

DIN ISO 16191



ICS 13.060.70

**Wasserbeschaffenheit –
Bestimmung der toxischen Wirkung von Sedimenten auf das
Wachstumsverhalten von *Myriophyllum aquaticum* (ISO 16191:2013)**

Water quality –

Determination of the toxic effect of sediment on the growth behaviour of *Myriophyllum aquaticum* (ISO 16191:2013)

Qualité de l'eau –

Détermination de l'effet toxique des sédiments sur la croissance de *Myriophyllum aquaticum* (ISO 16191:2013)

Gesamtumfang 33 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	4
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	6
Vorwort	7
Einleitung	8
1 Anwendungsbereich.....	9
2 Normative Verweisungen	9
3 Begriffe	9
4 Grundlage des Verfahrens.....	11
5 Störungen	11
6 Reagenzien.....	11
6.9.1 Künstliches Sediment als Kontrollprobe	12
6.9.2 Künstliches Sediment für die Vorkultur	13
7 Geräte.....	13
8 Test mit der Referenzsubstanz.....	14
9 Testorganismus.....	14
10 Durchführung.....	14
10.1 Anzucht der Vorkultur von <i>Myriophyllum aquaticum</i> für den Kontakttest	14
10.2 Herstellung der Kontrollprobe.....	15
10.3 Probennahme, Lagerung, Herstellung der Testproben.....	15
10.3.1 Probennahme und Lagerung.....	15
10.3.2 Herstellung der Testprobe.....	15
10.4 Testdurchführung	16
10.5 Testbedingungen	16
10.6 Messungen.....	17
10.6.1 Visuelle Beurteilung der Pflanzen und Kontrolle des pH-Werts	17
10.6.2 Feuchtmasse der Gesamtpflanze	17
10.6.3 Inaktivierung der Testpflanze	17
11 Auswertung.....	18
11.1 Wachstumsrate r	18
11.2 Mittelwerte je Test- und je Kontrollgefäß ($r_{V,T}$, $r_{V,C}$).....	18
11.3 Mittelwerte je Test- und Kontrollprobe ($r_{S,T}$, $r_{S,C}$).....	18
11.4 Hemmung I	18
11.5 Abschätzung der E_rC_X -Werte.....	19
11.5.1 Herstellung einer Konzentrationsreihe für die Abschätzung der E_rC_X -Werte	19
11.5.2 Statistisches Design für E_rC_X	19
11.5.3 Verwendung von Lösemitteln	19
11.6 Angabe der Ergebnisse	21
12 Gültigkeitskriterien.....	22
13 Untersuchungsbericht	22

Anhang A (informativ) Bilder	23
Anhang B (normativ) Herstellung der Nährlösung (Steinberg-Medium, nach ISO 20079).....	25
B.1 Konzentrationen und Stammlösungen.....	25
B.2 Herstellung der Endkonzentration des modifizierten Steinberg-Mediums	26
Anhang C (informativ) Bezugsquellen.....	27
Anhang D (normativ) Herstellung von dotierten künstlichen Sedimenten.....	29
D.1 Allgemeines	29
D.2 Durchführung der Dotierung	29
D.2.1 Herstellung der Sedimentteilportionen für die Dotierung.....	29
D.2.2 Herstellung der Testsubstanzlösung für die Dotierung.....	29
D.2.3 Dotierung der vorbereiteten Sedimentteilportionen	29
D.2.4 Dotierung des gesamten Sediments	30
D.2.5 Beispiel.....	30
Anhang E (informativ) Verfahrenskennndaten	31
Literaturhinweise.....	33

Nationales Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ 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 DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

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 toxischen Wirkung von Sedimenten auf das Wachstumsverhalten von *Myriophyllum aquaticum* (L 58):

Verfahren DIN ISO 16191 — L 58

Für die Anwendung in Deutschland wird folgender Hinweis gegeben:

Fehlerhafte Angaben in der englischen Referenzfassung wurden im vorliegenden Dokument durch nationale Fußnoten korrigiert.

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 5667-15	siehe DIN EN ISO 5667-15
ISO 5667-16	siehe DIN EN ISO 5667-16
ISO 10523	siehe DIN EN ISO 10523
ISO 10390:2005	siehe DIN EN 15933:2012-11
ISO 10872:2010	siehe DIN ISO 10872:2012-10
ISO 11465	siehe DIN EN 15934
ISO 20079	siehe DIN EN ISO 20079

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 DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft — Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) — gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Bestimmung der toxischen Wirkung von Sedimenten auf das Wachstumsverhalten
von *Myriophyllum aquaticum* (L 58).

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 +49 (0)30 2601-2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin, Auskunft.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN 15933:2012-11, *Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden — Bestimmung des pH-Werts; Deutsche Fassung EN 15933:2012*

DIN EN 15934, *Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall — Berechnung des Trockenmassenanteils nach Bestimmung des Trockenrückstands oder des Wassergehalts*

DIN EN ISO 5667-15, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 15: Anleitung zur Konservierung und Handhabung von Schlamm- und Sedimentproben*

DIN EN ISO 5667-16, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren*

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

DIN EN ISO 20079, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (Lemna minor) — Wasserlinsen-Wachstumshemmtest*

DIN ISO 10872:2012-10 *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von Caenorhabditis elegans (Nematoda); (ISO 10872:2010)*

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 147, *Water quality*, Unterkomitee SC 5, *Biological methods*.

Einleitung

Der in dieser Internationalen Norm beschriebene Kontakttest mit *Myriophyllum aquaticum* ermöglicht die Bestimmung der Wirkung von gelösten und partikelgebundenen Substanzen in Sedimentproben auf höhere Pflanzen, innerhalb von 10 Tagen ([3], [4], [5], [6], [7], [8]).

Die Testpflanze, *Myriophyllum aquaticum* (Velloso) Verdcourt (Papageienfeder), ist eine dikotyle Wasserpflanze. Sie ist ursprünglich in der südamerikanischen Amazonasregion beheimatet, mittlerweile aber weltweit und besonders in wärmeren Klimazonen verbreitet. Sie findet globalen Einsatz in Aquarien und künstlichen Freilandgewässern. Für ihre Eignung als Testorganismus im Sediment-Kontakttest spricht ihre Fähigkeit zum emersen Wachstum (kein überstehendes Wasser erforderlich). Überdies wird ihr starkes Regenerationspotential und ihre Fähigkeit zur vegetativen Vermehrung genutzt. Außerdem bildet *Myriophyllum aquaticum* während der Testdauer keine Seitentriebe, was die Handhabung im Labor erleichtert. Es sollte jedoch sichergestellt werden, dass kein lebendes Pflanzenmaterial aus dem Labor gelangt.

Phytotoxische Substanzen, wie sie in Sedimenten (z. B. Baggergut) vorkommen, können das Wachstum von *Myriophyllum aquaticum* beeinträchtigen. Die sich daraus ableitende Wachstumshemmung wird aus dem Parameter (Feuchtmasse) mittels einer Anzahl definierter Berechnungsmethoden berechnet.

WARNUNG — Anwender dieser Internationalen Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Internationale 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.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung der Toxizität von Umweltproben auf das Wachstum von *Myriophyllum aquaticum* fest. Das Verfahren kann sowohl für Süßwassersedimente als auch für künstliche Sedimente verwendet werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, 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).

ISO 5667-15, *Water quality — Sampling — Part 15: Guidance on the preservation and handling of sludge and sediment samples*

ISO 5667-16, *Water quality — Sampling — Part 16: Guidance on biotesting of samples*

ISO 10523, *Water quality — Determination of pH*

ISO 11465, *Soil quality — Determination of dry matter and water content on a mass basis — Gravimetric method*

ISO 20079, *Water quality — Determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) — Duckweed growth inhibition test*

OECD 218, *OECD Guidelines for the testing of chemicals — Sediment water Chironomid toxicity test using spiked sediment*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

künstliches Sediment

definiertes künstliches Sediment

[QUELLE: ISO 10872:2010 [2], Begriff 3.3, modifiziert] ^{N1)}

Anmerkung 1 zum Begriff: siehe 6.9.

N1) Nationale Fußnote: Der Begriff „künstliches Kontrollsediment“ nach ISO 10782:2010 wurde in ISO 16191:2013 modifiziert als „künstliches Sediment“ übernommen.

3.2

Chlorose

Verlust von Pigment (Vergilbung des pflanzlichen Gewebes)

[QUELLE: ISO 20079:2005, Begriff 3.3, modifiziert]

3.3

Kontrollprobe

künstliches Sediment, das nach den Anforderungen dieses Tests hergestellt wurde und das als Negativkontrolle dient, mit der die Wirkung in den entsprechenden Testproben verglichen wird

[QUELLE: ISO 10872:2010 [2], Begriff 3.6, modifiziert]

3.4

effektive Konzentration

E_rC_x

Konzentration einer Substanz in einer Untersuchungsprobe (EC_x), bei der im Vergleich zur Kontrollprobe eine Wirkung von x % ermittelt wurde

[QUELLE: ISO 20079:2005, Begriff 3.9, modifiziert]

Anmerkung 1 zum Begriff: Um einen auf Basis der Wachstumsrate ermittelten EC-Wert eindeutig zu kennzeichnen, wird vorgeschlagen, das Symbol „ E_rC_x “ zu verwenden.

3.5

emerses Wachstum

morphologisches Erscheinungsbild von Wasserpflanzen, die über die Wasseroberfläche hinauswachsen

3.6

Kopfwirtel

der oberste Abschnitt eines Sprosses einer *Myriophyllum*-Pflanze

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe Bild A.1.

3.7

Nekrose

totes, umgrenztes Pflanzengewebe (erkennbar durch braune oder weiße Färbung)

[QUELLE: ISO 20079:2005, Begriff 3.16, modifiziert]

3.8

Nährlösung

wässrige Lösung von Nährstoffen und Spurenelementen, die für das Wachstum von *Myriophyllum* notwendig sind

[QUELLE: ISO 20079:2005, Begriff 3.17, modifiziert]

3.9

Vorkultur

Kultur von *Myriophyllum aquaticum*, die zur Adaption der Testpflanzen an die Testbedingungen und zur Anzucht der für den Einsatz im Test notwendigen Wirtel verwendet wird

[QUELLE: ISO 20079:2005, Begriff 3.19, modifiziert]

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe Bild A.2.