

	Wasserbeschaffenheit Probenahme Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (ISO 5667-16 : 1998) Deutsche Fassung EN ISO 5667-16 : 1998	 EN ISO 5667-16
--	--	--

ICS 13.060.70

Ersatz für
DIN 38412-1 : 1982-06

Deskriptoren: Wasserbeschaffenheit, Probenahme, biologische Prüfung, Testverfahren

Water quality — Sampling — Part 16: Guidance on biotesting of samples
(ISO 5667-16 : 1998); German version EN ISO 5667-16 : 1998

Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 16: Lignes directrices pour les
essais biologiques des échantillons (ISO 5667-16 : 1998); Version allemande
EN ISO 5667-16 : 1998

Die Europäische Norm EN ISO 5667-16 : 1998 hat den Status einer Deutschen Norm.

Diese Norm ist Bestandteil der Reihe

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammunter-
suchung

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

und beschreibt das Verfahren

Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (L 1)

Nationales Vorwort

Die Internationale Norm ISO 5667-16, die vom ISO/TC 147 „Wasserbeschaffenheit“ (Sekretariat: Deutschland) erarbeitet wurde, wurde vom CEN aufgrund der Ergebnisse der auf der Basis der Wiener Vereinbarung durchgeführten Parallelumfrage und der formellen Abstimmung ohne Änderungen als Europäische Norm EN ISO 5667-16 übernommen.

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.

Die als DIN-Normen veröffentlichten Einheitsverfahren sind beim Beuth Verlag einzeln oder zusammengefaßt erhältlich. Außerdem werden die genormten Einheitsverfahren in der Loseblatt-Sammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam vom Beuth Verlag GmbH und von dem WILEY-VCH Verlag publiziert. Alle für die Abwasserverordnung (AbwV) — enthaltenen in der neuen Verordnung zu § 7a des Gesetzes zur Ordnung des Wasserhaushaltes (WHG) über „Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer und zur Anpassung des Abwasserabgabengesetzes“ — relevanten Einheitsverfahren sind zusammen mit der AbwV und dem WHG und allen noch fortgeltenden Abwasserverwaltungsvorschriften als Loseblattsammlung mit dem Ergänzungsband 1 (DIN-Normen) und dem Ergänzungsband 2 (DIN-EN- und DIN-EN-ISO-Normen) herausgegeben worden.

Fortsetzung Seite 2 und 3
und 45 Seiten EN

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

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel

„Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“
sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)	(DIN 38402)
Sensorische Verfahren (Gruppe B)	(DIN 38403)
Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)	(DIN 38404)
Anionen (Gruppe D)	(DIN 38405)
Kationen (Gruppe E)	(DIN 38406)
Gemeinsam erfaßbare Stoffgruppen (Gruppe F)	(DIN 38407)
Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)	(DIN 38408)
Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)	(DIN 38409)
Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)	(DIN 38410)
Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)	(DIN 38411)
Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)	(DIN 38412)
Einzelkomponenten (Gruppe P)	(DIN 38413)
Schlamm und Sedimente (Gruppe S)	(DIN 38414)
Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)	(DIN 38415)

Außer den in der Reihe DIN 38402 bis DIN 38415 genormten Untersuchungsverfahren liegen eine Reihe Europäischer und Internationaler Normen als DIN-EN-, DIN-EN-ISO- und DIN-ISO-Normen vor, die ebenfalls Bestandteil der „Deutschen Einheitsverfahren“ sind.

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Telefon (0 30) 26 01 – 24 23, oder der Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstraße 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Für die im Abschnitt 2 zitierten Internationalen Normen wird im folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 5667-3 siehe DIN EN ISO 5667-3

Änderungen

Gegenüber DIN 38412-1 : 1982-06 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Der Titel wurde geändert;
- b) Änderungen hinsichtlich Planung, Durchführung und Auswertung biologischer Testverfahren;
- c) Erweiterungen um Hinweise zur Prüfung von schwerlöslichen und durch Abbau, Ausfällung, Flüchtigkeit u. a. eliminierbare, getrübbte und gefärbte Proben, Prinzipien der Prüfung der Abbaubarkeit, der Bioakkumulation und der Qualitätssicherung.

Frühere Ausgaben

DIN 38412-1: 1982-06

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 5667-3

Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 3: Anleitung zur Konservierung und Handhabung von Proben (ISO 5667-3 : 1994); Deutsche Fassung
EN ISO 5667-3 : 1995

— Leerseite —

ICS 13.060.70

Deskriptoren: Wasser, Beschaffenheit, Wasserverunreinigung, Biotests, Bioassay, Probenahme, Proben, Probenahme-ausrüstung, Regeln (Anleitungen)

Deutsche Fassung

Wasserbeschaffenheit

Probenahme

Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer
Testverfahren (ISO 5667-16 : 1998)

Water quality — Sampling — Part 16: Guidance on
biotesting of samples (ISO 5667-16 : 1998)

Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 16: Lignes
directrices pour les essais biologiques des échantillons
(ISO 5667-16 : 1998)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 1. Oktober 1998 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist.

Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Zentralsekretariat oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Zentralsekretariat mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
European Committee for Standardization
Comité Européen de Normalisation

Zentralsekretariat: rue de Stassart 36, B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
Einleitung	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	5
3 Probenahme	5
4 Transport	7
5 Konservierung und Aufbewahrung	7
6 Geräte und Ausrüstung	8
7 Vorbehandlung und Vorbereitung von Proben	8
8 Behandlung der Proben während des Tests	17
9 Generelle Hinweise zur Testkonzeption	19
10 Spezielle Hinweise zur Testdurchführung	22
11 Spezielle biologische Tests	25
12 Auswertung	30
13 Angabe der Ergebnisse	34
14 Untersuchungsbericht	36
15 Grundprinzipien der Qualitätssicherung	37
Anhang A (informativ) <i>LID</i> -Wert („ <i>G</i> -Wert“)	40
Anhang B (informativ) Literaturhinweise	40

Vorwort

Der Text der Internationalen Norm des Technischen Komitees ISO/TC 147 „Water quality“ der International Organization for Standardization (ISO) wurde als Europäische Norm durch das Technische Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ übernommen, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muß den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis April 1999, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis April 1999 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen:

Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, die Tschechische Republik und das Vereinigte Königreich.

Anerkennungsnotiz

Der Text der Internationalen Norm ISO 5667-16 : 1998 wurde von CEN als Europäische Norm ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

ANMERKUNG: Die normativen Verweisungen auf internationale Publikationen sind im Anhang ZA (normativ) aufgeführt.

Einleitung

Biologische Testverfahren („Biotests“) sind geeignet, die Wirkung chemischer und physikalischer Einflußgrößen unter den im Experiment festgelegten Bedingungen auf die jeweiligen Testorganismen zu bestimmen. Die Wirkung ist prinzipiell nicht mit Hilfe der chemischen Analytik festzustellen. Wirkungen sind entweder fördernd oder hemmend. Sie können durch die Reaktion der Organismen festgestellt werden, wie z. B. durch Tod, Wachstum, Vermehrung, morphologische, physiologische und histologische Veränderungen. Hemmwirkungen können durch toxische Wasserinhaltsstoffe oder andere Noxen ausgelöst werden.

Die Effekte können sich auf verschiedene Ebenen beziehen, z. B. beginnend mit Wirkungen, die an (sub-)zellulären Strukturen oder Enzymsystemen ansetzen; Wirkungen, die den Gesamtorganismus betreffen und gegebenenfalls Folgewirkungen auf überorganismischer, biozönotischer Ebene.

Im Sinn dieser Norm wird Toxizität als die „Fähigkeit eines Stoffes, aufgrund seiner chemischen Eigenschaften und Konzentration unter bestimmten Bedingungen auf Organismen oder Biozönosen schädigend zu wirken“ definiert.

Dem Wirkpotential des Stoffes („Giftigkeit“) steht das Schutzpotential des biologischen Systems, z. B. durch „Entgiftung“, Metabolisierung, Exkretion, gegenüber.

Die im biologischen Testverfahren meßbare („apparente“) Toxizität ist das Resultat einer Wechselwirkung zwischen Stoff und biologischem System.

Außer der Giftwirkung eines oder mehrerer Wasserinhaltsstoffe werden allgemeine biologische Schadwirkungen durch das Zusammenwirken aller Noxen ausgelöst, z. B. durch Stoffe, die die chemische oder physikalische Beschaffenheit des Mediums und damit die Lebensbedingungen der Organismen nachteilig verändern (sauerstoffzehrende Substanzen, Farb- oder Trübstoffe, die den Lichteinfall vermindern, u. a.), sowie nicht stoffliche Einwirkungen, z. B. Temperatur, die die Organismen schädigen.

Zu den biologischen Testverfahren gehören auch solche Verfahren, bei denen die Wirkung von Organismen auf Stoffe geprüft wird, z. B. mikrobielle Abbaureaktionen.

Ergebnisse von biologischen Testverfahren beziehen sich vor allem auf die im Test verwendeten Organismen und die im Test festgelegten Untersuchungsbedingungen. Eine durch ein standardisiertes Testverfahren festgestellte schädigende Wirkung kann einen Hinweis geben, daß die aquatischen Organismen oder die Biozönose gefährdet sind. Die Ergebnisse erlauben jedoch keinen direkten oder extrapolativen Hinweis bezüglich ähnlicher Effekte in der aquatischen Umwelt. Dies gilt in besonderer Weise für suborganismische Systeme,

da wichtige Eigenschaften der physiologischen Funktionen intakter Organismen (z. B. Schutzmaßnahmen, Reparaturmechanismen) entfernt oder deaktiviert werden.

Grundsätzlich gibt es keinen Organismus und keine Biozönose, die eingesetzt werden kann, um alle möglichen Effekte auf das Ökosystem unter den verschiedenen Zuständen abiotischer oder biotischer Bedingungen zu untersuchen. Lediglich wenige „Modell“Spezies, die relevante ökologische Funktionen repräsentieren, können in der Praxis getestet werden.

Außerdem bestehen grundsätzliche und praktische Grenzen bei der Wahl der Testorganismen. Auch die zu untersuchende Probe kann beim Biotest experimentelle Schwierigkeiten verursachen. Wasser, insbesondere Abwasser, stellt eine komplexe Mischung dar und enthält häufig schwerlösliche, flüchtige, instabile, farbige Verbindungen und/oder suspendierte, manchmal kolloide Partikel. Die Komplexität und die Veränderlichkeit der Materialien sind bei der Durchführung von Biotests Ursache einer Vielfalt analytischer Probleme.

Spezielle Probleme stehen in Verbindung mit der Instabilität des Testmaterials, verursacht durch Reaktionen und Prozesse

- physikalischer Art (z. B. Phasentrennung, Sedimentation, Verflüchtigung);
- chemischer Art (z. B. Hydrolyse, Photoabbau, Bildung von Niederschlägen); und/oder
- biologischer Art (z. B. biologischer Abbau, Biotransformation, biologische Aufnahme in Organismen).

Andere Probleme treten überwiegend bei spektroskopischen Messungen auf, vor allem bei Trübung und Färbung.

Dieser Teil der ISO 5667 ist einer aus einer Gruppe von Normen, die sich mit der Probenahme von Wasser befassen. Dieser Teil sollte in Verbindung mit den anderen Teilen, insbesondere den Teilen 1, 2 und 3 gelesen werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm liefert praktische Hinweise zur Probenahme, der Vorbehandlung, der Durchführung und der Auswertung von biologischen Testverfahren. Informationen werden gegeben, wie mit speziellen Problemen bei biologischen Testverfahren in Bezug auf die Art und die Zusammensetzung der Probe umgegangen wird und wie die Testkonzeption der Fragestellung angepaßt werden kann.

Es ist beabsichtigt, praktische Erfahrung hinsichtlich zu treffender Vorkehrungen zu vermitteln, indem Verfahren beschrieben werden, wie einige der experimentellen Probleme bei biologischen Testverfahren zu lösen bzw. zu umgehen sind.

Soweit möglich, wurde Bezug genommen auf bestehende Normen und Anleitungen. Außerdem wird die Erfahrung aus Veröffentlichungen und Mitteilungen verarbeitet.

Vor allem werden Probleme bei der Probenahme, der Vorbereitung und der Herstellung von Proben für biologische Testverfahren berücksichtigt sowie die

Behandlung der Proben während des Tests, insbesondere, wenn der Test mit Wasser oder Abwasser durchgeführt wird, das instabile oder entfernbare Inhaltsstoffe enthält. Die grundlegenden Prinzipien der Qualitätssicherung, der Datenauswertung und der Ergebnisangabe sind dargelegt.

Besondere Berücksichtigung finden ökotoxikologische Untersuchungen mit Organismen („single species biotests“). Einige Darlegungen in dieser generellen Anleitung beziehen sich auch auf Abbauprobversuche und/oder Bioakkumulationsuntersuchungen, soweit hiervon die Probenahme und die Probenvorbereitung betroffen sind. Auch auf schwerlösliche Substanzen und Untersuchungen unterhalb der Wasserlöslichkeit wird eingegangen.

Dieser Teil der ISO 5667 ist nicht anwendbar auf die bakteriologische Untersuchung von Wasser. Entsprechende Verfahren werden in anderen Internationalen Normen beschrieben.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden normativen Dokumente enthalten Festlegungen, die durch Verweisung in diesem Text Bestandteil der vorliegenden Internationalen Norm sind. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Internationalen Norm waren die angegebenen Ausgaben gültig. Alle normativen Dokumente unterliegen der Überarbeitung. Vertragspartner, deren Vereinbarungen auf dieser Internationalen Norm basieren, werden gebeten, die Möglichkeit zu prüfen, ob die jeweils neuesten Ausgaben der im folgenden genannten Normen angewendet werden können. Die Mitglieder von IEC und ISO führen Verzeichnisse der gegenwärtig gültigen Internationalen Normen.

ISO 5667-3 : 1994

Water quality — Sampling — Part 3: Guidance on the preservation and handling of samples

ISO 5667-10 : 1992

Water quality — Sampling — Part 10: Guidance on sampling of waste waters

3 Probenahme

3.1 Allgemeines

Die Wahl eines repräsentativen Probenahmeorts, die Häufigkeit, die Art der Probe usw. hängen von dem Untersuchungsziel ab. Im allgemeinen ist die Vorgehensweise für eine nachfolgende chemische Analyse mit der für ein biologisches Testverfahren entsprechend.

Einige Tests verlangen jedoch, daß das Wasser und das Abwasser in besonderer Weise entnommen und behandelt werden.

Je nach Untersuchungsart (z. B. Toxizitäts- oder Abbauprobtest) und der Art, wie die Proben weiterbehandelt werden sollen, wird es notwendig sein, die Proben in Teilvolumina zu teilen, die unter verschiedenen Bedingungen aufbewahrt und weiter unterschiedlich behandelt werden.

Wurden unterschiedliche Proben genommen (z. B. von verschiedenen Probenahmeorten oder zu unterschiedlichen Zeiten), können sie vereinigt werden, um die Repräsentativität zu erhöhen. Diese Proben sollten sorgfältig durchmischt und, wenn nötig, in Teilproben getrennt werden. Um Teilproben gleicher Beschaffenheit zu erhalten, sollte sichergestellt werden, daß die Gesamtprobe während des Teilens homogen bleibt, z. B. durch kontinuierliches Schütteln oder Rühren. Dies ist vor allem wichtig, wenn Zweiphasen-Mischungen vorliegen, z. B. Wässer, die suspendierte Feststoffe oder Algensuspensionen enthalten. Im Fall einer Vereinigung von Proben, die zu verschiedenen Zeiten entnommen worden sind, sollten die Proben unter Kühlung genommen werden.

3.2 Probenahmegefäße/Behälter

Volumen, Form und Material der Behälter hängen von der Probenart ab (z. B. ihrer Abbaubarkeit/Stabilität), der Anzahl von Parallelbestimmungen, dem für diese Untersuchungen notwendigen Volumen und der etwaigen Notwendigkeit, Rückstellproben für weitere Untersuchungen vorzusehen.

Die Zeitspanne zum Einfrieren und Auftauen sollte so gering wie möglich sein, indem das Probenvolumen, d. h. die Größe des Behälters, minimiert wird. Im allgemeinen ist es angemessen, zum Einfrieren 1-l-Gefäße zu verwenden. Wasser für Tests, die größere Volumina benötigen, sollten in Behältern abgefüllt werden, deren Volumen 10 l nicht überschreitet.

Das Gesamtprobenvolumen sollte ausreichend sein, um etwaige zusätzliche Untersuchungen zu erlauben. Zusätzlich eingefrorene Teilproben sollten bis zur endgültigen Auswertung aufbewahrt werden.

Das Behältermaterial sollte chemisch inert, leicht zu reinigen, hitze- und kältebeständig sein. Glasbehälter, Polyethen oder Polytetrafluorethen (PTFE) werden empfohlen.

3.3 Behälterfüllung

Es sollte entschieden werden, ob die Behälter vollständig oder nur teilweise gefüllt werden, um einen Luftraum zu erlauben; dies hängt von der Probenart ab sowie der Art der Probenkonservierung und dem vorgesehenen biologischen Testverfahren.

Folgende Probleme können bei einer Teilfüllung auftreten:

- verstärktes Durchschütteln während des Transports, was zu einem Auseinanderfallen von Agglomeraten führt;
- Wechselwirkung mit der Gasphase, was zum Ausgasen führen kann;
- Oxidation von Stoffen, was z. B. bei Schwermetallen zu Niederschlägen führen kann.

Folgende Probleme können bei vollständiger Füllung auftreten:

- Sauerstoffmangel bei möglicher Fäulnis und Bildung toxischer Metaboliten (z. B. Nitrit, Sulfide);
- erschwerte Homogenisierung der Probe durch Schütteln oder Rühren des gesamten Probenvolumens.

Probengefäße, besonders wenn sie aus Glas bestehen, sollten, wenn deren Inhalt eingefroren werden soll, nicht vollständig gefüllt werden, um die Volumenvergrößerung beim Einfrieren zu berücksichtigen.

4 Transport

Die Probenbehälter sollten beim Transport vor Bruch, Erwärmung, Verunreinigung und Verwechslung geschützt werden. Beim Transport in schmelzendem Eis sollten wasserfeste Beschriftungen/Etiketten verwendet werden.

5 Konservierung und Aufbewahrung

Nach ISO 5667-3 ist es unmöglich, feststehende Vorschriften für die Konservierung der Proben zu formulieren, da die Lagerfähigkeit von der Probenart, insbesondere der biologischen Aktivität, und von der Konservierungsart abhängig ist. Trinkwasser und Grundwasser sind in der Regel weniger empfindlich gegenüber chemischen Reaktionen und biologischen Prozessen als z. B. Oberflächenwässer oder Abwässer. Wenn die chemische Zusammensetzung der Proben annähernd bekannt oder voraussehbar ist, können die in ISO 5667-3 gegebenen Konservierungs- und Lagerungshinweise auch für biologische Testverfahren gelten, wobei jedoch auch einige spezielle Vorkehrungen wie folgt zu treffen sind.

Proben für biologische Testverfahren sollten vorzugsweise ohne Verzögerung möglichst bald nach der Probenahme verarbeitet werden, um Veränderungen der ursprünglichen Beschaffenheit durch physikalische und chemische Reaktionen oder biologische Vorgänge so gering wie möglich zu halten. Die Lagerungsdauer bei Zimmertemperatur (höchstens 25 °C) sollte 12 h nicht überschreiten. Um Algenwachstum zu vermeiden, sollten die Proben im Dunkeln aufbewahrt werden.

Die gebräuchlichste und empfohlene Art, Abwasserproben zu konservieren, ist die Kühlung auf 0 °C bis 5 °C. Die so gekühlten und dunkel aufbewahrten Proben sind üblicherweise bis 24 h lagerfähig (siehe ISO 5667-10). Die Kühlung sollte möglichst bald nach der Probenahme einsetzen. Dies kann auch bereits vor Ort, z. B. in Kühlboxen mit Eis oder in einem Fahrzeug-Kühlschrank, erfolgen.

Tiefkühlung auf Temperaturen unter –18 °C erhöht nach ISO 5667-10 in der Regel die Lagerfähigkeit. Einige Wochen bis 2 Monate werden, in Abhängigkeit von der Empfindlichkeit der Proben, als maximale Lagerdauer angesehen.

Erfahrungsgemäß kann die Beschaffenheit von Abwasserproben sowohl beim Einfrieren als auch beim Auftauen Veränderungen erfahren.

Der Gebrauch von Bioziden als Konservierungsmittel sollte für biologische Testverfahren ausgeschlossen werden. Die Zugabe von hochkonzentrierten Säuren oder Laugen zur Probenkonservierung, z. B. HCl oder NaOH, wird ebensowenig empfohlen.

Es sollte betont werden, daß im Zweifelsfall eine Absprache zwischen Chemiker und Biologen erfolgen sollte, bevor sie über die Art der Probenvorbehandlung und Konservierung entscheiden. Wenn die Konservierungsart für die chemische Analyse und für die biologischen Testverfahren nicht kompatibel ist, sollten getrennte Teilproben für die verschiedenen Zwecke bereitgestellt werden.

6 Geräte und Ausrüstung

6.1 Wahl der Geräte

Art, Form und Material der technischen Ausrüstung hängen vom Testverfahren und der Probenart ab. Alle Materialien, die mit der Probe in Berührung kommen, sollten so beschaffen sein, daß Störungen durch Sorption oder Diffusion des Testmaterials, Elution fremder Stoffe (z. B. Weichmacher) oder durch Bewuchs mit Organismen auf ein Mindestmaß beschränkt bleiben. Inerte Materialien sind geeignet, z. B. Glas, PTFE. Schlauchverbindungen sollten so kurz wie möglich sein und von Zeit zu Zeit ausgewechselt werden. Kontamination des Testmaterials, z. B. durch Schliffett von Stopfen oder Verbindungen, sollte vermieden werden. Rohrleitungen aus Kupfer, Buntmetall oder nicht-inertem Kunststoff sind nicht geeignet.

6.2 Silanisierung

Um die Adsorption von Testmaterial in den Behältern, Rohrleitungen, Schlauchverbindungen, Glas- oder Kunststoffgeräten zu minimieren, können diese durch Eintauchen oder Spülen mit einer 5-%-Lösung von Dichlordimethylsilan in Chloroform oder Heptan silanisiert (siliconisiert) werden. Während das organische Lösemittel verdampft, überzieht das Silan die Oberflächen. Die Geräte sollten vor Gebrauch mehrmals mit Wasser gespült oder 2 h bei 180°C erhitzt werden. Eine Silanisierung sollte nur vorgenommen werden, wenn leicht adsorbierbare Substanzen oder Wasserinhaltsstoffe untersucht werden und ein geeignetes inertes Material (z. B. PTFE) nicht zur Verfügung steht.

6.3 Reinigung der Geräte

Die Geräte werden vor Gebrauch mit geeigneten Reinigungsmitteln, z. B. Salzsäure, Natriumhydroxid-Lösung, Detergentien, Ethanol, Schwefelsäure/Wasserstoffperoxid, gereinigt und gegebenenfalls thermisch oder chemisch (z. B. mit Hypochlorit-Lösung) sterilisiert. Chromschwefelsäure sollte nicht verwendet werden.

Mehrfaches Nachspülen mit destilliertem Wasser (oder Wasser gleichen Reinheitsgrades) stellt sicher, daß keine Reinigungs- oder Desinfektionsmittel zurückbleiben.

Um Spuren von vorherigem Gebrauch gründlich zu entfernen, wird eine Säurespülung vor einem letzten Spülen mit destilliertem Wasser empfohlen.

7 Vorbehandlung und Vorbereitung von Proben

7.1 Allgemeines

Das Fließdiagramm (Bild 1) enthält Hinweise zu allgemein gebräuchlichen (aber manchmal unterschiedlich verwendeten) Begriffen in Normen und Anleitungen über biologische Testverfahren.

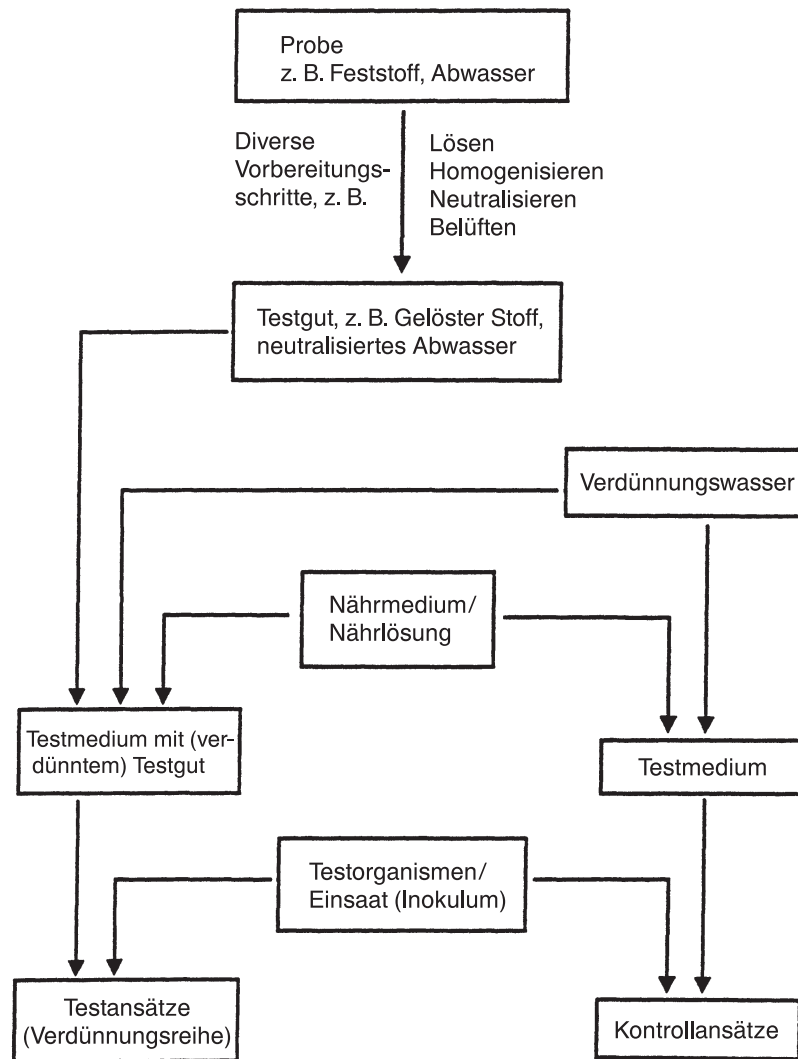


Bild 1: Vorbereitung von Proben für biologische Testverfahren

Die Probe, z. B. eine chemische Substanz, ist eine feste oder gelöste Zubereitung, ein Gemisch verschiedener Stoffe, Wasser oder Abwasser. Das Testgut wird aus der Probe durch verschiedene substanz- bzw. testspezifische Vorbereitungsschritte, z. B. Lösen, Homogenisieren, Absetzen, Filtrieren, Neutralisieren, Belüften, hergestellt.

Verdünnungswasser wird hinzugefügt, um eine Serie definierter Verdünnungsansätze („Verdünnungsreihe“) zu erstellen.

Nach Zugabe des testspezifischen Nährmediums wird das Testmedium erhalten, das das Testgut enthält.

Der endgültige Testansatz wird durch Zugabe des Testorganismus — bei Mikroorganismen Inokulum genannt — erhalten.

Der Kontrollansatz oder in mehreren Parallelansätzen die Kontrollansätze werden aus einer Mischung von Verdünnungswasser, Testmedium mit Testorganismen ohne Testgut hergestellt.

Wenn die Wirkung oder das Verhalten eines Stoffes (einer Referenzsubstanz) aus vorangegangenen Tests bekannt ist und dieser Stoff im Rahmen einer Testserie als Testgut mitgeprüft wird, wird dieser Ansatz „Referenzansatz“ genannt.

7.2 Auftauen

Tiefgefrorene Proben sollten erst unmittelbar vor der Weiterverarbeitung aufgetaut werden. Um lokale Überhitzung zu vermeiden, sollten die Proben in fließendem Leitungswasser oder warmem Wasser von nicht mehr als 25 °C und unter leichtem Schütteln aufgetaut werden.

Vollständiges Auftauen ist notwendig, da beim Einfrieren Konzentrierungseffekte im Innern der Probe, das zuletzt durchfriert, auftreten können. Bei Mikrowellenbehandlung besteht die Gefahr der Überhitzung.

7.3 Homogenisieren

Es sollte sichergestellt sein, daß die gelösten und partikulären Substanzen gleichmäßig verteilt sind. Leichtes Rühren, heftiges Schütteln, Ultraschallbehandlung oder Dispersion mittels Hochgeschwindigkeitsrührer kann in Abhängigkeit von der Probenart eingesetzt werden. Dabei sollte auf einen möglichen Verlust flüchtiger Substanzen geachtet werden.

Generell sollte so vorgegangen werden, daß der Originalzustand der Probe wiederhergestellt oder zumindest so wenig wie möglich verändert wird.

7.4 Trennung von gelösten und partikulären Bestandteilen

Im allgemeinen werden biologische Testverfahren mit der Originalprobe durchgeführt. In einigen Fällen führen jedoch größere Mengen an Feststoffpartikeln zu Störungen im Normalverhalten der Testorganismen (z. B. durch Verstopfen der Kiemen von Fischen, Behinderung der Filtrierbarkeit bei Daphnien, Lichtlimitation bei Algen).

Wenn diese schädlichen Effekte auf die Testorganismen nicht im Testergebnis abgebildet werden sollen, gibt es verschiedene Möglichkeiten, diese Störungen zu umgehen.

Bei der Untersuchung von partikelreichen Wässern können Störungen auftreten, z. B. wenn Partikelzähler eingesetzt werden. Auch die mikroskopische Auszählung ist hiervon stark betroffen. Eine kontinuierliche Dosierung partikelreicher Wässer liefert unzuverlässige Werte, da Feststoffe sich ablagern und die Schlauchleitungen verstopfen können.

Filtration, Zentrifugation oder andere Trennverfahren bewirken jedoch, daß partikelgebundene Schadstoffe nicht erfaßt werden. Darüber hinaus können bei der Filtration Probleme im Zusammenhang mit Adsorption oder Auswaschung von Stoffen aus dem Filtermaterial auftreten; dies muß berücksichtigt werden.

Eine Sedimentation und Zentrifugation umgeht diese Probleme. Bei einer Filtration sollte man die Probe vorher 30 min bis 2 h sich absetzen lassen oder ein großporiges Filter verwenden ($> 50 \mu\text{m}$), um nur die groben Partikel zu entfernen. Die abgetrennten Feststoffe können dann getrennt untersucht werden.

Bei einigen Testverfahren besteht die Möglichkeit, einen Korrekturfaktor zu verwenden, z. B. für die Trübung.

Bakterienreiche Wässer stören bei Tests, die die bakterielle Aktivität betreffen, z. B. die Atmungshemmung. Die Störung durch Bakterienaktivität kann teilweise kompensiert werden, indem geeignete Kontrollversuche gemacht werden. Werden bestimmte Algen, Eier, Fischlarven oder Zellkulturen untersucht, können Störungen durch bakterielle Infektionen auftreten. Sterilisationsverfahren, wie thermische oder UV-Behandlung oder Membranfiltration ($0,2 \mu\text{m}$), beinhalten stets das Risiko von Nebeneffekten. Glasfaserfiltration ist vorzuziehen, wenn eine Filtration notwendig ist. Generell ist jedoch eine Zentrifugation, z. B. 10 min bei $4\,500 \text{ g} \pm 1\,500 \text{ g}$, einer Filtration vorzuziehen.

7.5 Probenkonzentrierung

Durch Konzentrierung einer Wasserprobe werden nicht nur Schadstoffe, sondern auch andere Wasserinhaltsstoffe, angereichert; auch diese können in höheren Konzentrationen schädigend wirken.

Außerdem ist es erforderlich zu beachten, daß die Konzentrierung in jedem Fall in Abhängigkeit vom verwendeten Verfahren selektiv ist. Sie verändert die ursprüngliche Zusammensetzung der Wasserinhaltsstoffe z. B.

- sind Extraktion (flüssig/flüssig mit organischen Lösemitteln) und Adsorption an Feststoffe (z. B. XAD-Harze) besonders effektiv zur Anreicherung hydrophober Stoffe. Ionenstärke und osmotischer Druck können hierbei herabgesetzt werden. Toxische Ionen, polare Reagenzien und Begleitstoffe, die maskierend wirken (z. B. Huminstoffe), können entfernt werden;
- können Eindampfung und Gefriertrocknung zum Verlust flüchtiger Substanzen und zur Erhöhung der Ionenstärke und Osmolarität führen;
- durchdringen kleine Moleküle bei der Ultrafiltration die Membran und gehen so verloren.

Eine Konzentrationserhöhung über die Löslichkeitsgrenzen hinaus kann zur Ausfällung oder Ausflockung zuvor gelöster Stoffe führen.

Eine Bioakkumulation kann nach einer Konzentrierung nicht mehr nachvollzogen werden, da Biokonzentrationsfaktoren (*BCF*) nicht mehr zugeordnet oder extrapoliert werden können.

Bestimmte Wasserinhaltsstoffe können bei höherer Konzentration in einer veränderten Probenmatrix chemische Reaktionen in anderer Weise miteinander eingehen als in der Originalprobe.

Geeignete Kontrollansätze stehen nur dann zur Verfügung, wenn unbelastete Proben z. B. oberstromig zur Kontaminationsquelle erhältlich sind. Die Auswirkungen einer Erhöhung des Salzgehaltes können durch Herstellung von Kontroll-Lösungen mit gleicher Osmolarität und ähnlicher Ionenzusammensetzung (z. B. Na : K-Verhältnis) geprüft werden.