

E DIN EN ISO 10253:2023-04 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2023-03-17

Wasserbeschaffenheit - Wachstumshemmtest mit marinen Algen *Skeletonema* sp. und *Phaeodactylum tricornutum* (ISO/DIS 10253:2023); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 10253:2023

Water quality - Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema* sp. and *Phaeodactylum tricornutum* (ISO/DIS 10253:2023); German and English version prEN ISO 10253:2023

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort	5
Vorwort	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Grundlage des Verfahrens	8
5 Arbeitsmittel	9
5.1 Testorganismen	9
5.2 Reagenzien	10
5.2.1 Wasser	10
5.2.2 Synthetisches Meerwasser	10
5.2.3 Nährstoffe	11
6 Geräte	11
7 Durchführung	12
7.1 Herstellung des Nährmediums	12
7.2 Herstellung der Vorkultur und des Inokulums	12
7.3 Wahl der Testkonzentrationen	13
7.4 Herstellung der Testsubstanz-Stammlösungen	13
7.5 Herstellung der Test- und Kontrollansätze	13
7.6 Inkubation	14
7.7 Messungen	14
8 Gültigkeitskriterien	14
9 Auswertung der Daten	15
9.1 Auftragen von Wachstumskurven	15
9.2 Berechnung der prozentualen Hemmung	15
9.3 Bestimmung von $EC(r)_x$	16
10 Angabe der Ergebnisse	16
11 Auswertung der Ergebnisse	16
12 Untersuchungsbericht	16
Anhang A (informativ) Herstellung von Verdünnungsreihen von Proben in Meerwasser (Abwässer oder Eluate)	18
A.1 Allgemeines	18
A.2 Herstellung eines konzentrierten Nährmediums	18
A.3 Herstellung einer Verdünnungsreihe der Testmedien	18
Anhang B (informativ) Auf gelagerten Algen-Inokula beruhende Testverfahren mit direkter Messung des Algenwachstums in Spektralphotometer-Küvetten	20
B.1 Allgemeines	20
B.2 Grundlage des Verfahrens	20
B.3 Materialien	20
B.3.1 Testorganismen	20
B.3.2 Nährstoffe	20
B.3.3 Algen-Inokulum	20
B.4 Geräte	21
B.5 Laborausrüstung	21
B.6 Durchführung des Tests	21

B.6.1	Vorkultivieren der Algen	21
B.6.2	Bestimmung des Verhältnisses „optische Dichte (OD) und Algenanzahl (N)“ für spektralphotometrische Messungen in Lang-Küvetten	22
B.6.3	Herstellung des konzentrierten Algen-Inokulums	22
B.6.4	Herstellung einer Verdünnungsreihe für die Prüfung von giftigen Substanzen	23
B.6.5	Umfüllen der für Algen giftigen Lösungen in Test-Lang-Küvetten	23
B.6.6	Inkubation der Testgefäße	23
B.6.7	Messungen	24
B.6.8	Tests mit gefärbten, natürlichen Proben	24
B.6.9	Messung des pH-Werts	24
B.7	Berechnung der prozentualen Hemmung	24
B.8	Gültigkeitskriterien	24
B.9	Präzision	24
B.10	Untersuchungsbericht	26
Anhang C (informativ) Verfahrenskenndaten		27
Anhang D (informativ) Mariner Algen-Wachstumshemmtest mit <i>Phaeodactylum tricornutum</i> in 24-Well-Mikrotiterplatten		28
D.1	Allgemeines	28
D.2	Grundlage des Verfahrens	28
D.3	Material	29
D.3.1	Testorganismus	29
D.3.2	Referenzsubstanz	29
D.3.3	Labormaterial	29
D.4	Geräte	29
D.4.1	Mikrotiterplatten-Fluorometer	29
D.4.2	Orbitalschüttler für Mikrotiterplatten	29
D.5	Durchführung	29
D.5.1	Herstellung des Nährmediums	29
D.5.2	Herstellung eines konzentrierten Nährmediums	29
D.5.3	Vorkultivierung der Algen und des Inokulums	30
D.5.4	Vorbereitung der Verdünnungsreihen der Testsubstanz	30
D.5.5	Versuchsaufbau – Anzahl der Mikrotiterplatten und Belegung der Wells	30
D.5.6	Vorbereitung der Test- und Kontrollansätze	31
D.5.7	Vorbereitung der Inkubation	32
D.5.8	Messungen und Inkubation	33
D.6	Berechnung der prozentualen Hemmung	34
D.7	Gültigkeitskriterien	34
D.8	Untersuchungsbericht	34
D.9	Verfahrenskenndaten	34
Literaturhinweise		38

Bilder

Bild B.1 — Diagramm zur Berechnung des Verdünnungsfaktors zur Herstellung einer konzentrierten Suspension von 10^6 Algen je Milliliter	23
Bild D.1 — Beispiel für einen Testaufbau mit zwei Mikrotiterplatten und Belegung der Wells	31

Tabellen

Tabelle 1 — Synthetisches Meerwasser	10
Tabelle 2 — Nährstoff-Stammlösungen	11
Tabelle A.1 — Herstellung von Verdünnungsreihen – Konzentration des Test- und Kontrollansatzes	18
Tabelle B.1 — Ergebnisse der Prüfungen der Wiederholpräzision	24
Tabelle B.2 — Mittelwerte für $EC(r)_{50}$	26
Tabelle C.1 — Ergebnisse des Ringversuchs	27
Tabelle D.1 — Zusammensetzung der negativen Kontroll- und Testansätze auf 24-Well-Mikrotiterplatten (2 ml Gesamtvolumen)	31
Tabelle D.2 — Volumen für jeden Blindwert	32

Tabelle D.3 — Einstellungen für die Fluoreszenzmessung	33
Tabelle D.4 — Konzentrationsreihe (C) von 3,5-Dichlorphenol, die im Validierungs-Ringversuch verwendet wurde [8]	34
Tabelle D.5 — Wachstumsraten je Tag der Negativkontrollen	36
Tabelle D.6 — Wiederholte und mittlere EC(r)₅₀-Werte und ihre 95 %- Konfidenzintervalle (CI) für 3,5-Dichlorphenol, ermittelt in Tests in Erlenmeyerkolben und 24-Well-Mikrotiterplatten	37