr_2O_7$ (0,8 mg/L) in allen anderen Testdurchläufen durch eine Hemmung von 20-80% belegt werden konnte, wurden die Daten des jeweils ersten Testdurchlaufs trotzdem verwendet.

Abbildung 36: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber *R. subcapitata*. Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.

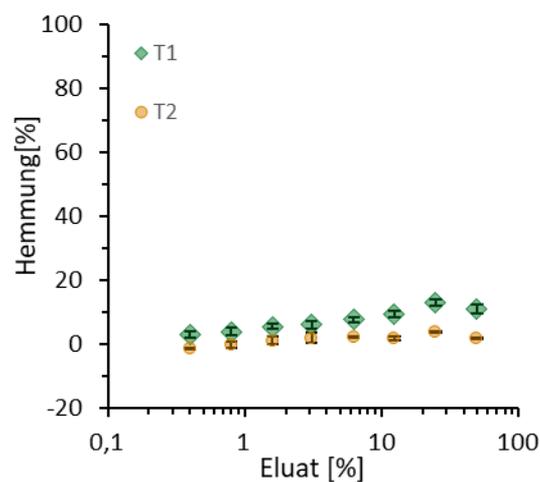


Hemmung der Wachstumsrate: Mittelwerte mit Standardabweichungen. T1, T2: Testdurchläufe 1 und 2.
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.2.1.3 Leuchtbakterientest

Auch im Leuchtbakterientest wurden in beiden Testdurchläufen EC_{50} -Werte $>50\%$ Eluat ermittelt. Die beobachteten Hemmungen der Biolumineszenz lagen bei weniger als 20% (Abbildung 37)⁴⁷.

Abbildung 37: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber *A. fischeri*. Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.



Hemmung der Biolumineszenz: Mittelwerte mit Standardabweichungen. T1, T2: Testdurchläufe 1 und 2
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

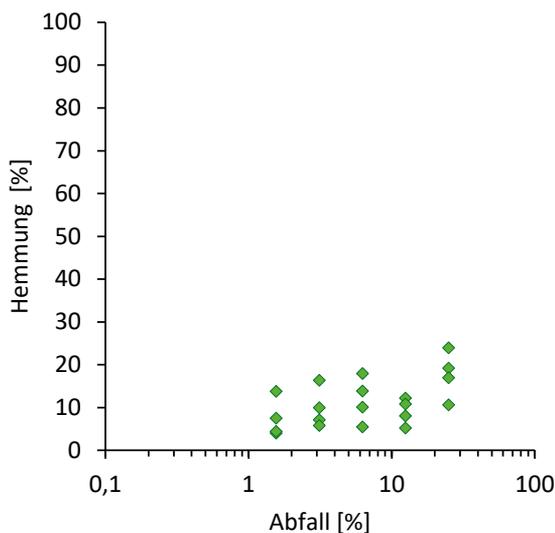
⁴⁷ Der f_{kt} -Wert (Korrekturfaktor der Schwankung der Kontrolle) nach 30 min lag in Testdurchlauf 1 bei 1,32 und damit außerhalb des von DIN EN ISO 11348-2 (2009) vorgegebenen Bereichs (0,6-1,3). Der Testdurchlauf ist daher formal nicht valide. Alle f_{kt} -Werte $>1,3$ traten bei Verwendung derselben Charge von Leuchtbakterien auf. Die erhöhten f_{kt} -Werte hatten in keinem Fall einen wesentlichen Einfluss auf das Testergebnis.

4.4.2.2.2 Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber terrestrischen Organismen

4.4.2.2.2.1 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Im Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* zeigte die Untersuchung der Probe des vom Abfallbesitzer als gefährlich eingestuften Straßenbanketts (17 05 03*) bis zur niedrigsten Verdünnungsstufe keinen klaren Effekt (Abbildung 38). Die EC_{50} lag daher bei >25% und somit über der Grenzkonzentration von 10%. Dieser Testdurchlauf war wegen einem fehlenden Effekt der Referenzsubstanz im LUFA 2.2-Boden formal nicht valide. Im Quarzsand wurde jedoch ein deutlicher Effekt der Referenzsubstanz beobachtet. Aus diesem Grund und aufgrund der Tatsache, dass das vorhandene Probenmaterial nach Auswertung des Tests bereits über zwei Monate alt war, wurde auf eine Testwiederholung verzichtet.

Abbildung 38: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber *A. globiformis*. Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil.



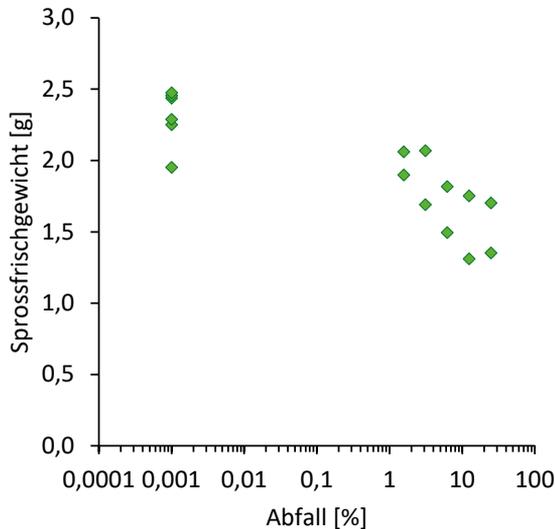
Keine Regression, da Effekt bis zur niedrigsten Verdünnungsstufe <50%.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.2.2.2 Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa*

Im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* zeigte die Untersuchung der Probe des Straßenbanketts (17 05 03*) eine schwache Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 39). Auch in der niedrigsten Verdünnungsstufe wurde nur ein Effekt von deutlich unter 50% beobachtet, sodass die EC_{50} bei >25% und somit über der Grenzkonzentration lag. Es wurde eine chronische Effektkonzentration (EC_{10}) von 0,445% (CI: 0,020–9,82%) berechnet, die jedoch unter die niedrigste Testkonzentration extrapoliert war.

Abbildung 39: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber *B. rapa*. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil.



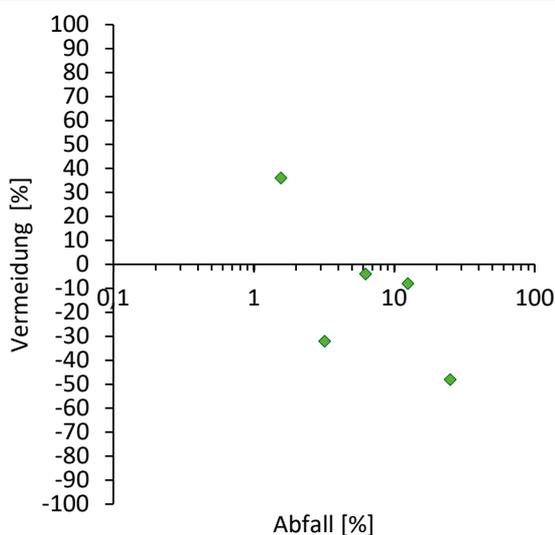
Sprossfrischgewicht: Mittelwert pro überlebender Pflanze und Topf. Keine Regression, da Effekt <50% bis zur niedrigsten Verdünnungsstufe.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.2.3 Vermeidungstest mit Regenwürmern

Im Vermeidungstest mit *E. fetida* zeigte die Untersuchung der Probe des Straßenbanketts (17 05 03*) eine annähernd umgekehrte Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 40). Während in der höchsten Verdünnungsstufe eine Vermeidung des Testsubstrats beobachtet wurde, hatten die niedrigeren Verdünnungsstufen auf die Regenwürmer eine anziehende Wirkung, weshalb die EC_{50} bei >25% lag. Da es sich bei der Probe um einen natürlichen Boden handelte, ist eine Bevorzugung der Probe gegenüber der OECD-Kunsterde bei Abwesenheit von für Regenwürmer wahrnehmbare Kontaminanten durchaus plausibel.

Abbildung 40: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 03*) gegenüber *E. fetida*. Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil.



Vermeidung [%]: Mittelwerte aus fünf Replikaten. Keine Regression, da anziehende Wirkung in niedrigeren Verdünnungsstufen.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.3 Straßenbankett (17 05 04)

4.4.2.3.1 Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber aquatischen Organismen

Für das vom Abfallbesitzer als nicht gefährlich eingestufte Straßenbankett (17 05 04) wurde in den drei aquatischen Testsystemen aufgrund der übereinstimmenden Ergebnisse in allen Testsystemen (keine Toxizität, s.u.) nur jeweils ein Testdurchlauf durchgeführt.

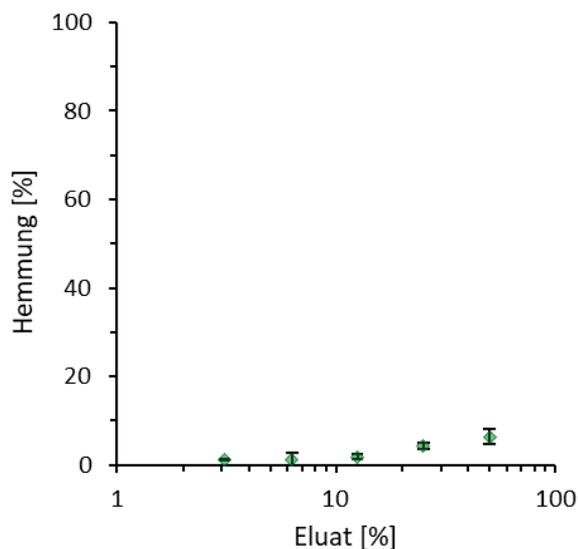
4.4.2.3.1.1 Akuter Daphnientest

Im akuten Daphnientest lag die Immobilität in der Kontrolle und in allen fünf Verdünnungsstufen (3,1–50%) des Eluats des Straßenbanketts (17 05 04) bei 0%, d. h. es wurde keine Toxizität festgestellt ($EC_{50} > 50\%$).

4.4.2.3.1.2 Algenwachstumshemmtest

Wegen der Eigenfluoreszenz des Eluats des Straßenbanketts (17 05 04) wurde bei der Auswertung des Algenwachstumshemmtests eine Fluoreszenzkorrektur einbezogen. Das Eluat führte nur in den beiden niedrigsten Verdünnungen zu einer minimalen Hemmung des Algenwachstums (Abbildung 41; $EC_{50} > 50\%$).

Abbildung 41: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber *R. subcapitata*. Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.



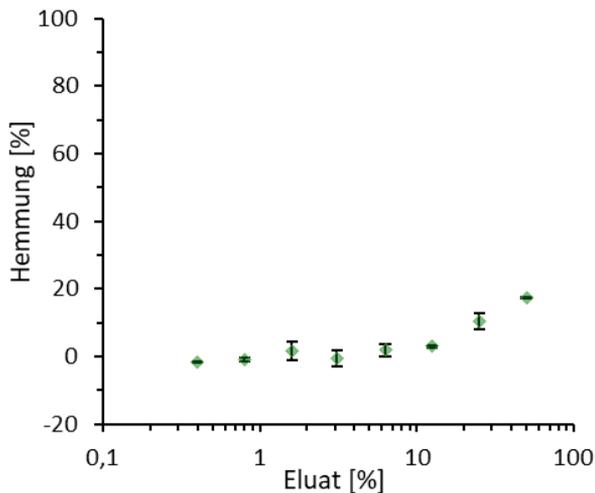
Hemmung der Wachstumsrate: Mittelwerte mit Standardabweichungen.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.3.1.3 Leuchtbakterientest

Auch im Leuchtbakterientest hatte das Eluats des Straßenbanketts (17 05 04) nur in den niedrigsten Verdünnungen geringe Effekte. Dabei lagen die Hemmungen der Biolumineszenz unter 20% (Abbildung 42; $EC_{50} > 50\%$).

Abbildung 42: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber *A. fischeri*. Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.



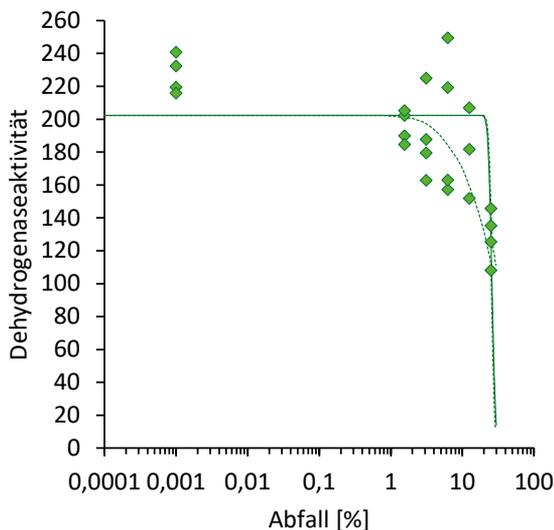
Hemmung der Biolumineszenz: Mittelwerte mit Standardabweichungen.
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.3.2 Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber terrestrischen Organismen

4.4.2.3.2.1 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Im Feststoffkontakttest zeigte die Untersuchung der Probe des Straßenbanketts (17 05 04) nur in der niedrigsten Verdünnungsstufe einen klaren Effekt (Abbildung 43). Es wurde ein (leicht extrapoliertes) EC_{50} -Wert von 25,9% (CI: 25,5–31,6%) ermittelt.

Abbildung 43: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber *A. globiformis*. Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil.

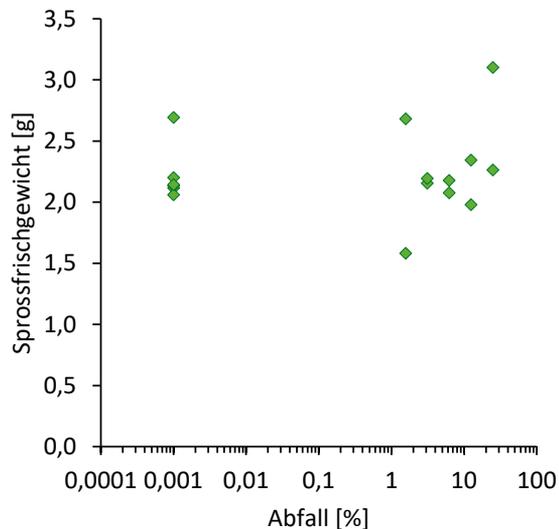


Regression (inkl. 95%-CI): 3-Parameter *normal-cumulative distribution function*.
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.3.2 Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa*

Im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* hatte das Straßenbankett (17 05 04) keinen hemmenden Effekt. In der niedrigsten Verdünnungsstufe trat eine leichte Zunahme des Sprossfrischgewichts im Vergleich zur Kontrolle auf (Abbildung 44). Der EC₅₀-Wert lag bei >25%.

Abbildung 44: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber *B. rapa*. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil.



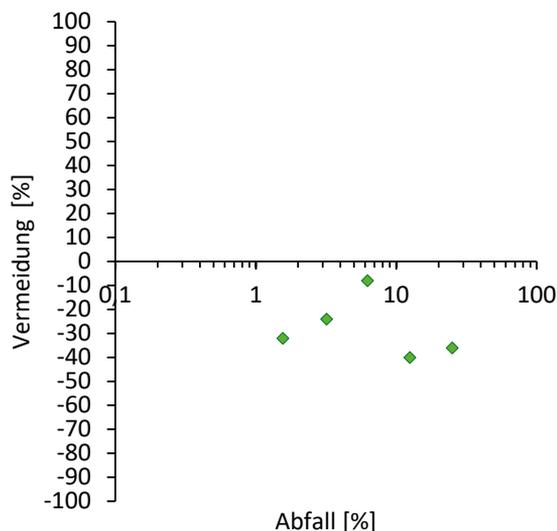
Sprossfrischgewicht: Mittelwert pro überlebender Pflanze und Topf. Keine Regression, da Effekt bis zur niedrigsten Verdünnungsstufe <50%.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.2.3.3 Vermeidungstest mit Regenwürmern

Im Vermeidungstest mit *E. fetida* zeigte das Straßenbankett (17 05 04) keinen bzw. einen tendenziell anziehenden Effekt (Abbildung 45). Dies wurde teilweise auch für das vorab als gefährlich eingestufte Straßenbankett (17 05 03*) beobachtet (siehe Abschnitt 4.4.2.2.3) und ist damit erklärbar, dass es sich bei der Probe um einen natürlichen Boden handelte, der bei Abwesenheit von für Regenwürmer wahrnehmbaren schädlichen Faktoren gegenüber der OECD-Kunsterde bevorzugt werden kann. Daher lag der EC₅₀-Wert bei >25%.

Abbildung 45: Toxizität des Straßenbanketts (17 05 04) gegenüber *E. fetida*. Vermeidung nach 48 h abhängig vom Abfallanteil.



Vermeidung [%]: Mittelwerte aus fünf Replikaten. Keine Regression, da anziehende Wirkung aller Verdünnungsstufen.
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.3 Shredderleichtfraktion und Staub (19 10 03*/19 10 04)

4.4.3.1 Shredderleichtfraktion (19 10 03*)

Wie in Abschnitt 4.2.7.3 erläutert konnte keine als gefährlich eingestufte Shredderleichtfraktion (19 10 03*) beprobt werden. In Rücksprache mit dem Projektträger wurde entschieden, zusätzliche Proben der vom Abfallbesitzer als nicht gefährlich eingestuften Shredderleichtfraktionen (19 10 04) zu untersuchen.

4.4.3.2 Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung)

Es wurden drei Proben von Shredderleichtfraktionen (19 10 04) untersucht, die von den Abfallbesitzern als nicht gefährlich eingestuft worden waren. Anlage A wurde im Mai 2022 (Charge 1) und im Februar 2023 (Charge 2) beprobt, Anlage B im Februar 2023. In allen Fällen wurden Proben von Absiebungen <10 mm genommen.

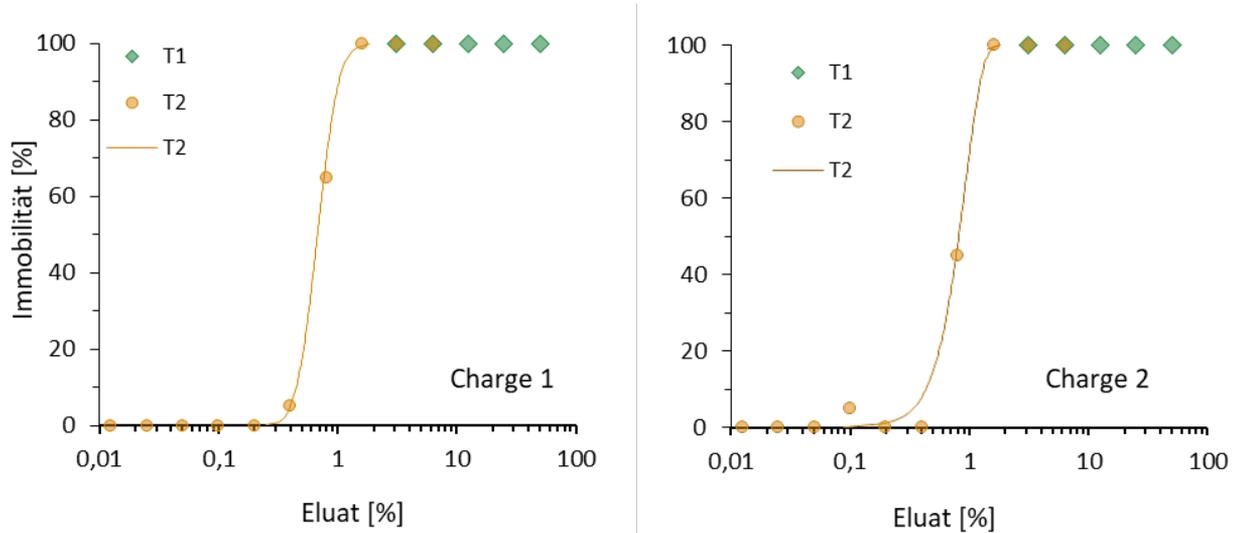
4.4.3.2.1 Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber aquatischen Organismen

4.4.3.2.1.1 Akuter Daphnientest

Die pH-Werte lagen bei Teststart für beide Chargen der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A jeweils in den beiden niedrigsten Verdünnungen (25 und 50% Eluat) zwischen pH 9 und pH 10, d. h. außerhalb des in DIN EN ISO 6341 (2013a) angegebenen geeigneten pH-Bereichs für *D. magna* (pH 6,0–9,0). Der jeweils erste Testdurchlauf wurde ohne pH-Anpassung durchgeführt. Für beide Chargen waren in den fünf untersuchten Verdünnungsstufen (3,1–50% Eluat) alle Daphnien bereits nach 24 h, d. h. der Hälfte der Expositionszeit, immobil. Die EC_{50} -Werte sind damit <3,1% Eluat (Abbildung 46). Aufgrund der hohen Toxizität wurde der zweite Testdurchlauf für beide Chargen mit jeweils 10 Verdünnungsstufen durchgeführt: 6,25–0,0125% Eluat. Wegen der hohen Verdünnungen lagen alle pH-Werte innerhalb des Toleranzbereichs von *D. magna* und es war kein Testdurchlauf mit pH-Anpassung notwendig. Für beide Chargen wurden sehr ähnliche EC_{50} -Werte ermittelt, die deutlich unter der

Grenzkonzentration lagen: 0,678% (CI: 0,571–0,804%) für Charge 1 und 0,818% für Charge 2 (CI: 0,150–2,07%).

Abbildung 46: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A gegenüber *D. magna*. Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2

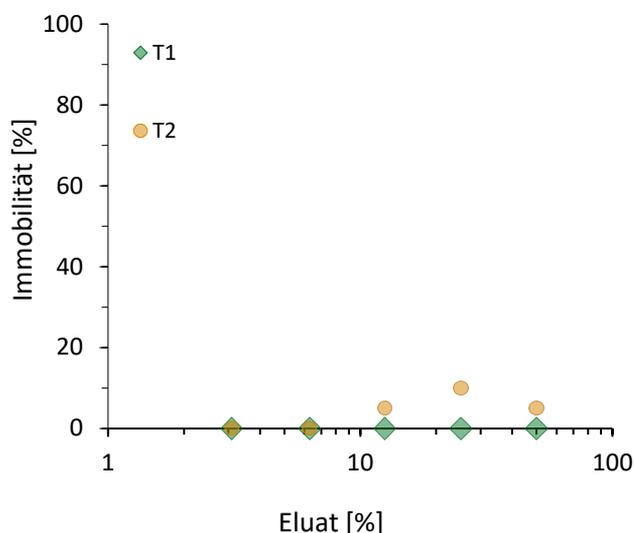


Mittelwerte. T1, T2: Testdurchläufe 1 und 2, T2 mit 10 Verdünnungsstufen. Regression: Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 1), Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 2). Die Immobilität in der Kontrolle lag im ersten Testdurchlauf für Charge 1 bei 5%, in allen anderen Testdurchläufen bei 0%.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Die Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B erwies sich in zwei Testdurchläufen als nicht toxisch gegenüber *D. magna* (Abbildung 47; $EC_{50} > 50\%$ Eluat).

Abbildung 47: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B gegenüber *D. magna*. Immobilität nach 48 h abhängig vom Eluatanteil.



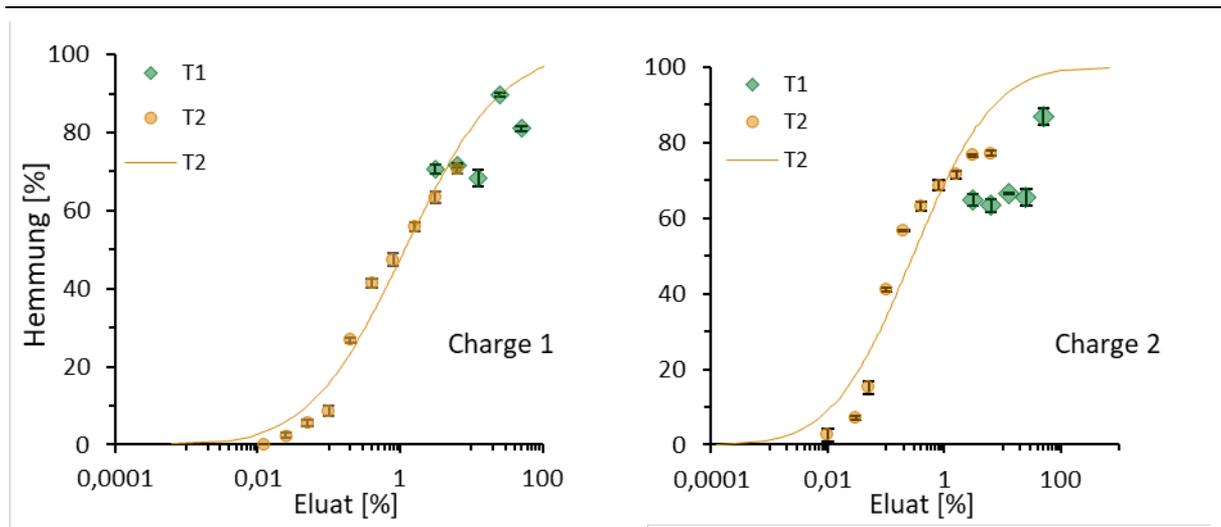
Mittelwerte. T1, T2: Testdurchläufe 1 und 2. Die Immobilität in der Kontrolle lag in beiden Testdurchläufen bei 0%.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.3.2.1.2 Algenwachstumshemmtest

Auch im Algenwachstumshemmtest wurden beide Chargen der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A jeweils in zwei Testdurchläufen untersucht. Bei der Auswertung des jeweils ersten Testdurchlaufs (Verdünnungsstufen: 3,1–50% Eluat) wurde wegen der Eigenfluoreszenz der Eluate eine Fluoreszenzkorrektur berücksichtigt. Charge 1 verursachte eine 68–90%ige und Charge 2 eine 63–87%ige Hemmung des Algenwachstums (Abbildung 48). Die EC_{50} -Werte lagen damit in beiden Fällen bei <3,1%. Aufgrund der hohen Toxizität wurde der zweite Testdurchlauf für beide Chargen mit jeweils 10 Verdünnungsstufen (6,25–0,0125% Eluat) durchgeführt. Wegen der höheren Verdünnungen musste bei der Auswertung keine Fluoreszenzkorrektur berücksichtigt werden. Charge 1⁴⁸ führte zu einer 0–70%igen Hemmung der Wachstumsrate, Charge 2 zu einer 3–77%igen Hemmung (Abbildung 48). Die resultierenden EC_{50} -Werte lagen für Charge 1 bei 1,16% (CI: 1,13–1,19%) und für Charge 2 bei 0,287% (CI: 0,282–0,293%).

Abbildung 48: Toxizität der Shredderleichtfraktion Anlage A (19 10 04) gegenüber *R. subcapitata*. Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.



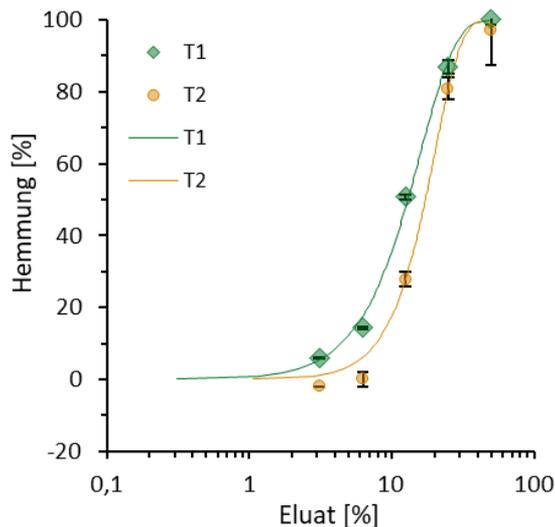
Hemmung der Wachstumsrate: Mittelwerte mit Standardabweichungen. T1–T3: Testdurchläufe 1–3. Regression: Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 1), Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 2).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B wurde im Algenwachstumshemmtest in zwei Testdurchläufen mit den Verdünnungsstufen 3,1–50% Eluat untersucht. Aufgrund der Eigenfluoreszenz des Eluats wurde in beiden Testdurchläufen eine Fluoreszenzkorrektur berücksichtigt. Die Konzentrations-Wirkungskurven decken in beiden Testdurchläufen den gesamten Bereich der Hemmung ab (Abbildung 49). Für den ersten Testdurchlauf wurde eine EC_{50} von 13,0% (CI: 12,2–13,7%) und für zweiten eine EC_{50} von 17,3% (CI: 15,5–19,0%) ermittelt.

⁴⁸ Im zweiten Testdurchlauf für Charge 1 der Shredderleichtfraktion (19 10 04) betrug die $K_2Cr_2O_7$ -Konzentration in der Positivkontrolle wegen eines Verdünnungsfehlers 0,375 mg/L anstelle von 0,8 mg/L. Die Hemmung der Wachstumsrate lag daher mit 7,5% unter dem geforderten Bereich (20–80%). Da die geforderte Sensitivität der Algen gegenüber $K_2Cr_2O_7$ (0,8 mg/L) in allen anderen Testdurchläufen durch eine Hemmung von 20–80% belegt werden konnte, wurden die Daten aus dem zweiten Testdurchlauf trotzdem verwendet.

Abbildung 49: Toxizität der Shredderleichtfraktion aus Anlage B (19 10 04) gegenüber *R. subcapitata*. Hemmung der Wachstumsrate nach 72 h abhängig vom Eluatanteil.



Hemmung der Wachstumsrate: Mittelwerte mit Standardabweichung. T1, T2: Testdurchläufe 1 und 2. Regression: Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

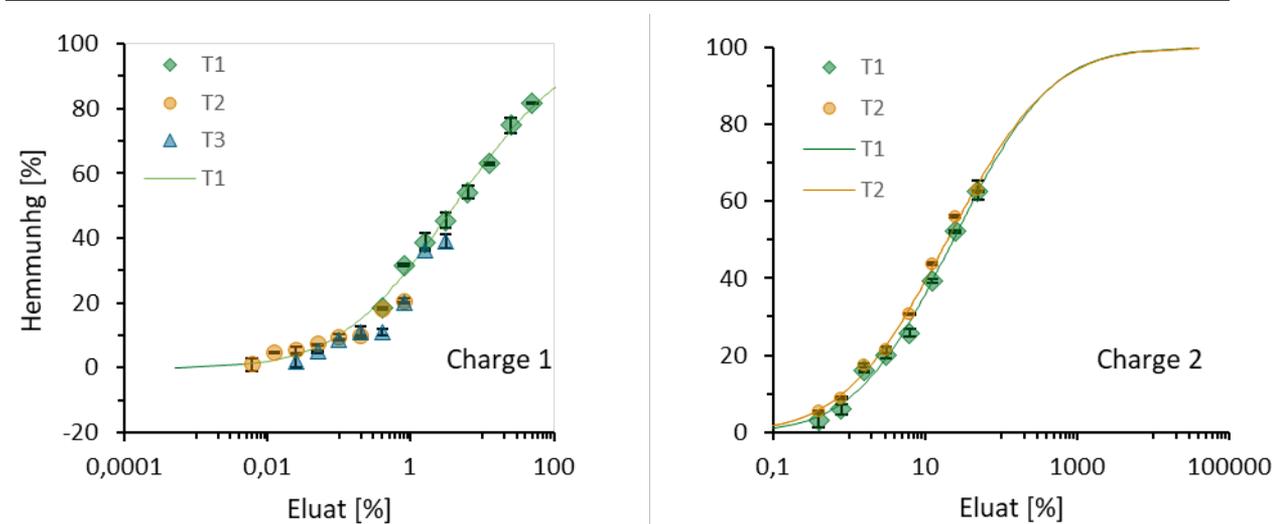
4.4.3.2.1.3 Leuchtbakterientest

Charge 1 der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A wurde in drei Testdurchläufen untersucht. Im ersten Testdurchlauf lagen die pH-Werte für 25 und 50% Eluat (pH 8,8 bzw. 9,2) außerhalb des in DIN EN ISO 11348-2 (2009) angegebenen geeigneten pH-Bereichs für *A. fischeri* (pH 6,0–8,5). Die Exposition gegenüber Eluat der Shredderleichtfraktion führte zu Hemmungen der Biolumineszenz zwischen 18% (0,4% Eluat) und 82% (50% Eluat; siehe Abbildung 50). Eine EC_{50} von 4,08% (CI: 3,46–4,80%) wurde ermittelt. In den beiden weiteren Testdurchläufen wurden analog zu den Tests mit Daphnien und Algen höhere Verdünnungen eingesetzt. Dadurch konnte der untere Bereich der Konzentrations-Wirkungskurve abgebildet werden. Die in diesen Testdurchläufen ermittelten EC_{50} -Werte lagen jedoch über der jeweils höchsten eingesetzten Verdünnungsstufe (>0,8% bzw. >3,1%). Die drei ermittelten Konzentrations-Wirkungskurven zeigten insgesamt eine sehr gute Übereinstimmung (Abbildung 50), d. h. die Ergebnisse des ersten Testdurchlaufs wurden durch den zweiten und dritten Testdurchlauf gestützt. Wegen der höheren Verdünnungen in den Testdurchläufen 2 und 3 war keine pH-Anpassung nötig.

Charge 2 der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A zeigte gegenüber den Leuchtbakterien eine geringere Toxizität als Charge 1. In beiden Testdurchläufen⁴⁹ lagen die Hemmungen der Biolumineszenz zwischen ≤5% und 63% (Abbildung 50). Die ermittelten EC_{50} -Werte von 23,5% (CI: 20,1–27,9%) für Testdurchlauf 1 und 19,7% (CI: 17,3–22,7%) für Testdurchlauf 2 lagen über der Grenzkonzentration.

⁴⁹ In beiden Testdurchläufen lag der f_{kt} -Wert (Korrekturfaktor der Schwankung der Kontrolle) nach 30 min bei 1,4 und damit außerhalb des von DIN EN ISO 11348-2 (2009) vorgegebenen Bereichs (0,6–1,3). Beide Testdurchläufe mit Charge 2 der Shredderleichtfraktion waren daher formal nicht valide. Alle f_{kt} -Werte >1,3 traten bei Verwendung derselben Charge von Leuchtbakterien auf. Die erhöhten f_{kt} -Werte hatten in keinem Fall einen wesentlichen Einfluss auf das Testergebnis.

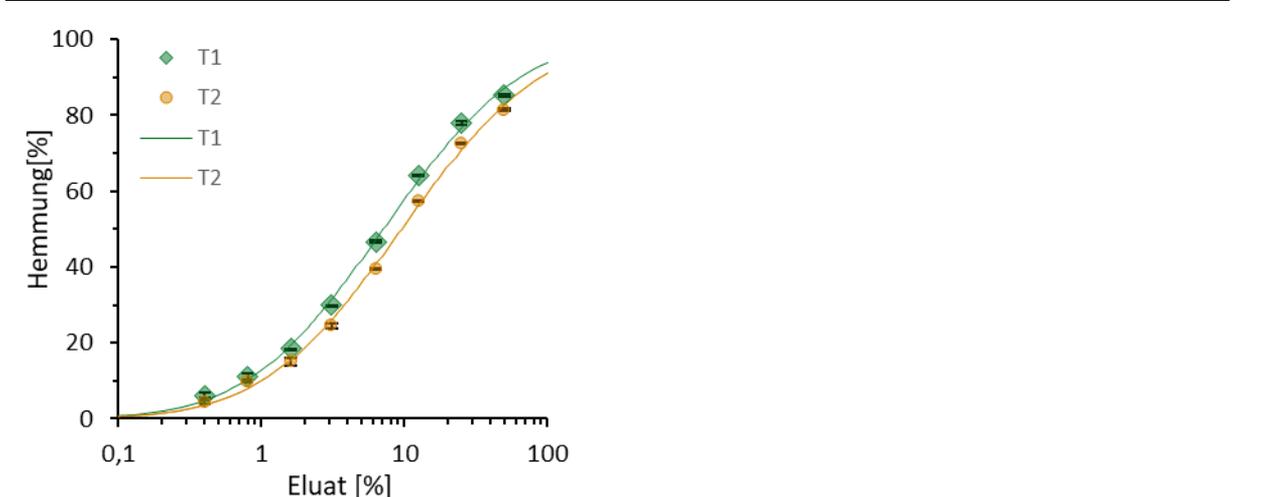
Abbildung 50: Toxizität der Shredderleichtfraktion Anlage A (19 10 04) gegenüber *A. fischeri*
Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil für Chargen 1 und 2.



Hemmung der Biolumineszenz: Mittelwerte mit Standardabweichung. T1, T2, T3: Testdurchläufe 1, 2 und 3. Regression: Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression
 Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

Für die Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B wurde der Leuchtbakterientest in zwei Testdurchläufen durchgeführt, in denen vergleichbare Hemmungen der Biolumineszenz auftraten (Abbildung 51). Es wurden EC_{50} -Werte von 7,11% (CI: 6,59–7,68%; Testdurchlauf 1) und 9,52% (8,76–10,4%; Testdurchlauf 2)⁵⁰ ermittelt. Beide EC_{50} -Werte liegen unter der Grenzkonzentration.

Abbildung 51: Toxizität der Shredderleichtfraktion Anlage B (19 10 04) gegenüber *A. fischeri*
Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min abhängig vom Eluatanteil.



Hemmung der Biolumineszenz: Mittelwerte mit Standardabweichungen. T1, T2: Testdurchläufe 1 und 2. Regression: Probit-Analysen mit linearer *maximum likelihood*-Regression
 Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

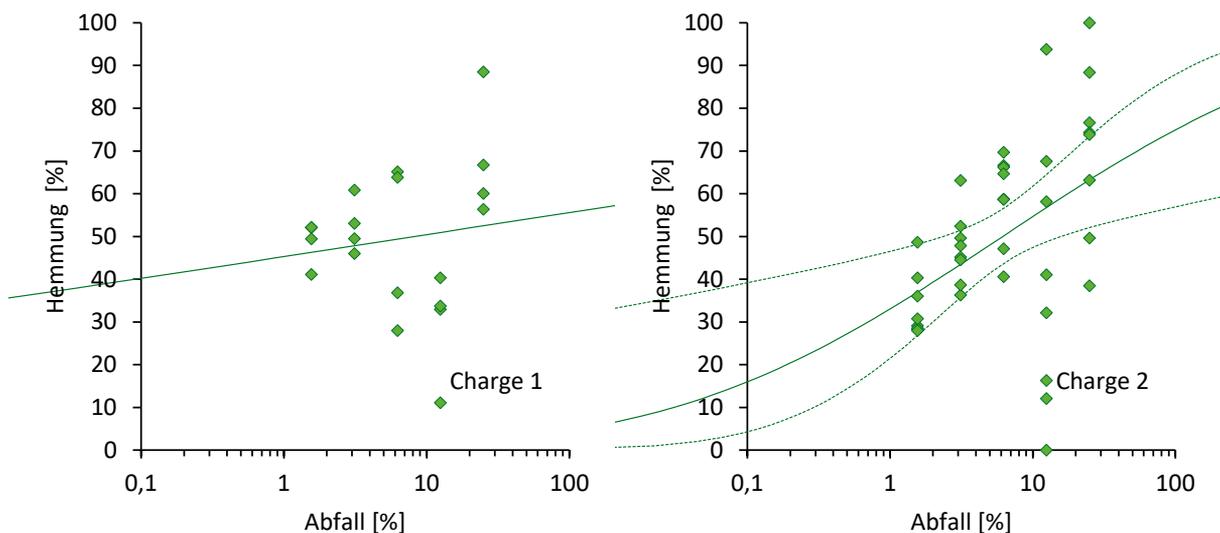
⁵⁰ Testdurchlauf 1 ist formal nicht valide, da der f_{kt} -Wert nach 30 min bei 1,6 und damit außerhalb des von DIN EN ISO 11348-2 (2009) vorgegebenen Bereichs (0,6-1,3) lag. Die sehr ähnlichen Ergebnisse der beiden Testdurchläufe zeigen aber, dass das keinen wesentlichen Einfluss auf das Testergebnis hatte.

4.4.3.2.2 Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber terrestrischen Organismen

4.4.3.2.2.1 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Im Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* zeigten die Untersuchungen der beiden Chargen der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) aus Anlage A ähnliche Ergebnisse (Abbildung 52). Aufgrund der hohen Variabilität der Messergebnisse in vorangegangenen Tests wurde im Test mit Charge 2 die Replikatzahl von vier auf acht erhöht. Für Charge 1 wurde ein EC₅₀-Wert von 8,20% (CI: n.b.) berechnet, allerdings lag hier keine monotone Konzentrations-Wirkungsbeziehung vor. Für Charge 2 wurde eine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung festgestellt; ein EC₅₀-Wert von 6,16% (CI: 2,36–15,7%) wurde ermittelt. Für beide Chargen lagen die EC₅₀-Werte damit unter der Grenzkonzentration.

Abbildung 52: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber *A. globiformis*. Hemmung der Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Anlage A, Chargen 1 und 2.

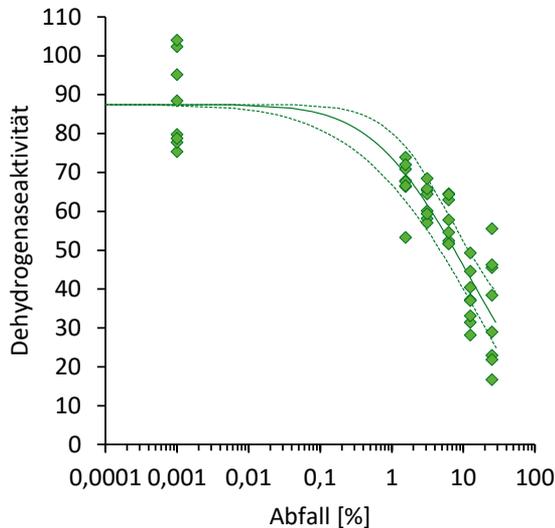


Regression: Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 2 inkl. 95%-CI).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Der Feststoffkontakttest mit Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B wurde ebenfalls mit einer erhöhten Replikatzahl von acht durchgeführt. Das Testergebnis zeigt eine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 53). Es wurde ein EC₅₀-Wert von 11,7% (CI: 7,65–19,2%) ermittelt, der knapp über der Grenzkonzentration liegt.

Abbildung 53: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber *A. globiformis*. Dehydrogenaseaktivität abhängig vom Abfallanteil für Anlage B.



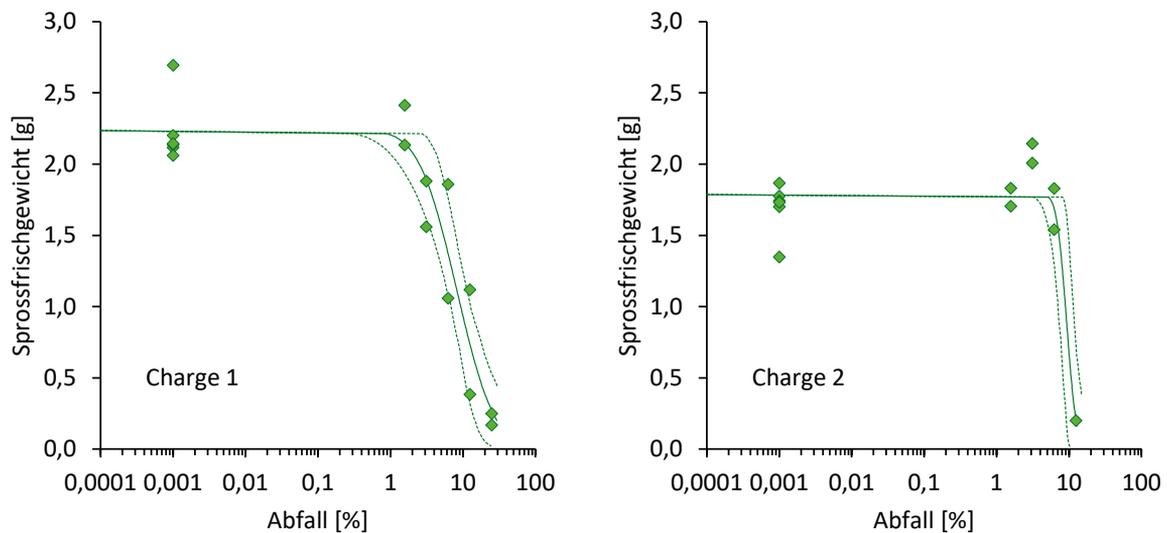
Regression (inkl. 95%-CI): 3-Parameter *normal-cumulative distribution function*.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.3.2.2 Wachstumshemmtest mit *Brassica rapa*

Im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* führten die beiden Chargen der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A zu unterschiedlichen Konzentrations-Wirkungsbeziehungen: monoton für Charge 1, nicht-monoton für Charge 2, mit einer starken Zunahme des Effekts ab der zweitniedrigsten Verdünnungsstufe (Abbildung 54). Für Charge 1 wurde ein EC_{50} -Wert von 8,20% (CI: 5,79–11,6%) ermittelt. Für Charge 2 wurde für das Sprossfrischgewicht ein EC_{50} -Wert von 9,25% (CI: 7,05–12,1%) berechnet. Der EC_{50} -Wert für die Emergenz lag mit 7,59% (CI: 6,25–9,20%) etwas darunter. Für beide Chargen lagen die EC_{50} -Werte damit unter der Grenzkonzentration. Es konnten auch chronische Effektkonzentrationen (EC_{10}) abgeleitet werden, diese betragen 2,42% (CI: 1,08–5,46%) für Charge 1 sowie 6,74% (CI: 4,54–10,0%) für Charge 2.

Abbildung 54: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber *B. rapa*. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Anlage A, Chargen 1 und 2.

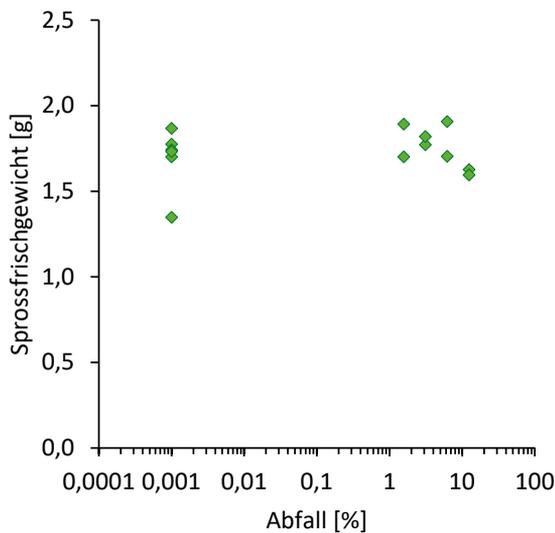


Sprossfrischgewicht: Mittelwert pro überlebender Pflanze und Topf. Regression (inkl. 95%-CI): 3-Parameter *normal-cumulative distribution function*.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Die Untersuchung der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage B zeigte für das Sprossfrischgewicht keine Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 55), es trat jedoch ein deutlicher Effekt auf die Emergenz auf. Für das Sprossfrischgewicht konnte kein verlässlicher EC_{50} -Wert ermittelt werden, da in der niedrigsten Verdünnungsstufe, in der noch Pflanzen aufgelaufen waren (12,5% Abfall), kein Effekt >50% auf das Sprossfrischgewicht festgestellt wurde. Daher kann die EC_{50} nur als >12,5% angegeben werden. Der EC_{50} -Wert für die Emergenz wurde als 13,5% (CI: n.b.) berechnet. Die Konzentrations-Wirkungsbeziehung war jedoch statistisch nicht signifikant, weshalb dieser Wert als wenig robust angesehen werden muss. Die EC_{50} -Werte lagen damit über der Grenzkonzentration. Es konnte auch eine EC_{10} von 12,6% (CI: n.b.) berechnet werden, die jedoch den gleichen Einschränkungen unterliegt wie die EC_{50} für die Emergenz.

Abbildung 55: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber *B. rapa*. Sprossfrischgewicht nach 14 d abhängig vom Abfallanteil für Anlage B.



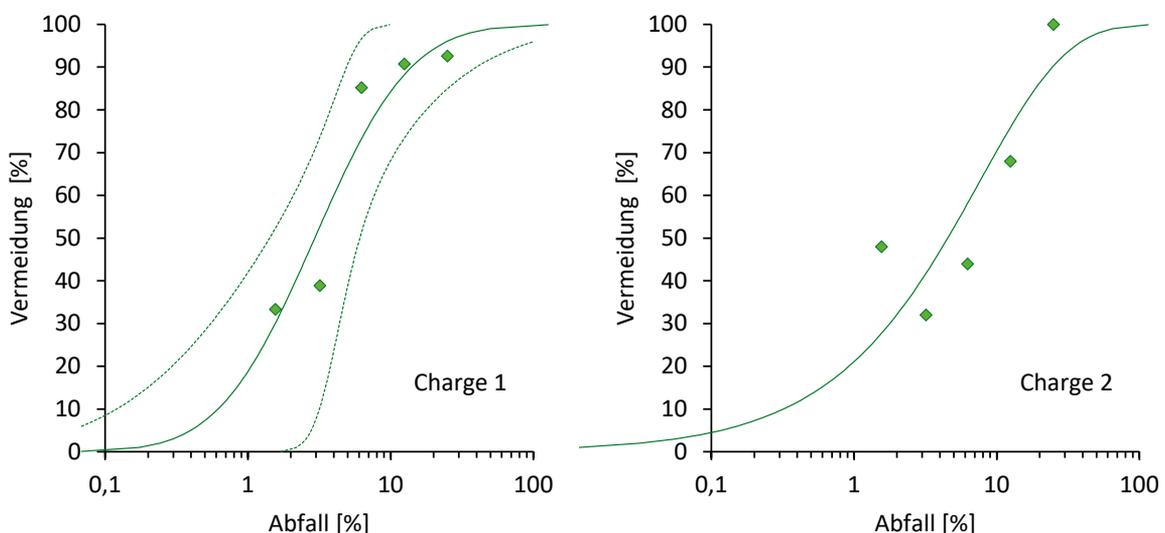
Sprossfrischgewicht: Mittelwert pro überlebender Pflanze und Topf. Keine Regression, da Effekt <50% bis zur niedrigsten Verdünnungsstufe, in der noch Pflanzen aufgelaufen waren.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.3.2.2.3 Vermeidungstest mit Regenwürmern

Im Vermeidungstest mit *E. fetida* waren die Ergebnisse für die beiden Chargen der Shredderleichtfraktion (19 10 04) aus Anlage A ähnlich (mit klaren Konzentrations-Wirkungsbeziehungen; Abbildung 56). Für Charge 1 wurde ein EC_{50} -Wert von 2,94% (CI: 1,42–6,08%) ermittelt. Für Charge 2 wurde ein etwas höherer EC_{50} -Wert von 4,53% (CI: n.b.) berechnet, wobei die Konzentrations-Wirkungsbeziehung statistisch nicht signifikant war, weshalb dieser Wert als wenig robust angesehen werden muss. Für beide Chargen lagen die EC_{50} -Werte damit unter der Grenzkonzentration.

Abbildung 56: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber *E. fetida*. Vermeidung (%) nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Anlage A, Chargen 1 und 2

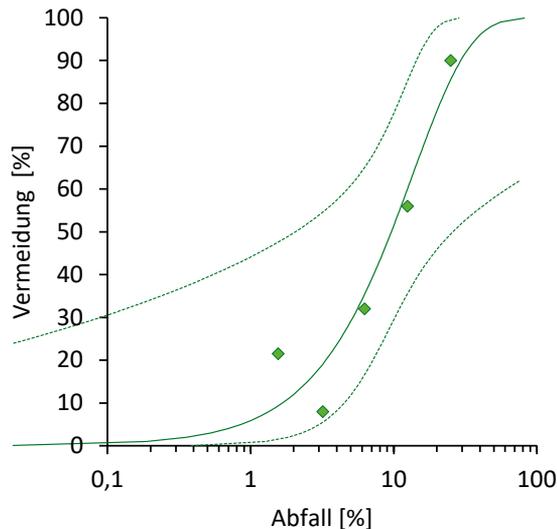


Vermeidung [%]: Mittelwerte aus fünf Replikaten. Charge 1: Beprobung im Mai 2022, Charge 2: Beprobung im Februar 2023. Regression: Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 1; inkl. 95%-CI), Probit-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression (Charge 2).

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

Die Untersuchung der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) aus Anlage B zeigte eine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abbildung 57). Es wurde ein EC_{50} -Wert von 9,61% (CI: 2,05–25,9%) berechnet, der damit knapp unter der Grenzkonzentration von 10% lag.

Abbildung 57: Toxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) gegenüber *E. fetida*. Vermeidung (%) nach 48 h abhängig vom Abfallanteil für Anlage B.



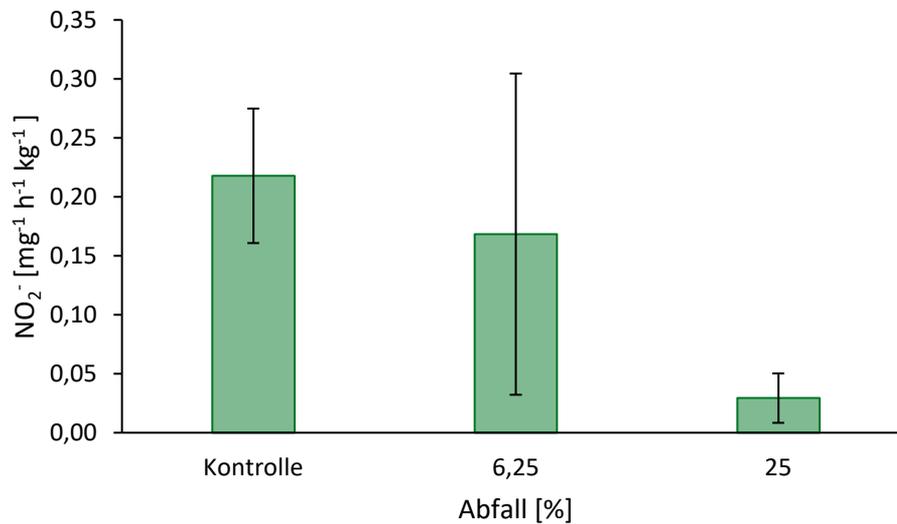
Vermeidung [%]: Mittelwerte aus fünf Replikaten. Regression (inkl. 95%-CI): Weibull-Analyse mit linearer *maximum likelihood*-Regression.

Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH.

4.4.3.2.4 Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung

Das Ergebnis des Schnelltests zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung zeigte deutliche Effekte in der Verdünnungsstufe mit 25% Abfallanteil (Abbildung 58). Damit war dieser Test ähnlich empfindlich wie der Feststoffkontakttest, in dem für diese Probe eine EC_{50} von 6,16% ermittelt wurde (s.o.)

Abbildung 58: Effekt der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) aus Anlage A auf die Nitrifikationsrate nach 6 h abhängig vom Abfallanteil für Charge 2



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Ein mögliches Problem bei der Durchführung dieses Tests mit Mischungen von Kontrollboden und festen Abfallproben besteht möglicherweise darin, dass die Testorganismen die natürlich im Boden vorhandenen Mikroorganismen sind. Eine Mischung des belebten Kontrollbodens mit bis zu 25% potenziell unbelebten Abfalls führt eventuell zu einer Reduktion der Gesamtabundanz der Mikroorganismen in der jeweiligen Mischung, sodass die Reduktion der Nitrifikationsrate ggf. nicht (nur) in einem toxischen Effekt der Abfallprobe begründet ist. Gemäß DIN ISO 15685 (2021) erfolgt die Testung von Biofeststoffen (z. B. Klärschlamm) als Eluate, während Bodenmaterial (z. B. Abfallart 17 05 03*/17 05 04) aus dem Freiland in Mischungen getestet werden soll. Alternativ zur Testung von Eluaten könnte – je nach Abfallart – ein Teil des Kontrollbodens mit einem unbelebten Material (z. B. Quarzsand) gemischt werden oder Kontrollboden und Testmischungen könnten gezielt nach einem noch festzulegenden Standardvorgehen mikrobiell inokuliert werden, um für vergleichbare Bedingungen in der Kontrolle und allen Testmischungen zu sorgen. In jedem Fall sind zunächst weitere Untersuchungen zur Testung von Bodenmikroorganismen sowie zur Empfindlichkeit im Vergleich zum Feststoffkontakttest erforderlich, um eine Empfehlung für den Einsatz eines alternativen Tests für die HP 14-Einstufung von Abfällen auszusprechen.

4.4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse der Ökotoxizitätstests

Die Ergebnisse der Ökotoxizitätstests zeigen, dass die aquatischen Tests sehr gut reproduzierbar sind (eine Untersuchung der Reproduzierbarkeit der terrestrischen Tests war im Rahmen des vorliegenden Projekts nicht vorgesehen). In den meisten Fällen war der Leuchtbakterientest weniger sensitiv als der Algen- und Daphnientest (siehe Tabelle 27).

Die terrestrischen Testverfahren waren tendenziell etwas weniger empfindlich als die aquatischen. Nur in einem Fall (10 09 10: Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlage B) lag nur eine in einem terrestrischen Test (dem *Arthrobacter*-Test) ermittelte Effektkonzentration unter der Grenzkonzentration. Wie im Abschnitt 4.4.1.2.2.1 diskutiert, ist dieser Test jedoch wegen einem fehlenden Effekt der Referenzsubstanz im LUFA 2.2-Boden formal nicht valide.

Abfallproben, die vom Abfallbesitzer dem gefährlichen Spiegeleintrag zugeordnet worden waren, wurden in 3 von 4 Fällen anhand der Biotestergebnisse als gefährlich nach HP 14 eingestuft. Die einzige Ausnahme ist das Straßenbankett (17 05 03*), das in allen eingesetzten Biotests keine Toxizität zeigte. Wie auf dem 4. Projekttreffen diskutiert, könnte dein erhöhter PAK-Gehalt für die Einstufung als gefährlicher Abfall relevant gewesen sein. Außerdem könnte der hohe Lehmgehalt zu einer reduzierten Bioverfügbarkeit toxischer Abfallbestandteile geführt haben.

Vom Abfallbesitzer dem nicht gefährlichen Spiegeleintrag zugeordnete Abfallproben wurden in 5 von 6 Fällen anhand der Biotestergebnisse als gefährlich nach HP 14 eingestuft. In 4 dieser Fälle lagen dabei die Ergebnisse von mehr als einem Testverfahren unterhalb der Grenzkonzentration. Auffällig ist v. a. die hohe Ökotoxizität der Shredderleichtfraktion (19 10 04, Absiebung) der Anlage A.

Tabelle 27: Überblick über die Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests

Abfallschlüsse und Abfallart	Spezifikation	Aquatische Tests: EC ₅₀ (% Eluat)							Terrestrische Tests: EC ₅₀ (% Abfall)			
		Daphnien		Algen		Leuchtbakterien			Arthrobacter	Pflanzen	Regenwürmer	
10 09 09* Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl	Charge 1	5,45	4,26	<3,1	<0,4	0,201	>25			1,08	1,66	1,86
	Charge 2	32,8	19,8	<3,1	0,913		>25			1,03	3,93	4,49
10 09 10 Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl	Anlage A	5,53	<3,1	5,21	<3,1		>50	>25		>25	23,4	21,9
	Anlage B	>50	>50	43,5	>50		>50			7,56	>25	10,8
17 05 03* Boden und Steine	Geogener Aushub	3,49	3,15	7,85	7,77		22,9	>25		>25	15,1	7,36
	Straßenbankett, Bundesstraße	>50	>50	>50	>50		>50	>50		>25	>25	>25
17 05 04 Boden und Steine	Straßenbankett, Nebenstraße	>50		>50			>50			>25	>25	>25
19 10 04 Shredderleichtfraktion (Absiebung)	Anlage A, Charge 1	<3,1	0,678	<3,1	1,16		4,08	>0,8	>1,6	8,20	8,20	2,94
	Anlage A, Charge 2	<3,1	0,818	<3,1	0,287		23,5	19,7		6,16	7,59	4,53
	Anlage B	>50	>50	13,0	17,3		7,11	9,52		11,7	13,5	9,61

In der Tabelle sind nur die Ergebnisse der Tests ohne pH-Anpassung aufgeführt. Für Abfallproben, die in mindestens einem Test ökotoxisch waren, ist die niedrigste EC₅₀ hervorgehoben (fett). Wenn für Terrestrische Pflanzen zwei definierte EC₅₀-Werte ermittelt wurden (Sprossfrischgewicht und Emergenz), ist der niedrigere der beiden Werte angegeben.

4.4.5 Ermittlung chronischer Effektkonzentrationen

Für den Algenwachstumshemmtest mit *R. subcapitata* nach DIN EN 38412 und den Wachstumshemmtest mit *B. rapa* nach ISO 11269-2 wurden zusätzlich zu der akuten Effektkonzentration (EC₅₀), die laut UBA-Handlungsempfehlung ermittelt werden soll, auch chronische Effektkonzentrationen (EC₁₀-Werte) ermittelt. Außerdem wurde das Verhältnis der akuten zur chronischen Effektkonzentration (*acute-to-chronic ratio*) errechnet (siehe Tabelle 28). Im Algenwachstumshemmtest war die EC₁₀ in den meisten Fällen um einen Faktor zwischen 2 und 3 niedriger als die EC₅₀. Für einen Abfall, die Shredderleichtfraktion aus Anlage A, war der Unterschied jedoch deutlich höher (Faktor 22,6 bzw. 24,7). Im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* war die EC₁₀ um den Faktor 1,37 bis 4,95 niedriger als die EC₅₀. Es konnte jedoch nicht für alle Abfälle eine EC₁₀ ermittelt werden.

Tabelle 28: Chronische Effektkonzentrationen (EC₁₀) im Algenwachstumshemmtest mit *R. subcapitata* sowie im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* für den Testendpunkt Sprossfrischgewicht

Abfallschlüsse und Abfallart	Spezifikation	Algenwachstumshemmtest			Wachstumshemmtest mit <i>B. rapa</i>		
		EC ₁₀ (% Eluat)	Konfidenzintervall (% Eluat)	EC ₅₀ /EC ₁₀	EC ₁₀ (% Abfall)	Konfidenzintervall (% Abfall)	EC ₅₀ /EC ₁₀
10 09 09* Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl	Charge 1	0,0897	0,0883-0,0911	2,24	<1,56 ^c	–	–
	Charge 2	0,358 ^a	0,353-0,362	2,55	1,67	0,550-5,09	2,35
10 09 10 Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl	Anlage A	2,01	1,89-2,14	2,59	13,2	8,50-20,4	1,77
	Anlage B	20,2 23,7	19,8-20,6 22,4-24,9	2,15	n.d. ^d	–	–
17 05 03* Boden und Steine	Geogener Aushub	3,81 4,58	2,60-4,78 4,34-4,80	2,06 1,70	3,05	1,08-8,60	4,95
	Straßenbankett, Bundesstraße	>50 ^b >50 ^b	– –	– –	0,445 ^e	0,020-9,82	–
17 05 04 Boden und Steine	Straßenbankett, Nebenstraße	>50 ^b	–	–	>25 ^b	–	–
19 10 04 Shredderleichtfraktionen (Absiebung)	Anlage A, Charge 1	0,0513	0,0485-0,0542	22,6	2,42	1,08-5,46	3,39
	Anlage A, Charge 2	0,0116	0,0111-0,0121	24,7	6,74	4,54-10,0	1,37
	Anlage B	4,42 7,73	3,74-5,06 5,60-9,45	2,94 2,20	12,6	n.d.	–

n.d. = nicht bestimmbar; ^a extrapolierter Wert (niedrigste Hemmung: 18%); ^b weniger als 10% Hemmung in allen untersuchten Verdünnungsstufen. ^c Nur in der Kontrolle und der höchsten Verdünnungsstufe waren Pflanzen aufgelaufen; ^d >10% Hemmung in allen Verdünnungsstufen, aber keine monotone Konzentrations-Wirkungs-Beziehung; ^e extrapolierter Wert (niedrigste Hemmung: 14%).

4.5 Diskussion der Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests

Im Folgenden werden die Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests im Vergleich zu den in der durchgeführten Recherche (Abschnitt 3.2) identifizierten Literaturdaten diskutiert.

4.5.1 Filterstäube (10 09 09*/10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl

Pandard et al. (2006) untersuchten einen Ofenstaub aus dem Gießen von Eisenteilen (Abfallschlüssel: 10 09 09*/10 09 10). Eingesetzt wurden die in Tabelle 29 genannten Testsysteme. Die in den aquatischen Tests verwendeten Eluate wurden nach DIN EN 12457-2 hergestellt (Partikelgröße <4 mm), ihr pH wurde auf 5,5 bis 8,5 eingestellt. Für die terrestrischen Tests wurden Verdünnungsstufen aus OECD-Kunsterde und der festen Abfallprobe hergestellt.

Tabelle 29: Überblick über die von Pandard et al. (2006) eingesetzten Tests

Testorganismus	Akut/ chronisch	Endpunkte	Effekt- konzentration	Testdauer	Testrichtlinien ^a
Aquatische Tests					
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Chronisch	Wachstumsrate	EC ₂₀	72 h	NF T90-375
<i>Daphnia magna</i>	Akut	Immobilität	EC ₅₀	48 h	EN ISO 6341
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Chronisch	Reproduktion	EC ₂₀	7 d	NF T90-376
<i>Aliivibrio fischeri</i>	Akut	Lumineszenz- hemmung	EC ₅₀	30 min	ISO 11348-3
Terrestrische Tests					
<i>Lactuca sativa</i>	Akut	Emergenz, Biomasse	EC ₅₀	14 d	ISO 11269-2
<i>Eisenia fetida</i>	Akut	Mortalität	LC ₅₀	14 d	ISO 11268-1

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: ISO 6341 (2012c), ISO 11268-1 (2012d), ISO 11269-2 (2012a), ISO 11348-3 (2007c), NF T 90-375 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: AFNOR 1998b), NF T90-376 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 2000).

Die Autoren geben keine absoluten Effektkonzentrationen an, sondern stellen die getesteten Abfallproben anhand der relativen Empfindlichkeit der eingesetzten Tests in einer Matrix dar. Für den Ofenstaub aus dem Gießen von Eisenteilen wurde in den aquatischen Tests eine hohe Toxizität festgestellt (EC₂₀- bzw. EC₅₀Werte lagen deutlich unter 1% Eluat), während die terrestrischen Tests weniger empfindlich reagierten (EC₅₀ bzw. LC₅₀ >1% Abfall). Die Tests ließen sich nach ihrer relativen Empfindlichkeit wie folgt sortieren: *R. subcapitata* > *C. dubia* > *A. fischeri* > *D. magna* > *E. fetida* > *L. sativa*.

Für diese Probe wurde also – wie es auch für die im vorliegenden Vorhaben getesteten Proben dieser Abfallart – eine Ökotoxizität festgestellt. Zudem wurde auch hier eine höhere Empfindlichkeit des Algentests im Vergleich zum Daphnien- und Leuchtbakterientest beobachtet.

4.5.2 Boden und Steine (17 05 03*/17 05 04)

Im Gegensatz zu den Matrices der meisten anderen Abfallarten stellt Boden einen natürlichen Lebensraum für eine Vielzahl von Organismen dar. Die ökotoxikologische Bewertung von potenziell kontaminierten Böden hat bereits eine ca. 30-jährige Geschichte, da sie auch in anderen Rechtsbereichen, insbesondere im Boden- und Naturschutz sowie für die Altlastenbewertung relevant ist. Hier sind v. a. die Arbeiten von Hund-Rinke et al. (2002), Jensen & Mesman (2006) und Römbke et al. (2006) zu nennen. Diese Aktivitäten haben in die internationale Standardisierung Einzug gehalten (ISO 2019a, b), sodass mittlerweile über 50 Teststandards des ISO/TC 190/SC 4 (Biologische Charakterisierung von Böden) zur Bodenqualitätsbeurteilung vorliegen, die größtenteils auch für die Beurteilung von Abfällen herangezogen werden können. Dementsprechend gibt es bereits eine Vielzahl von Publikationen zu diesem Themenkomplex. Aufgrund der Vielfalt des Ursprungs und der Kontamination dieser Abfallart ist eine Vergleichbarkeit der Literaturergebnisse mit den Ergebnissen des vorliegenden Projektes kaum herstellbar, zumal keine Studien identifiziert wurden, in denen explizit geogene Aushübe oder Straßenbankette untersucht wurden. Aus diesem Grund wird hier auf eine Darstellung der einzelnen Arbeiten zu dieser Abfallart verzichtet. Diese sind bei Bedarf der Excel-Tabelle (siehe Abschnitt 3.2) zu entnehmen.

4.5.3 Shredderleichtfraktionen und Staub (19 10 03*/19 10 04)

Deventer & Zipperle (2004) untersuchten eine Abfallprobe, die der Abfallart 19 10 04 zugeordnet wurde. Die Abfallprobe war inhomogen und enthielt Metalle, Kunststoffe und anderes Material. Die Orientierungswerte für Blei, Kupfer, Quecksilber sowie Schwermetallsummen im Feststoff wurden überschritten, sodass die Probe nach den vorläufigen Vollzugshinweisen des Landes Baden-Württemberg (UVM 2002) als besonders überwachungsbedürftig eingestuft wurde. Eingesetzt wurden die in Tabelle 30 genannten Testsysteme. Die in den aquatischen Tests verwendeten Eluate wurden basierend auf Richtlinie DIN 38414-4 (1984)⁵¹ hergestellt. Für die terrestrischen Tests wurden Verdünnungsstufen aus LUFAS-Standardboden und der festen Abfallprobe hergestellt. Die Probe zeigte im Algenwachstumstest (G-Wert 10) und im akuten Daphnientest (G-Wert 2) eine geringe Toxizität, im Leuchtbakterien-test (G-Wert 16), Feststoffkontakttest (G-Wert 10-100) und in den Wachstumshemmtests mit höheren Pflanzen (G-Wert >32) eine mittlere Toxizität, was zur Einstufung in die Toxizitätsklasse 2 (G-Wert >10-100) führte (Tabelle 30). Die Grenzkonzentration (G-Wert >10) entspricht der im vorliegenden Projekt verwendeten Grenzkonzentration von ≤10% Eluat- bzw. Abfallanteil.

Tabelle 30: Überblick über die von Deventer & Zipperle (2004) eingesetzten Biotests und die mit der Shredderleichtfraktion (19 10 04) ermittelten G-Werte.

Testorganismus	Endpunkt	Testdauer	Testrichtlinie ^a	Effektkonzentration
Aquatische Tests				
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	Wachstumsrate	72 h	DIN 38412-33	G-Wert = 10
<i>Daphnia magna</i>	Immobilität	48 h	DIN 38412-30	G-Wert = 2
<i>Aliivibrio fischeri</i>	Lumineszenzhemmung	30 min	ISO 11348-2	G-Wert = 16

⁵¹ Norm inzwischen zurückgezogen.

Testorganismus	Endpunkt	Testdauer	Testrichtlinie ^a	Effektkonzentration
Terrestrische Tests				
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Dehydrogenaseaktivität	2 h	DIN 38412-48	G-Wert = 10-100
<i>Avena sativa, Brassica oleracea, Lycopersicon esculentum</i>	Biomasse	14-21 d	OECD 208	G-Wert >32

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: DIN 38412-30 (1989b), DIN 38412-33 (1991), DIN 38412-48 (Norm wurde zurückgezogen, letzte Fassung: 2002), ISO 11348-2 (2007a), OECD 208 (2006a).

Garcia Geronasso (2010) untersuchte ein heterogenes Gemisch aus zerkleinerten leichten Partikeln (einschließlich Staub aus der Staubsaugerreinigung und zerkleinerten gemischten Metallschrotten aus Recyclinganlagen), der der Abfallart 19 10 04 zugeordnet war. Chemischen Analysen zufolge enthielt das Gemisch relativ hohe Konzentrationen an Blei, Cadmium, Cyanid, Quecksilber, Kupfer, Zink und Arsen. Es bestand zu etwa 86% aus leichten Partikeln, 13% aus Metallverbindungen und 1% aus Mineralien.

Der Autor führte Reproduktions- und Fütterungstests mit Springschwänzen (Collembolen) der Art *Folsomia candida* durch, erstere gemäß ISO 11267⁵² (Testendpunkt: Anzahl Juvenile nach 28 d), letztere nach einer von Domene et al. (2007) entwickelten Methode (Testendpunkt: Fresshemmung nach 48 h). Für die Tests wurden Verdünnungsstufen aus OECD-Kunsterde und der festen Abfallprobe hergestellt. Dabei wurde für die Fütterungstests die Kunsterde ohne Torfanteil hergestellt und der pH-Wert der Mischungen wurde auf pH 6,0±0,5 eingestellt.

Die Abfallprobe erwies sich im Reproduktionstest als schädlich für die Populationsentwicklung und das Überleben der Collembolen. Die EC₂₀ und EC₅₀ lagen bei 4,82% bzw. 14,1% Abfallanteil, die NOEC bei 3,10%, die LC₅₀ bei 9,37%. Demgegenüber konnte hinsichtlich des Fressverhaltens kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und den getesteten Konzentrationen festgestellt werden (NOEC ≥50% Abfallanteil).

Römbke et al. (2010) und Höss & Römbke (2019) untersuchten Shredderleichtfraktion von einer weit integrierten Shredderanlage⁵³, der dem Abfallschlüssel 19 10 04 zugeordnet wurde. Eingesetzt wurden die in Tabelle 31 genannten Testsysteme. Die in den aquatischen Tests verwendeten Eluate wurden nach DIN EN 12457-2 (2003a) hergestellt. Für die terrestrischen Tests wurden Verdünnungsstufen der festen Abfallprobe mit OECD-Kunsterde (Vermeidungstest mit Regenwürmern), LUFA-Standardboden 2.3 (Pflanzentest) bzw. 2.2 (Nematodentest) oder Quarzsand (Bakterien-Kontakttest) hergestellt. Das HP 14-Kriterium galt in aquatischen Tests bei einer LID >4 als erfüllt, in terrestrischen Tests bei einer LID >8. In allen terrestrischen Tests mit Ausnahme des Nematodentests (LID = 0) wurden starke Wirkungen festgestellt (LID = 16), nicht jedoch in den beiden aquatischen Tests (LID ≤4; Tabelle 31).

⁵² Aktuelle Fassung der Richtlinie: ISO 11267 (2023c).

⁵³ Eine weit integrierte Shredderanlage hat umfangreiche Aufbereitungsanlagen hinter dem Shredder und gewinnt deutlich mehr zurück als Anlagen früherer Bauart.

Tabelle 31: Überblick über die von Römbke et al. (2010) und Höss & Römbke (2019) eingesetzten Testsysteme und die mit Shredderleichtfraktion (19 10 04) ermittelten LID-Werte.

Testorganismus	Endpunkt	Testdauer	Testmethode ^a	Effektkonzentration
Aquatische Tests				
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Wachstumsrate	72 h	ISO 8692	LID = 4
<i>Daphnia magna</i>	Immobilität	24 h	ISO 6341	LID = 2
Terrestrische Tests				
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Dehydrogenaseaktivität	2 h	ISO 10871	LID = 16
<i>Brassica napus</i>	Biomasse	14-21 d	ISO 11269-2	LID = 16
<i>Eisenia fetida</i>	Vermeidungsverhalten	48 h	ISO 17512-1	LID = 16
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Reproduktion	96 h	ISO 10872	LID = 0

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: ISO 6341 (2012c), ISO 8692 (2012b), ISO 10872 (2020), ISO 11269-2 (2012a), ISO 17512-1 (2008a), ISO 18187 (2016a).

Deprez et al. (2012) und Weltens et al. (2014) untersuchten einen nicht näher beschriebenen Shredderstaub (Abfallschlüssel 19 10 03*) mit den in Tabelle 32 genannten aquatischen Tests. Dazu wurden organische Extrakte des Abfalls mittels Aceton oder Aceton/Hexan (1+1) hergestellt. Die Effektkonzentrationen wurden als Gramm-Äquivalente der ursprünglichen Probe pro Liter (g_{eq}/L) ausgedrückt, um die gemessene Toxizität direkt auf die Menge des Ausgangsmaterials beziehen und die Toxizität verschiedener Abfallstoffe vergleichen zu können. Für die organischen Extrakte wurde ein Grenzwert von $5 g_{eq}/L$ (oder >50% Effekt im Limittest mit Algen bei $10 g_{eq}/L$) festgelegt. Es wurde in allen Tests eine hohe Toxizität festgestellt ($EC_{50} < 5 g_{eq}/L$ bzw. 93% Hemmung im Limittest mit $10 g_{eq}/L$; $LC_{50} = 6,1 g_{eq}/L$; siehe Tabelle 32).

Tabelle 32: Überblick über die von Deprez et al. (2012) und Weltens et al. (2014) eingesetzten Testsysteme und die mit Shredderstaub (19 10 03*) ermittelten Effektkonzentrationen.

Testorganismus	Endpunkte	Testdauer	Testmethode ^a	Effektkonzentrationen
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Wachstumsrate	72 h	OECD 201	93% Hemmung im Limit-Test mit $10 g_{eq}/L$
<i>Daphnia magna</i>	Immobilität	48 h	OECD 202	EC_{50} : $2,14 g_{eq}/L$
<i>Aliivibrio fischeri</i>	Lumineszenzhemmung	30 min	ISO 11348-3	EC_{50} : $1,98 g_{eq}/L$
<i>Danio rerio</i>	Mortalität	48 h	Fischeitertest	LC_{50} : $6,1 g_{eq}/L$

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: ISO 11348-3 (2007b), OECD 201 (2011), OECD 202 (2004).

Die Öffentliche Abfallagentur von Flandern (OVAM 2018) untersuchte einen Shredderstaub (Abfallschlüssel 19 10 04), der verschiedene Arten von groben Materialien (Gummi, Kunststoff, Metall, Drähte, Kabel usw.) enthält. Eingesetzt wurden die in Tabelle 33 genannten Testsysteme. Für die aquatischen Tests wurde ein Eluat mittels Schüttelverfahren (L/S: $10 L/kg$, 24 h) hergestellt. Für den terrestrischen Test wurden Verdünnungsstufen aus der festen

Abfallprobe und OECD-Kunsterde hergestellt. Die Probe zeigte in den aquatischen Tests keine Ökotoxizität (LID-Wert ≤ 4 bzw. $EC_{50} > 10\%$ Eluat). Im Vermeidungstest mit Regenwürmern wurde hingegen eine toxische Wirkung festgestellt (LID-Wert > 8 ; Tabelle 33).

Tabelle 33: Überblick über die von OVAM (2018) eingesetzten Tests und die mit Shredderstaub (19 10 04) ermittelten Effektkonzentrationen.

Testorganismus	Endpunkte	Testdauer	Testrichtlinien ^a	Effektkonzentrationen
Aquatische Tests				
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Wachstumsrate	72 h	OECD 201	$EC_{50} = 69\%$ $LID \leq 4$
<i>Daphnia magna</i>	Immobilität	48 h	OECD 202	$EC_{50} > 100\%$ $LID \leq 4$
<i>Aliivibrio fischeri</i>	Lumineszenzhemmung	30 min	ISO 11348-3	$EC_{50} > 45\%$ $LID \leq 4$
Terrestrischer Test				
<i>Eisenia fetida</i>	Vermeidungsverhalten	48 h	ISO 17512-1	$LID > 8$

^a Aktuelle Fassungen der genannten Richtlinien: ISO 11348-3 (2007b), ISO 17512-1 (2008a), OECD 201 (2011), OECD 202 (2004).

Insgesamt wurden in den im Rahmen der Literaturstudie identifizierten Arbeiten fünf verschiedene Abfallproben untersucht, die der Abfallart Shredderleichtfraktionen (19 10 03*/19 10 04) zugeordnet waren. Dazu wurden zumindest teilweise die gleichen Probenaufbereitungs- und Testverfahren eingesetzt wie im vorliegenden Vorhaben. Aufgrund der unterschiedlichen Abfallquellen, zu denen meist genauere Informationen fehlten, und teilweise auch aufgrund methodischer Unterschiede ist keine direkte Vergleichbarkeit mit den im vorliegenden Vorhaben erzielten Testergebnissen gegeben. Wie im vorliegenden Vorhaben erwiesen sich jedoch Proben, die dem Abfallschlüssel 19 10 04 zugeordnet waren, auch in früheren Untersuchungen teilweise als ökotoxisch.

5 Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung

Auf Basis der durchgeführten Literaturrecherche (Abschnitt 3) und der Erfahrungen, die bei der Probenahme, Probenvorbereitung, Elution und ökotoxikologischen Untersuchung der 10 Abfallproben gewonnen wurden, wurden Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung ausgearbeitet. Dabei wurden die Diskussionen mit dem projektbezogenen Begleitkreis auf den Begleitkreistreffen am 09.03.2022 und 02.03.2023 und dem Fach-Workshop am 29.08.2023 berücksichtigt. Die Vorschläge für eine Aktualisierung und Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung betreffen Probenahme, Probenvorbehandlung, Teilung von Proben im Labor, Elution, ökotoxikologische Testung, Grenzkonzentrationen für die HP 14-Einstufung und Vorgaben für Mindestanforderungen an Berichte.

Es wurden auch Punkte identifiziert, für die auf regulatorischer Ebene Handlungsbedarf besteht. Außerdem werden Vorschläge für Anpassungen der Testrichtlinien für die Biotests gemacht.

5.1 Probenahme und Probenvorbehandlung

In Hinblick auf die Probenahme verweist der technische Leitfaden zur Abfalleinstufung (EU 2018) auf die technischen Berichte CEN/TR 15310-1 bis -5, lässt aber andere Vorgehensweisen wie laut der in Deutschland überwiegend angewandten PN 98 (LAGA 2019) zu, wenn sie zu ähnlich zuverlässigen Ergebnissen führen (siehe Abschnitte 3.1.1.1 und 4.2)⁵⁴.

In der UBA-Handlungsempfehlung von 2013 wird bereits auf einen in der Erarbeitung befindlichen Standard der CEN/TC 292 hingewiesen; wichtig erscheinende Aspekte wurden integriert. Die Überlegung, eine Laborprobe über die in der Probe enthaltene Partikelzahl zu definieren, entspricht den Vorgaben, die inzwischen im technischen Bericht CEN/TR 15310-1 im Detail ausgeführt sind.

Analog zu den allgemeinen Empfehlungen des CEN TC 292 zur Anwendung der Mindestprobenmasseformel und speziell zur Berichtsreihe CEN/TR 15310 wird vorgeschlagen, die UBA-Handlungsempfehlung im Hinblick auf den Anteil von Merkmalsträgern und angestrebte Aussagesicherheit an die Vorgehensweise des CEN TC 292 anzupassen.

Das bedeutet, dass – sofern keine weitergehenden Informationen vorliegen – angenommen wird, dass 10% der in der Grundgesamtheit enthaltenen Partikel das wirksame Merkmal enthalten. In Bezug auf die Aussagesicherheit wird ein Variationskoeffizienten (CV) von 10% angesetzt. Das heißt, dass der Merkmalsgehalt in der Laborprobe im Rahmen der zweifachen Standardabweichung von ca. 95% um nicht mehr als 20% vom „wahren Wert“ von 10% in der Grundgesamtheit abweicht. Die getroffenen Annahmen sollen dafür sorgen, dass eine ausreichende Aussagesicherheit erreicht wird, und dass gleichzeitig der erforderliche Aufwand in einem überschaubaren Rahmen bleibt.

Aufgrund der sich aus der CEN/TR 15310-Berichte ergebenden Möglichkeiten, eine Probe qualitativ einzuordnen, wird empfohlen, Probenahme und Probenvorbehandlung gemäß CEN/TR 15310 durchzuführen und die Ergebnisse mit den Vorgaben der LAGA PN 98 abzugleichen. Im Allgemeinen übersteigen die für biologische Untersuchungen benötigten Probenmassen die vorgeschlagenen Mindestprobenmengen bei weitem. Daher ist es wesentlich, zu erkennen, wie weit eine Laborprobe zur Prüfprobe heruntergeteilt werden kann, ohne deutlich an Aussagesicherheit zu verlieren. Während die Richtlinie DIN 19747 (2009a) an dieser

⁵⁴ In Form der der PN 98 sehr ähnlichen DIN 19698-1 (DIN 2014) liegt die in der PN 98 beschriebene Vorgehensweise inzwischen auch als DIN-Norm vor.

Stelle keine konkrete Aussage trifft, liefert die Berichtsreihe CEN/TR 15310 hier eine Hilfestellung.

Folgende Vorgehensweise wird für die Gewinnung von Proben für die biologische Untersuchung von Abfällen empfohlen.

Durchführung einer sorgfältigen Probenahmeplanung nach CEN/TR 15310

Im Rahmen der Probenahmeplanung, die von einem Fachkundigen in Rücksprache mit dem Abfalleigentümer und ggf. dem Auftraggeber durchzuführen ist, soll die Grundgesamtheit festgelegt und das Untersuchungsziel definiert werden. Die Prüfung der konkreten Rahmenbedingungen am Probenahmeort gehört ebenso dazu wie das Sammeln von Informationen zur Entstehung des Abfalls sowie zu dessen zeitlicher und räumlicher Heterogenität. Gegebenenfalls können bereits hier Informationen wie d_{95} , Schüttdichte, Partikeldichte und Angaben zur Abschätzung der Merkmalsverteilung auf die Partikel erhoben werden.

Auf der Basis der Informationen wird ein Probenahmeansatz gewählt und die Vorgehensweise festgelegt. Aus den Partikeldimensionen ergibt sich die erforderliche Mindestprobenmasse. Die Mindestprobenmasse wird unter Verwendung der vom Fachkundigen festgelegten Werte ermittelt. Aus dem Abgleich der Masse für die Einzelproben und dem Mindestprobenumfang ergibt sich die Anzahl der Einzelproben, die jedoch mindestens 16 umfassen sollte.

Für die zu entnehmende Feldprobe ist darauf zu achten, dass auch nach etwaiger Abtrennung von Störstoffen und Überkorn >4 mm eine hinreichende Probenmasse verbleibt, um die angestrebten Untersuchungen durchführen zu können.

Entnahme von mindestens 16 probabilistischen Einzelproben

Basierend auf dem in der Probenahmeplanung festgelegten Vorgehen werden der Grundgesamtheit mindestens 16 Einzelproben entnommen. Unter probabilistischen Erwägungen ideal ist eine Probenahme aus dem fallenden Strom. Hilfsweise können die Proben auch aus dem Haufwerk sowie ggf. aus einem Radladerteppich entnommen werden. Die Art der Probenahme ist gemäß CEN/TR 15310 einzuordnen und zu begründen. Etwaig eingesetzte Hilfsmittel sind zu dokumentieren.

Vereinigung der Einzelproben zu einer Mischprobe (Feldprobe)

Sämtliche Einzelproben werden zu einer Mischprobe vereinigt. Auf eine Verjüngung der Feldprobe zur Laborprobe sollte verzichtet werden, um für biologische Untersuchungen hinreichend Untersuchungsmaterial anzubieten.

Gemeinsame Probenahme für Biotests und chemische Analytik

Auf dem Fach-Workshop wurde die Frage gestellt, ob eine Probennahme durchgeführt werden kann, um Proben für die chemische Analytik und für Biotests zu gewinnen. Eine Probenahme hat immer zum Ziel, eine möglichst repräsentative Teilmenge einer Grundgesamtheit zu erzeugen, aus der charakteristische Merkmale der Grundgesamtheit mit hinreichender Aussagesicherheit ermittelt werden können. Die Probenahme für biologische Untersuchungen unterscheidet sich von einer Probenahme zur chemisch-analytischen Untersuchung lediglich dahingehend, dass für Biotests eine größere Probenmasse erforderlich ist. Grundsätzlich ist eine gemeinsame Probenahme für Biotests und chemische Analytik also möglich. Dabei können entweder parallele Proben für biologische und chemisch-analytische Untersuchungen genommen werden oder es wird eine hinreichend große Probe genommen und im Feld geteilt, um das biologische und das chemisch-analytische Labor zu bedienen.

5.2 Probenvorbereitung der Feldprobe zur Laborprobe

Im Rahmen der Probenvorbereitung sollte die Empfehlung bleiben, eine Siebanalyse mit Rundlochsieben durchzuführen. Die Erstellung einer einfachen Sieblinie mittels Handsiebung erfordert einen überschaubaren Aufwand, liefert aber wertvolle Hinweise zur Partikelgrößenverteilung und erlaubt zudem die Verifikation des angenommenen d_{95} an der Originalprobe.

Wenn die Probe Material >4 mm enthält, ist zu erwägen, wie damit umzugehen ist. Die Handlungsempfehlung von 2013 sieht vor, das Material nach Möglichkeit zu zerkleinern und der Abfallprobe in zerkleinerter Form wieder zuzusetzen. Dabei soll darauf geachtet werden, dass nicht zu viele neue Oberflächen entstehen, um das Elutionsverhalten der Probe nicht zu beeinflussen. Auf eine Feinvermahlung sollte verzichtet werden. Bei geringen Massenanteilen der Fraktion >4 mm wurde vom UBA (2013, Abschnitt 5.2.4) empfohlen, das Überkorn ggf. zu verwerfen.

Es wird vorgeschlagen, zur Entscheidungsfindung die Mindestprobenmasseformel laut CEN/TR 15310-1 zu nutzen. Beim Überkorn >4 mm handelt es sich um eine Teilprobe der Laborprobe, dessen untere Partikelgrößengrenze mit $d_{05} = 4$ mm abgeschätzt werden kann. Auch für diese Teilprobe ist die Ermittlung der Mindestprobenmasse möglich.

Beispiel 1

Für eine Bodenprobe mit den abgeschätzten Eingangswerten $d_{95} = 20$ mm, Schüttdichte $\rho_s = 0,92$ kg/dm³, Partikeldichte $\rho_p = 1,8$ kg/dm³ wird eine Feldprobe mit einer Masse von 8 kg gewonnen. In der Probenvorbereitung fällt eine Überkornmasse >4 mm von 2.834 g (35,4 Masse%) an. Die Sieblinie zeigt, dass der d_{95} nicht bei 20 mm, sondern bei 25 mm liegt.

Der d_{95} wird entsprechend der Sieblinie mit 25 mm angesetzt, als d_{05} wird die Siebgröße von 4 mm eingesetzt. Partikeldichte ($\rho_p = 1,8$ kg/dm³), angestrebter Variationskoeffizient ($CV = 10\%$) und der Anteil von Merkmalsträgern ($p = 10\%$) werden beibehalten.

Für das gewählte Beispiel ist der Korrekturfaktor für die Partikelgrößenverteilung g 0,25 und die Mindestprobenmasse (M_p) ist 3.313 g. Die angefallene Menge an Überkorn (2.834 g, s.o.) unterschreitet die Mindestprobenmasse. Die Teilprobe enthält daher sehr wahrscheinlich weniger als 900 Partikel und erreicht die angestrebte Aussagesicherheit von $CV = 10\%$ nicht ($CV = 10,8\%$).

In diesen speziellen Fall liegt eine recht große Masse an Überkorn vor. Die Mindestprobenmasse von 3.313 g wird nahezu erreicht, so dass der CV in der Teilprobe des Überkorns (10,8%) sich nur unwesentlich vom angestrebten CV (10%) unterscheidet. Eine Zerkleinerung ist angeraten.

Läge die Überkornmasse bei nur 283 g (5,2 Masse%) wären dies überschlägig nur 77 Partikel. In einer solchen Teilprobe kann ein Anteil von Merkmalsträgern von 10% nur mit einem CV von 34% abgebildet werden. Im Rahmen der zweifachen Standardabweichung kann die Teilprobe daher Merkmalsgehalte zwischen 3,2 und 16,8% aufweisen. Es ist unwahrscheinlich, dass die Teilprobe zufällig den „wahren Merkmalsgehalt“ von 10% trifft. Da die Großpartikel hohe Merkmalsfrachten eintragen können, wird in diesem Fall empfohlen, das Überkorn zu verwerfen.

Ist das bei der Siebung anfallende Masse an Überkorn größer als die Mindestprobenmasse für die Teilprobe (siehe Beispiel 1), so kann das Überkorn vorsichtig auf ein d_{95} von ca. 4 mm zerkleinert und der Probe wieder zugeführt werden. Bei der Zerkleinerung sollte darauf geachtet werden, dass keine Feinvermahlung stattfindet, um nicht unnötig frische Oberflächen zu schaffen, die ggf. Einfluss auf das Elutionsverhalten besitzen. Für Bodenproben empfiehlt sich,

eine Spaltbreite von 4 mm beim Backenbrecher einzustellen und mehrfach zu brechen. Bei Schneidmühlen sind entsprechende Siebe zu wählen.

Unterschreitet die Überkornmasse die Empfehlung zur Mindestprobenmasse, sollte das Überkorn verworfen werden, da die Teilprobe des Überkorns den Anforderungen der Mindestprobenmasse nicht genügt. Die abgetrennten Partikel >4 mm sollten nach wie vor gewogen und fotografisch dokumentiert werden. Für die Probenvorbereitung ist eine Massenbilanz zu erstellen und zu dokumentieren.

Unabhängig davon, ob die entstehende Laborprobe <4 mm zerkleinertes Überkorn enthält oder nicht, ist für diese Probe mit den neuen, durch die Vorbehandlung entstandenen Eingangswerten $d_{95} = 4$ mm und der ggf. veränderten Schüttdichte eine Neuberechnung der Mindestprobenmasse nach CEN/TC 15310-1 vorzunehmen. Der sich ergebende Wert liefert die Mindestprobenmasse für die Messprobe.

Beispiel 2

Der d_{95} liegt bei der Siebgröße von 4 mm. Als d_{05} wird, wenn erforderlich, ein Schätzwert von 0,5 mm oder 1 mm eingesetzt. In beiden Fällen wird $g = 0,25$ angenommen. Die Partikeldichte von $\rho_p = 1,8$ kg/dm³ sowie der angestrebte Variationskoeffizient ($CV = 10\%$) und der Anteil von Merkmalsträgern ($p = 10\%$) werden beibehalten, sofern keine Gründe für eine Änderung vorliegen.

Für das gewählte Beispiel ist die Mindestprobenmasse (M_p) für die Laborprobe <4 mm 13,6 g. Dieser Wert gibt an, wie groß eine Teilprobe der Laborprobe sein muss, um einen Anteil von Merkmalsträgern von $p = 10\%$ mit einem CV von 10% abbilden zu können. Dabei ist zu beachten, dass dieser CV zur Probenvorbereitung gehört. Er ist zum bereits für die Probenahme ermittelten CV quadratisch zu addieren.

Sofern eine Probenteilung notwendig ist, um mehrere Laboratorien zu bedienen, ist diese im Rahmen der Massenbilanz darzustellen. Zur Probenteilung werden Riffelteiler oder die Methode Kegeln und Vierteln empfohlen. Auch etwaige Rückstellungen von Probenmaterial sind zu dokumentieren.

Zur Aufbewahrung bzw. zum Transport ist die Laborprobe zu verpacken. Gute Erfahrungen bestehen mit der Überführung des Probenmaterials in robuste, lichtdichte PE-Säcke, die ihrerseits in PP-Fässern transportiert werden. So wird eine Kühlung des Materials mit Eispacks möglich, ohne die Probe zu befeuchten.

Vom Begleitkreis wurde geäußert, dass eine Harmonisierung der Vorgaben für die Probenahme und Probenaufbereitung für Böden und Abfälle wünschenswert wäre. Im Bereich Bodenschutz soll laut der am 01.08.2023 in Kraft getretenen Mantelverordnung (MVO 2021⁵⁵) die Partikelgröße des zu eluierenden Bodens bei <2 mm liegen. Eine Reduktion der Partikelgröße (auf <2 mm statt <4 mm) würde die partikuläre Heterogenität der Proben weiter reduzieren, gleichzeitig aber auch die Repräsentativität der Probe für die Grundgesamtheit. Für ein d_{95} von 2 mm läge die Mindestprobenmasse der Messprobe bei einer Menge von 3,4 g. Bei unveränderten Einwagemengen für die Biotests wäre zu erwarten, dass sich die Reproduzierbarkeit der Untersuchungen verbessert. Allerdings wäre die Probenvorbereitung aufwändiger. Eine Harmonisierung mit der Mantelverordnung könnte hier außerdem möglicherweise einer Harmonisierung zwischen den verschiedenen EU-Mitgliedstaaten

⁵⁵ Verordnung zur Einführung einer Ersatzbaustoffverordnung, zur Neufassung der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung und zur Änderung der Deponieverordnung und der Gewerbeabfallverordnung.

entgegenstehen. Aktuell wird in den etlichen anderen europäischen Staaten mit einer Partikelgröße <4 mm gearbeitet (siehe Abschnitt 3.1.1.1).

Vom Begleitkreis wurde der Wunsch geäußert, die Aufbereitung der Proben im Labor für Biotests und chemisch-analytische Untersuchungen zu vereinheitlichen. Während eine gemeinsame Probenahme für Biotests und chemische Analytik möglich ist wie oben diskutiert, stehen der gemeinsamen Aufarbeitung im Labor technische Anforderungen entgegen, wie im Folgenden dargestellt.

In ökotoxikologischen Untersuchungen von Abfällen wird die Wirkung der bioverfügbaren Abfallinhaltsstoffe auf aquatische und terrestrische Organismen ermittelt. Daher wird in terrestrischen Tests i.d.R. mit Absiebungen <4 mm (bzw. <2 mm für mikrobielle Biotests mit Bodenorganismen) gearbeitet. Für die aquatischen Tests wird mit wässrigen Eluaten gearbeitet. Dabei sind die Bedingungen der Eluatherstellung explizit nicht darauf ausgerichtet sind, alle möglicherweise toxischen Substanzen zu erfassen, sondern nur die Substanzen, die kurzfristig wasser verfügbar sind.

In chemisch-analytischen Untersuchungen geht es hingegen darum, Gesamtgehalte bestimmter Abfallinhaltsstoffe zu ermitteln, ggf. nach vorheriger Extraktion dieser Elemente oder Verbindungen aus dem Abfall oder nach einem Aufschluss der gesamten Probe (z.B. Königswasseraufschluss). Damit die partikuläre Heterogenität keinen systematischen Fehler bei der Einengung bzw. Teilung der Probe verursacht, ist ein sorgfältig abgestimmtes Vorgehen von (a) Reduktion der Partikelgröße und (b) Probenteilung notwendig. In der Regel wird eine Feinvermahlung der Prüfproben auf eine Partikelgröße <250 µm durchgeführt.

5.3 Probentransport und Probenlagerung

Der Transport von Abfallproben sollte so kurz sein, dass möglichst keine Veränderungen der Probeneigenschaften auftreten. Die Transportdauer ist als Teil der Lagerungsdauer anzusehen, dabei ist eine Transportdauer von unter 48 h und eine möglichst niedrige Temperatur einzuhalten. Im durchgeführten Projekt wurde stets eine Transportdauer von 24 h unterschritten. Im Hinblick auf die Kühlung wurde versucht, das Probenmaterial unter Einsatz von bis zu 20 handelsüblichen Kühlpacks bei geringer Temperatur zu halten. Hier stellt sich allerdings die Frage, ob es für Abfälle, die am Anfallsort über längere Zeiträume bei Umgebungsbedingungen gelagert werden, wirklich erforderlich ist, für den Probentransport eine Temperatur von z. B. 4°C einzufordern, was den Transport verteuern würde.

Bei den Empfehlungen zum Probentransport und zur Probenlagerung wird daher nur eine geringfügige Ergänzung vorgeschlagen. Es wird davon ausgegangen, dass das Probenmaterial ohne Lichteinfluss und unter Umgebungstemperatur 48 Stunden lang chemisch und physikalisch stabil ist. Sollte es Hinweise darauf geben, dass dies nicht der Fall ist, ist die Laborprobe bei einer Temperatur von $4\pm 2^\circ\text{C}$ zu transportieren.

Die Proben sollten nicht länger als zwei Monate bei $4\pm 2^\circ\text{C}$ gelagert werden. Sollte eine längere Lagerung erforderlich sein, ist durch eine begleitende physikalische, chemische oder biologische Analyse abfallspezifischer Parameter eine mögliche Veränderung der Abfallproben während der Lagerung zu bestimmen.

5.4 Teilung von Proben im Labor

In der UBA-Handlungsempfehlung wird eine Mindestpartikelzahl von 20.000 Partikel für den Massenanteil oberhalb des 20er Perzentils empfohlen, d. h. für die Probenmasse die übrig bleibt, wenn 20% Feinkorn abgetrennt werden. Diese Partikelzahl soll nicht ohne Reduktion der

Partikelgröße unterschritten werden. In der Praxis werden Proben jedoch geteilt, um Messproben für die einzelnen Biotests herzustellen, ohne dass die in den Messproben enthaltenen Partikelzahlen bekannt sind und i.d.R. ohne dass die Partikelgröße reduziert wird.

Die Gewinnung einer Prüfprobe aus einer hinreichend dimensionierten Laborprobe ist im Grunde nichts weiter als eine Probenahme aus der Laborprobe. Die DIN 19747 (2009a) sieht für die Gewinnung der Prüfprobe verschiedene Teilungsverfahren wie zum Beispiel die Nutzung eines Riffelteilers, eines Rotationsprobenteilers oder auch eines Drehrohrprobenteilers vor.

Für die Erreichung eines hohen Homogenisierungsgrades der Teilproben empfiehlt die DIN 19747 die Nutzung des *Cross-Riffing*-Verfahrens. In einer systematischen Untersuchung der in der Probenvorbereitung auftretenden Varianzen (Ketelhut 2013) traten bei der Gewinnung von Prüfproben (100 g) durch wiederholte Verjüngung von Baumischabfällen auch für Fraktionen mit hohen Merkmalsanteilen (>20%) große Teilungsfehler auf, so dass der Merkmalsgehalt der Prüfprobe um 60 bis 80% vom Merkmalsgehalt der Laborprobe abweichen kann. Im Vergleich der Teilungsverfahren *Cross-Riffing*, fraktionierendes Schaufeln, Riffelteiler und Kegeln und Vierteln wurden der Einsatz von Riffelteilern sowie die Methode Kegeln und Vierteln empfohlen (Ketelhut 2013).

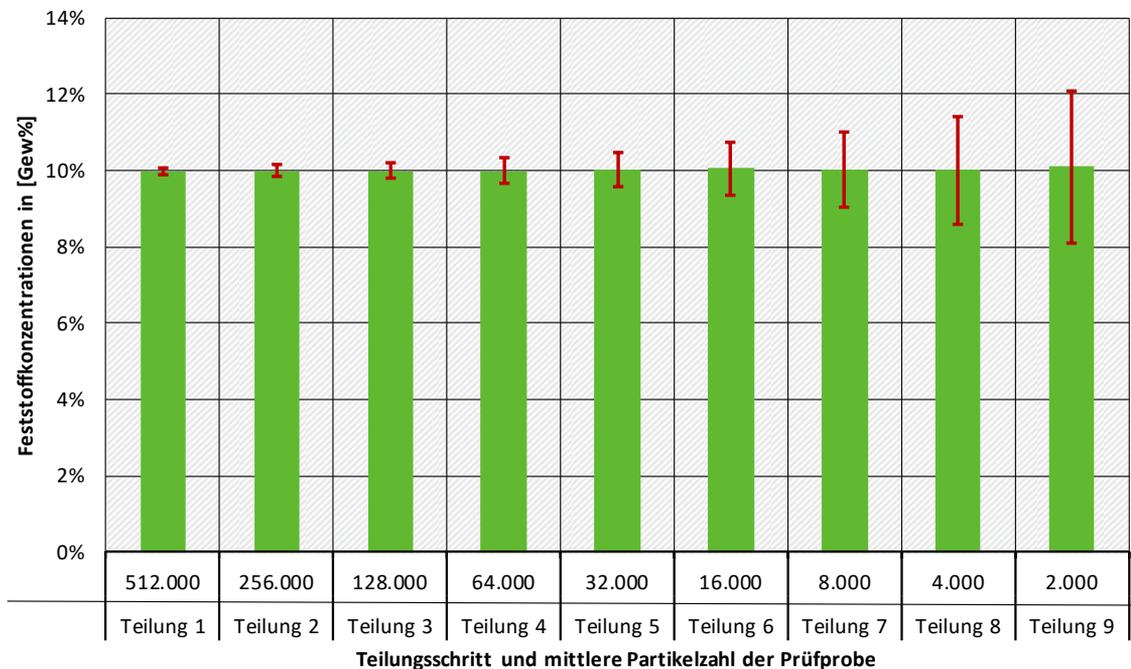
Für die Gewinnung einer Prüfprobe gibt es grundsätzlich zwei Wege:

- ▶ Teilung bzw. Verjüngung der Laborprobe
- ▶ Gewinnung einer Mischprobe durch Entnahme von Einzelproben aus der Laborprobe

5.4.1 Rechnerische Simulation beider Methoden zur Gewinnung einer Prüfprobe

Um die Auswirkungen auf die Varianz von Merkmalsgehalten in Prüfproben abschätzen zu können, ist eine Simulation mit Zufallszahlen unter Verwendung von Näherungsverteilungen für Parametergehalte durchgeführt worden. Hier wurde beispielhaft ein Merkmal gewählt, das von 10% der Partikel getragen wird. Alle Partikel besitzen identische Dimensionen, es treten keine Gewichtsunterschiede auf. Die Ergebnisse der Simulationen sind in Abbildung 59 und Abbildung 60 dargestellt.

Abbildung 59: Simulation der auftretenden Varianzen bei der Herstellung von Prüfproben durch aufeinanderfolgende hälftige Teilungen



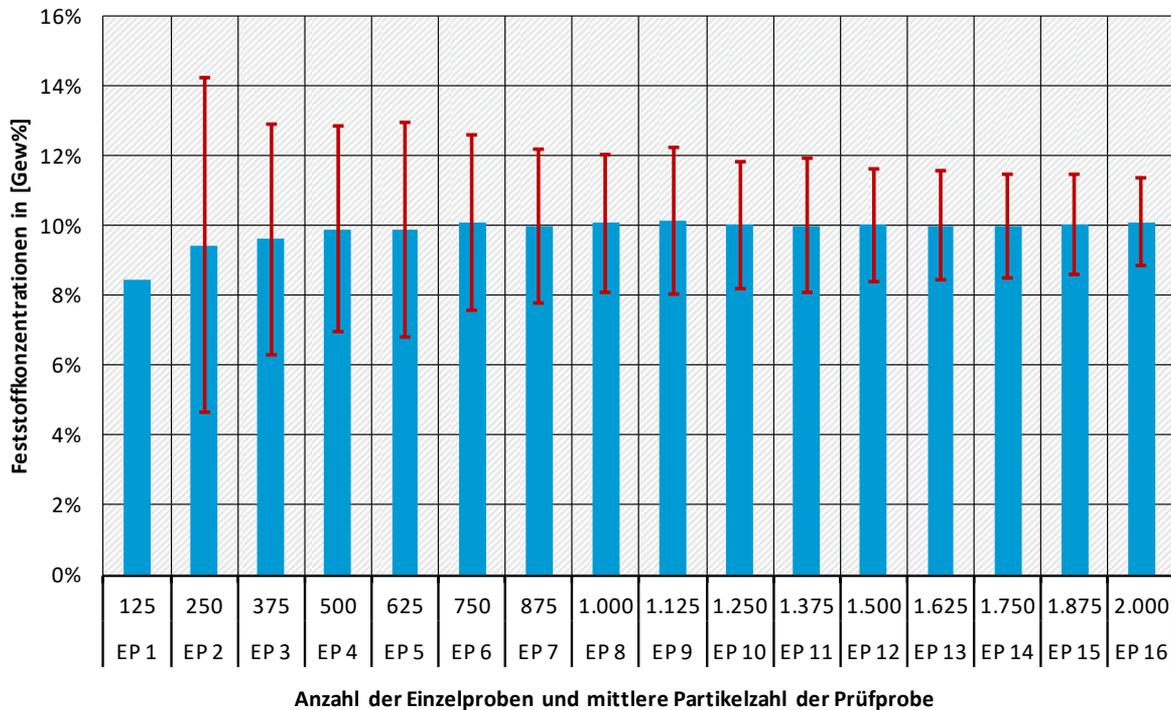
Simulierte Herstellung von Prüfproben aus einer Laborprobe mit 1.024.000 Partikeln für einen Anteil von Merkmalsträgern von $p = 10\%$. Die Balkenhöhe liefert den Erwartungswert aus 100 Simulationen, die Antennen stellen die zweifache Standardabweichung dar.

Quelle: eigene Darstellung, Ralf Ketelhut, Stoffstromdesign

Die Balkenhöhe steht für den Mittelwert des Merkmalsgehaltes in den durch Teilung erhaltenen 100 Prüfproben. Unabhängig vom Teilungsschritt liegt der Mittelwert aller Proben recht genau beim realen Anteil von Merkmalsträgern von $p = 10\%$. Die Varianz der erzielten Ergebnisse nimmt mit jedem Teilungsschritt deutlich zu. Teil man eine Probe aus 1.024.000 Partikeln neun Mal auf eine Zielgröße von 2.000 Partikeln herunter, so liegt der Merkmalsgehalt der Prüfprobe im Rahmen der zweifachen Standardabweichung zwischen 8 und 12%. Das Verfahren der (rechnerisch optimalen) hälftigen Teilung führt demnach zu einem Variationskoeffizienten von 10%.

Alternativ kann eine Prüfprobe auch derart gewonnen werden, dass aus der Grundgesamtheit der homogenisierten Laborprobe 16 Einzelproben von jeweils 125 Partikeln entnommen und zu einer Mischprobe vereinigt werden.

Abbildung 60: Simulation der Varianz bei der Herstellung von Prüfproben durch Ziehung von Einzelproben aus der Laborprobe



Simulierte Herstellung von Prüfproben durch Ziehen von Einzelproben (EP) von 125 Partikeln bei einem Anteil von Merkmalsträgern von $p = 10\%$. Die Balkenhöhe liefert den Erwartungswert aus der Summe der Einzelproben. Die Antennen markieren die zweifache Standardabweichung.

Quelle: eigenen Darstellung, Ralf Ketelhut, Stoffstromdesign

Das Ergebnis dieser zweiten Simulation zeigt, dass sich der mittlere Erwartungswert mit zunehmender Anzahl von Einzelproben in Richtung des Erwartungswertes für den Merkmalsgehalt stabilisiert und dass die Varianz mit zunehmender Zahl an Einzelproben abnimmt. Die Gewinnung einer Prüfprobe aus einer Laborprobe mittels Entnahme von 16 Einzelproben und Vereinigung zu einer Mischprobe führt unter den Bedingungen der Simulation auf einen Variationskoeffizienten von 6%. Dieses Verfahren erscheint daher gegenüber der Teilung der Laborprobe vorteilhaft.

Auf der Basis der Simulationsergebnisse und in Analogie zur Vorgehensweise bei der Probenahme wird empfohlen, die Prüfproben aus einer hinreichenden Anzahl von Einzelproben, die aus der sorgfältig homogenisierten Laborprobe entnommen werden, herzustellen. Wir empfehlen eine Anzahl von mindestens 16 Einzelproben, so dass sich der Umfang der Einzelprobe aus einem Sechzehntel der Masse der Prüfprobe ergibt.

Die erforderliche Menge Prüfprobe sollte nach Möglichkeit größer sein als die Mindestprobenmasse der Laborprobe, die im Rahmen der Probenvorbehandlung ermittelt worden ist.

Beispiel 3

In dem für die Probenvorbehandlung dargestellten Beispiel liegt die Mindestprobenmasse bei einem Wert von 13,6 g (siehe Beispiel 2). Werden für einen Biotest nur 8 g Probenmasse verwendet, so liegt dieser Wert unterhalb der Mindestprobenmasse. Eine Prüfprobe von 8 g enthält nur ca. 59% der Mindestprobenmasse und daher überschlägig nur 531 Partikel. Mit einer

derartigen Prüfprobe kann ein Anteil von Merkmalsträgern von $p = 10\%$ mit einem Variationskoeffizienten (CV) von 13% in der Prüfprobe abgebildet werden.

Zur Ermittlung des Variationskoeffizienten für die Abbildung des Anteils von Merkmalsträgern in der Prüfprobe müssen die Variationskoeffizienten für die Probenahme (CV_{PN}) sowie der Probenvorbereitung (CV_{PV}) aggregiert werden. Dies erfolgt mittels quadratischer Addition. Der Anteil von Merkmalsträgern in der Prüfprobe besitzt demnach einen CV_{PP} von

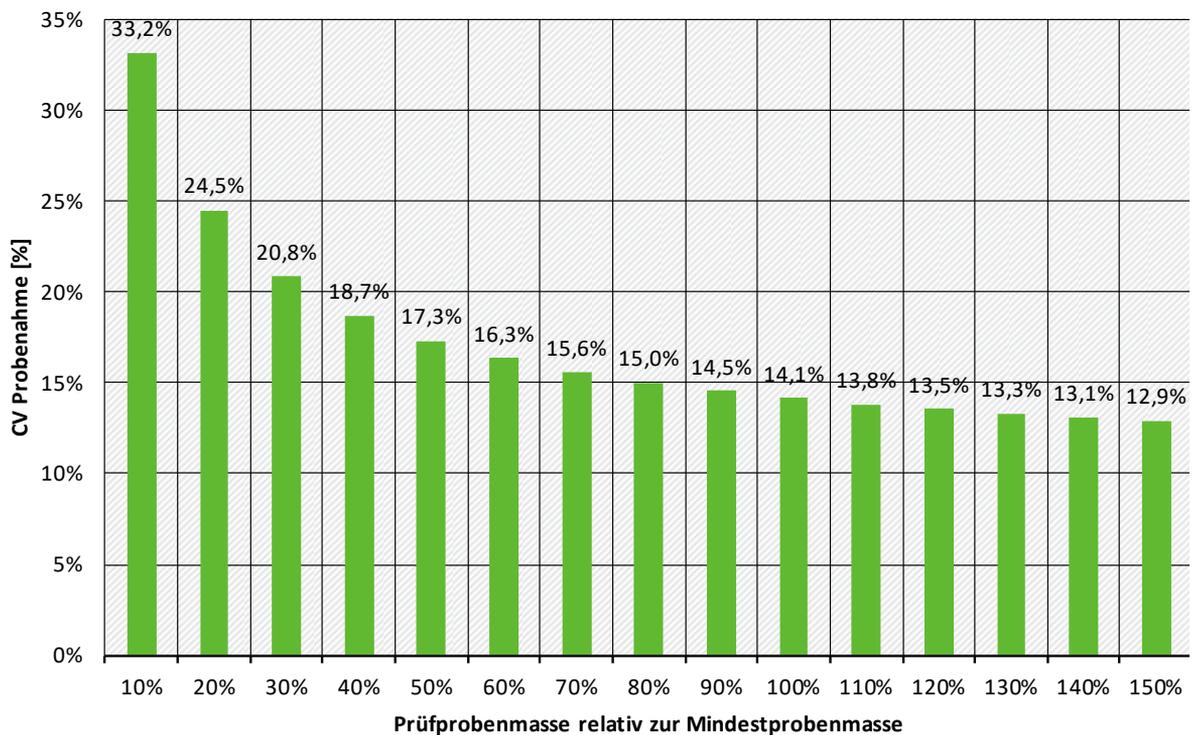
$$CV_{PP} = \sqrt{CV_{PN}^2 + CV_{PV}^2} = \sqrt{0,01 + 0,017} \approx 16,4\%$$

Er kann im Rahmen der zweifachen Standardabweichung um ca. 33% vom angenommenen wahren Wert von 10% abweichen.

Rein systematisch kann der CV der Prüfprobe den Wert des CV der Probenahme von 10% aufgrund der quadratischen Addition nicht unterschreiten. Wird die Mindestprobenmasse als Prüfprobe eingesetzt, liegt der Gesamt-CV bei 14,1% (siehe auch Abbildung 14).

Da Prüfproben im Rahmen der statistischen Zufälligkeit entstehen, ist es möglich, dass eine Prüfprobe von 8 g im Rahmen der zweifachen Standardabweichung sowohl 6,7% Merkmalsgehalt ausweisen kann als auch 13,3%. Es ist also nicht überraschend, wenn Messergebnisse aus derartigen Prüfproben um einen Faktor 2 unterschiedlich sind.

Abbildung 61: Variationskoeffizient (CV) des Merkmalsgehalts in einer Prüfprobe aus der quadratischen Aggregation der Variationskoeffizienten für Probenahme und Probenvorbereitung



Annahmen: Anteil von Merkmalsträgern (p) = 10%, CV für die Probenahme = 10%

Quelle: eigene Darstellung, Ralf Ketelhut, Stoffstromdesign

Für sehr kleine Messproben kann der Variationskoeffizient hoch und damit die Messunsicherheit groß sein. Das Überschreiten der Mindestprobenmasse bringt kaum Vorteile für die Präzision der Messung, da die Messunsicherheit durch den CV der Probenahme limitiert ist.

5.5 Elution

Wie in der UBA-Handlungsempfehlung (UBA 2013, Abschnitt 5.2.5) beschrieben, wird mit der Elution ein wässriges Extrakt hergestellt, anhand dessen die Ökotoxizität der wasserelutierbaren Abfallbestandteile untersucht wird. Im ersten Absatz von Abschnitt 5.2.5 wird angemerkt, dass die Elutionsmethode zur Untersuchung von Abfallproben mit organischen Schadstoffen angepasst werden muss. Im Folgenden wird die Elution von Abfällen mittels einstufigem Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis (L/S) von 10 L/kg Abfalltrockengewicht und einer Dauer von 24 h nach DIN EN 12457-2 (2003a) empfohlen. Auch das in DIN EN 14735 dargestellte Elutionsverfahren basiert auf dieser Norm. Die DIN EN 12457-2 wurde erstellt, um „vorwiegend anorganische“ Abfallbestandteile zu untersuchen (siehe Abschnitt 1 dieser Norm sowie Berger et al. 2013). Auf diesen Punkt wird in der DIN EN 14735 nicht eingegangen. Sowohl in der UBA-Handlungsempfehlung als auch in der DIN EN 14735 sollte spezifiziert werden, ob bzw. in welchem Umfang sich das einstufige Schüttelverfahren nach DIN EN 12457-2 zur Elution organischer Schadstoffe sowie schwer löslicher anorganischer Schadstoffe (z.B. Zinkoxid, siehe Abschnitt 3.3.1) eignet⁵⁶.

Vom Begleitkreis wurde geäußert, dass eine Harmonisierung der Vorgaben für die Probenahme und Probenaufbereitung für Böden und Abfälle wünschenswert wäre (siehe auch Abschnitt 5.2). Im Bereich Bodenschutz sollen laut Mantelverordnung (MVO 2021) Eluate mit einem L/S-Verhältnis von 2 L/kg hergestellt werden, entweder mittels Schüttelverfahren laut DIN 19529 (DIN 2023b) oder mittels Säulenschnelltest nach DIN 19528 (DIN 2023a). Zum Säulenschnelltest nach DIN 19528 wird in UBA (2013) angemerkt, dass noch keine Erfahrungen zur Biotestung der gewonnenen Eluate und zu möglichen Grenzkonzentrationen für eine HP 14-Einstufung vorliegen (Tabelle 34). Eine Anpassung des Elutionsverfahrens beeinflusst die Ergebnisse der mit dem Eluat durchgeführten ökotoxikologischen Tests. Wenn das eingesetzte Elutionsverfahren angepasst oder geändert werden soll, sind zunächst vergleichende experimentelle Untersuchungen nötig. Abhängig von den Ergebnissen dieser Untersuchungen müsste ggf. auch die Grenzkonzentration für die aquatischen Biotests angepasst werden.

Das in der UBA-Handlungsempfehlung empfohlene Schüttelverfahren nach DIN EN 12457-2 wird zudem auch in etlichen anderen europäischen Ländern eingesetzt (siehe Abschnitt 3.1.1.1). Eine Harmonisierung mit der Mantelverordnung würde daher möglicherweise einer Harmonisierung der Elutionsverfahren zwischen den verschiedenen EU-Mitgliedstaaten entgegenstehen.

Tabelle 34: Vergleich des zur Elution von Abfallproben empfohlenen Verfahrens mit den laut Mantelverordnung zur Elution von Bodenproben empfohlenen Verfahren.

	Verfahren zur Elution von Abfallproben	Verfahren zur Elution von Bodenproben laut Mantelverordnung (MVO 2021)	
Norm	DIN EN 12457-2 (2003a); siehe auch DIN EN 14735 (2022)	DIN 19529 (2023b)	DIN 19528 (2023a)

⁵⁶ Entsprechende Untersuchungen wurden für das Schüttelverfahren laut DIN 19529 (DIN 2023b) durchgeführt (Kalbe 2020, 2021).

	Verfahren zur Elution von Abfallproben	Verfahren zur Elution von Bodenproben laut Mantelverordnung (MVO 2021)	
Art des Verfahrens	Schüttelverfahren	Schüttelverfahren	Säulenschnelltest (Perkolation im Aufwärtsstrom)
Flüssigkeits- zu Feststoffverhältnis (L/S)	10	2	2
Dauer	24 h	24 h	–
Anmerkung	Empfohlenes Verfahren laut UBA (2013)	In UBA (2013) nicht erwähnt	In UBA (2013) erwähnt, Erfahrungen zur Bio-testung des Eluates und möglichen Grenzkonzentrationen für HP 14-Einstufung fehlen

5.6 Biotests

5.6.1 Generelle Vorgehensweise und Teststrategie

Wenn ausreichende Daten zu Abfallzusammensetzung und zur Ökotoxizität der einzelnen Abfallkomponenten vorliegen, soll laut UBA-Handlungsempfehlung (Abschnitt 6.1) die Berechnungsmethode zur HP 14-Einstufung verwendet werden. In diesem Fall besteht jedoch laut Entscheidung der Kommission 2000/432/EG (EG 2015) und AVV (2020) auch die Möglichkeit der Einstufung mittels Biotests, da gefahrenrelevante Eigenschaften von Abfällen entweder anhand der Konzentrationen der Inhaltsstoffe des Abfalls laut Anhang III der Abfallrahmenrichtlinie (2008/98/EG, EG 2018) oder anhand einer Prüfung ermittelt werden können (vgl. auch Abschnitt 1.1). Diese Option sollte in der UBA-Handlungsempfehlung erwähnt werden.

Wenn die vorliegenden Daten zur Abfallzusammensetzung und zur Ökotoxizität der einzelnen Abfallbestandteile nicht ausreichen, um den Abfall hinsichtlich seiner Ökotoxizität einzustufen, soll laut UBA (2013) eine HP 14-Einstufung anhand von Biotests erfolgen. Diese Vorgehensweise ist schlüssig und sollte beibehalten werden.

Bei der Durchführung von Biotests empfiehlt das UBA (2013) eine stufenweise Vorgehensweise: zunächst werden aquatische Ökotoxizitätstests durchgeführt, nur wenn die Ergebnisse aller aquatischen Tests negativ sind, auch terrestrische Ökotoxizitätstests. Diese Vorgehensweise ist sinnvoll und sollte beibehalten werden, da (1) ein positives Testergebnis für eine HP 14-Einstufung ausreicht, (2) die aquatischen Tests tendenziell sensitiver sind als die terrestrischen und (3) der Aufwand für die Durchführung der terrestrischen Tests (v. a. für den Wachstumshemmtest mit *B. rapa*) höher ist als jener für die aquatischen Tests.

5.6.2 Biotestbatterie: Art und Umfang der einzusetzenden Testverfahren

Die in der Handlungsempfehlung vorgeschlagene Testbatterie (siehe auch Abschnitt 3.3.2) besteht aus drei aquatischen und drei terrestrischen Toxizitätstests, die auch in DIN EN 14735 (2022) genannt werden. Die Tests decken jeweils (a) die taxonomischen Gruppen Pflanzen, wirbellose Tiere und Mikroorganismen und (b) die trophischen Ebenen Produzenten, Konsumenten und Destruenten ab. Damit werden die grundlegenden Anforderungen an eine Testbatterie erfüllt (Traas & van Leeuwen 2007, Römbke et al. 2018).

Notwendigkeit terrestrischer Biotests

Im Vergleich mit anderen europäischen Staaten gehört die Testbatterie laut UBA (2013) zu den umfangreicheren Testbatterien. So werden z. B. in vielen Staaten nur aquatische Tests eingesetzt (Abschnitt 3.1.1.2). Die Ergebnisse des vorliegenden Projektes zeigen, dass die aquatischen Biotests tendenziell sensitiver sind als die terrestrischen. Insgesamt erwies sich nur eine Abfallprobe, Filterstaub (10 09 10) vom Gießen von Eisen und Stahl aus Anlage B, ausschließlich in einem terrestrischen Test als ökotoxisch (Abschnitt 4.4.4). Bei diesem Test handelte es sich jedoch um einen Feststoffkontakttest mit *A. globiformis*, der formal nicht valide war (siehe Abschnitt 4.4.1.2.2.1). Allerdings zeigte auch die Auswertung der im Rahmen der Literaturrecherche identifizierten Daten, dass der Feststoffkontakttest z. T. sensitiver als aquatischen Tests reagiert (siehe Abschnitt 3.2.3.1).

In den aquatischen Tests der Biotestbatterie werden Eluate eingesetzt, die kurzfristig wasser- verfügbare Inhaltsstoffe des betreffenden Abfalls enthalten (Abschnitt 5.5). Bodenorganismen werden auf anderem Weg gegenüber Abfallinhaltsstoffen exponiert als Wasserorganismen: neben der Exposition über das Porenwasser ist v. a. für terrestrische Invertebraten auch die Aufnahme von Bodenpartikeln relevant. Daher ist auch die Bioverfügbarkeit von Schadstoffen und die resultierende Toxizität für Bodenorganismen anders als für Wasserorganismen. Durch die zusätzliche Durchführung terrestrischer Biotests bei Vorliegen von ausschließlich negativen Ergebnissen der aquatischen Tests können ggf. toxische Effekte schwer wasserlöslicher Abfallinhaltsstoffe auf Bodenorganismen detektiert werden. Aus diesem Grund wurde von Pandard & Römbke (2013) und Planchon et al. (2015) empfohlen, dass terrestrische Tests Teil einer Biotestbatterie zur HP 14-Einstufung von Abfällen sein sollten (siehe Abschnitt 3.1.2).

Die Notwendigkeit des Einsatzes terrestrischer Biotests zusätzlich zu aquatischen Verfahren war ein wesentliches Ergebnis des UBA-Projektes PROSOIL (*Protection of soil organisms: Development of toxicity criteria for soil organisms in the framework of classification of substances and PBT assessment*; Scholz-Starke et al. 2022). Im Jahr 2020 kündigte die EU-Kommission in ihrer Chemikalienstrategie für Nachhaltigkeit an, die Machbarkeit der Aufnahme von terrestrischen Toxizitätskriterien in die CLP-Verordnung zu prüfen. Im Projekt PROSOIL wurde die bisherige Annahme untersucht, dass die auf aquatischen Ökotoxizitätsdaten basierenden Einstufungen laut CLP-Verordnung konservativ genug sind, um mögliche Gefahren für Bodenorganismen abdecken zu können und somit einen ausreichenden Schutz dieser Organismen zu gewährleisten. Toxizitätsschwellenwerte für Bodenorganismen wurden mit verschiedenen statistischen Methoden ermittelt und mit den aquatischen Einstufungen laut CLP verglichen. Scholz-Starke et al. (2022) zeigten, dass je nach dem gewählten statistischen Ansatz für die Ableitung von Toxizitätsschwellenwerten für Bodenorganismen 10-30% aller Stoffe in der Projektdatenbank nicht von den aquatischen Einstufungen laut CLP abgedeckt waren. Der Schutz von Bodenorganismen allein aufgrund aquatischer Toxizitätsdaten ist daher nicht ausreichend gegeben. Eine Biotestbatterie für die HP 14-Einstufung von Abfällen in Spiegeleinträgen sollte daher nicht nur aquatische, sondern auch terrestrische Testverfahren enthalten.

Art und Umfang der terrestrischen Biotests

Im Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* wurde häufig eine hohe Variabilität der Ergebnisse festgestellt, v. a. in Tests mit Shredderleichtfraktionen. Die Verdoppelung der Replikatzahl in einigen der durchgeführten Tests erbrachte keine grundlegende Verbesserung. Die sehr kleinen Probenmengen von nur 0,6 g Frischgewicht pro Replikat, die im Feststoffkontakttest eingesetzt werden, sind die wahrscheinlichste Ursache für die festgestellte Variabilität. Bei heterogenen Abfällen wie der Shredderleichtfraktionen, haben einzelne Partikel mit hoher toxischer Fracht,

die zufällig in der Probe enthalten sind oder eben nicht, eine starke Auswirkung auf das Testergebnis.

Eine mögliche Alternative zum Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* wäre der Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung nach Richtlinie DIN EN ISO 15685 (2021). In diesem ebenfalls mikrobiellen Testsystem werden größere Probenmengen verwendet. Die Eignung dieses Tests wurde in einem Screening-Test mit einer Abfallprobe untersucht (siehe Abschnitte 4.3.2.4 und 4.4.3.2.2.4). Um zu prüfen, ob sich der Schnelltest zur Bestimmung der potenziellen Nitrifizierung besser für die Untersuchung von (heterogenen) Abfallproben eignet als der Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* wären methodischen Anpassungen und weitere vergleichende experimentelle Untersuchungen nötig (siehe Abschnitt 4.4.3.2.2.4).

In der Testbatterie laut UBA (2013) sind keine terrestrischen Wirbeltiere vertreten. Mögliche Effekte von Abfällen auf terrestrische Wirbeltiere sollten jedoch durch andere gefahrenrelevante Eigenschaften abgedeckt sein, v. a. HP 5 (spezifische Zielorgan-Toxizität), HP 6 (akute Toxizität) und HP 10 (Reproduktionstoxizität)⁵⁷.

Art und Umfang der aquatischen Biotests

Aquatische Wirbeltiere fehlen ebenfalls in der in der Testbatterie laut UBA (2013). Mögliche Effekte auf Fische werden nicht durch andere gefahrenrelevante Eigenschaften abgedeckt. In Analogie zur CLP-Verordnung (EG 2021) dürfen Tierversuche zur Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen nur dann durchgeführt werden, wenn es keine geeignete Alternativmethode gibt (siehe Abschnitt 1.1).

Es wurden verschiedene Alternativmethoden entwickelt, um akute Fischtests zu ersetzen. Embryonen und Larven von Wirbeltieren, die noch nicht in der Lage sind, selbständig Nahrung aufzunehmen, fallen nicht unter den Geltungsbereich der Tierschutzgesetzes (TierSchG 2023) und der Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (EU 2019). Daher werden Versuche mit Fischembryonen und frühen Fischlarven⁵⁸, die sich noch vom Dottersack ernähren, als Alternativmethoden eingeordnet. Im Fischeitest mit dem Zebraquärling (*Danio rerio*) nach DIN EN ISO 15088 (2009b) beginnt die Exposition kurz nach der Befruchtung und endet nach 48 h, noch vor dem Schlupf der Fische. Dieser Test ersetzt in Deutschland den akuten Fischtest laut Abwasserabgabengesetz (Bundesgesetzblatt 2005). Auch für die Chemikaliientestung wurde ein Test mit frühen Lebensstadien des Zebraquärlings entwickelt, der Fischembryotest nach OECD-Testrichtlinie 236 (2013). In diesem Test beginnt die Exposition ebenfalls kurz nach der Befruchtung, endet aber erst nach 96 h, nach dem Schlupf, aber vor dem Beginn der Aufnahme exogener Nahrung⁵⁸. Weitere Alternativverfahren wie Tests mit Fischzelllinien wurden entwickelt und z.T. auch normiert (z. B. mit der RTgill-W1-Zelllinie; Fischer et al. 2019, OECD-Testrichtlinie 249, 2021). Im Rahmen der gesetzlich vorgeschriebenen Umweltrisikoprüfungen für die Stoffbewertung gibt es jedoch bisher keine regulatorisch akzeptierte Ersatzmethode für akute Fischtests (siehe z. B. Katsiadaki et al. 2021, Belanger et al. 2023).

Wenn die Biotestbatterie für die HP 14-Einstufung von Abfällen in Spiegeleinträgen um einen Test mit der taxonomischen Gruppe der Fische ergänzt werden soll, wird vorgeschlagen, zu prüfen, ob sich der Fischeitest nach DIN EN ISO 15088, der Fischembryotest nach OECD-Testrichtlinie 236 oder der Fischzelllinientest nach OECD-Testrichtlinie 249 eignet. Hier wären zunächst experimentelle Untersuchungen und ggf. methodische Anpassungen nötig.

⁵⁷ Eine detaillierte Analyse dieser Fragestellung würde den Rahmen des vorliegenden Projekts sprengen.

⁵⁸ Für frühe Lebensstadien von Fischen gibt es verschiedene Terminologien. Je nach Terminologie endet die embryonale Lebensphase mit dem Schlupf oder mit dem Beginn der Aufnahme exogener Nahrung (siehe z. B. Blaxter 1988).

Im vorliegenden Vorhaben zeigte sich, dass sich der Algenwachstumshemmtest in Mikrotiterplatten nach DIN 38412-59 sehr gut zur Untersuchung von Abfalleluaten eignet. Daher schlagen wir vor, dass er in der UBA-Handlungsempfehlung als Alternative zum klassischen Algentest nach ISO 8692 bzw. DIN EN ISO 8692 genannt wird.

Testdesign

Die UBA-Handlungsempfehlung gibt klar vor, dass die aquatischen und terrestrischen Biotests mit mindestens fünf Verdünnungsstufen des zu prüfenden Abfalls bzw. Abfalleluats durchgeführt werden sollen, um EC_{50} -Werte zu ermitteln (Abschnitt 5.1.3). Limit-Tests sind bisher nicht vorgesehen. Vom Begleitkreis wurde angeregt, zu prüfen, ob die Durchführung von Limit-Tests eine Option sein könnte und ggf. konkrete Vorgaben für Limit-Tests zu definieren, die in die Handlungsempfehlung aufgenommen werden könnten.

Im Rahmen von Umweltrisikoausschätzungen für chemischen Substanzen werden Limit-Tests mit nur einer Substanzkonzentration durchgeführt, um die Abwesenheit von ökotoxischen Effekten zu belegen. Die in einem solchen Limit-Test eingesetzte Substanzkonzentration entspricht der maximalen Substanzkonzentration, die in dem betreffenden Testtyp eingesetzt werden soll. In akuten Tests mit aquatischen Organismen liegt sie bei 100 mg/L (z. B. DIN EN ISO 6341 (2013a) und OECD-Testrichtlinien 201 (2011) und 202 (2004)), in chronischen Tests mit aquatischen Organismen bei 10 mg/L (z. B. OECD-Testrichtlinie 211 (2012))⁵⁹. In akuten und chronischen Tests mit terrestrischen Organismen beträgt die Limit-Konzentration 1000 mg/kg Bodentrockengewicht (z. B. OECD-Testrichtlinien 207, 222 und 232, OECD 1984, 2016a,b). Um eine ausreichende statistische Aussagesicherheit zu gewährleisten, wird in Limit-Tests i.d.R. sowohl in der Kontrolle als auch in der Limit-Konzentration eine höhere Anzahl an Replikaten eingesetzt als in Tests mit mehreren Substanzkonzentrationen. Wenn in einem Limit-Test kein statistisch signifikanter Effekt auf den Testendpunkt bzw. die Testendpunkte festgestellt wird, kann geschlossen werden, dass die betreffende Substanz für den Testorganismus nicht akut bzw. nicht chronisch toxisch ist. Falls im Limit-Test ein signifikanter Effekt auftritt, muss ein Test mit mehreren (i.d.R. fünf) Substanzkonzentrationen durchgeführt werden, um die akute oder chronische Effektkonzentration zu ermitteln.

Wenn Limit-Tests mit Abfällen bzw. Abfalleluaten durchgeführt werden, muss die eingesetzte Verdünnung über 10% Eluat- bzw. Abfallanteil liegen, um eine HP 14-Einstufung zu ermöglichen. Wir schlagen die Durchführung mit einem Eluat- bzw. Abfallanteil von 12,5% vor. Einige der Richtlinien für die laut UBA (2013) empfohlenen Tests enthalten Vorgaben für die in Limit-Tests einzusetzende Anzahl der Replikate. In den Fällen, wo solche Vorgaben in den betreffenden Richtlinien fehlen, schlagen wir eine Verdoppelung der Replikatzahl im Vergleich zur Testdurchführung mit (mindestens) fünf Abfall- bzw. Eluatverdünnungen vor (siehe Tabelle 35).

Analog zur Umweltrisikoausschätzung für chemische Substanzen sollten Limit-Tests mit Abfällen bzw. Abfalleluaten dazu dienen, die Abwesenheit von ökotoxischen Effekten zu belegen. Wenn in einem Limit-Test ein signifikanter Effekt auftritt, sollte ein Test mit (mindestens) fünf Abfall- bzw. Eluatverdünnungen durchgeführt werden, um die EC_{50} zu ermitteln.

⁵⁹ Wenn die Wasserlöslichkeit der zu prüfenden Substanz kleiner als 100 mg/L bzw. 10 mg/L ist, werden Limit-Tests mit der unter Testbedingungen maximal wasserlöslichen Konzentration durchgeführt.

Tabelle 35: Anzahl von Replikaten in den laut UBA (2013) empfohlenen Biotests für die Testdurchführung mit ≥ 5 Verdünnungsstufen und für Limit-Tests

Test (Richtlinie)	Anzahl Replikate pro Verdünnungsstufe (Anzahl Replikate in der Kontrolle) bei Durchführung mit ≥ 5 Abfall- bzw. Eluatverdünnungen	Anzahl Replikate pro Verdünnungsstufe (Anzahl Replikate in der Kontrolle) im Limit-Test mit 12,5% Abfall- bzw. Eluatanteil	Erläuterung
Akuter Daphnientest (ISO 6341, DIN EN ISO 6341)	4 (4)	4 (4)	Vorgaben laut DIN EN ISO 6341 (2013a)
Algenwachstumshemmtest (ISO 8692, DIN EN ISO 8692)	3 (6)	6 (6)	Vorgaben laut ISO 8692 (2012b)
Algenwachstumshemmtest in Mikrotiterplatten (DIN 38412-59)	3 (3)	6 (6)	Keine Vorgaben laut DIN 38412-59 (2022); eine Verdoppelung der Replikatzahl wird vorgeschlagen
Leuchtbakterientest (ISO 11348-2, DIN EN ISO 11348-2)	2 (2)	4 (4)	Keine Vorgaben laut DIN EN ISO 11348-2 (2009); eine Verdoppelung der Replikatzahl wird vorgeschlagen
Feststoffkontakttest mit <i>Arthrobacter globiformis</i> (ISO 18187, DIN EN ISO 18187)	4 (4)	8 (8)	Keine Vorgaben laut DIN EN ISO 18187 (2018); eine Verdoppelung der Replikatzahl wird vorgeschlagen
Wachstumshemmtest mit <i>Brassica rapa</i> (ISO 11269-2, DIN EN ISO 11269-2)	2 (6)	4 (4)	Vorgaben laut ISO 11269-2 (2012a)
Vermeidungstest mit Regenwürmern (ISO 17512-1, DIN EN ISO 17512-1)	5 (5)	10 (10)	Keine Vorgaben laut ISO 17512-1 (2008a); eine Verdoppelung der Replikatzahl wird vorgeschlagen

Notwendigkeit chronischer Biotests, Möglichkeit der Entlastung durch Biotestergebnisse

Mit der aktuellen Testbatterie laut UBA-Handlungsempfehlung werden ausschließlich akute Effektkonzentrationen (EC_{50} -Werte) ermittelt. Im Rahmen des vorliegenden Projekts wurde diskutiert, ob die Testbatterie auch chronische Ökotoxizitätstests enthalten sollte. In chronischen Tests werden die Testorganismen während ihres gesamten Lebenszyklus oder während mindestens eines sensitiven Entwicklungsstadiums exponiert, EC_{10} - oder NOEC-Werte werden ermittelt (ECHA 2008, 2023a, EC 2018).

Die drei empfohlenen aquatischen Biotests sind Kurzeittests. Aufgrund der kurzen Generationszeit der Algen umfasst der Algentest, der eine Expositionsdauer von 72 Stunden hat, jedoch mehrere Generationen und ist daher als chronischer Test einzustufen (ECHA 2023a, EC 2018). Mit diesem Test können daher auch chronische Effektkonzentrationen abgeleitet werden (siehe auch Abschnitt 4.4.5), ggf. müssen dazu zusätzliche Verdünnungsstufen des Abfalleluats getestet werden. Die beiden anderen aquatischen Tests (Daphnien- und Leuchtbakterientest) sind akute Tests (Tabelle 36). Um chronische Effektkonzentrationen für Daphnien und aquatische Mikroorganismen zu ermitteln, müssten Tests mit längerer Expositionsdauer wie z. B. der Daphnientest nach ISO 10706 (2000) und der Belebtschlammamtmungshemmtest (OECD-Testrichtlinie 209, 2010) eingesetzt werden.

Der Wachstumshemmtest mit der terrestrischen Pflanze *B. rapa* ist mit einer Expositionsdauer von 14 Tagen der deutlich längste Test in der vom UBA (2013) empfohlenen Testatterie. Je nach regulatorischem Rahmen wird er als akuter oder als chronischer Test eingestuft (unter REACH als chronischer Test, ECHA 2023b). In diesem Test können auch EC₁₀- oder NOEC-Werte ermittelt werden (Abschnitt 4.4.5). Der Vermeidungstest mit Regenwürmern hat zwar nur eine Testdauer von 48 h, seine Empfindlichkeit ist aber mit jener des (chronischen) Regenwurm-Reproduktionstests (Testdauer: 56 Tage) vergleichbar und deutlich höher als jene des Regenwurm-Akutttests (Scheffczyk et al. 2014, Römbke et al. 2018). Um chronische Effektkonzentrationen zu ermitteln, müsste das Testdesign angepasst werden. Hier wäre v. a. eine Erhöhung der Anzahl Regenwürmer pro Testgefäß wichtig (laut ISO 17512-1 bzw. DIN EN ISO 17512-1 werden 10 Regenwürmer pro Testgefäß eingesetzt). Der Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* ist ein akuter Test. Zur Ermittlung chronischer Effektkonzentrationen für Bodenmikroorganismen müssten längerfristige Tests wie z. B. Stickstoff- bzw. Kohlenstoff-Transformationstests (OECD-Testrichtlinien 216 und 217, OECD 2000a, b) verwendet werden (Tabelle 36).

Tabelle 36: Einordnung der vom UBA (2013) empfohlenen Biotests als akute bzw. chronische Tests und Möglichkeit, in diesen Tests chronische Effektkonzentrationen zu ermitteln.

Test (Richtlinie)	Expositions-dauer	Einstufung des Tests als akut bzw. chronisch	Möglichkeit der Ermittlung chronischer Effektkonzentrationen
Aquatische Ökotoxizitätstests			
Akuter Daphnientest (ISO 6341, DIN EN ISO 6341)	48 h	Akut	Nein
Algenwachstumshemmtest (ISO 8692, DIN EN ISO 8692, alternativ: DIN 38412-59)	72 h	Akut und chronisch	Chronische Effektkonzentrationen (z. B. EC ₁₀) können ermittelt werden. Dazu müssten ggf. zusätzliche Verdünnungsstufen getestet werden, weitere Anpassungen des Testdesigns wären nicht notwendig
Leuchtbakterientest (ISO 11348-2, DIN EN ISO 11348-2)	30 min	Akut	Nein
Terrestrische Ökotoxizitätstests			
Feststoffkontakttest mit <i>Arthrobacter globiformis</i>	6 h	Akut	Nein

Test (Richtlinie)	Expositions-dauer	Einstufung des Tests als akut bzw. chronisch	Möglichkeit der Ermittlung chronischer Effektkonzentrationen
(ISO 18187, DIN EN ISO 18187)			
Wachstumshemmtest mit <i>Brassica rapa</i> (ISO 11269-2, DIN EN ISO 11269-2)	14 d	Akut bis chronisch (je nach regulatorischem Rahmen)	Chronische Effektkonzentrationen (z. B. EC ₁₀) können ermittelt werden. Dazu müssten ggf. zusätzliche Verdünnungsstufen getestet werden, weitere Anpassungen des Testdesigns wären nicht notwendig
Vermeidungstest mit Regenwürmern (ISO 17512-1, DIN EN ISO 17512-1)	48 h	Akut, aber ähnlich sensitiv wie der Reproduktionstest mit Regenwürmern	Das Testdesign müsste angepasst werden, um chronische Effektkonzentration (z. B. EC ₁₀) zu ermitteln (v. a. Erhöhung der Anzahl Regenwürmer pro Testgefäß)

In den meisten anderen europäischen Staaten werden nur akute Biotests zur HP 14-Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen eingesetzt (siehe Abschnitt 3.1.1.2). Vor dem Hintergrund der möglichen Entlastung von mit der Berechnungsmethode als HP 14 klassifizierten Abfällen durch Biotests ist diese Vorgehensweise jedoch problematisch wie im Folgenden ausgeführt.

Laut Entscheidung 2000/532/EG der Kommission (EG 2015) und AVV (2020) sind die Ergebnisse der Prüfung ausschlaggebend für die Einstufung eines Abfalls als gefährlich oder nicht gefährlich, wenn die betreffende gefahrenrelevante Eigenschaft des Abfalls sowohl anhand der Konzentrationen gefährlicher Stoffe als auch mittels einer Prüfung bewertet wurde (Abschnitt 1.1). Aus dieser Vorgabe ergibt sich die Möglichkeit, einen Abfall, der mit der Berechnungsmethode als gefährlich nach HP 14 eingestuft wurde, über Biotests zu entlasten. Diese Möglichkeit ist jedoch nur in einem von drei Fällen sinnvoll:

- ▶ Wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode ausschließlich wegen akut gewässer-gefährdender Inhaltsstoffe (H400) als HP 14 eingestuft wird, aber in keinem der sechs Biotests der Testbatterie ökotoxisch ist, ist eine Entlastung dieses Abfalls auf Basis der Biotestergebnisse (d. h. akuter Effektkonzentrationen über der Grenzkonzentration von 10% Abfalleuat bzw. Abfall) sinnvoll. In diesem Fall könnte eine geringe Bioverfügbarkeit der Grund für die fehlende Ökotoxizität in den Biotests sein. Die Bioverfügbarkeit soll bei der HP 14-Einstufung berücksichtigt werden (EU 2018, Anhang 3.14, siehe auch Abschnitt 1.1). Allerdings gibt es hier eine Einschränkung: Wie oben diskutiert, fehlt in der Testbatterie laut UBA (2013) ein Fischtest. Wenn die Einstufung als akut gewässergefährdend ausschließlich auf der Fischtoxizität basiert, sollte keine Entlastung anhand einer Biotestbatterie, die keinen Fischtest enthält, möglich sein.
- ▶ Wenn ein Abfall mit der Berechnungsmethode aufgrund chronisch gewässergefährdender Inhaltsstoffe (H410, H411 oder H412) als HP 14 eingestuft wird, ist eine Entlastung anhand der mit der aktuellen Biotestbatterie ermittelten akuten Effektkonzentrationen nicht sinnvoll. Abfälle, die mit der Berechnungsmethode aufgrund von chronischen Biotests mit einzelnen Abfallinhaltsstoffen als chronisch gewässergefährdend eingestuft wurden, sollten nur mit Ergebnissen chronischer Ökotoxizitätstests mit dem Abfalleuat entlastet werden können.

- Auch für Abfälle, die mit der Berechnungsmethode wegen Ozon schädigender Inhaltsstoffe (H420) als HP 14 eingestuft wurden, ist eine Entlastung mittels Biotests nicht sinnvoll.

In Hinblick auf die zwei zuletzt genannten Punkte besteht Handlungsbedarf auf EU-Ebene. Konkret bedarf es einer Regelung, in welchen Fällen eine Einstufung nach der Berechnungsmethode durch die Ergebnisse welcher Biotests revidiert (entlastet) werden kann.

5.6.3 Anwendungsbereich der Testrichtlinien für die Biotests

Die Abfalltestung wird zurzeit nur in der Richtlinie für den Feststoffkontakttest mit *A. globiformis* (DIN EN ISO 18187) explizit erwähnt. In der Richtlinie für den Wachstumshemmtest mit *B. rapa* wird die Testung von Abfallmaterial (z. B. Baggergut, kommunaler Schlamm aus Kläranlagen, zusammengesetztes Material oder Dung) erwähnt (siehe Tabelle 37). In den Richtlinien für den Vermeidungstest mit Regenwürmern und die drei aquatischen Tests ist die Testung von Abfällen bzw. Abfalleluaten nicht im Anwendungsbereich genannt, obwohl alle sechs Tests der Biotestbatterie bereits seit Jahren für die Abfalltestung eingesetzt wurden. Es wird empfohlen, die Testung von Abfallproben bzw. Abfalleluaten explizit in den Anwendungsbereich der Testrichtlinien für den Wachstumshemmtest mit *B. rapa*, den Vermeidungstest mit Regenwürmern und die drei aquatischen Tests aufzunehmen. In den Richtlinien sollten dann auch Hinweise zum methodischen Umgang mit Abfallproben bzw. -eluaten ergänzt werden.

Tabelle 37: Anwendungsbereich der Testrichtlinien für die aquatischen und terrestrischen Biotests hinsichtlich der Testung von Abfallproben.

Test (Richtlinie)	Anwendungsbereich
Aquatische Ökotoxizitätstests	
Akuter Daphnientest (ISO 6341, DIN EN ISO 6341)	Untersuchung von chemischen Substanzen, industriellen und kommunalen Abwässern, wässrigen Extrakten und Sickerwasser, Eluaten und Porenwasser von Süßwassersedimenten, Süßwasser (Oberflächen- und Grundwasser)
Algenwachstumshemmtest (ISO 8692, DIN EN ISO 8692)	Untersuchungen von Einzelstoffen, Mischungen von Stoffen und Abwasser
Algenwachstumshemmtest in Mikrotiterplatten (DIN 38412-59)	Untersuchung von Einzelstoffen, industriellen und kommunalen Abwässern, wässrigen Extrakten und Sickerwasser, Eluaten von Böden und Süßwassersedimenten, Porenwasser von Süßwassersedimenten, Süßwasser (Oberflächen- und Grundwasser)
Leuchtbakterientest (ISO 11348-2, DIN EN ISO 11348-2)	Untersuchung von Einzelstoffen, Abwasser, wässrigen Extrakten und Sickerwasser, Eluaten von Sedimenten, Porenwasser, Süßwasser (Oberflächen- und Grundwasser), Meer- und Brackwasser
Terrestrische Ökotoxizitätstests	
Feststoffkontakttest mit <i>Arthrobacter globiformis</i> (ISO 18187, DIN EN ISO 18187)	Beurteilung von wasserlöslichen und feststoffgebundenen nicht flüchtigen Verunreinigungen in natürlichen Proben, wie Böden und <u>Abfällen</u> , Prüfung von chemischen Substanzen
Wachstumshemmtest mit <i>Brassica rapa</i> (ISO 11269-2, DIN EN ISO 11269-2)	Beurteilung unbekannter Böden, vor Ort gesammelter Böden von industriellen, landwirtschaftlichen und sonstigen Standorten, <u>Abfallmaterial</u> (z. B. Baggergut, kommunaler Schlamm aus Kläranlagen, zusammengesetztes Material oder Dung)

Test (Richtlinie)	Anwendungsbereich
Vermeidungstest mit Regenwürmern (ISO 17512-1, DIN EN ISO 17512-1)	Bewertung der Lebensraumfunktion von Böden und des Einflusses von Chemikalien und anderen Schadstoffen auf das Verhalten von Regenwürmern

5.6.4 Aquatische Biotests: technische Details

Die technische Durchführung der drei aquatischen Biotests mit den ausgewählten Abfallproben erwies sich insgesamt als unproblematisch. Einzelne Testdurchläufe mit verschiedenen Eluaten aus Unterproben einer Abfallprobe ergaben reproduzierbare Ergebnisse.

Einstellung des pH-Werts

In der UBA-Handlungsempfehlung ist klar vorgegeben, dass Abfalleluate ohne Einstellung des pH-Werts untersucht werden sollen. Wenn toxische Effekte in den Verdünnungen auftreten, deren pH außerhalb des vom betreffenden Testorganismus tolerierten Bereichs liegt, kann ein zweiter Test mit eingestelltem pH zur Identifikation der Ursache der Toxizität durchgeführt werden. Das Ergebnis dieses zweiten Tests ist jedoch nicht für die HP 14-Einstufung relevant (Abschnitte 5.2.7 und 6.1.2). Diese Vorgehensweise entspricht den Vorgaben der DIN EN 14735 (2022). Während im akuten Daphnientest (DIN EN ISO 6341) eine analoge Vorgehensweise empfohlen wird, gibt es im Algentest laut ISO 8692 bzw. DIN 38412-59 die Möglichkeit einer pH-Einstellung. In der Richtlinie für den Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2) wird es sogar empfohlen, den pH-Wert einzustellen. Hier sollte in der UBA-Handlungsempfehlung spezifiziert werden, dass der pH-Wert im ersten, für die HP 14-Einstufung relevanten Test nicht eingestellt werden soll, auch wenn laut Testrichtlinie eine pH-Einstellung möglich bzw. empfohlen ist. Außerdem wäre es wünschenswert, dass die Richtlinien für den Algen- (ISO 8692, DIN 38412-59) und Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2) für den Anwendungsbereich Abfalltestung an die Vorgaben der DIN EN 14735 angepasst werden.

Der für Daphnien geeignete pH-Bereich liegt laut DIN EN ISO 6341 bei 6,0-9,0; für Algen und Leuchtbakterien wird pH 6,0-8,5 als geeignet angegeben (DIN38412-59, DIN EN ISO 11348-2). Wenn die pH-Werte der zu testenden Verdünnungsstufen eines Abfalleluats deutlich außerhalb der o. g. Bereiche liegen, ist die Durchführung eines Tests nicht mehr sinnvoll. Hier wäre zu überlegen, ob für die verschiedenen Testorganismen pH-Bereiche angegeben werden sollten, außerhalb derer die Durchführung der betreffenden Biotests nicht mehr sinnvoll ist, weil allein aufgrund des pH-Werts mit einer starken Toxizität zu rechnen ist.

Wenn ein zweiter Testdurchlauf mit eingestelltem pH-Wert durchgeführt wird, sollte die Vorgehensweise bei der pH-Einstellung dokumentiert werden (siehe Abschnitt 5.7). Der pH in den einzelnen Verdünnungsstufen hängt vom verwendeten Testmedium und dessen Pufferkapazität ab (UBA 2013, Hennebert 2019). Aufgrund der Pufferkapazität des Testmediums kann der pH-Wert in einzelnen Verdünnungsstufen innerhalb des Toleranzbereichs des Testorganismus liegen, obwohl der pH des Eluats außerhalb dieses Bereichs liegt. Deshalb ist eine pH-Einstellung ggf. nicht in allen Verdünnungsstufen notwendig⁶⁰. Im vorliegenden Projekt wurden die pH-Werte jeweils nur in den Verdünnungsstufen eingestellt, deren pH außerhalb des Toleranzbereichs für die betreffende Art lag (Abschnitt 4.3.1.1) wie von Hennebert (2019) vorgeschlagen. Dadurch kann der Einfluss der pH-Einstellung und damit verbundener Veränderungen der Dissoziation von Stoffen, Fällungsreaktionen und Komplexbildungen

⁶⁰ Dieser Punkt ist v. a. für den Algenwachstumshemmtest in der Mikrotiterplatte (DIN 38412-59) relevant, da das verwendete Medium einen starken Phosphatpuffer enthält.

minimiert werden. Diese Vorgehensweise ist allerdings mit einem Mehraufwand verbunden. Für den Leuchtbakterientest musste das Volumen der angesetzten Verdünnungen erhöht werden, um eine pH-Messung und -Einstellung zu ermöglichen⁶¹. Wir würden vorschlagen, in der UBA-Handlungsempfehlung auf die Möglichkeit der pH-Einstellung in den einzelnen Verdünnungsstufen hinzuweisen. Da Biotests mit eingestelltem pH nicht einstufigsrelevant sind, hat dieser Punkt für den Abschnitt 6.2 der Handlungsempfehlung (Identifikation gefährlicher Abfälle in Spiegeleinträgen der Abfallverzeichnisverordnung hinsichtlich des Kriteriums HP 14') jedoch eine niedrige Priorität⁶².

Bei der Einstellung des pH-Werts kann es zu Ausfällungen kommen. Empfehlungen zum Umgang mit solchen Ausfällungen finden sich weder in der UBA-Handlungsempfehlung noch in DIN EN 14735 oder den Richtlinien für den Algenwachstumshemmtest (ISO 8692, DIN 38412-59) und den Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2). Die Richtlinie für den akuten Daphnientest (DIN EN ISO 6341) gibt – mit Verweis auf ISO 5667-16 (1998) – vor, dass Ausfällungen entfernt werden sollen. In der aktuellen ISO 5667-16 (2017) ist diese Empfehlung allerdings nicht mehr enthalten. Stattdessen wird darauf hingewiesen, dass eine Einstellung des pH-Werts zu unterlassen ist, wenn es deswegen zu einer Änderung des Testergebnisses oder physikalisch-chemischen Veränderungen wie z. B. Ausfällungen kommt. Eine Empfehlung zum Umgang mit Ausfällungen, die bei der pH-Einstellung auftreten, könnte in die UBA-Handlungsempfehlung aufgenommen werden. Auch dieser Punkt hat jedoch keine hohe Priorität, da Tests mit pH-Einstellung für die HP 14-Einstufung nicht relevant sind.

Weitere technische Details

Laut Richtlinie für den akuten Daphnientest (DIN EN ISO 6341) muss für jeden Abfalltest ein Referenztest vorliegen, der mit einem zeitlichen Abstand von maximal einem Monat vor oder nach dem betreffenden Abfalltest durchgeführt wurde. Die geforderte Häufigkeit von Referenztests erscheint sehr hoch und könnte im Zuge einer Überarbeitung der Testrichtlinie reduziert werden. Zwei Referenztests im Jahr wie z. B. laut der OECD-Testrichtlinie 202 für den akuten Daphnientest (OECD 2004) gefordert erscheinen ausreichend.

Nach DIN EN ISO 6341 sollte außerdem angestrebt werden, dass mindestens drei Testkonzentrationen (hier: Verdünnungen des Abfalleluats) zu einem Anteil immobilisierter Daphnien zwischen 10 und 90% führen, wenn eine EC_{50} berechnet werden soll. In den durchgeführten Tests mit Abfalleluaten lag der Verdünnungsfaktor bei 2 (Eluatanteil: 50, 25, 12,5% usw.) und damit unter dem in DIN EN ISO 6341 für steile Konzentrations-Wirkungs-Kurven empfohlenen Verdünnungsfaktor von 2,2. Trotzdem gab es in den meisten Tests weniger als drei Verdünnungsstufen mit einem Anteil von 10-90% immobilisierten Daphnien. Eine Berechnung der EC_{50} war trotzdem möglich (siehe Abschnitt 4.4). Auch hier wäre eine Überarbeitung der Testrichtlinie wünschenswert. Gegebenenfalls könnte zudem ein Hinweis auf diesen Punkt in die UBA-Handlungsempfehlung aufgenommen werden.

Der Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2) mit dem marinen Bakterium *A. fischeri* wird bei einem Natriumchloridgehalt von 20 g/L durchgeführt. Wenn Proben mit einer „hohen Salzkonzentration“ untersucht werden, soll laut DIN EN ISO 11348-2 der Salzgehalt gemessen und die zuzugebende Menge an Natriumchlorid entsprechend angepasst werden. Hier wäre in

⁶¹ Hier handelt es sich zudem nicht um die endgültigen Testlösungen, da diese erst nach der ersten Lumineszenzmessung durch die Zugabe von 0,5 ml Testlösung zu 0,5 ml Leuchtbakteriensuspension hergestellt werden.

⁶² Er könnte für die Abschnitte 6.2 (Detaillierte ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen') und 6.3 (Risikobewertung von Verwertungsmaßnahmen von Abfällen'), die nicht Gegenstand dieses Projekts sind, relevanter sein.

der Testrichtlinie eine spezifische Angabe wünschenswert, ab welchem Salzgehalt bzw. welcher Leitfähigkeit der Probe diese Anpassung erfolgen soll.

5.6.5 Terrestrische Biotests: technische Details

Die technische Durchführung der terrestrischen Biotests mit den ausgewählten Abfallproben erwies sich insgesamt als unproblematisch. Die relativ hohe Variabilität des Feststoffkontakttests mit *A. globiformis* (ISO 18187) wurde bereits im Abschnitt 5.6.2 diskutiert.

Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass in ISO 18187 für die Probenahme von Abfallproben unter anderem auf die Richtlinie EN 14735 (CEN 2021b) verwiesen wird, gleichzeitig jedoch eine Lagerung von maximal zwei Wochen bei 4 ± 2 °C vorgesehen ist. Dies steht in direktem Widerspruch zur EN 14735, gemäß welcher eine Lagerungsdauer von unter zwei Monaten und/oder eine Lagertemperatur von 4 ± 2 °C als angemessen erachtet wird, um die Eigenschaften der Abfallproben beizubehalten. Daher wurde im vorliegenden Vorhaben diese Vorgabe auch für den Feststoffkontakttest angewendet. Die Notwendigkeit einer kürzeren Lagerungsdauer nur für den Feststoffkontakttest erscheint nicht plausibel und sollte in zukünftigen Fassungen der Richtlinie korrigiert oder inhaltlich begründet werden. Des Weiteren ist gemäß ISO 18187 vorgesehen, die Positivkontrolle außer mit LUFÄ Standardboden 2.2 auch mit dem jeweiligen Kontrollsubstrat (im Falle von Abfallproben Quarzsand) zu testen. Es werden jedoch keine Akzeptanzkriterien für diese zusätzliche Positivkontrolle angegeben und sollten ebenfalls definiert und ergänzt werden.

Aus den Erfahrungen, die bei den experimentellen Arbeiten gewonnen wurden, ergibt sich für den Vermeidungstest mit Regenwürmern keine Notwendigkeit für methodische Anpassungen⁶³.

Der Wachstumshemmtest mit *B. rapa* soll laut ISO 11269-2 mit 12 Verdünnungsstufen durchgeführt werden. Wie bereits im Abschnitt 3.3.2 erwähnt, ist eine so hohe Anzahl von Verdünnungsstufen nicht notwendig, um zu ermitteln, ob die $EC_{50} \leq$ oder $>$ der Grenzkonzentration von 10% Abfallanteil ist. Eine Testdurchführung mit 5 Verdünnungsstufen des Abfalls (25, 12,5, 6,3, 3,1 und 1,6%) wie im vorliegenden Vorhaben ist vollkommen ausreichend. Daher wird vorgeschlagen, die Testrichtlinie im Zuge einer Überprüfung und Überarbeitung anzupassen, d. h. die Anzahl geforderter Verdünnungsstufen für den Anwendungsbereich Abfalltestung, dessen Einführung vorgeschlagen wird (Abschnitt 5.6.3), zu reduzieren. Eine höhere Anzahl von Verdünnungsstufen ist ggf. nur nötig, wenn eine chronische Effektkonzentration (z. B. eine EC_{10}) ermittelt werden soll (Abschnitte 4.4.5 und 5.6.2). Zusätzlich sollte im Abschnitt 5.1.3 der UBA-Handlungsempfehlung darauf hingewiesen werden, dass es ausreicht, im Wachstumshemmtest mit *B. rapa* fünf Abfallverdünnungen einzusetzen.

5.6.6 HP 14-Einstufung anhand der Biotestergebnisse

Grenzkonzentration

In der UBA-Handlungsempfehlung wird basierend auf Pandard & Römbke (2013) vorgeschlagen, einen Abfall als ökotoxisch einzustufen, wenn die $EC_{50} \leq 10\%$ Abfall- bzw. Eluatanteil ist. Dieselbe Grenzkonzentration wird auch in Frankreich, Finnland und in der Slowakei angewendet. Die in Tschechien ($\geq 50\%$ Hemmung im Limit-Test mit 10% Eluatanteil) und Belgien (Flandern: LID > 8) verwendeten Grenzkonzentrationen liegen in einer ähnlichen Größenordnung. Stark abweichende (deutlich weniger strenge) Grenzkonzentrationen gelten hingegen in Österreich und in Spanien (siehe 3.1.1.3).

⁶³ Anpassungen sind nur nötig, wenn EC_{10} -Werte ermittelt werden soll (siehe Abschnitt 5.6.2).

In Österreich wird laut BMNT (2018) das mit einem L/S-Verhältnis von 10 hergestellte Eluat um den Faktor 1.000 verdünnt. Die resultierende Eluatverdünnung (0,1% Eluat) wird als Konzentration von 100 mg der festen Abfallprobe pro L Eluat bezeichnet (BMNT 2018) und in Limit-Tests eingesetzt. Ein Abfall wird als HP 14 eingestuft, wenn im Limit-Test Effekte $\geq 20\%$ (Leuchtbakterientest; Algentest nach ISO 8692), $\geq 25\%$ (Algentest nach Verordnung (EU) 440/2008, Anhang C.3, EG 2019) oder $\geq 10\%$ (Daphnientest) auftreten oder wenn in dem EC_x-Test, der durchzuführen ist, wenn im Limit-Test Effekte festgestellt werden, die EC₅₀ $\leq 0,1\%$ Eluat (100 mg der festen Abfallprobe pro L) ist.

Wie bereits im Abschnitt 3.1.1.2 erwähnt, begründet das BMNT (2018) diese Vorgehensweise mit den Vorgaben der CLP-Verordnung für chemische Substanzen (EG 2021). Grenzwerte, die für chemische Substanzen definiert wurden, werden auf den Abfall als Ganzes angewandt, obwohl (a) Abfälle nicht als Stoffe, Gemische oder Erzeugnisse im Sinne von REACH (EG 2022) und der CLP-Verordnung (EG 2021) zu betrachten sind und (b) in Abfällen ggf. enthaltene ökotoxische Stoffe in eine Matrix (z.B. Boden) eingebettet sind (siehe Abschnitt 3.1.1.2).

Wenn man die österreichische Grenzkonzentration für EC_x-Tests (0,1% Eluat) auf die Ergebnisse der im vorliegenden Vorhaben durchgeführten Biotests anwenden würde, wäre keine der getesteten Abfallproben als HP 14 (ökotoxisch) einzustufen (siehe Tabelle 38).

Tabelle 38: Vergleich der Einstufung nach UBA-Handlungsempfehlung (2013) mit der Einstufung nach österreichischem Leitfaden (BMNT 2018).

Abfallschlüssel und -typ	Abfallprobe: Spezifikation	Einstufung laut UBA (2013)	Einstufung laut BMNT (2018)	Niedrigste EC ₅₀ (empfindlichster Testorganismus)
10 09 09* Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl	Charge 1	HP 14	nicht HP 14	0,201% Eluat (Alge)
	Charge 2	HP 14	nicht HP 14	0,913% Eluat (Alge)
10 09 10 Filterstaub vom Gießen von Eisen und Stahl	Anlage A	HP 14	nicht HP 14	<3,1% Eluat (Alge, Daphnie)
	Anlage B	HP 14	nicht HP 14	7,56% Abfall (<i>Arthrobacter</i>)
17 05 03* Boden und Steine	Geogener Aushub	HP 14	nicht HP 14	3,15% Eluat (Daphnie)
	Straßenbankett (Bundesstraße)	nicht HP 14	nicht HP 14	In allen Tests keine Toxizität
17 05 04 Boden und Steine	Straßenbankett (Nebenstraße)	nicht HP 14	nicht HP 14	In allen Tests keine Toxizität
19 10 04 Shredder-leichtfraktion (Absiebung)	Anlage A, Charge 1	HP 14	nicht HP 14	0,678% Eluat (Daphnie)
	Anlage A, Charge 2	HP 14	nicht HP 14	0,287% Eluat (Alge)
	Anlage B	HP 14	nicht HP 14	7,11% Eluat (Leuchtbakterien)

Die Grenzkonzentration betreffend wäre eine Harmonisierung zwischen den verschiedenen EU-Mitgliedstaaten wünschenswert, auch in Hinblick auf den grenzüberschreitenden Transport von

Abfällen. In Hinblick auf die Zielstellung der Richtlinie 2008/98/EG (EG 2018, Artikel 1), die Umwelt zu schützen, indem schädliche Auswirkungen der Erzeugung und Bewirtschaftung von Abfällen vermieden oder verringert werden, sollte die Grenzkonzentration so gewählt werden, dass Abfälle, die schädliche Auswirkungen auf Wasser- oder Bodenorganismen haben, als HP 14 eingestuft werden.

Vorgehensweise bei der HP 14-Einstufung

Der UBA-Handlungsempfehlung entsprechend wird ein Abfall als ökotoxisch (HP 14) eingestuft, wenn mindestens ein Biotestergebnis positiv ist. Analog zur Vorgehensweise in der Umweltisikobewertung von chemischen Substanzen (z. B. ECHA 2008) ist also das empfindlichste Testergebnis ausschlaggebend. Diese Vorgehensweise ist schlüssig und wird auch in einigen anderen europäischen Staaten eingesetzt (Abschnitt 3.1.1.3). Auch hier wäre eine Harmonisierung auf EU-Ebene wünschenswert.

5.7 Mindestanforderungen an Berichte

Auf Anregung des projektbezogenen Begleitkreises wurde zusammengestellt, welche Kerninformationen Berichte zu Probenahme, Probenaufbereitung, -lagerung, -teilung, Elution und Biotestung enthalten müssen, damit die zuständige Behörde die Ergebnisse bewerten kann. Entsprechende Vorgaben sind in relativ detaillierter Form in den Normen bzw. Testrichtlinien für die betreffenden Verfahren enthalten. Diese Vorgaben wurden in tabellarischer Form zusammengestellt (siehe Anhänge A.1 bis A.4).

Die Vorgaben zur Probennahme (Anhang A.1) und Probenvorbehandlung (Anhang 0) basieren auf EN 14899 (CEN 2005), CEN/TR 15310-1 (2006a), PN 98 (LAGA 2019) und DIN 19747 (2009a).

Die Vorgaben zur Elution (Anhang 0) basieren auf den DIN EN-Normen 12457-2 (2003a) und 14735 (2022), jene für Biotests (Anhang A.4) auf den Normen für die entsprechenden Biotests: ISO-Richtlinien 11269-2 (2013b), 17512-1 (2020) und 18187 (2016a) sowie DIN EN ISO 6341 (2013a), DIN EN ISO 11348-2 (2023) und DIN 38412-59 (2022).

Tabellen mit den Mindestanforderungen an Berichte zu Probenahme, Probenvorbehandlung, Elution und Biotests könnten ein Anhang zur UBA-Handlungsempfehlung werden.

6 Möglichkeiten und Grenzen ökotoxikologischer Tests im Vergleich zur Berechnungsmethode

Eine HP 14-Einstufung kann anhand der Berechnungsmethode oder anhand von Biotests erfolgen (siehe Abschnitt 1.1). In die Berechnungsmethode zur HP 14-Einstufung gehen chemisch-analytisch bestimmte Konzentrationen von laut CLP-Verordnung als Ozonschicht schädigend (H420), akut wassergefährdend (H400) und/oder chronisch wassergefährdend (H410-H413) eingestuften Abfallinhaltsstoffen ein (Tabelle 39). Abfälle werden als ökotoxisch eingestuft, wenn für mindestens eins der vier in Tabelle 39 aufgeführten Kriterien der Schwellenwert erreicht oder überschritten wird.

Für die Berechnungsmethode sind harmonisierte Einstufungen (*'harmonised classification'*) der Abfallinhaltsstoffe relevant. Wenn für einen Abfallinhaltsstoff keine harmonisierte Einstufung vorliegt, sollte der Abfallbesitzer vorliegende Selbsteinstufungen (*'self-classifications'* oder *'notified classifications'*) heranziehen. Dabei sind v. a. Selbsteinstufungen im C&L-Verzeichnis und Sicherheitsdatenblätter, die dem Unternehmen vorliegen, bei dem der Abfall entstanden ist, wichtig (EU 2018).

Bei der Berechnung werden als akut oder chronisch gewässergefährdend eingestufte Abfallinhaltsstoffe nur dann berücksichtigt, wenn ihre Konzentration die in Tabelle 39 genannten Berücksichtigungsgrenzwerte erreicht oder überschreitet (EU 2018). Sowohl die Schwellenwerte für die HP 14-Einstufung als auch die Berücksichtigungsgrenzwerte basieren auf der Konzentration der betreffenden Substanz im Abfallfeuchtgewicht (EU 2018, S. 18).

Tabelle 39: Kriterien für die HP 14-Einstufung von Abfällen mit der Berechnungsmethode nach Verordnung (EU) 2017/997.

Kriterium für die HP 14-Einstufung		Schwellenwert	Generischer Berücksichtigungsgrenzwert ^b
1	H420 (die Ozonschicht schädigend)	$c(\text{H420}) \geq 0,1\%$	–
2	H400 (akut gewässergefährdend)	$\Sigma c(\text{H400}) \geq 25\%$	0,1%
3	H410, H411, H412 (chronisch gewässergefährdend ^a)	$100 \times \Sigma c(\text{H410}) + 10 \times \Sigma c(\text{H411}) + \Sigma c(\text{H412}) \geq 25\%$	H410: 0,1%
4	H410, H411, H412, H413 (chronisch gewässergefährdend ^a)	$\Sigma c(\text{H410}) + \Sigma c(\text{H411}) + \Sigma c(\text{H412}) + \Sigma c(\text{H413}) \geq 25\%$	H410: 0,1% H411, H412, H413: 1%

Σ = Summe, c = Konzentration der Abfallinhaltsstoffe (bezogen auf Abfallfeuchtgewicht). ^a H410: sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung (Chronisch 1), H411: giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung (Chronisch 2), H412: schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung (Chronisch 3), H413: kann für Wasserorganismen schädlich sein, mit langfristiger Wirkung (Chronisch 4); ^b generischer Berücksichtigungsgrenzwert: Wert, bei dessen Erreichen die Konzentration des betreffenden Abfallinhaltsstoffs bei der Ermittlung, ob der Abfall als HP 14 eingestuft werden muss, zu berücksichtigen ist (EU 2018).

Die für die Berechnungsmethode anzusetzenden Berücksichtigungsgrenzwerte entsprechen den generischen Berücksichtigungsgrenzwerten der CLP-Verordnung ((EG) 1272/2008) und sind relativ hoch:

- Der Berücksichtigungsgrenzwert von 0,1% für Abfallinhaltsstoffe, die als H400 und/oder H410 eingestuft sind, entspricht 1 g/kg Abfallfeuchtgewicht.

- Der Berücksichtigungsgrenzwert von 1% für Abfallinhaltsstoffe, die als H411, H412 oder H413 eingestuft sind, entspricht 10 g/kg Abfallfeuchtgewicht.

Bei der Einstufung von Chemikaliengemischen nach CLP-Verordnung können für sehr toxische Substanzen niedrigere Berücksichtigungsgrenzwerte verwendet werden, wenn es Anlass zur Annahme gibt, dass die betreffende Substanz in niedrigeren Konzentrationen für Einstufung des Gemisches relevant ist (siehe (EG) 1272/2008, EG 2021). Diese Option gibt es für die Berechnungsmethode zur HP 14-Einstufung von Abfällen nach (EG) 2017/997 (EU 2017) nicht.

In die HP 14-Einstufung mittels Berechnungsmethode können nur die Stoffe eingehen, die eine entsprechende gefahrstoffrechtliche Einstufung (H410, H411-413 oder H420) haben (UBA 2013, Römbke et al. 2018)⁶⁴ oder für die Selbsteinstufungen vorliegen (s.o.).

Bei den chemisch-analytischen Untersuchungen, die die Grundlage für die Berechnungsmethode sind, werden i. Allg. nur die Stoffe erfasst, die im Vorfeld als potenziell relevant identifiziert wurden. Daher müssen ausreichende Informationen zu der betreffenden Abfallprobe vorliegen, um alle für die Einstufung der Abfallprobe relevanten Stoffe bzw. Parameter zu analysieren. Entsprechend umfangreiche Informationen zur Abfallzusammensetzung fehlen oft. Ein weiterer Kritikpunkt an der Berechnungsmethode ist, dass Schadstoffe, die in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze der verwendeten analytischen Methode vorliegen, keine Auswirkung auf die HP 14-Einstufung haben. Außerdem basiert die gefahrstoffrechtliche Einstufung bisher ausschließlich auf aquatischen Toxizitätsdaten. Wie im Abschnitt 5.6.1 diskutiert, ist der Schutz von Bodenorganismen allein aufgrund aquatischer Toxizitätsdaten nicht ausreichend gegeben (Scholz-Starke et al. 2022).

Wenn für Metalle und Halbmetalle chemisch-analytische Daten zu Elementen (z. B. Arsen, Barium, Cadmium, Blei) vorliegen, deren Einstufung davon abhängt, in welcher Verbindung sie vorliegen, müssen anhand von *expert judgement* die „vernünftigerweise anzunehmenden worst-case“-Spezies ermittelt und für die HP 14-Einstufung berücksichtigt werden (EU 2018, Anhang 4, Abschnitt 4.2.1). Das kann zu einer Über- oder Unterschätzung der Toxizität führen (Römbke et al. 2018). Hier wäre ein Vergleich der Einstufung anhand der Berechnungsmethode und anhand von Biotests aufschlussreich.

Auf Basis von ökotoxikologischen Testverfahren kann eine Aussage über die kombinierten Effekte aller ökotoxischen Stoffe (und ggf. Spezies) im Abfall getroffen werden. Das schließt Stoffe ein, deren Konzentrationen unterhalb der chemisch-analytischen Nachweisgrenze liegen, oder die mit dem verwendeten analytischen Verfahren nicht erfasst werden, wie z. B. Abbauprodukte (UBA 2013, Römbke et al. 2018). Wie im Abschnitt 1.1 erwähnt, soll die Bioverfügbarkeit der Abfallinhaltsstoffe bei der HP 14-Einstufung berücksichtigt werden (EU 2017)^{65, 66}. Anhand von Ökotoxizitätstests erhält man eine Aussage über die Auswirkungen aller bioverfügbaren Stoffe im Abfall, d. h. Matrixeffekte werden berücksichtigt. In die Ergebnisse von Biotests gehen außerdem mögliche Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Abfallinhaltsstoffen ein (UBA 2013, Planchon et al. 2015, Römbke et al. 2018, Hennebert 2019).

⁶⁴ Den Auftragnehmern liegen zurzeit keine Informationen dazu vor, welcher Anteil von Abfällen (Spiegeleinträgen) ausschließlich anhand des Kriteriums HP 14 dem gefahrenrelevanten Spiegeleintrag zugeordnet wird. Laut Informationen der Auftraggeber ist davon auszugehen, dass solche Fälle selten sind.

⁶⁵ In der Verordnung (EU) 2017/997 wird auf Artikel 12, Buchstabe b der CLP-Verordnung (EG 1272/2008) verwiesen. Im Artikel 12 geht es um Sonderfälle, die eine weitere Bewertung erfordern. Das ist u.a. der Fall, wenn schlüssige Daten zeigen, dass der zu bewertende Stoff bzw. das zu bewertende Gemisch nicht bioverfügbar ist.

⁶⁶ Es gibt keine Hinweise dazu, wie die Bioverfügbarkeit bei der Bewertung von Abfällen berücksichtigt werden soll.

Tabelle 40: Möglichkeiten und Grenzen der Berechnungsmethode nach Verordnung (EG) 2017/997 und der ökotoxikologischen Testbatterie nach UBA (2013)

Berechnungsmethode	Ökotoxikologische Testbatterie ^a
Keine Berücksichtigung von Stoffen mit Konzentrationen unterhalb der Berücksichtigungsgrenzwerte ^b	Aussage über kombinierte Effekte aller ökotoxischen Stoffe, einschließlich von Stoffen, (a) die in Konzentrationen unterhalb der Berücksichtigungsgrenzwerte vorliegen, (b) die in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze(n) der chemisch-analytischen Methoden vorliegen, (c) die gefahrstoffrechtliche nicht eingestuft werden können, da keine qualitativ und/oder quantitativ ausreichenden Ökotoxizitätsdaten vorliegen
Keine Berücksichtigung von Stoffen mit Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenzen der chemisch-analytische Methode	
Keine Berücksichtigung von Stoffen, die gefahrstoffrechtlich nicht eingestuft werden können, weil keine qualitativ und/oder quantitativ ausreichenden Ökotoxizitätsdaten vorliegen	
Mit chemischer Analytik werden nur die Stoffe erfasst, nach denen gesucht wird (d. h. ggf. nicht alle Stoffe, die einen relevanten Beitrag zur Ökotoxizität leisten)	Aussage über kombinierte Effekte aller ökotoxischen Stoffe
Bei Metallen und Halbmetallen kann die notwendige Berücksichtigung der Speziation zur Unter- oder Überschätzung der Toxizität führen	Aussage über Effekte der Metall-/Halbmetallspezies, die in der Abfallprobe bzw. im Abfalleluat vorliegen
Berücksichtigung des Kriteriums H420 (Ozonschicht schädigend)	H420 ist nicht abgedeckt
Berücksichtigung des Kriteriums H400 (akut gewässergefährdend)	Toxizität gegenüber Daphnien und Algen ist abgedeckt, Toxizität gegenüber Fischen nicht ^c
Berücksichtigung des Kriterien H410 - H413 (chronisch gewässergefährdend)	H410 - H413 sind aktuell nicht abgedeckt. Für Algen: Erfassung der EC ₁₀ möglich; Für Daphnien und ggf. Fische: chronische Tests wären nötig ^c
Terrestrische Ökotoxizität nicht abgedeckt	Terrestrische Ökotoxizität ist abgedeckt
Bioverfügbarkeit der Abfallinhaltsstoffe wird nicht berücksichtigt	Bioverfügbarkeit wird berücksichtigt

^a Testbatterie nach UBA (2013; Tabelle 3); siehe Abschnitt 3.3.2; ^b siehe Tabelle 39; ^c siehe Abschnitt 5.6.2.

Aus der Gegenüberstellung in Tabelle 40 wird deutlich, dass die Berechnungsmethode und der Einsatz von Biotests zur HP 14-Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen komplementäre Ansätze sind.

In diesem Zusammenhang ist die Vorgehensweise bei der Einstufung von Chemikaliengemischen nach CLP-Verordnung interessant. Hier kann die Einstufung mit den folgenden Methoden durchgeführt werden: (a) anhand von aquatischen Toxizitätstests mit dem Gemisch als Ganzem, (b) anhand von Übertragungsgrundsätzen (z. B. wenn Gemisch durch Verdünnung eines geprüften Stoffes mit völlig ungiftigem Material hergestellt wurde) und (c) mit der Summiermethode (Berechnungsmethode). Wenn mehrere Methoden für die Einstufung eines Chemikaliengemisches verwendet wurden, soll das konservativere Ergebnis verwendet werden (siehe (EG) 1272/2008).

Vor dem Hintergrund dieser Vorgehensweise und der o. g. Möglichkeiten und Grenzen von Berechnungsmethode und ökotoxikologischen Tests wäre es wünschenswert, wenn die

Vorgehensweise zur HP 14-Einstufung von Abfällen aus Spiegeleinträgen überdacht und weiterentwickelt werden würde. Handlungsbedarf besteht hier auf EU-Ebene.

7 Quellenverzeichnis

AFNOR (1982): Qualité des sols. Essai d'inhibition de germination de semences par une substance. X31-201. Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis [Norm zurückgezogen]

AFNOR (1998a): Déchets. Essai de lixiviation. XP X31-210. Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis [Norm zurückgezogen]

AFNOR (1998b): Qualité de l'eau. Détermination de la toxicité chronique des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*). NF T90-375. Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis [Norm zurückgezogen]

AFNOR (2000): Water quality. Determination of chronic toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in 7 days. Population growth inhibition test. NF T90-376. Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis. [Norm zurückgezogen]

AFNOR (2013): Caractérisation des déchets. Détermination de la teneur en éléments et substances des déchets. XP X30-489. Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis

AltholzV (2020): Verordnung über Anforderungen an die Verwertung und Beseitigung von Altholz (Altholzverordnung - AltholzV) vom 15. August 2002 (BGBl. I S. 3302), zuletzt geändert durch Artikel 120 der elften Zuständigkeitsanpassungsverordnung vom 19. Juni 2020 (BGBl. I S. 1328)

APA (2020): Guia de classificação de resíduos. Agência Portuguesa de Ambiente, Lisbon

ASTM (2014): Standard guide for conducting terrestrial plant toxicity tests. ASTM E1963-09. ASTM International, West Conshohocken, PA

Austrian Standards International (2018): Herstellung eines Eluates aus ungemahlene Abfallproben mit einer Korngröße kleiner 10 mm für die Untersuchung der aquatischen Ökotoxizität und der organischen Parameter. ÖNORM S 2117:2018-02. Austrian Standards International, Wien

AVV (2020): Abfallverzeichnis-Verordnung vom 10. Dezember 2001 (BGBl. I S. 3379), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 30. Juni 2020 (BGBl. I S. 1533) geändert worden ist

Bandarra, B.; Gomes, L.; Pereira, J.L.; Gonçalves, F.J.M.; Martins, R.C.; Quina, M.J. (2019): Characterization of ecotoxicological effects of green liquor dregs from the pulp and paper industry. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(17), S. 14707 – 14715

Bandarra, B.S.; Gomes, L.A.; Pereira, J.L.; Gonçalves, F.J.M.; Martins, R.C.; Quina, M.J. (2020): Assessment of hazardous property HP 14 using ecotoxicological tests: a case study of weathered coal fly ash. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, S. 20972 – 20983

Bandarra, B.S.; Pereira, J.L.; Martins, R.C.; Maldonado-Alameda, A.; Chimenos, J.M.; Quina, M.J. (2021): Opportunities and barriers for valorizing waste incineration bottom ash: Iberian countries as a case study. *Applied Sciences*, 11:9690

Barbale, M.; Chinaglia, S.; Gazzilli, A.; Pischedda, A.; Pognani, M.; Tosin, M.; Degli-Innocenti, F. (2021): Hazard profiling of compostable shopping bags. Towards an ecological risk assessment of littering. *Polymer Degradation and Stability*, 188:109592

Beggio, G.; Bonato, T.; Giardina, S.; Grenni, P.; Mariani, L.; Maggi, L.; Hennebert, P.; Loro, F.; Pivato, A. (2021): Challenges and perspectives of direct test methods for assessing waste hazardous properties (HP). *Detritus*, 15, S. I –IX

Belanger, S.E.; Lillicrap, A.D.; Moe, S.J.; Wolf, R.; Connors, K.; Embry, M.R. (2023): Weight of evidence tools in the prediction of acute fish toxicity. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 19, S. 1220 – 1234

- Berger, W.; Kalbe, U.; Krüger, O.; Hennecke, D. (2013): Elutionsverfahren für die Untersuchung von Böden und Abfällen. Aktueller Stand. Vortrag, Altlastenseminar, 13./14.06.2013 Limburg/Lahn
- Bernardo, M.; Lapa, N.; Gonçalves, M.; Barbosa, R.; Mendes, B.; Pinto, F.; Gulyurtlu, I. (2010): Toxicity of char residues produced in the co-pyrolysis of different wastes, *Waste Management*, 30, S. 628 – 635
- Bishop, I.; Hennebert, P. (2021): Hazardous waste classification: review of worst case to less worst case metal species with a worked example for a contaminated soil. *Detritus*, 14, S. 4 – 24
- Blaise, C.; Forghani, R.; Legault, R.; Guzzo, J.; Dubow, M.S. (1994): A bacterial toxicity assay performed with microplates, microluminometry and Microtox® reagent. *BioTechniques*, 16, S. 932 – 937
- Blaxter, J.H.S. (1988): Pattern and variety in development. In Hoar, W.S. & Randall, D.J. [Hrsg.]: *Fish physiology*. Volume XI. The physiology of developing fish. Part A. Eggs and larvae. Academic Press, San Diego, S. 1 – 58
- BMNT (2018): Leitfaden des Bundesministeriums für Nachhaltigkeit und Tourismus (BMNT). Bewertung der gefahrenrelevanten Eigenschaft HP 14 "ökotoxisch" gemäß Verordnung (EU) 2017/997 des Rates vom 8. Juni 2018. Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus, Wien
- Breitholtz, M.; Bengtsson, B.-E. (2001): Oestrogens have no hormonal effect on the development and reproduction of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. *Marine Pollution Bulletin*, 42, S. 879 – 886
- Breitholtz, M.; Ricklund, N.; Bengtsson, B.-E.; Persson, J.N. (2007): Silica gel as a particulate carrier of poorly water-soluble substances in aquatic toxicity testing. *Aquatic Toxicology*, 84, S. 251 – 264
- Breitholtz, M.; Wollenberger, L. (2003): Effects of three PBDEs on development, reproduction and population growth rate of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. *Aquatic Toxicology*, 64, S. 85 – 96
- Bundesgesetzblatt (2005): Bekanntmachung der Neufassung des Abwasserabgabengesetzes vom 18. Januar 2005. Bundesgesetzblatt Jahrgang 2005, Teil I Nr. 5, ausgegeben zu Bonn am 25.01.2005
- Carlsson, G.; Örn, S.; Larsson, D.G.J. (2009): Effluent from bulk drug production is toxic to aquatic vertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.*, 28, S. 2656 – 2662
- CEMD (2003): Newsletter 6/2003, Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů (auf Tschechisch). Czech Environmental Ministry Directive, Ministry of Environment of the Czech Republic
- CEN (2002a): Characterisation of waste. Leaching. Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges. Part 2: One stage batch test at a liquid to solid ratio of 10 L/kg for materials with particle size below 4 mm (without or with size reduction). EN 12457-2. European Committee for Standardization, Brussels
- CEN (2002b): Characterization of waste. Leaching. Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges. Part 4: One stage batch test at a liquid to solid ratio of 10 L/kg for materials with particle size below 10 mm (without or with limited size reduction). EN 12457-4. European Committee for Standardization, Brussels
- CEN (2005): Characterization of waste. Sampling of waste materials. Framework for the preparation and application of a sampling Plan. EN 14899:2005. European Committee for Standardization, Brussels
- CEN (2006a): Characterization of waste. Sampling of waste materials. Part 1: Guidance on selection and application of criteria for sampling under various conditions. CEN/TR 15310-1:2006. European Committee for Standardization, Brussels
- CEN (2006b): Characterization of waste. Sampling of waste materials. Part 2: Guidance on sampling techniques. CEN/TR 15310-2:2006. European Committee for Standardization, Brussels
- CEN (2006c): Characterization of waste. Sampling of waste materials. Part 3: Guidance on procedures for sub-sampling in the field. CEN/TR 15310-3:2006. European Committee for Standardization, Brussels

CEN (2006d): Characterization of waste. Sampling of waste materials. Part 4: Guidance on procedures for sample packaging, storage, preservation, transport and delivery. CEN/TR 15310-4:2006. European Committee for Standardization, Brussels

CEN (2006e): Characterization of waste. Sampling of waste materials. Part 5. Guidance on the process of defining the sampling plan. CEN/TR 15310-5:2006. European Committee for Standardization, Brussels

CEN (2010): Characterization of waste. Guidance on the use of ecotoxicity tests applied to waste. Technical report. CEN/TR 16110. European Committee for Standardization, Brussels

CEN (2020): The national practices to assess the hazardous property HP 14 'Ecotoxic' - assessment of the questionnaire. CEN/TC 444/WG 4 'Biological characterisation'. CEN/TC 444/WG 4. Document number N 0042. European Committee for Standardization, Brussels

CEN (2021a): The national practices to assess the hazardous property HP 14 'Ecotoxic' – assessment of the questionnaire (updated – October 2021). CEN/TC 444/WG 4 'Biological characterisation'. CEN/TC 444/WG 4 N69. European Committee for Standardization, Brussels

CEN (2021b): Characterisation of waste. preparation of waste samples for ecotoxicity tests. EN 14735. European Committee for Standardization, Brussels

Centeno, M.D.F.; Persoone, G.; Goyvaerts, M.P. (1995): Cyst-based toxicity tests IX: the potential of *Thamnocephalus platyurus* as test species in comparison with *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca). Environmental Toxicology and Water Quality, 10, S. 275 – 282

CEMD (2003): Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů. Newsletter 6/2003, Czech Environmental Ministry Directive, Ministry of Environment of the Czech Republic

Deprez, K.; Robens, J.; Nobels, I.; Vanparys, C.; Vanermen, G.; Tirez, K.; Michiels, L.; Weltens, R. (2012): DISCRISSET: a battery of tests for waste classification - application of tests on waste extracts. Waste Management, 32, S. 2218 – 2228

Destatis (2022): Erhebung der Abfallentsorgung Deutschland. Jahre, Anlagenart, Abfallarten

Devare, M.; Bahadir, M. (1994): Biological monitoring of landfill leachates using plants and luminescent bacteria. Chemosphere, 28, S. 261 – 267

Deventer, K.; Zipperle, J. (2004): Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfall - Verfahrensentwicklung für die Festlegung des Gefährlichkeitskriteriums 'ökotoxisch (H14)'. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Ökologische Umweltbeobachtung

Dias, D.; Lapa, N.; Bernardo, M.; Godinho, D.; Fonseca, I.; Miranda, M.; Pinto, F.; Lemos, F. (2017): Properties of chars from the gasification and pyrolysis of rice waste streams towards their valorisation as adsorbent materials. Waste Management, 65, S. 186 – 194

DIN (1984): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Schlamm und Sedimente (Gruppe S). Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser (S 4). DIN 38414-4:1984-10. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin. [Norm zurückgezogen]

DIN (1989a): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Fischen über Verdünnungsstufen (L 31). DIN 38412-31:1989-03. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin. [Norm zurückgezogen]

DIN (1989b): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen (L 30). DIN 38412-30:1989-03. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (1991a): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Bakterien; *Pseudomonas*-Zellvermehrungs-Hemmtest. DIN 38412-8:1991-03. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin. [Norm zurückgezogen]

DIN (1991b): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (*Scenedesmus*-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen (L 33). DIN 38412-33:1991-03. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (1997): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der Hemmwirkung von Abwasser auf die Lichtemission von *Photobacterium phosphoreum*. Leuchtakterien-Abwassertest mit konservierten Bakterien (L 34). DIN 38412-34:1997-07. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin. [Norm zurückgezogen]

DIN (2002): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Teil 48: *Arthrobacter globiformis*-Kontakttest für kontaminierte Feststoffe (L 48). DIN 38412-48:2002-09. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin. [Norm zurückgezogen]

DIN (2003): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Suborganismische Testverfahren (Gruppe T). Teil 6: Giftigkeit gegenüber Fischen; Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser auf die Entwicklung von Fischeiern über Verdünnungsstufen (T 6). DIN 38415-6:2003-08 Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin. [Norm zurückgezogen]

DIN (2009a): Untersuchung von Feststoffen. Probenvorbereitung, -vorbereitung und -aufarbeitung für chemische, biologische und physikalische Untersuchungen. DIN 19747:2009-07. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (2009b): Wasserbeschaffenheit. Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*). Deutsche Fassung EN ISO 15088:2008. DIN EN ISO 15088:2009-06. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (2010): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Toxizitätstest zur Bestimmung der Dehydrogenasenaktivitätshemmung in Belebtschlamm (TTC-Test). DIN 38412-3:2010-10. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (2014): Untersuchung von Feststoffen. Probenahme von festen und stichfesten Materialien. Teil 1: Anleitung für die segmentorientierte Entnahme von Proben aus Haufwerken. DIN 19698-1:2014-05. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (2021): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Algenwachstumshemmtest auf Mikrotiterplatte mit einzelligen Süßwasser-Grünalgen (L 59). DIN 38412-59. Normentwurf. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (2022): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Algenwachstumshemmtest auf Mikrotiterplatte mit einzelligen Süßwasser-Grünalgen (L 59). DIN 38412-59. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (2023a): Elution von Feststoffen. Perkolationsverfahren zur gemeinsamen Untersuchung des Elutionsverhaltens von anorganischen und organischen Stoffen. DIN 19528:2023-07. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN (2023b): Elution von Feststoffen. Schüttelverfahren zur Untersuchung des Elutionsverhaltens von anorganischen und organischen Stoffen bei einem Wasser/Feststoff-Verhältnis von 2 L/kg. DIN 19529: 2023-07. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN (2003a): 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 und einer Korngröße unter 4 mm (ohne oder mit Korngrößenreduzierung). Deutsche Fassung EN 12457-2:2002. DIN EN 12457-2:2003. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN (2003b): Charakterisierung von Abfällen. Auslaugung; Übereinstimmungsuntersuchung für die Auslaugung von körnigen Abfällen und Schlämmen. Teil 4: Einstufiges Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 10 L/kg für Materialien mit einer Korngröße unter 10 mm (ohne oder mit Korngrößenreduzierung). Deutsche Fassung EN 12457-4:2002. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN (2012): Bodenverbesserungsmittel und Kultursubstrate - Bestimmung der Pflanzenverträglichkeit - Teil 2: Petrischalentest mit Kresse; Deutsche Fassung EN 16086-2:2011. DIN EN 16086-2:2012-01. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN (2022): Charakterisierung von Abfällen. Herstellung von Abfallproben für ökotoxikologische Untersuchungen. Deutsche Fassung EN 14735:2021. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2009): Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest) - Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien Deutsche Fassung EN ISO 11348-2:2008. DIN EN ISO 11348-2:2009-05. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2012): Wasserbeschaffenheit. Süßwasseralgen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen (ISO 8692:2012). DIN EN ISO 8692:2012-06. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2013a): Wasserbeschaffenheit. Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Akuter Toxizitäts-Test (ISO 6341:2012). Deutsche Fassung EN ISO 6341:2012. DIN EN ISO 6341:2013-01. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2013b): Bodenbeschaffenheit. Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora. Teil 2: Wirkung von verunreinigten Böden auf Saataufbau und frühes Wachstum höherer Pflanzen (ISO 11269-2:2012). Deutsche Fassung EN ISO 11269-2:2013. DIN EN ISO 11269-2:2013-05. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2018): Bodenbeschaffenheit. Feststoffkontakttest unter Verwendung der Dehydrogenaseaktivität von *Arthrobacter globiformis* (ISO 18187:2016). Deutsche Fassung EN ISO 18187:2018. DIN EN ISO 18187:2018-07. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2020): Bodenbeschaffenheit. Vermeidungsprüfung zur Bestimmung der Bodenbeschaffenheit und der Auswirkungen von Chemikalien auf das Verhalten. Teil 1: Prüfung von Regenwürmern (*Eisenia fetida* und *Eisenia andrei*) (ISO 17512-1:2008). Deutsche Fassung EN ISO 17512-1:2020. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2021): Bodenbeschaffenheit. Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung und Hemmung der Nitrifizierung. Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation. Deutsche Fassung ISO 15685:2012. DIN EN ISO 15685:2021-02. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO (2023): Wasserbeschaffenheit. Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest). Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (ISO 11348-2:2007 + Amd 1:2018); Deutsche Fassung EN ISO 11348-2:2008 + A1:2018. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

DIN EN ISO/IEC (2018): Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2017). Deutsche Fassung EN ISO/IEC 17025:2017. DIN EN ISO/IEC 17025:2018-03. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

Domene, X. (2007): Methodologies using soil organisms for the ecotoxicological assessment of organic wastes. Dissertation, Universität von Barcelona, Spanien

Domene, X.; Alcaniz, J.M.; Andrés, P. (2007): Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida*. Applied Soil Ecology, 35, S. 461 – 472

EC (2018): Technical guidance for deriving environmental quality standards. Guidance Document No. 27. Updated version 2018. European Commission, Brussels

ECHA (2008): Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment. European Chemicals Agency, Helsinki

ECHA (2017): Guidance on the application of the CLP criteria. Guidance to Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging (CLP) of substances and mixtures. Version 5.0. European Chemicals Agency, Helsinki

ECHA (2023a): Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.7b: Endpoint specific guidance. Version 5.0. European Chemicals Agency, Helsinki

ECHA (2023b): Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.7c: Endpoint specific guidance. Version 4.0. European Chemicals Agency, Helsinki

EG (2014): Beschluss der Kommission vom 18. Dezember 2014 zur Änderung der Entscheidung 2000/532/EG über ein Abfallverzeichnis gemäß der Richtlinie 2008/98/EG des Europäischen Parlaments und des Rates. (2014/955/EU)

EG (2015): Entscheidung der Kommission vom 3. Mai 2000 zur Ersetzung der Entscheidung 94/3/EG über ein Abfallverzeichnis gemäß Artikel 1 Buchstabe a) der Richtlinie 75/442/EWG des Rates über Abfälle und der Entscheidung 94/904/EG des Rates über ein Verzeichnis gefährlicher Abfälle im Sinne von Artikel 1 Absatz 4 der Richtlinie 91/689/EWG über gefährliche Abfälle (2000/532/EG). Konsolidierte Fassung vom 01.06.2015

EG (2018): Richtlinie 2008/98/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 19. November 2008 über Abfälle und zur Aufhebung bestimmter Richtlinien. Konsolidierte Fassung vom 05.07.2018

EG (2019): Verordnung (EG) 440/2008 der Kommission vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH). Konsolidierte Fassung vom 16.10.2019

EG (2021): Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006. Konsolidierte Fassung vom 01.10.2021

EG (2022): Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission. Konsolidierte Fassung vom 01.03.2022

EU (2017): Verordnung 2017/997 des Rates vom 8. Juni 2017 zur Änderung von Anhang III der Richtlinie 2008/98/EG des Europäischen Parlaments und des Rates in Bezug auf die gefahrenrelevante Eigenschaft HP 14 „ökotoxisch“

EU (2018): Bekanntmachung der Kommission – Technischer Leitfaden zur Abfalleinstufung (2018/C 124/01)

EU (2019): Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. Konsolidierte Fassung vom 26.06.2019

- Ferrari, B.; Féraud, J.F. (1996): Effects of nutritional renewal frequency on survival and reproduction of *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15, S. 765 – 770
- Ferrari, B.; Radetski, C.M.; Veber, A.-M.; Féraud, J.-F. (1999): Ecotoxicological assessment of solid wastes: a combined liquid- and solid-phase testing approach using a battery of bioassays and biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, S. 1195 – 1202
- Fischer, M.; Belanger, S.E.; Berckmans, P.; Bernhard, M.J.; Bláha, L.; Coman Schmid, D.E.; Dyer, S.D.; Haupt, T.; Hermens, J.L.M.; Hultman, M.T.; Laue, H.; Lillicrap, A.; Mlnaříková, M.; Natsch, A.; Novák, J.; Sinnige, T.L.; Tollefsen, K.E.; von Niederhäusern, V.; Witters, H.; Županič, A.; Schirmer, K. (2019): Repeatability and reproducibility of the RTgill-W1 cell line assay for predicting fish acute toxicity. *Toxicological Sciences* 169, S. 353 – 364
- Fiskesjö, G. (1985): The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102, S. 99 – 112
- Fiskesjö, G. (1995): *Allium* test. *Methods in Molecular Biology*, 43, S. 119 – 127
- Fiskesjö, G. (1997): The *Allium* test for screening chemicals. In: Wang, W.; Gorsuch, J.W.; Hughes, J.S. [Hrsg.]: *Plants for Environmental Studies*. Lewis, New York, S. 302 – 331
- Flamme, S. (2019): Vortrag am 14. November 2019 auf der BDSV-Jahrestagung in Münster zitiert in: EU-Recycling 01/2020
- Garcia Geronasso, J.V. (2010): The assessment of feeding inhibition in *Folsomia candida* (Collembola) as an endpoint for ecotoxicological waste characterization. Dissertation, University of Coimbra, Portugal
- Gilbert, F.; Galgani, F.; Cadiou, Y. (1992): Rapid assessment of metabolic activity in marine microalgae: application in ecotoxicological tests and evaluation of water quality. *Marine Biology*, 112, S. 199 – 205
- Götzl, A.; Malissa, H.; Riepe, W. (1999): A rapid toxicological test method with luminous bacteria for laboratory and on-site assessment of wastes and contaminated soils. *Field Analytical Chemistry & Technology*, 3, S. 329 – 337
- Grenni, P.; Ulte, M.; Francese, M.; Baudo, R.; Mariani, L.; Neotti, M.G.; Provenza, F.; Perini, F.; Renzi, M.; Meineri, V.; Tagliati, C.; Zecchini, F.; Perin, F.; Paina, A. (2020): Critical points of the EU Directive on the HP 14 classification: an Italian perspective. Poster presented at SETAC Europe 30rd Annual Meeting (virtual), 03-07 May 2020
- Gy, P. (1979): *Sampling of particulate materials – Theory and practice*, Elsevier, Amsterdam
- Gy, P. (1992): *Sampling of heterogeneous and dynamic material systems. Theories of heterogeneity, sampling and homogenizing*. Elsevier, Amsterdam
- Gy, P. (2004a): *Sampling of discrete materials – a new introduction to the theory of sampling I. Qualitative approach. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 74, S. 7 – 24
- Gy, P. (2004b): *Sampling of discrete materials – a new introduction to the theory of sampling II. Quantitative approach – sampling of zero dimensional objects. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 74, S. 25 – 38
- Hennebert, P. (2018): Proposal of concentration limits for determining the hazard property HP 14 for waste using ecotoxicological tests. *Waste Management*, 74, S. 74 – 85
- Hennebert, P. (2019): Hazard classification of waste: review of available practical methods and tools. *Detritus*, 7, S. 13 – 28
- Höss, S.; Römbke, J. (2019): Effects of waste materials on *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) using the ISO standard soil toxicity test. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, S. 26304 – 26312

Hund-Rinke, K.; Kördel, W.; Heiden, S.; Erb, R. (2002): Ökotoxikologische Testbatterien – Ergebnisse eines DBU-geförderten Ringtests. Erich Schmidt Verlag, Berlin

INERIS (2016): Classification réglementaire des déchets. Guide d'application pour la caractérisation en dangerosité. Rapport réalisé pour le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie (MEDDE). INERIS-DRC-15-149793-06416A. (Participation: Pandard, P.)

IPA (2021): Gefährlichkeitseinstufung von Abfällen in den Bundesländern. Informations-Portal-Abfallbewertung.

<https://www.abfallbewertung.org/?report=ipa&content=Kurzinfos&subcontent=GefEinst&doc=GefEinst> (11.04.2021)

ISO (1987): Water for analytical laboratory use. Specification and test methods. ISO 3696:1987-04. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (1995): Water quality. *Pseudomonas putida* growth inhibition test (*Pseudomonas* cell multiplication inhibition test). ISO 10712:1995. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (1998): Water quality. Sampling. Part 16: Guidance on biotesting of samples. ISO 5667-16: 1998. International Organization for Standardization, Geneva. [Aktuelle Fassung: ISO 2017]

ISO (2000): Water quality. Determination of long term toxicity of substances to *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). ISO 10706:2000-04. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2005a): Water quality. Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods. ISO 16712:2005. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2005b): Water quality. Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (*Lemna minor*). Duckweed growth inhibition test. ISO 20079:2005. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2007a): Water quality. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (luminescent bacteria test). Part 2: Method using liquid-dried bacteria. ISO 11348-2:2007. With Amendment 1 from 2018. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2007b): Water quality. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (luminescent bacteria test). Part 3: Method using freeze-dried bacteria. ISO 11348-3:2007. With Amendment 1 from 2018. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2008a): Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour. Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO 17512-1:2008. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2008b): Water quality. Determination of the chronic toxicity to *Brachionus calyciflorus* in 48 h. ISO 20666:2008-12. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2008c): Water quality. Determination of chronic toxicity to *Ceriodaphnia dubia*. ISO 20665:2008. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2012a): Soil quality. Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants. ISO 11269-2:2012. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2012b): Water quality. Fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae. ISO 8692:2012. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2012c): Water quality. Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Acute toxicity test. ISO 6341:2012-10. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2012d): Soil quality. Effects of pollutants on earthworms. Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*. ISO 11268-1:2012. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2012e): Soil quality. Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth. ISO 11269-1:2012. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2012f): Soil quality. Determination of abundance and activity of soil microflora using respiration curves. ISO 17155:2012. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2012g): Soil quality. Determination of potential nitrification and inhibition of nitrification. Rapid test by ammonium oxidation. ISO 15685:2012. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2016a): Soil quality. Contact test for solid samples using the dehydrogenase activity of *Arthrobacter globiformis*. ISO 18187:2016. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2016b): Water quality. Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema* sp. and *Phaeodactylum tricornutum*. ISO 10253:2016. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2017): Water quality. Sampling. Part 16: Guidance on biotesting of samples. ISO 5667-16:2017. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2019a): Soil quality. Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials. ISO 15799:2019. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2019b): Soil quality. Guidance on the choice and evaluation of bioassays for ecotoxicological characterization of soils and soil materials. ISO 17616:2019. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2020): Water and soil quality. Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). ISO 10872:2020. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2023a): Soil quality. Effects of pollutants on earthworms. Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* and other earthworm species. ISO 11268-2:2023. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2023b): Soil quality. Effects of contaminants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.). Determination of effects on reproduction. ISO 16387:2023. International Organization for Standardization, Geneva

ISO (2023c): Soil quality. Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil contaminants. ISO 11267:2023. International Organization for Standardization, Geneva

ISPRA (2018): Approccio metodologico per la valutazione della caratteristica di pericolo HP14 – Ecotossico. Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale/Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente

Jensen, J.; Mesman, M. (2006): Ecological risk assessment of contaminated land. Decision support for site specific investigations. RIVM Report No. 711701047, Bilthoven

Kalbe, U. (2020): Wie steht es um die Zukunft der „neuen“ Elutionsverfahren? Altlasten Spektrum, 5/2020, 169-170

Kalbe, U. (2021): Wie naturnah simulieren die Elutionsverfahren? Vortrag, online-Altlastenseminar des LLUR ‚Messen, schätzen und bewerten – Theorie und Praxis der Altlastenbewertung‘, 27.09.2021

Katsiadaki, I.; Ellis, T.; Andersen, L.; Antczak, P.; Blaker, E.; Burden, N.; Fisher, T.; Green, C.; Labram, B.; Pearson, A.; Petersen, K.; Pickford, D.; Ramsden, C.; Rønneseth, A.; Ryder, K.; Sacker, D.; Stevens, C.; Watanabe, H.; Yamamoto, H.; Sewell, F.; Hawkins, P.; Rufli, H.; Handy, R.D.; Maynard, S.K.; Jacobs, M.N. (2021): Dying for

- change: a roadmap to refine the fish acute toxicity test after 40 years of applying a lethal endpoint. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223:112585
- Kępys, W.; Sliwka, M.; Pawul, M. (2021): Assessment of ecotoxicity of incinerated sewage sludge ash (ISSA). *Minerals*, 11:849
- Ketelhut, R. (2013): Erarbeitung von grundlegenden Qualitätskriterien für Abfallprobenahmen zum Erhalt von Kenngrößen zur Beurteilung von Untersuchungsergebnissen - Ermittlung fachlicher Grundlagen. Abschlussbericht LFP-Vorhaben L1.12
- Kobeticová, K.; Hofman, J.; Holoubek, I. (2010): Ecotoxicity of wastes in avoidance tests with *Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Waste Management*, 30, S. 558 – 564
- Kočí, V.; Mocová, K.; Kulovaná, M.; Vosáhlová, S. (2010): Phytotoxicity tests of solid wastes and contaminated soils in the Czech Republic. *Environmental Science and Pollution Research*, 17, S. 611 – 623
- KrWG (2023): Gesetz zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der umweltverträglichen Bewirtschaftung von Abfällen (Kreislaufwirtschaftsgesetz - KrWG). Zuletzt geändert durch Art. 5 G v. 2.3.2023 I Nr. 5
- Kwan, K.K. (1995): Direct sediment toxicity testing procedure using Sediment-Chromotest kit. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 9, S. 193 – 196
- LAGA (2004): LAGA PN 98. Richtlinie für das Vorgehen bei physikalischen, chemischen und biologischen Untersuchungen im Zusammenhang mit der Verwertung/Beseitigung von Abfällen. Mitteilung der Länderarbeitsgemeinschaft Abfall (LAGA)
- LAGA (2019): LAGA PN 98. Richtlinie für das Vorgehen bei physikalischen, chemischen und biologischen Untersuchungen im Zusammenhang mit der Verwertung/Beseitigung von Abfällen. Mitteilung der Länderarbeitsgemeinschaft Abfall (LAGA). (In Bezug auf rechtliche Verweise überarbeitete Version)
- Lapa, N.; Barbosa, R.; Morais, J.; Mendes, B.; Méhu, J.; Santos Oliveria, J.F. (2002): Ecotoxicological assessment of leachates from MSWI bottom ashes. *Waste Management*, 22, S. 583 – 593
- LfULG (2014): Richtlinie zur einheitlichen Abfallanalytik in Sachsen. Sächsische Sortierrichtlinie 2014. Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, Freistaat Sachsen
- Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und Klima (2020): Vollzugshinweise zur Zuordnung von Abfällen zu den Abfallarten eines Spiegeleintrages in der Abfallverzeichnis-Verordnung. *Amtsblatt für Brandenburg* 31, 699-745
- Ministry of the Environment (2019): Classification of waste as hazardous waste- updated guidance. *Publications of the Ministry of the Environment 2019:2*
- MITECO (2021): Guía técnica para la clasificación de los residuos. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico Gobierno de España
- Mocová, K.A.; Sackey, L.N.A.; Renkerová, P. (2019): Environmental Impact of concrete and concrete-based construction waste leachates. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 290:012023
- Moser, H.; Römbke, J. (2009): Ecotoxicological characterization of waste - Results and experiences of an international ring test. Springer Science+Business Media, Heidelberg
- MVO (2021): Verordnung zur Einführung einer Ersatzbaustoffverordnung, zur Neufassung der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung und zur Änderung der Deponieverordnung und der Gewerbeabfallverordnung vom 9. Juli 2021. *Bundesgesetzblatt Jahrgang 2021 Teil I Nr. 43*
- Natural Resources Wales, SEPA, Environment Agency (2021): Waste classification. Guidance on the classification and assessment of waste (1st Edition v1.1.GB). *Technical Guidance WM3*. Natural Resources

Wales/Cyfoeth Naturiol Cymru, Cardiff; Scottish Environment Protection Agency (SEPA), Stirling; Environment Agency, Bristol

Neururer, H. (1975): Biotests in der Herbologie. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, 5(75), S. 316 – 328

OECD (1984): Earthworm, acute toxicity tests. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 207. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2000a): Soil microorganisms: nitrogen transformation test. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 216. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2000b): Soil microorganisms: carbon transformation test. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 217. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2004): *Daphnia* sp., acute immobilisation test. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 202. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2006a): Terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 208. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2006b): *Lemna* sp. growth inhibition test. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 221. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2010): Activated sludge, respiration inhibition test (carbon and ammonium oxidation). OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 209. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2011): Freshwater alga and cyanobacteria, growth Inhibition test. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 201. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2012): *Daphnia magna* reproduction test. OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 211. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2013): Fish embryo acute toxicity (FET) test. OECD guidelines for the testing of chemicals. Test No. 236. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris

OECD (2016a): Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*). OECD guidelines for the testing of chemicals. Test No. 222. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris

OECD (2016b): Collembolan reproduction test in soil. OECD guidelines for the testing of chemicals. Test No. 232. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris

OECD (2019): Guidance document on aqueous-phase aquatic toxicity testing of difficult test chemicals. Series on testing and assessment. No 23 (2nd edition). ENV/JM/MONO(2000)6/REV1. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OECD (2021): Fish cell line acute toxicity: the RTgill-W1 cell line assay. Test guideline No. 249. Organisation for Economic Co-Operation and Development, Paris

Offhaus, K. (1965): Die Bewertung von Abwasser unter besonderer Berücksichtigung des biologisch abbaubaren Anteiles und der Toxizität. Die Wasserwirtschaft 55, S. 7 – 9

OVAM (2018): HP14: Gepaarde gegevens voor afvalstoffen. OVAM report. Openbare Vlaamse Afvalstoffenmaatschappij (Public Waste Agency of Flanders), Mechelen.

Pandard, P.; Römbke, J. (2013): Proposal for a ‚harmonized‘ strategy for the assessment of the HP 14 property. Integrated Environmental Assessment & Management 9, S. 665-672

Pandard, P.; Devillers, J.; Charissou, A.-M.; Poulsen, V.; Jourdain, M.-J.; Féraud, J.-F.; Grand, C.; Bispo, A. (2006): Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. Science of the Total Environment, 363, S. 114 – 125

- Pinho, I.A.; Lopes, D.V.; Martins, R.C.; Quina, M.J. (2017): Phytotoxicity assessment of olive mill solid wastes and the influence of phenolic compounds. *Chemosphere*, 185, S. 258 – 267
- Pivato, A.; Beggio, G.; Hennebert, P.; Bonato, T.; Favarin, M.; Raga, R. (2020): Proposal of a testing program for the HP 14 (ecotoxic) classification of automotive shredder residues (ASR) by a battery of ecotoxicological bioassays. *Detritus*, 13, S. 12 – 22
- Planchon, M.; Saïdi, N.; Pandard, P.; Troise, A. (2015): Study to assess the impacts of different classification approaches for hazard property 'HP 14' on selected waste streams. Final report prepared for the European Commission (DG ENV). Bio by Deloitte, INERIS
- Radetski, C.M.; Férard, J.F.; Blaise, C. (1995): A semistatic microplate-based phytotoxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14, S. 199 – 302
- Rebischung, F.; Chabot, L.; Biaudet, H.; Pandard, P. (2018): Cigarette butts: a small but hazardous waste, according to European regulation. *Waste Management*, 82, S. 9 – 14
- Römbke, J. (2018): Testing of 24 potentially hazardous wastes using 6 ecotoxicological tests. *Detritus*, 4, S. 4 – 21
- Römbke, J.; Moser, H. (2007): Ökotoxikologische Charakterisierung von Aschen aus Müllverbrennungsanlagen. *VGB PowerTech*, 12/2007, S. 62 – 68
- Römbke, J.; Ketelhut, R. (2014): Weiterentwicklung der UBA-Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen. UBA-Texte 19/2014
- Römbke, J.; Eisenträger, A.; Hund-Rinke, K.; Jänsch, S.; Neumann-Hensel, H.; Weber, G. (2006): Handlungsempfehlung für die ökotoxikologische Beurteilung von Böden. Sidus-Verlag, Limburg
- Römbke, J.; Moser, T.; Moser, H. (2009): Ecotoxicological characterization of 12 incineration ashes (MWI) using 6 laboratory tests. *Waste Management*, 29, S. 2475 – 2482
- Römbke, J.; Moser, T.; Ketelhut, R. (2010): Identifikation umweltgefährlicher Abfälle in Spiegeleinträgen der AVV. FKZ 3708 31 300. Abschlussbericht für das Umweltbundesamt, Dessau
- Römbke, J.; Pandard, P.; Wahlström, M.; Weltens, R. (2018): Compilation and evaluation of ecotoxicological data gained in waste testing – results of a literature review. Report for the Austrian Ministry of Sustainability and Tourism
- Sander, K.; Schilling, S.; Luskow, H.; Gonser, J.; Schwedtje, A.; Kuchen, V. (2008): Review of the European List of Waste. Final Report. Ökopol GmbH, Argus GmbH
- Scheffczyk, A.; Frankenbach, S.; Jänsch, S.; Römbke, J. (2014): Comparison of the effects of zinc nitrate-tetrahydrate and tributyltin-oxide on the reproduction and avoidance behavior of the earthworm *Eisenia andrei* in laboratory tests using nine soils. *Applied Soil Ecology*, 83, S. 253 – 257
- Scholz-Starke, B.; Stibany, F.; Hammers-Wirtz, M. (2022): PROSOIL – Protection of soil organisms: Development of toxicity criteria for soil organisms in the framework of classification of substances and PBT assessment. UBA-Texte 105/2022
- Senatsverwaltung für Mobilität, Verkehr, Klimaschutz und Umwelt (2020): Vollzugshinweise zur Zuordnung von Abfällen zu den Abfallarten eines Spiegeleintrages in der Abfallverzeichnis-Verordnung. Berlin
- Shaw, L.J.; Burns, R.G. (2006): Enzyme activity profiles and soil quality. In: Bloem, J.; Hopkins, D.; Benedetti, A. [Hrsg.]: Microbiological methods for assessing soil quality. Centre for Agriculture and Biosciences International, Wallingford, S. 158 – 172
- SIS (1991): Determination of acute lethal toxicity of chemical substances and effluents to *Nitocra spinipes* (Boeck). Static procedure. SIS SS 02 81 06-1991. Standardiseringskommissionen i Sverige (in Swedish)

SNPA (2020): Linee guida sulla classificazione dei rifiuti. Delibera del Consiglio SNPA. Seduta del 27.11.19. Doc. n. 61/19

Statistisches Landesamt, Freistaat Sachsen (2013): Statistischer Bericht. Verwertung von Abfällen im Freistaat Sachsen 2011 (Q II 4 – j/11)

Stephenson, G.L.; Koper, N.; Atkinson, G.F.; Solomon, K.R.; Scroggins, R.P. (2000): Use of nonlinear regression techniques for describing concentration-response relationships of plant species exposed to contaminated site soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, S. 2968 – 2981

STN (1999): Testing of dangerous properties of wastes. Ecotoxicity. Acute toxicity tests on aquatic organisms and growth inhibition tests of algae and higher cultivated plants. STN 838303. Slovak technical standard

Stiernström, S.; Wik, O.; Bendz, D. (2015): Critical evaluation of methods for hazard classification of waste ecotoxic properties, Sardinia Conference 2015

TierSchG (2023): Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 2 Absatz 20 des Gesetzes vom 20. Dezember 2022 (BGBl. I S. 2752) geändert worden ist. Konsolidierte Fassung (Änderung durch Art. 2a G v. 17.8.2023 I Nr. 219 berücksichtigt)

Traas, T.P.; van Leeuwen, C.J. (2007): Ecotoxicological effects. In: van Leeuwen, C.J. & Vermeire, T.G. [Hrsg.]: *Risk assessment of chemicals – an introduction*. Springer, Dordrecht, S. 281-356

UBA (2013): Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen. 26.02.2013. Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau, Deutschland

UNI (1998): Compost. Classificazione, requisiti e modalità di impiego. UNI 10780:1998. Ente Italiano di Normazione, Milano

US EPA (1984): Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. 3rd ed. EPA/600/4-91/002. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

US EPA (1988): Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites. EPA/600/3-88/029. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

UVM (2002): Zuordnung von Abfällen zu Abfallarten aus Spiegeleinträgen. Vorläufige Vollzugshinweise des Ministeriums für Umwelt und Verkehr Baden-Württemberg auf der Grundlage des Entwurfs einer Handlungshilfe des Abfalltechnikausschusses der LAGA. Reihe Abfall, 69

Vaajasaari, K. (2005): Leaching and ecotoxicity tests as methods for classification and assessment of environmental hazard of solid wastes. Dissertation. Tampere University of Technology, Tampere

Vaajasaari, K.; Joutti, A.; Schultz, E.; Selonen, S.; Westerholm (2002): Comparisons of terrestrial and aquatic bioassays for oil-contaminated soil toxicity. *Journal of Soils and Sediments*, 2, S. 194 – 202

Wahlström, M.; Laine-Ylijoki, J.; Wik, O.; Oberender, A.; Hjelm, O. (2016): Hazardous waste classification. Amendments to the European Waste Classification Regulation – what do they mean and what are the consequences? *TemaNord* 2016:519. Nordic Council of Ministers, Copenhagen

Weltens, R.; Deprez, K.; Michiels, L. (2014): Validation of microtox as a first screening. *Waste Management*, 34, S. 2427 – 2433

Werle, S.; Dudziak, M. (2015): The assessment of sewage sludge gasification by-products toxicity by ecotoxicological test. *Waste Management & Research*, 33, S. 696 – 703

A Anhang

A.1 Kerninformationen zur Probennahme, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele
Berücksichtigte Bezugsquellen	Festlegung des Bezugsrahmens für die Untersuchung, i.d.R. CEN/TR 15310-1 (2006a), DIN EN 14735 (2022), PN 98 (LAGA 2019), DIN 19747 (2009a) und UBA (2013)	Dieses Probenbegleitprotokoll basiert auf den vom Abfalleigentümer überlassenen Stoffdaten, und den Einschätzungen und Bewertungen des sachkundigen Probenehmers vor dem Hintergrund der Anforderungen der einschlägigen Richtlinien
Abfallschlüsselnummer	Einordnung des Abfalls im Rahmen des Europäischen Abfallverzeichnisses und der AVV	–
Identifikation	Alle Daten, die zur eindeutigen Identifikation der untersuchten Probe notwendig sind	–
Auftraggeber/verantwortliche Person	Benennung des Kostenträgers sowie der Person, die die Zielsetzung festgelegt hat. Definition der Verantwortungskette	–
Zielsetzung	In Rücksprache mit der verantwortlichen Person des Auftraggebers festlegen	In der Regel grundlegende Charakterisierung der ökotoxikologischen Eigenschaften
Ermittlung der für die angestrebten Untersuchungen erforderlichen Materialmenge mit Partikelgröße <4 mm	Unabhängig von den Empfehlungen zur Größe von Feld- und Laborproben muss sichergestellt sein, dass dem Labor hinreichend Material vorliegt, um die Untersuchungen durchführen zu können	In den Untersuchungen zum Projekt war die Zielgröße für die Laborprobenmasse ca. 5 kg mit Partikelgröße <4 mm
Abfalleigentümer	Der Eigentümer des Abfalls muss nicht zwingend der Auftraggeber sein	–

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele
Benennung der fachkundigen Person	Hinreichend fachkundige Person, die die Probenahmeplanung durchgeführt hat. Definition der Verantwortungskette	–
Probennehmer*in	Benennung der sachkundigen Person, die in der Lage ist, eine Probenahme im Hinblick auf die Erfüllung der Zielsetzung sicherzustellen. Definition der Verantwortungskette	–
Probennahmedatum, Uhrzeit	Zeitliche Rahmenbedingungen der Probenahme	–
Probenahmeort	Örtliche Rahmenbedingungen der Probenahme	Ein Foto ist immer hilfreich, allerdings sollte auf die Interessen und Belange des Abfalleigentümers Rücksicht genommen werden. Kein Bild vom Prozess ohne Erlaubnis
Wetterbedingungen	Zur Bewertung von etwaigen Einflüssen von Niederschlag oder Temperatur	Umgebungstemperatur, Bedeckungsgrad und Luftfeuchte
Hintergrund zum beprobten Abfall und Materialbeschreibung	Hier geht es darum, die Abfallentstehung zu verstehen und zu beschreiben. Handelt es sich um ein Gemisch von verschiedenen Anfallorten oder ist es ein Prozessabfall? Ist der Prozess immer identisch, oder gibt es Chargen? Wie unterscheiden sich diese? Handelt es sich um Frischmaterial? Welche Mengenströme fallen an (im Betrieb pro Stunde und über das Jahr)? Gibt es Sieblinien? Ist der d_{95} definiert? Liegen Analyseergebnisse vor? Sind die Werte stabil oder schwankend? Welche Parameter bereiten Probleme? Wie ist das Material zusammengesetzt (z. B. mineralischer Anteil, biogener Anteil, synthetisch-organischer Anteil)?	Shredderleichtfraktion (SLF) kann chargenweise als SLF aus Stahlschrott, SLF aus Aluminiumschrott sowie ggf. auch als SLF aus Elektroschrott auftreten. Die Zusammensetzung wird sich erheblich unterscheiden. Staub aus Eisenguss kann aus verschiedenen Verfahren stammen (zum Beispiel Grauguss und Lamellenguss). Alle Informationen, die der Abfallerzeuger geben kann, können wertvolle Hinweise zur Kontamination und zu möglicher Wirkung enthalten.

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele
Angaben zur vermuteten Variabilität der Merkmale im Material. Heterogenität in Bezug auf Merkmale von Interesse: zeitlich – räumlich partikulär	Gibt es ggf. flüssige Kontaminationen? Wenn ja, welcher Art? Wenn es Vermutungen zu möglichen Kontaminationen mit gefährlichen Stoffen gibt, so sind diese so gut wie möglich zu erfassen. Handelt es sich ggf. um Anhaftungen? Gibt es unterschiedliche Chargen? Gibt es Zusatzstoffe, die ggf. hohe Kontaminationen eintragen können? Könnte Wirkung auf wenige Partikel konzentriert sein?	Die Art der möglichen Kontamination spielt eine wichtige Rolle bei der Abschätzung des Anteils von Merkmalsträgern (p)
Abschätzung des erwarteten Anteils von Merkmalsträgern (p)	Informationen zu (z.B.): hoher Häufigkeit, oberflächlichen Kontamination, einzelnen Partikeln mit hoher Fracht, Kontamination mit Metallen, Metallverbindungen oder Kunststoffadditiven	Beispiele: Öl auf mineralischen Abfällen, enthaltene Partikel mit hoher Fracht (z. B. Knöpfe aus Bleicarbonat in Textilien, Phthalate oder Organozinnverbindungen in PVC)
Festlegung des angestrebten Variationskoeffizienten	Vor dem Hintergrund der Zielsetzung sollte gemeinsam mit dem Auftraggeber festgelegt werden, welche Aussagesicherheit angestrebt wird, um den Aufwand bei Probenahme, Probenvorbehandlung und Probenvorbereitung festzulegen. Realistisch ist ein CV von 10%, was bedeutet, dass der wahre Wert mit einer Aussagesicherheit von 95% im Bereich von $\pm 20\%$ um den Messwert liegt.	Ein CV von 10%, wie er üblicherweise in der Formel zur Ermittlung der Mindestprobenmasse nach CEN TC 292 eingesetzt wird, erfordert bei einem Anteil von Merkmalsträgern von $p=50\%$ eine Probe von mindestens 100 Partikeln. Für geringere Werte von p, sind größere Probenumfänge erforderlich.
Festlegung der Grundgesamtheit	Vor dem Hintergrund der Zielsetzung ist in Rücksprache mit dem Auftraggeber bzw. dessen verantwortlicher Person eine sinnvolle Festlegung für die Grundgesamtheit zu treffen. Eine fotografische Dokumentation unter Wahrung der Interessen des Abfalleigentümers ist hilfreich.	Es kann sich hier um eine Charge, eine Tagesproduktion, eine Wochenproduktion oder auch um eine Sondercharge handeln. Wichtig ist, eine Auswahl zu treffen und diese schlüssig zu begründen.

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele
Abschätzung der Schüttdichte des Materials	Das abgeschätzte Raumgewicht der Schüttung ist ein Kriterium für die Festlegung des Probenumfangs der Einzelprobe.	Eine Abschätzung aus einem mit geeichter Waage bestimmten Nettogewicht ist in der Regel ausreichend. Zum Beispiel aus: $\rho_s = \text{Nettogewicht [Mg]} / (\text{Containervolumen [m}^3\text{]} \times \text{Füllgrad [\%]})$ Alternativ enthält zum Beispiel die PN 98 (LAGA 2019) Orientierungswerte.
Partikeldichte der vermutlichen Merkmalsträger	Abgeschätztes Raumgewicht (ρ_R) der Festkörper der vermutlichen Merkmalsträger. Schwere Merkmalsträger können hohe Frachten in die Probe eintragen. Der Parameter wird zur Ermittlung der Mindestprobenmasse benötigt.	Erfahrungswerte: Biogenes Material: $<1 \text{ kg/dm}^3$, Holz: $0,6 \text{ kg/dm}^3$ Kunststoffe geschäumt: $0,2 - 0,3 \text{ kg/dm}^3$ Hart-PVC und PET: ca. $1,3 \text{ kg/dm}^3$ Mineralische Abfälle: ca. $1,8$ bis $2,0 \text{ kg/dm}^3$ Metalle je nach Elementarzusammensetzung
Partikeldimension d_{95}	Der Durchmesser des Sieblochs, das 95% der Materialmasse passieren, ist ein wichtiger Parameter zur Dimensionierung von Proben. Wenn Erfahrungswerte vorliegen und diese plausibel auf den vorliegenden Abfall übertragbar sind, sollten diese genutzt werden. Dabei sollte die Quelle für die Information benannt werden.	Oftmals sind die Partikeldimensionen aus der verwendeten Anlagentechnik, zum Beispiel Siebanlagen bekannt.
Abschätzung für den Korrekturfaktor (g)	Der Faktor adressiert die Breite der Partikelverteilung. Je breiter die Verteilung der Partikeldimensionen, desto kleiner wird g: $d_{95}/d_{05} = 1 \rightarrow g = 1,00$ $d_{95}/d_{05} >1$ und $<2 \rightarrow g = 0,75$ $d_{95}/d_{05} \geq 2$ und $<4 \rightarrow g = 0,50$ $d_{95}/d_{05} \geq 4 \rightarrow g = 0,25$	Eine Gleichverteilung von Partikeln ist im Abfallbereich sehr selten. Bei heterogenen Abfällen ist routinemäßig damit zu rechnen, dass $d_{95}/d_{05} >4$ ist.
Ermittlung der Mindestprobenmasse nach CEN/TR 15310-1	Siehe Abbildung 13	Unter Zuhilfenahme der Schüttdichte des Materials kann auf das Mindestprobenvolumen zurückgeschlossen werden. Dieses Volumen kann mit der Empfehlung der PN 98 abgeglichen werden.

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele
		Achtung: Der d_{95} muss in cm und die Partikeldichte in $\text{g/cm}^3 = \text{kg/dm}^3$ angegeben werden, um eine korrekte Mindestprobenmasse zu ermitteln.
Ermittlung des Umfangs der Einzelprobe und Abgleich mit der Mindestprobenmasse. Ermittlung der Anzahl der Einzelproben	$V_{EP} = (3 * d_{95})^3$ Zur Erreichung eines stabilen Mittelwertes sollten mindestens 16 Einzelproben entnommen werden.	Das Volumen des Inkrements kann mit der Empfehlung der PN 98 zum Volumen der Einzelprobe abgeglichen werden. Durch Multiplikation mit der Schüttdichte ergibt sich der Wert für die Masse.
Festlegung der Probenahmestrategie vor dem Hintergrund von Zielsetzung und lokalen Gegebenheiten	Um eine probabilistische Probe zu erhalten, müssen Zielsetzung und konkrete Rahmenbedingungen bei der Probenahme abgeglichen werden. Nicht immer ist es möglich, die Grundgesamtheit vollständig probabilistisch abzubilden.	Die Grundgesamtheit ist in der Regel dreidimensional. Ein fallender Strom eines Förderbandes bietet ideale Voraussetzungen für eine probabilistische Probenahme. Je nach konkretem Fall kann die Probenahme aber zeitlich oder räumlich begrenzt sein. Dies ist zu dokumentieren.
Art der realisierten Probenahme	Beschreibung von: Anzahl der Einzelproben, verwendetem Probenahmegerät, Masse und Volumen der Feldprobe	Es lässt sich als Probenehmer nur schwer vermeiden, sich vom optischen Eindruck beeinflussen zu lassen, daher ist es immer sinnvoll, mit Zufallszahlen Zeiten oder Ortpunkte festzulegen. Dies kann beispielsweise für ein Haufwerk unter Zuhilfenahme eines Radladerteppichs erfolgen.
Fotografische Dokumentation von Grundgesamtheit und entnommener Feldprobe (Detail)	Detailfoto des Materials inklusive eines Maßstabs.	–
Aufbewahrung	Verbleib der Probe nach Gewinnung und Vermischung zur Feldprobe	–
Transport inklusive Bedingungen und Start	Festlegung der örtlichen und zeitlichen Rahmenbedingungen des Transports	–
Transportart und verantwortliche Person	Definition der Verantwortungskette	–
Probenaufbereitungsort	Festlegung der örtlichen Rahmenbedingungen der Probenaufbereitung	–

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele
Eintreffen am Aufbereitungsort	Festlegung der zeitlichen Rahmenbedingungen der Probenaufbereitung	–

Basierend auf EN 14899 (2005), CEN/TR 15310-1 (2006a), PN 98 (LAGA 2019) und DIN 19747 (2009a).

A.2 Kerninformationen zur Probenvorbereitung, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele, Anmerkungen
Abfallschlüsselnummer	Einordnung des Abfalls im Rahmen des Europäischen Abfallverzeichnisses und der Abfallverzeichnis-Verordnung	Sofern das Protokoll der Probenvorbereitung ein eigenständiges Dokument ist
Identifikation	Alle Daten, die zur eindeutigen Identifikation der untersuchten Probe notwendig sind	
Auftraggeber/verantwortliche Person	Benennung des Kostenträgers sowie der Person, die die Zielsetzung festgelegt hat. Definition der Verantwortungskette	
Abfalleigentümer	Der Eigentümer des Abfalls muss nicht zwingend der Auftraggeber sein.	
Benennung der fachkundigen Person	Hinreichend fachkundige Person, die die Probenahmeplanung durchgeführt hat. Definition der Verantwortungskette	
Probenvorbereiter*in	Benennung der sachkundigen Person, die in der Lage ist, eine Probenvorbereitung im Hinblick auf die Erfüllung der Zielsetzung sicherzustellen. Definition der Verantwortungskette.	Die Anforderungen an die Probenvorbereitung sollten im Probenahmeplan definiert sein. Wie sind die abzutrennenden Störstoffe für die Untersuchung definiert?
Bestätigung, dass das Probenahmeprotokoll vorliegt und die enthaltenen Informationen bekannt sind	Das Probenahmeprotokoll enthält Zielsetzung, Stoffdaten und Informationen zu Rahmenbedingungen, die auch für die Vorbereitung wichtig sind.	Wichtig sind hier folgende Informationen: erwartete Merkmalsträger und ihre Häufigkeit p , abgeschätzter d_{95} , Schüttdichte ρ_s und Partikeldichte ρ_p , angestrebter Variationskoeffizient
Datum und Uhrzeit	Zeitliche Rahmenbedingungen der Probenvorbereitung	–
Vorbereitungsort	Örtliche Rahmenbedingungen der Probenvorbereitung	–

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele, Anmerkungen
Wetterbedingungen	Nur für den Fall, dass die Vorbehandlung unter freiem Himmel stattfindet	Umgebungstemperatur, Bedeckungsgrad und Luftfeuchte
Erstellung der Sieblinie	Für die Erstellung der Sieblinie ist eine Handsiebung des Feldprobenmaterials ausreichend. Die Art des Sieblochs ist anzugeben. Typischerweise werden Rundlochsiebe eingesetzt. Quadratlochsiebe haben bei identischer Maschenweite eine um den Faktor 1,27 größere Durchgangsfläche.	–
Anteil des Überkorns >4 mm	Für biologische Untersuchungen werden Laborproben <4 mm benötigt. Sofern die Feldprobe Anteile >4 mm enthält, ist zu entscheiden, wie damit umgegangen wird.	–
Mindestprobenmasse für die Teilprobe des Überkorns	Die Probe, die das Überkorn >4 mm enthält, ist eine Teilprobe der Feldprobe. Die Bestimmung der Mindestprobenmasse für diese Teilprobe kann helfen, die Qualität der Teilprobe zu bewerten.	–
Abschätzung für den granulometrischen Korrekturfaktor (g)	Der Faktor adressiert die Breite der Partikelverteilung. Je breiter die Verteilung der Partikeldimensionen, desto kleiner wird g: $d_{95}/d_{05} = 1 \rightarrow g = 1,00$ $d_{95}/d_{05} > 1 \text{ und } < 2 \rightarrow g = 0,75$ $d_{95}/d_{05} \geq 2 \text{ und } < 4 \rightarrow g = 0,50$ $d_{95}/d_{05} \geq 4 \rightarrow g = 0,25$	Eine Gleichverteilung von Partikeln ist im Abfallbereich sehr selten. Bei heterogenen Abfällen ist routinemäßig damit zu rechnen, dass $d_{95}/d_{05} > 4$ mm ist.
Ermittlung der Mindestprobenmasse für das Überkorn nach CEN/TR 15310-1	Siehe Abbildung 13	Bei Anwendung der Formel muss der d_{95} in cm und die Partikeldichte in g/cm^3 (= kg/dm^3) eingegeben werden, um eine korrekte Mindestprobenmasse zu ermitteln.
Entscheidung zum Umgang mit dem Überkorn	Vor dem Hintergrund der angestrebten Aussagesicherheit und der verfügbaren Zerkleinerungsaggregate muss der/die Probenvorbereiter*in die Entscheidung treffen, wie	–

Art der Information	Erläuterung	Details, Beispiele, Anmerkungen
	mit dem Überkorn umzugehen ist: Zerkleinerung und Hinzufügung zur Probe unter Homogenisierung oder Verwerfen des Überkorns	
Massenbilanz der Probenvorbehandlung	Um den Massenstrom der Feldprobe durch die Vorbehandlung zu dokumentieren, ist es erforderlich, eine Massenbilanz zu erstellen und zu dokumentieren.	Dokumentation von Input, Störstoffen, Überkorn, Probenmaterial <4 mm und auch Verlusten während er Vorbehandlung.
Fotografische und verbale Dokumentation von Feldprobe (Detail), abgetrennten Störstoffen und ggf. Überkorn	Detailfotos des Materials inklusive eines Maßstabes. Materialbeschreibung nach Art und Form unter Berücksichtigung mineralischer, biogener und ggf. synthetisch organischer Anteile.	–
Mindestprobenmasse für die Teilprobe der Laborprobe	Die Teilprobe für das Unterkorn <4 mm ist ebenso eine Teilprobe der Feldprobe wie die Laborprobe, der zerkleinertes Überkornmaterial wieder zugegeben wurde. Die Anwendung der Mindestprobenmasseformel für die Rahmenparameter der Teilprobe kann helfen, die Qualität der Laborprobe zu bewerten.	–
Etwaige Probenteilung	Sofern eine Probenteilung notwendig ist, um mehrere Laboratorien zu bedienen, so ist diese im Rahmen der Massenbilanz darzustellen. Auch Rückstellungen von Probenmaterial sind zu dokumentieren.	–
Aufbewahrung	Verbleib der Laborprobe nach Gewinnung	–
Abschluss der Vorbehandlung	Tag und Uhrzeit	–
Transport inklusive Bedingungen und Start	Örtlichen und zeitliche Rahmenbedingungen des Transports	–
Transportart und verantwortliche Person	Definition der Verantwortungskette	–
Eintreffen am Labor, Ort des Labors, und Übergabe an eine zu benennende verantwortliche Person	–	–

Basierend auf EN 14899 (2005), CEN/TR 15310-1 (2006a), PN 98 (LAGA 2019) und DIN 19747 (2009a).

A.3 Kerninformationen zur Elution von Abfallproben für aquatische Biotests, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann

Art der Information ^a	Erläuterung	Details, Beispiele
Identifikation der untersuchten Abfallprobe	Alle Daten, die zur eindeutigen Identifikation der untersuchten Probe notwendig sind	–
Trockenmasse- und Feuchtegehalt der Abfallprobe	–	–
Probenvorbereitung und -lagerung	Die Proben sollten nicht länger als zwei Monate bei 4±2°C gelagert werden.	–
Probenteilung im Labor (Gewinnung von Prüfproben aus der Laborprobe)	Information zur verwendeten Methode (siehe auch A.2)	–
Richtlinie	Richtliniennummer und -datum	–
Abweichungen von der Richtlinie, falls vorhanden	Kurze Beschreibung der Abweichung(en)	–
Datum der Elution (Auslaugung)	Ermöglicht Rückschlüsse auf das Alter der Abfallprobe bei Elution	–
Eingesetzte Abfallmenge	–	–
Art und Menge des Elutionsmittels (Auslaugungsmittels)	–	–
L/S-Verhältnis	–	–
Zur Elution verwendete(s) Gefäß(e)	Art, Größe, Material	–
Verwendete Schüttelvorrichtung, Einstellung	–	z. B. Überkopfschüttler oder Walzentisch
Temperatur während der Elution	–	–
Zeit zwischen dem Ende des Schüttelvorgangs und dem Beginn der Trennung von fester und flüssiger Phase	–	–

Art der Information ^a	Erläuterung	Details, Beispiele
Trennung von fester und flüssiger Phase	Ausreichend detaillierte Beschreibung: Absetzen, Zentrifugation, Filtration	<u>Absetzen:</u> Dauer, Beobachtungen zur Phasentrennung <u>Bei Durchführung einer Zentrifugation:</u> g-Wert, Dauer, Temperatur <u>Filtration:</u> Filtrationsvorrichtung, Filtermaterial und Porengröße für Vorfilter (wenn eingesetzt) und Hauptfilter, Durchflussrate
Volumen, Leitfähigkeit und pH-Wert des Eluats	–	–
Einstellung des pH-Werts	Wurde der pH-Wert eingestellt? ^a ja/nein (siehe auch nächste Tabelle)	–
Belüftung	Wurde das Eluat belüftet? ja/nein	–

^a Basierend auf DIN EN 12457-2 (DIN EN 2003), DIN EN 14735 (DIN EN 2022). ^b Im ersten, für die HP 14-Einstufung relevanten Testdurchlauf darf der pH-Wert nicht eingestellt werden.

A.4 Kerninformationen zu Biotests, die Berichte enthalten müssen, damit die Behörde die Ergebnisse bewerten kann

Art der Information ^a	Erläuterung	Details, Beispiele
Identifikation der untersuchten Abfallprobe bzw. des Eluats der Abfallprobe	Alle Daten, die zur eindeutigen Identifikation der untersuchten Probe notwendig sind	Ort und Datum der Probenahme, pH, Leitfähigkeit, Wassergehalt (für feste Abfälle)
Probenlagerung	Beschreibung der Lagerungsdauer und -temperatur	–
Probenteilung im Labor (um die Probe für den betreffenden Biotest zu erhalten)	Zur Gewinnung eingesetzte Methode, Datum der Probenteilung	Die Probenmasse sollte nach Möglichkeit größer sein als die Mindestprobenmasse der Laborprobe, die im Rahmen der Probenvorbehandlung ermittelt wurde.
Probenaufbereitung im Labor	Beschreibung der durchgeführten Probenaufbereitungsschritte	z. B. Absiebung auf <2 mm für mikrobiologische Tests mit Bodenorganismen
Methodik		
Testrichtlinie	Richtliniennummer und -datum	–
Abweichungen von der Richtlinie, falls vorhanden	Kurze Beschreibung der Abweichung(en)	–
Testorganismen	Art, Herkunft/Quelle, Chargennummer und Verfallsdatum für Leuchtbakterien, Stamm (Algen, <i>A. globiformis</i>), Klon und Alter (Daphnien), Spannweite des Gewichts (Regenwürmer)	–
Vorbehandlung der Testorganismen	Kultivierung und Vorbereitung für den Test	Lagertemperatur der Vorratssuspension (Leuchtbakterien), Ansatzdatum und Dauer der Vorkultur (Algen), Alter der Stammhälterung (Daphnien)
Datum der Testdurchführung	Ermöglicht Rückschlüsse auf das Alter des Eluats (aquatische Tests) bzw. der Abfallprobe (terrestrische Tests) bei Testbeginn	–

Art der Information ^a	Erläuterung	Details, Beispiele
Einstellung des pH-Werts ^a	<p><u>Wenn ja, detaillierte Informationen:</u> Wurde der pH im Eluat oder in einigen/allen Verdünnungen eingestellt? Mit welcher Säure oder Lauge (Art, Konzentration) wurde der pH eingestellt? Auf welchen pH wurde eingestellt?</p>	–
Getestete Verdünnungsstufen des Eluats bzw. des Abfalls	–	–
Testmedium (aquatische Tests) bzw. -substrat (terrestrische Tests)	Art und Menge (g bzw. ml pro Replik) des Testmediums bzw. -substrats	–
Anzahl Replikate in Kontrolle, ggf. Positivkontrolle (s.u.) und Verdünnungen	–	–
Anzahl Testorganismen pro Replik bzw. Zelldichte (Algen)	–	–
Expositionsgefäße	–	–
Expositionsdauer	–	–
Expositionsbedingungen	Temperatur, Einstellung der Salinität (Leuchtbakterientest), Sauerstoffgehalt und pH-Wert bei Testbeginn (Leuchtbakterientest) bzw. bei Testbeginn und -ende (Algen- und Daphnientest), Lichtintensität und -qualität (Algen- und Pflanzentest), Luftfeuchtigkeit und Gießen (Pflanzentest)	–
Beobachtungen während der Exposition	–	z. B. Präzipitation von Material
Testendpunkt(e)	–	–

Art der Information ^a	Erläuterung	Details, Beispiele
Eingesetztes Verfahren zur Bestimmung des Testendpunktes	Ausreichend detaillierte Beschreibung	z. B. Verfahren zur Biomasse- oder Zelldichtebestimmung, Fluoreszenzmessung von oben oder von unten für den Algentest (DIN 38412-59)
Berücksichtigung einer Farb- oder Fluoreszenzkorrektur	Falls ja: ausreichend detaillierte Beschreibung. Relevant für Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2) und Algentest (DIN 38412-59)	–
Eingesetztes statistisches Verfahren zur Ermittlung der Effektkonzentration (EC ₅₀)	–	–
Alle methodischen Einzelheiten, die in der betreffenden Richtlinie nicht detailliert sind	–	–
Alle Umstände, die ggf. das Ergebnis beeinflusst haben können	–	–
Eingesetzter Referenztest (mit Datum) bzw. eingesetzte Positivkontrollen	Substanz (chemische Bezeichnung, CAS-Nummer, Quelle), Konzentration dieser Substanz	–
Ergebnisse		
Einhaltung der Validitätskriterien (Gültigkeitskriterien)	Aussage zur Einhaltung der Validitätskriterien, Angabe des Ergebnisses zu jedem Validitätskriterium	<u>Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2)</u> : siehe Abschnitt 11 der Testrichtlinie <u>Algentest (DIN 38412-59)</u> : siehe Abschnitt 12 der Testrichtlinie <u>Daphnientest (DIN EN ISO 6341)</u> : siehe Abschnitt 10.2 der Testrichtlinie <u>Feststoffkontakttest mit <i>A. globiformis</i> (ISO 18187)</u> : siehe Abschnitt 9 der Testrichtlinie <u>Wachstumshemmtest mit <i>B. rapa</i> (ISO 11269-2)</u> : siehe Abschnitt 11 der Testrichtlinie <u>Vermeidungstest mit Regenwürmern (ISO 17512-1)</u> : siehe Abschnitt 6 der Testrichtlinie

Art der Information ^a	Erläuterung	Details, Beispiele
Ergebnisse der Referenztests bzw. Positivkontrollen	<u>Leuchtbakterientest:</u> Ergebnisse der Referenztestung für die Vorrats- suspensionscharge und den aktuellen Test <u>Daphnien:</u> Ergebnisse des Referenztests	–
Detaillierte Ergebnisse	Mittelwerte mit Standardabweichung, Daten für jedes Replikat	<u>Leuchtbakterientest (DIN EN ISO 11348-2):</u> siehe Abschnitt 10 der Testrichtlinie <u>Algentest (DIN 38412-59):</u> Fluoreszenzwerte für jeden Well und Zeitpunkt, Wachstumsraten <u>Daphnientest (DIN EN ISO 6341):</u> Anteil der schwimmunfähigen (immobilen) Daphnien (%) <u>Feststoffkontakttest mit <i>A. globiformis</i> (ISO 18187):</u> Relative Fluoreszenz, Hemmung (%) der Dehydrogenase- aktivität <u>Wachstumshemmtest mit <i>B. rapa</i> (ISO 11269-2):</u> Anzahl der aufgelaufenen Keimlinge, Anzahl der Pflanzen und Biomasse bei Ernte <u>Vermeidungstest mit Regenwürmern (ISO 17512-1):</u> siehe Abschnitte 8 und 9 der Testrichtlinie
Informationen zur Konzentrations-Wirkungsbeziehung	Grafische und/oder tabellarische Darstellung	–
Effektkonzentration (EC ₅₀) mit 95%-Konfidenzintervall, soweit möglich	Kurze Begründung, wenn kein Konfidenzintervall angegeben werden kann	–
Beobachtungen an den Testorganismen	–	z. B. Ausbleichen von Algenzellen, abnormales Verhalten von Daphnien (z. B. verlangsamtes Schwimmen, Treiben an der Wasseroberfläche)
Referenz	Autor*innen des Berichts, Untersuchungslabor	–

^a Basierend auf ISO 17512-1 (ISO 2008a), DIN EN ISO 11348-2 (DIN EN ISO 2009), ISO 11269-2 (ISO 2012a), ISO 18187 (ISO 2016a), DIN EN ISO 6341 (DIN EN ISO 2023), DIN 38412-59 (DIN 2022). ^b Im ersten, für die HP 14-Einstufung relevanten Testdurchlauf darf der pH-Wert nicht eingestellt werden.