

DIN ISO 21338



ICS 07.100.20

**Wasserbeschaffenheit –
Kinetische Bestimmung der hemmenden Wirkung von Sediment und
anderen Feststoffen sowie gefärbten Proben auf die Lichtemission von
Vibrio fischeri (Kinetischer Leuchtbakterientest) (ISO 21338:2010)**

Water quality –

Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (kinetic luminescent bacteria test) (ISO 21338:2010)

Qualité de l'eau –

Détermination cinétique des effets inhibiteurs des échantillons de sédiment, autres solides et des échantillons colorés sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (essai cinétique de bactéries luminescentes) (ISO 21338:2010)

Gesamtumfang 30 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort	4
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	7
Vorwort	8
Einleitung	9
1 Anwendungsbereich	10
2 Normative Verweisungen	10
3 Begriffe	10
4 Grundlage des Verfahrens	11
5 Störungen	12
6 Reagenzien und Materialien	13
7 Geräte	14
8 Probenahme und Probenvorbehandlung	14
8.1 Probenahme	14
8.2 Probenvorbehandlung	15
9 Durchführung	15
9.1 Vorbereitende Arbeiten	15
9.1.1 Herstellung der Testlösungen	15
9.1.2 Herstellung der Testsuspensionen	16
9.2 Testdurchführung	16
10 Auswertung	17
10.1 Hemmwirkung auf die Leuchtbakterien	17
10.2 Ermittlung von EC-Werten	18
11 Angabe der Ergebnisse	19
12 Gültigkeitskriterien	20
13 Untersuchungsbericht	21
Anhang A (informativ) Verfahrenskennndaten	22
A.1 Proben	22
A.2 Analysenverfahren	22
A.3 Ergebnisse	23
Anhang B (informativ) Typische kinetische Kurven für verschiedene Proben	26
Anhang C (informativ) Verdünnungsreihe	27
Literaturhinweise	29

Bilder

Bild 1 — Grundlegendes Ablaufschema für den kinetischen Leuchtbakterientest	12
Bild B.1 — Typisches kinetisches Verhalten giftiger und ungiftiger Feststoffproben im kinetischen Leuchtbakterientest während einer Expositionsdauer von 30 s	26
Bild C.1 — Verdünnungsschema	28

Tabellen

Tabelle 1 — Beispiel für eine Testauswertung — Probe: Suspension eines Flusssediments 50 g/l	19
Tabelle A.1 — Zusammenfassung der eingegangenen Ergebnisse: EC ₂₀ - und EC ₅₀ -Werte	23
Tabelle A.2 — Zusammenfassung des Leistungstests: Robustheitswerte	24
Tabelle A.3 — Ergebnisse der Doppelbestimmungen: ANOVA-Statistik	24
Tabelle A.4 — Verfahrenskennndaten für gefriergetrocknete Bakterien	25

Tabelle C.1 — Herstellung der Verdünnungsreihe 27

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält die deutsche Übersetzung der Internationalen Norm ISO 21338:2010, die vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ erarbeitet wurde, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

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

Bezeichnung des Verfahrens:

Kinetische Bestimmung der hemmenden Wirkung von Sediment und anderen Feststoffen sowie gefärbten Proben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Kinetischer Leuchtbakterientest) (L 54):

Verfahren DIN ISO 21338 — L — 54

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

ISO 565	siehe	DIN ISO 565
ISO 5667-16:1998*	siehe	DIN EN ISO 5667-16:1999-02*
ISO 5814	siehe	DIN EN ISO 5814
ISO 8655-2	siehe	DIN EN ISO 8655-2
ISO 11348-1	siehe	DIN EN ISO 11348-1
ISO 11348-2	siehe	DIN EN ISO 11348-2
ISO 11348-3:2007	siehe	DIN EN ISO 11348-3:2009-05

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nach DIN ISO 21338 kann die Messung mit frisch gezüchteten, gefriergetrockneten oder flüssig getrockneten Bakterien durchgeführt werden. Vom DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und der ISO/TC 147/SC 5/WG 1 durchgeführte standardisierte Untersuchungen unter Bedingungen der Normen ISO 11348-1 bis ISO 11348-3 haben gezeigt, dass diese unterschiedlichen Bakterienpräparationen in bestimmten Fällen zu unterschiedlichen Ergebnissen führen können, insbesondere wenn die Wasserproben Schwermetalle enthalten.

Die unterschiedliche Empfindlichkeit der Verfahren ist die Folge der unterschiedlichen Beschaffenheit der Kulturmedien, die zur Bereitung gefriergetrockneter und flüssig getrockneter Bakterien eingesetzt werden.

Diese verschiedenen Kulturmedien beeinflussen die Bioverfügbarkeit von toxischen Stoffen und/oder die Lichtemission der Leuchtbakterien.

Das bedeutet, dass die Ergebnisse der Untersuchungen unter Berücksichtigung der Herkunft der Bakterien und der Art der Herstellung der Medien interpretiert werden müssen. Die für die Untersuchungsergebnisse verantwortlichen Labore haben die Möglichkeit, das Bakterienpräparat auszuwählen, das, unter Berücksichtigung ihres Sachverstandes und der über die Probe zur Verfügung stehenden Informationen, am besten geeignet ist.

* Zurückgezogen. Nachfolgedokumente: ISO 5667-16:2017 bzw. DIN EN ISO 5667-16:2019-03.

Die Konzentrationen der Referenzsubstanzlösungen für die verwendeten Bakterienpräparationen sind in ISO 11348-1 für frisch gezogene Bakterien, in ISO 11348-2 für flüssig getrocknete Bakterien und in ISO 11348-3 für gefriergetrocknete Bakterien festgelegt.

Hinweis zur Anwendung in Deutschland

Die Verdünnungsstufe, bei der keine Hemmung oder nur Effekte, die die testspezifische Schwankung nicht überschreiten, bei dem betrachteten Organismus erkennbar ist, wird im deutschen Sprachgebrauch als *G*-Wert bezeichnet. In der Original-ISO-Norm wird von LID-Wert (en: lowest ineffective dilution) gesprochen.

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:

Kinetische Bestimmung der hemmenden Wirkung von Sediment und anderen Feststoffen sowie gefärbten Proben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Kinetischer Leuchtbakterientest) (L 54).

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, Auskunft.

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 8655-2, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 2: Kolbenhubpipetten*

DIN EN ISO 11348-1, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) — Teil 1: Verfahren mit frisch gezüchteten Bakterien*

DIN EN ISO 11348-2, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) — Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien*

DIN EN ISO 11348-3:2009-05, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) — Teil 3: Verfahren mit gefriergetrockneten Bakterien (ISO 11348-3:2007); Deutsche Fassung EN ISO 11348-3:2008*

DIN ISO 565, *Analysensiebe — Metalldrahtgewebe, Lochplatten und elektrogeformte Siebfolien — Nennöffnungsweiten*

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.

Internationale Normen werden in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet.

Die Hauptaufgabe der Technischen Komitees besteht in dem Erarbeiten von Internationalen Normen. Die von den Technischen Komitees angenommenen Norm-Entwürfe werden den Mitgliedsorganisationen zur Umfrage zur Verfügung gestellt. Für eine Veröffentlichung als Internationale Norm wird eine Zustimmung von mindestens 75 % der Mitgliedsländer, die abgestimmt haben, benötigt.

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.

ISO 21338 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147, *Water quality*, Unterkomitee SC 5, *Biological methods*, erarbeitet.

Einleitung

Bei dem in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahren handelt es sich um eine kinetische Modifikation des in ISO 11348 festgelegten Leuchtbakterientest. Das kinetische Verfahren beseitigt die Schwierigkeiten, die durch intensive Färbung und Trübung von Proben entstehen. Trübe Proben brauchen nicht sedimentiert oder zentrifugiert zu werden, oder mit Farbkorrektur gemessen werden, wie in ISO 11348 beschrieben.

Dieses kinetische Verfahren verwendet Luminometer, die geeignet sind, Leuchtbakterien den Proben zuzugeben und die Leuchtintensität über einen definierten Zeitraum zu messen. Bei diesem Verfahren wird die Bakteriensuspension der Probe zugegeben und mit ihr in der Messkammer des Luminometers vermischt. Verschiedene geeignete Geräte sind im Handel erhältlich, jedoch können nur wenige die Kühlung der Messkammer auf $(15 \pm 1)^\circ\text{C}$ sicherstellen, wie in ISO 11348 festgelegt. Werden die Bakteriensuspension und die Untersuchungsproben vor der Messung und während der gesamten Inkubation bei $(15 \pm 1)^\circ\text{C}$ in einem Thermoblock gelagert, dann beträgt die tatsächliche Temperatur während der Kontaktzeit $(15 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Die in dieser Internationalen Norm festgelegten Messungen können sowohl mit frisch hergestellten Bakterien als auch mit gefriergetrockneten oder flüssig getrockneten Bakterienpräparaten durchgeführt werden. Die verschiedenen Bakterienpräparate können unterschiedliche Ergebnisse liefern, insbesondere bei Vorhandensein von Schwermetallen (siehe ISO 11348). Die für die Untersuchungsergebnisse verantwortlichen Labore haben die Möglichkeit, das Bakterienpräparat auszuwählen, das, unter Berücksichtigung ihres Sachverstandes und der über die Probe zur Verfügung stehenden Informationen, am besten geeignet ist.

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.