DIN 38412-59:2022-12 (D)

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Teil 59: Algenwachstumshemmtest auf Mikrotiterplatte mit einzelligen Süßwasser-Grünalgen (L 59)

Inhalt

Seite

Vorwort ... 4

1 Anwendungsbereich ... 6

2 Normative Verweisungen ... 6

3 Begriffe ... 6

4 Störungen ... 9

5 Grundlage des Verfahrens ... 9

6 Bezeichnung ... 10

7 Reagenzien, Medien und Verdünnungen ... 10

8 Testorganismus ... 13

9 Geräte und Materialien ... 14

10 Probenvorbereitung ... 15

11 Durchführung ... 16
11.1 Herstellung von 10-fach konzentriertem Wachstumsmedium ... 16
11.2 Herstellung des Wachstumsmediums für die Vorkultur und für das Inokulum ... 17
11.3 Herstellung der Vorkultur und des Inokulums ... 17
11.4 Vorbereitung von Testansatz und Kontrolle ... 17
11.5 Inkubation ... 20
11.6 Messungen ... 20

12 Berechnungen ... 21
12.1 Allgemeines ... 21
12.2 Berechnung der Wachstumsrate und der prozentualen Hemmung ... 21
12.3 Berechnung des mittleren Variationskoeffizienten der abschnittsweisen spezifischen Wachstumsrate ... 23
12.4 Berechnung des Variationskoeffizienten der Wachstumsrate in den Kontrollen nach 72 h ... 24
12.5 Bestimmung von $EC(r)_x$ (z. B. $EC(r)_{10}$ und $EC(r)_{50}$) ... 24
12.6 Bestimmung der geringsten nicht wirksamen Verdünnung (G-Wert) ... 24

13 Gültigkeitskriterien ... 25

14 Angabe der Ergebnisse ... 25

15 Untersuchungsbericht ... 25

16 Verfahrenskenndaten ... 27

Anhang A (informativ) Verfahrenskenndaten ... 28

Anhang B (informativ) Bezugsquellen für die Testorganismen ... 31

Anhang C (informativ) Beispiel für die Berechnung von Wachstumsrate und Wachstumsratenhemmung auf einer 24-Well-Mikrotiterplatte und zur Bestimmung der Gültigkeitskriterien ... 33

C.1 Beispieldaten ... 33
C.2 Beispiel für die Berechnung der durchschnittlichen spezifischen Wachstumsrate μ_1 für die Kontollreplikate (A1 bis A3) nach 72 h (= 3 d) Inkubation [Gleichung (1)] ... 37
C.3 Beispiel für die Berechnung der durchschnittlichen spezifischen Wachstumsrate μ_1 für die Positivkontrollreplikate (D1 bis D3) nach 72 h (= 3 d) Inkubation [Gleichung (1)] ... 37
C.4 Beispiel für die Berechnung der durchschnittlichen spezifischen Wachstumsrate μ_2 für die Testansatzreplikate (B4 bis B6) nach 72 h (= 3 d) Inkubation [Gleichung (2)] ... 38
C.5 Beispiel für die Berechnung für die prozentuale Hemmung der Wachstumsrate der Positivkontrolle nach 72 h (= 3 d) Inkubation [Gleichung (3)] ... 39
C.6 Berechnung der prozentualen Hemmung der Wachstumsrate der Probenverdünnung PV 1 : 2 nach 72 h (= 3 d) Inkubation [Gleichung (3)] ... 39
C.7 Bestimmung der Gültigkeitskriterien (Abschnitt 13) ... 39

Anhang D (informativ) Darstellung von Wachstumskurven ... 43

Anhang E (informativ) Herstellung der Vorkultur ... 44

Literaturhinweise ... 45

Tabellen

Tabelle 1 — Konzentration der Nährstoffe in den Stammlösungen und im Testansatz [1] ... 12

Tabelle 2 — Beispiel für die Zusammensetzung von Blindproben, Kontrollen und Testansätzen auf 24-Well-Mikrotiterplatten ... 19

Tabelle 3 — Beispiel für die Anordnung von Blindproben, Kontrollen und Testansätzen auf einer 24-Well-Mikrotiterplatte ... 20

Tabelle A.1 — Ergebnisse des Validierungsringversuchs für $EC(r)_{50}$ und G-Wert bei Verwendung von Abwasserproben sowie 3,5-Dichlorophenol (3,5-DCP) und Kaliumdichromat ($K_2Cr_2O_7$) für *Desmodesmus subspicatus* ... 29

Tabelle A.2 — Ergebnisse des Validierungsringversuchs für $EC(r)_{50}$ und G-Wert bei Verwendung von Abwasserproben sowie 3,5-Dichlorophenol (3,5-DCP) und Kaliumdichromat ($K_2Cr_2O_7$) für *Raphidocelis subcapitata* ... 30

Tabelle C.1 — Anordnung von Blindprobe-, Kontroll- und Testansätzen auf einer 24-Well-Mikrotiterplatte ... 33

Tabelle C.2 — Fluoreszenzeinheiten nach 0 h, 24 h, 48 h und 72 h Inkubation ... 34

Tabelle C.3 — Durchschnittliche spezifische Wachstumsrate nach 0 h, 24 h, 48 h und 72 h Inkubation ... 35

Tabelle C.4 — Hemmung der spezifischen Wachstumsrate, in %, nach 0 h, 24 h, 48 h und 72 h Inkubation ... 36

Tabelle C.5 — Abschnittsweise spezifische Wachstumsrate μ_1 für die Kontrollreplikate A1 bis A3 sowie abschnittsweiser Variationskoeffizient $CV\%_R$ und mittlerer Variationskoeffizient $CV\%_{Rm}$ ... 40

Tabelle C.6 — Variationskoeffizient $CV\%_{72h}$ der Wachstumsrate in den Kontrollen A1 bis A3 nach 72 h ... 41