

DIN EN ISO 6341



ICS 13.060.70

Ersatz für
DIN EN ISO 6341:1996-06

**Wasserbeschaffenheit –
Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von *Daphnia magna* Straus
(*Cladocera*, *Crustacea*) –
Akuter Toxizitäts-Test (ISO 6341:2012);
Deutsche Fassung EN ISO 6341:2012**

Water quality –
Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus
(*Cladocera*, *Crustacea*) –
Acute toxicity test (ISO 6341:2012);
German version EN ISO 6341:2012

Qualité de l'eau –
Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus
(*Cladocera*, *Crustacea*) –
Essai de toxicité aiguë (ISO 6341:2012);
Version allemande EN ISO 6341:2012

Gesamtumfang 33 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 6341:2012) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitskreis NA 119-01-03-05-01 AK „Biotests“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Diese Norm wurde für die Anwendung im Rahmen der Umsetzung der Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik^{*)} entwickelt.

Bezeichnung des Verfahrens:

Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Akuter Toxizitäts-Test (L 40):

Verfahren DIN EN ISO 6341 — L 40

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 5667-16	siehe DIN EN ISO 5667-16
ISO 5814	siehe DIN EN ISO 5814
ISO 10523	siehe DIN EN ISO 10523
ISO 15088	siehe DIN EN ISO 15088

^{*)} Nachgewiesen in der DITR-Datenbank der DIN Software GmbH, zu beziehen bei: Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin.

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

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

Die vorliegende Norm enthält das vom Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN und von der Wasserchemischen Gesellschaft – eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) –
Akuter Toxizitäts-Test (L 40)

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)

Sensorische Verfahren (Gruppe B)

Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)

Anionen (Gruppe D)

Kationen (Gruppe E)

Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)

Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)

Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)

Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)

Einzelkomponenten (Gruppe P)

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon 030 2601–2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 6341:1996-06 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der Anwendungsbereich des Verfahrens wurde erweitert um:
 - behandelte oder unbehandelte Abwässer,
 - wässrige Extrakte und Sickerwasser,
 - Eluate von Süßwassersedimenten,
 - Porenwasser von Süßwassersedimenten;
- b) der Abschnitt Begriffe wurde aufgenommen;
- c) der Test kann auf der Grundlage einer Testdauer von 24 h oder 48 h durchgeführt werden;
- d) die Zulässigkeit des Limittests mit Konzentrationen über 100 mg/l wurde aufgenommen, wenn die Testsubstanz löslich ist oder in stabiler Dispersion vorliegt;
- e) im Abschnitt Reagenzien, Testorganismen und Medien:
 - Aufnahme von Anforderungskriterien für eine gesunde Daphnienzucht,
 - Eröffnung der Möglichkeit zur Verwendung von Jungtieren aus Dauereiern,
 - Zulassung von entchlortem Leitungswasser als Zucht- und Verdünnungswasser,
 - Zulassung und Beschreibung des M4-Mediums als Zuchtmedium,
 - Erweiterung des pH-Wert-Bereichs des synthetisch hergestellten Verdünnungswassers von pH-Wert $7,8 \pm 0,2$ auf pH-Wert $7,8 \pm 0,5$,
 - zur Herstellung der Stammlösung für die Referenzsubstanztestung wird die Verwendung einer im Handel erhältlichen Kaliumdichromat-Lösungen empfohlen;
- f) im Abschnitt Geräte:
 - das Vorspülen der Testgefäße mit Verdünnungswasser wurde gestrichen,
 - Pipetten zur Sammlung der Testorganismen aufgenommen;
- g) im Abschnitt Behandlung und Herstellung der Proben:
 - Probenahme, Transport und Lagerung der Proben sollten nach ISO 5667-16 durchgeführt werden,
 - Änderungen und Ergänzungen hinsichtlich der Probenvorbehandlung:
 - Verkürzung der Probenaufbewahrungszeit der gekühlten Probe von 48 h auf 24 h,
 - Erweiterung des Temperaturbereichs auf 0 °C bis 5 °C für die Kühlung bis zum Testbeginn,
 - Veränderung der Zeiten und Temperaturen für die Probenaufbewahrung bis zum Testbeginn,
 - Hinweise zum Auftauen von Proben aufgenommen,
 - Probenvorbehandlung für Umweltproben durch Sedimentation, Zentrifugation oder Filtration zur Abtrennung von Schwebstoffen aufgenommen,
 - Anleitung zur Belüftung aufgenommen,
 - Test wird ohne pH-Wert-Einstellung der Probe durchgeführt,
 - weitere Hinweise zur Herstellung von Testlösungen mit schwerlöslichen Substanzen aufgenommen,
 - Hinweise zur Versuchsplanung und -durchführung bei Tests mit schwerlöslichen Substanzen aufgenommen;
 - Erläuterungen zur Auswahl von Verdünnungsreihen bei Chemikalien und Umweltproben für die Testlösungen aufgenommen;

- Hinweise zum Testansatz für die Bestimmung des G -Werts aufgenommen;
 - der zulässige Verdünnungsfaktor zur Testung von Verdünnungsreihen wird im Haupttest zur Chemikalienentstörung auf 3,2 begrenzt;
- h) Änderungen hinsichtlich der Durchführung des Verfahrens:
- Erweiterung der Anforderung an den Sauerstoffgehalt der Testansätze:
 - Messung des Sauerstoffgehalts sowohl in den Kontrollansätzen als auch in den Testansätzen mit der höchsten Testkonzentration am Testende,
 - nur Testansätze mit einem Sauerstoffgehalt > 2 mg/l dürfen in die Auswertung eingehen,
 - Änderung hinsichtlich des Gültigkeitskriteriums:
 - Festlegung zur Häufigkeit des Referenzsubstanztests wurde getroffen, die obere Grenze des Gültigkeitsbereichs für die EC_{50} der Referenzsubstanz Kaliumdichromat wurde von 1,7 mg/l auf 2,1 mg/l geändert,
 - Limittest: Empfehlung zur Durchführung eines vollständigen Tests bei Überschreitung der Unbeweglichkeit von < 10 % im Limittest mit 100 mg/l Testsubstanzlösung;
- i) Interpretation und Gültigkeit der Ergebnisse
- Abschätzung der EC_{50} : Ein Hinweis wurde aufgenommen, bei unzulässigen Abweichungen zwischen Nominal- und gemessener Konzentration der Testsubstanz im Testmedium eine Testwiederholung mit Erneuerung des Testmediums oder Durchflusstest in Erwägung zu ziehen;
- j) Angabe der Ergebnisse um eine Angabe des G -Wertes, falls bestimmt, ergänzt;
- k) der Untersuchungsbericht wurde um folgende Angaben ergänzt:
- Informationen zur durchgeführten Probenvorbehandlung von Umweltproben,
 - Ergebnisse der Referenzsubstanz-Testung;
- l) eine Anleitung zur Herstellung des M4-Mediums wurde im Anhang A neu aufgenommen;
- m) die Option zur Ermittlung von Vertrauensbereichen aus der grafischen Auswertung wurde im Anhang B ergänzt;
- n) der Anhang C wurde mit allgemeine Empfehlungen zur Zucht von *Daphnia magna* neu aufgenommen;
- o) der Anhang D mit der Beschreibung eines Verfahrens zur Hälterung von *Daphnia magna* zur Erzeugung von Dauereiern wurde neu aufgenommen;
- p) der Anhang F mit einem Verfahren zur Bestimmung der Verdünnungsstufe G für die Testung von Abwässern wurde neu aufgenommen;
- q) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 6341: 1996-06

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 5667-16:1999-02, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (ISO 5667-16:1998); Deutsche Fassung EN ISO 5667-16:1998*

DIN EN ISO 5814, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des gelösten Sauerstoffs — Elektrochemisches Verfahren*

DIN EN ISO 10523, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Werts*

DIN EN ISO 15088:2009-06, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (Danio rerio) (ISO 15088:2007); Deutsche Fassung EN ISO 15088:2008*

Deutsche Fassung

Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der Hemmung der
Beweglichkeit von *Daphnia magna* Straus
(*Cladocera*, *Crustacea*) – Akuter Toxizitäts-Test
(ISO 6341:2012)

Water quality – Determination of the inhibition of the
mobility of *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) –
Acute toxicity test (ISO 6341:2012)

Qualité de l'eau – Détermination de l'inhibition de la mobilité
de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) –
Essai de toxicité aiguë (ISO 6341:2012)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 14. Oktober 2012 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 Management-Zentrum des CEN-CENELEC 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 Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Grundlagen des Verfahrens.....	6
5 Testumgebung	6
6 Reagenzien, Testorganismen und Medien.....	7
7 Geräte und Materialien	8
8 Behandlung und Herstellung der Proben	9
8.1 Spezielle Maßnahmen für Probenahme, Transport, Lagerung und Behandlung der zu untersuchenden Wässer, Abwässer oder wässrigen Extrakte	9
8.2 Herstellung der zu untersuchenden Substanzlösungen	10
8.2.1 Herstellung der Stammlösungen	10
8.2.2 Herstellung der Testlösungen	10
9 Durchführung.....	11
9.1 Allgemeines.....	11
9.2 Vortest.....	11
9.3 Haupttest	12
9.4 Prüfung der Empfindlichkeit der <i>D. magna</i> und der ordnungsgemäßen Durchführung.....	12
9.5 Limittest	12
10 Interpretation und Gültigkeit der Ergebnisse	12
10.1 Abschätzung der EC ₅₀	12
10.2 Gültigkeitskriterien	13
11 Angabe der Ergebnisse.....	13
12 Untersuchungsbericht	13
Anhang A (informativ) Herstellung des ELENDET M4-Mediums	15
Anhang B (informativ) Beispiel für die graphische Bestimmung der Hemmung der Schwimmfähigkeit von <i>Daphnia magna</i> durch ein Abwasser oder eine Stammlösung einer Substanz mit einer Konzentration von 1 000 mg/l.....	18
Anhang C (informativ) Allgemeine Empfehlungen zur Stammhalterung	21
Anhang D (informativ) Hälterung von <i>D. magna</i> zur Erzeugung von Dauereiern.....	22
Anhang E (informativ) Verfahrenskennndaten	24
Anhang F (informativ) Verdünnungsstufe <i>G</i> Herstellung der Verdünnungsstufen für die Bestimmung des <i>G</i> -Wertes	25
Literaturhinweise	27

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 6341:2012) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, 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 2013, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis April 2013 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 6341:1996.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 6341:2012 wurde vom CEN als EN ISO 6341:2012 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Diese Internationale Norm beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien, Wässern und Abwässern auf den Wasserfloh *Daphnia magna* Straus.

Die Beurteilung von Schadwirkungen auf die Wasserqualität hat über mehrere Jahre hinweg die Entwicklung von Biotests beeinflusst. Krebstiere sind aus ökotoxikologischer Sicht von Interesse, da sie Primärkonsumenten sind und eine wesentliche Komponente des Zooplanktons in aquatischen Ökosystemen darstellen.

Das in dieser Internationalen Norm beschriebene Verfahren beinhaltet die Bestimmung der Schwimmunfähigkeit des Wasserfloh *Daphnia magna* Straus nach 24-stündiger oder 48-stündiger Exposition gegenüber dem Schadstoff unter Bedingungen dieser Internationalen Norm.

WARNUNG — Anwender dieser Internationalen Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Norm gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitgebers, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

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