

DIN EN ISO 10253:2025-07 (D)

Wasserbeschaffenheit - Wachstumshemmtest mit marinen Algen *Skeletonema* sp. und *Phaeodactylum tricornutum* (ISO 10253:2024); Deutsche Fassung EN ISO 10253:2024

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	10
Vorwort.....	11
1 Anwendungsbereich.....	12
2 Normative Verweisungen	12
3 Begriffe	12
4 Grundlage des Verfahrens	13
5 Arbeitsmittel.....	14
5.1 Testorganismen	14
5.2 Reagenzien	15
5.2.1 Wasser.....	15
5.2.2 Salzsäure oder Natriumhydroxid-Lösung	15
5.2.3 Synthetisches Meerwasser	15
5.2.4 Nährstoff-Stammlösung.....	16
6 Geräte.....	17
7 Durchführung	18
7.1 Herstellung des Nährmediums	18
7.2 Herstellung der Vorkultur und des Inokulums	18
7.3 Wahl der Testkonzentrationen.....	18
7.4 Herstellung der Testsubstanz-Stammlösungen	19
7.5 Herstellung der Test- und Kontrollansätze	19
7.6 Inkubation	19
7.7 Messungen	20
8 Gültigkeitskriterien.....	20
9 Auswertung der Daten.....	21
9.1 Auftragen von Wachstumskurven	21
9.2 Berechnung der prozentualen Hemmung.....	21
9.3 Bestimmung von $EC(r)_x$	22
10 Angabe der Ergebnisse	22
11 Auswertung der Ergebnisse	22
12 Untersuchungsbericht	22
Anhang A (informativ) Herstellung von Verdünnungsreihen von Proben in Meerwasser (Abwässer oder Eluate).....	24
A.1 Allgemeines.....	24
A.2 Herstellung eines konzentrierten Nährmediums.....	24
A.3 Herstellung einer Verdünnungsreihe der Testmedien.....	24
Anhang B (informativ) Auf gelagerten Algen-Inokula beruhende Testverfahren mit direkter Messung des Algenwachstums in Spektralphotometer-Küvetten.....	26
B.1 Allgemeines.....	26
B.2 Grundlage des Verfahrens	26

B.3	Materialien	26
B.3.1	Testorganismen	26
B.3.2	Nährstoffe	26
B.3.3	Algen-Inokulum	27
B.4	Geräte	27
B.5	Laborausrüstung	27
B.6	Durchführung des Tests	28
B.6.1	Vorkultivieren der Algen	28
B.6.2	Bestimmung des Verhältnisses „optische Dichte (OD) und Algenanzahl (N)“ für spektralphotometrische Messungen in Lang-Küvetten	28
B.6.3	Herstellung des konzentrierten Algen-Inokulums	29
B.6.4	Herstellung einer Verdünnungsreihe für die Prüfung von giftigen Substanzen	29
B.6.5	Umfüllen der für Algen giftigen Lösungen in Test-Lang-Küvetten	29
B.6.6	Inkubation der Testgefäße	30
B.6.7	Messungen	30
B.6.8	Tests mit gefärbten, natürlichen Proben	30
B.6.9	Messung des pH-Werts	30
B.7	Berechnung der prozentualen Hemmung	30
B.8	Gültigkeitskriterien	30
B.9	Präzision	31
B.10	Untersuchungsbericht	32
Anhang C (informativ) Verfahrenskenndaten		33
Anhang D (informativ) Mariner Algen-Wachstumshemmtest mit <i>Phaeodactylum tricornutum</i> in 24-Well-Mikrotiterplatten		34
D.1	Allgemeines	34
D.2	Grundlage des Verfahrens	34
D.3	Material	35
D.3.1	Testorganismus	35
D.3.2	Referenzsubstanz	35
D.3.3	Labormaterial	35
D.4	Geräte	35
D.4.1	Mikrotiterplatten-Fluorometer	35
D.4.2	Orbitalschüttler für 24-Well-Mikrotiterplatten	35
D.5	Durchführung	35
D.5.1	Herstellung des Nährmediums	35
D.5.2	Herstellung eines konzentrierten Nährmediums	36
D.5.3	Vorkultivierung der Algen und des Inokulums	36
D.5.4	Vorbereitung der Verdünnungsreihen der Testsubstanz	36
D.5.5	Versuchsaufbau – Anzahl der 24-Well-Mikrotiterplatten und Belegung der Wells	36
D.5.6	Vorbereitung der Test- und Kontrollansätze	37
D.5.7	Vorbereitung der Inkubation	39
D.5.8	Messungen und Inkubation	39
D.6	Berechnung der prozentualen Hemmung	40
D.7	Gültigkeitskriterien	40
D.8	Untersuchungsbericht	41
D.9	Verfahrenskenndaten	41
Literaturhinweise		44
Bilder		
Bild B.1	— Diagramm zur Berechnung des Verdünnungsfaktors zur Herstellung einer konzentrierten Suspension von 10^6 Algen ml^{-1}	29
Bild D.1	— Beispiel für einen Testaufbau mit zwei 24-Well-Mikrotiterplatten und Belegung der Wells der Test- und Kontrollansätze	37

Tabellen

Tabelle 1 — Synthetisches Meerwasser	16
Tabelle 2 — Nährstoff-Stammlösungen	16
Tabelle A.1 — Herstellung von Verdünnungsreihen - Konzentration des Test- und Kontrollansatzes	25
Tabelle B.1 — Ergebnisse der Prüfungen der Wiederholpräzision.....	31
Tabelle B.2 — Verfahrenskenndaten für $EC(r)_{50}$	32
Tabelle C.1 — Ergebnisse des Ringversuchs	33
Tabelle D.1 — Zusammensetzung der negativen Kontroll- und Testansätze auf 24-Well-Mikrotiterplatten (2 ml Gesamtvolumen)	38
Tabelle D.2 — Zusammensetzung der Blindwerte auf 24-Well-Mikrotiterplatten (2 ml Gesamtvolumen).....	38
Tabelle D.3 — Einstellungen für die Fluoreszenzmessung	39
Tabelle D.4 — Konzentrationsreihe (C) von 3,5-Dichlorphenol, die im Validierungsringversuch verwendet wurde [8]	41
Tabelle D.5 — Wachstumsraten je Tag der Negativkontrollen.....	42
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.....	43