

DIN 51441

ICS 07.100.99; 75.160.20

**Prüfung von Mineralölerzeugnissen –
Bestimmung der Kolonienzahl in Mineralölerzeugnissen im
Siedebereich unterhalb von 400 °C**

Testing of mineral products –

Determination of the microbial colony number in petroleum products with a boiling range below 400 °C

Essai des produits pétroliers –

Détermination du nombre de microorganismes viables dans les produits pétroliers de point d'ébullition inférieur à 400 °C

Gesamtumfang 12 Seiten

Normenausschuss Materialprüfung (NMP) im DIN
Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des NMP

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	3
2 Normative Verweisungen	3
3 Kurzbeschreibung des Verfahrens	4
4 Chemikalien	4
5 Geräte und Prüfmittel	4
6 Nährböden	5
7 Vorbereitung der Geräte	6
8 Probenahme	7
9 Durchführung	7
10 Auswertung	9
11 Ergebnisangabe	9
12 Präzision	11
13 Entsorgung der Nährböden	12

Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuss NA 062-06-42 AA „Prüfung von flüssigen Kraftstoffen und Heizölen“ im Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des Normenausschusses Materialprüfung (NMP) ausgearbeitet.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren fest zur Bestimmung lebender Mikroorganismen wie Bakterien, Hefen und Pilze in flüssigen Mineralölprodukten wie z. B. Heizöl, Dieselmotorkraftstoff, Fluggasturbinenkraftstoff und FAME (Fatty Acid Methyl Esters) und deren Komponenten im Siedebereich unterhalb von 400 °C sowie die mit diesen Produkten in Kontakt stehenden wässrigen Phasen.

Der Messbereich dieses Verfahrens umfasst den Bereich 220 cfu/l bis 10^6 cfu/l für die Mineralöl-Phase und den Bereich 10 cfu/ml bis 10^6 cfu/ml für die wässrige Phase.

ANMERKUNG cfu: colony forming units.

In Gegenwart von Wasser kann es in Mitteldestillat-Lagertanks zu übermäßigem Wachstum von allgegenwärtigen Mikroorganismen (Bakterien, Hefen und Pilzen) kommen. Hierdurch kann eine Vielzahl von Problemen in der Infrastruktur sowie in Fahrzeugen durch Korrosion und/oder Filterverstopfungen verursacht werden.

Diese Norm legt die Probenahme, die Bestimmung sowie die Auswertung der mikrobiologischen Belastung (Keimzahl), bestehend aus Bakterien, Hefen und Pilzen in den im ersten Absatz genannten Erzeugnissen, fest.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 1333, *Zahlenangaben*

DIN 12697, *Laborgeräte aus Glas — Messpipetten, schnellablaufend, Wartezeit 15 Sekunden, Klasse AS*

DIN 12699, *Laborgeräte aus Glas — Enzymtest-Messpipetten, schnellablaufend, Wartezeit 15 Sekunden, Klasse AS*

DIN 51750-2, *Prüfung von Mineralölen — Probenahme — Teil 2: Flüssige Stoffe*

DIN 58945-1, *Brutschränke für mikrobiologische Zwecke — Teil 1: Begriffe, Anforderungen, Anwendung*

DIN EN ISO 4788, *Laborgeräte aus Glas — Messzylinder und Mischzylinder*

3 Kurzbeschreibung des Verfahrens

Ein Probenteil (90 ml) wird mit 10 ml einer Salzlösung (viertelstarke Ringer-Lösung, siehe 4.2) ausgeschüttelt. Mit Hilfe einer sterilen Pipette werden anschließend 0,1 ml, 0,2 ml oder 0,5 ml der erhaltenen wässrigen Phase auf geeignete Nährböden aufgetragen. Der beimpfte Nährboden wird mindestens 72 h bis maximal 120 h in einem Brutschrank bei 25 °C bis 27 °C bebrütet.

Unter diesen Bedingungen entwickeln sich die vorhandenen Mikroorganismen so, dass sie durch Auszählen erfasst werden können. Die Anzahl der gebildeten Bakterien, Hefen und Pilze lässt Rückschlüsse auf die Belastung der Probe mit Mikroorganismen zu.

4 Chemikalien

4.1 Alkalische Reinigungslösung

4.2 keimfreie Salzlösung (viertelstarke Ringer-Lösung), die in einem keimfreien Gebinde bei einer dunklen Lagerung max. 4 Wochen verwendbar ist. Diese Salzlösung hat die Zusammensetzung:

— Natriumchlorid, NaCl	2,25 g
— Kaliumchlorid, KCl	0,105 g
— Calciumchlorid $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$	0,12 g
— Natriumhydrogencarbonat, p.a.	0,05 g
— Wasser, bidestilliert	1 l

Die Salzmischung ist in Tablettenform auch im Handel erhältlich. In diesem Teil wird die Salzlösung durch Auflösen von zwei Ringertabletten in 1 l bidestilliertem Wasser hergestellt. Das verwendete Wasser darf nicht aus einem Ionentauscher entnommen werden. Die resultierende Lösung, üblicherweise Ringerlösung genannt, muss keimfrei sein, was durch entsprechende Sterilisation in einem Autoklaven bei etwa 120 °C erreicht werden kann.

4.3 n-Heptan oder Petroleumbenzin (Siedebereich 40 °C bis 80 °C), reinst

4.4 Aceton, technisch

4.5 Stickstoff, Massenanteil $w \geq 99,9 \%$

4.6 Salzsäure, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$

4.7 Natriumhydroxid-Lösung, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$

5 Geräte und Prüfmittel

5.1 Messpipette 1,0 ml, nach DIN 12697 oder DIN 12699 mit blauem Farbstreifen, Skalenteilungswert 0,01 ml, Klasse AS (schnell ablaufend aus durchsichtigem Glas). Alternativ darf auch eine Einwegspritze mit langer, steriler Einwegkanüle verwendet werden.

5.2 Glasstäbe etwa 20 cm lang, Durchmesser etwa 3 mm, wobei 2 cm des Glasstabes mit Hilfe des Gasbrenners (siehe 4.4) im rechten Winkel abzubiegen sind

5.3 Mischzylinder mit Glasstopfen, Nennvolumen, Skalenteilungswert 1 ml, z. B. nach DIN EN ISO 4788