

ICS 13.060.01

German standard methods for the examination of water, waste water and sludge — Bio assays (group L) — Part 37: Determination of the inhibitory effect of water on the growth of bacteria (Photobacterium phosphoreum cell multiplication inhibition test) (L 37)

Méthodes normalisées allemandes pour l'analyse des eaux, des eaux résiduaires et des boues — Essais biologiques (groupe L) — Partie 37: Dosage de l'effet inhibiteur des eaux sur la croissance des bactéries (test d'inhibition de multiplication cellulaire de Photobacterium phosphoreum) (L 37)

Vorwort

Diese Norm wurde gemeinsam mit der Fachgruppe Wasserchemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker aufgestellt (siehe Anhang B).

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Zu DIN 38412 „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)“ gehören weitere Teile. Eine Übersicht der Gruppen A bis T der „Deutschen Einheitsverfahren“ enthält Anhang B.

Anhang A und Anhang B sind informativ.

Einleitung

Als Testorganismus dient das Bakterium Photobacterium phosphoreum, ein fakultativ anaerobes, gramnegatives Stäbchen mit polarer Begeißelung, das zur Familie der Vibrionaceae (Eubacteria) gehört. Als marines Bakterium ist es halophil.

1 Anwendungsbereich

Das Verfahren gilt für die Bestimmung der Toxizität von Wässern.

Fortsetzung Seite 2 bis 12

Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation.

DIN 12036

Laborgeräte aus Glas — Enghals-Standflaschen mit Kegelschliff und Stopfen

DIN 12380

Laborgeräte aus Glas — Erlenmeyerkolben — enghalsig

DIN 12664-1

Laborgeräte aus Glas — Meßkolben mit einer Marke — Meßkolben mit Bördelrand, Kegelhülse und Kegelschliffverbindung

DIN 12680-2

Laborgeräte aus Glas — Meßzylinder mit Hauptpunkte-Ringteilung

DIN 12697

Laborgeräte aus Glas — Meßpipetten, schnellablaufend, Wartezeit 15 Sekunden, Klasse AS

DIN 12775

Laborgeräte aus Glas — Laborthermometer, Skalenwerte 0,1 °C, 0,2 °C und 0,5 °C

DIN 58945-1

Brutschränke für mikrobiologische Zwecke — Begriffe, Anforderungen, Anwendung

DIN EN 285

Sterilisatoren — Dampf-Sterilisatoren — Groß-Sterilisatoren;
Deutsche Fassung EN 285 : 1996

DIN EN 27027

Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Trübung (ISO 7027 : 1990);
Deutsche Fassung EN 27027 : 1994

[1] Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1: Krieg, N.R., Holt, J.G. (eds); Family II: Vibrionaceae pp. 516–545 (1984), Williams & Wilkins, Baltimore, London.

3 Definitionen

Für die Anwendung dieser Norm gelten die folgenden Definitionen:

3.1 Zellvermehrung: Zunahme der Zellanzahl während der Versuchsdauer.

3.2 Konzentrations-Wirkungsbeziehung: Abhängigkeit der Hemmwirkung auf die Zellvermehrung von der Verdünnungsstufe des Testguts.

ANMERKUNG: Sie wird üblicherweise graphisch dargestellt, indem die Werte für die Hemmwirkung auf der Ordinate und die Verdünnungsstufen auf der Abszisse aufgetragen werden.

3.3 Stammkultur: Kultur einer Bakterienart zur Bewahrung des ursprünglichen Teststamms im Laboratorium und zur Bereitstellung des Impfmateri als für die Vorkultur.

3.4 Vorkultur: Bakterienkultur zur Anpassung der Testbakterien an die Testbedingungen und zur Anzucht des Inokulums für den Testansatz.

3.5 Einsaat; Inokulum; Impfmateri al: Zum Animpfen einer Kultur verwendete Bakterien.

ANMERKUNG: Zur Beimpfung der Test- und Kontrollansätze wird dieses Inokulum einer wachsenden Vorkultur entnommen.

3.6 Nährmedium: Wäßrige Lösung von Nährstoffen, die für das Bakterienwachstum notwendig sind.

3.7 Testmedium: Mischung aus Testgut, Verdünnungswasser und Nährmedium.

3.8 Testgut: Die zu untersuchende Probe nach Abschluß aller Vorbereitungsschritte (z. B. Aufsalzen, pH-Wert-Einstellung).

3.9 Ansatz zur Blindwertbestimmung: Testansatz bzw. Kontrollansatz ohne Inokulum.

3.10 Testansatz: Mischung aus Testgut, Verdünnungswasser, Nährmedium und Inokulum.

3.11 Kontrollansatz: Mischung aus Verdünnungswasser, Nährmedium und Inokulum (ohne Testgut).

3.12 Trübungseinheiten Formazin (FAU) ^{*)}: Maßeinheit der optischen Dichte der Bakteriensuspension nach DIN EN 27027.

ANMERKUNG: Beim Bakterientest wird in der Regel die Extinktion der monochromatischen Meßstrahlung bei 436 nm in FAU kalibriert. Es kann auch bei anderen Wellenlängen, z. B. 578 nm, kalibriert und gemessen werden.

3.13 Verdünnungsstufe G : Im Sinne dieser Norm Kehrwert des Volumenanteils an Testgut im Testansatz.

3.14 G_{LW} -Wert: Kleinster Wert von G des Testansatzes, in dem unter den Bedingungen dieses Verfahrens die Zellvermehrung um < 20 % gehemmt wird.

ANMERKUNG: Der Index LW steht für Leuchtbakterienwachstum.

^{*)} Formazine Absorption Units

4 Grundlage des Verfahrens

Die Testbakterien werden unter festgelegten Bedingungen in einem definierten Nährmedium in verschiedenen Verdünnungsstufen des Testguts über mehrere Generationen kultiviert; dabei können Wasserinhaltsstoffe in Abhängigkeit von ihrer Konzentration die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien hemmen. Es wird die innerhalb von (7 ± 1) h eintretende chronische Wirkung des Testguts auf Bakterien bestimmt.

Aus dem Vergleich der Zellvermehrung unter den Versuchsbedingungen mit und ohne Einwirkung des Testguts ergibt sich die Hemmwirkung. Sie ist ein Maß für die Toxizität des Testguts gegenüber den Testbakterien.

Ermittelt wird die Zellanzahl je Volumeneinheit nach einer Testzeit von (7 ± 1) h. Als Maß für die Zellanzahl je Volumeneinheit gilt die Trübung, ermittelt in Trübungseinheiten Formazin.

5 Störungen

Nicht gelöste Stoffanteile oder Stoffe, die mit der Nährlösung reagieren oder während des Testverlaufs ihren Zustand ändern (z. B. durch Ausflocken, biochemischen oder photochemischen Abbau), können das Testergebnis verfälschen und/oder die Reproduzierbarkeit beeinträchtigen. Dies kann auch bei stark gefärbtem Testgut oder bakteriellen Kontaminationen möglich sein.

6 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens zur Bestimmung der Hemmwirkung von Wasser auf das Wachstum von Bakterien (Photobacterium-phosphoreum-Zellvermehrungs-Hemmtest) (L 37):

Verfahren DIN 38412 — L 37

7 Testorganismus

Photobacterium phosphoreum NRRLB-11177¹⁾, gramnegatives, fakultativ anaerobes Stäbchen (Durchmesser 0,8 bis 1,3 μm , Länge 1,8 bis 2,4 μm) mit polarer Begeißelung, das zur Familie der Vibrionaceae (Eubacteria) gehört. Es kommt im Meerwasser oder assoziiert an Meerestieren vor²⁾.

8 Geräte

Alle Geräte und Verschlüsse, die mit den Kulturen in Kontakt kommen, sind vor Gebrauch zu sterilisieren, sofern sie nicht zusammen mit dem Nährmedium sterilisiert werden.

— Standflaschen, Nennvolumen 500 ml und 1 000 ml, z. B.
Standflasche DIN 12036 — E 500

— Einrichtung, um Bakterien in Suspension zu halten, z. B. Schüttelgerät

¹⁾ Nach [1]: Vibrio fischeri

²⁾ Über Bezugsquellen gibt Auskunft: Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im DIN, 10772 Berlin