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 *Phaeodactylum tricornutum* 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**