

DIN EN ISO 5667-16



ICS 13.060.70

Einsprüche bis 2016-04-26
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 5667-16:1999-02

Entwurf**Wasserbeschaffenheit –
Probenahme –****Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer
Testverfahren (ISO/DIS 5667-16:2016);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 5667-16:2016**

Water quality –

Sampling –

Part 16: Guidance on biotesting of samples (ISO/DIS 5667-16:2016);
German and English version prEN ISO 5667-16:2016

Qualité de l'eau –

Échantillonnage –

Partie 16: Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons
(ISO/DIS 5667-16:2016);
Version allemande et anglaise prEN ISO 5667-16:2016

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2016-02-26 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 71 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 5667-16:2016) 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 „Biotest“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung der prEN ISO 5667-16 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Bezeichnung des Verfahrens:

Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (L 1):

Verfahren DIN EN ISO 5667-16 (L 1)

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

ISO 5667-1	siehe	DIN EN ISO 5667-1
ISO 5667-3	siehe	DIN EN ISO 5667-3
ISO 5667-10	siehe	DIN 38402-11
ISO 5667-14	siehe	DIN EN ISO 5667-14
ISO 5667-15	siehe	DIN EN ISO 5667-15
ISO 5667-19	siehe	DIN EN ISO 5667-19
ISO 6107-6	siehe	DIN ISO 6107-6
ISO 8692	siehe	DIN EN ISO 8692
ISO 10253	siehe	DIN EN ISO 10253
ISO 10872	siehe	DIN ISO 10872
ISO 10993-10	siehe	DIN EN ISO 10993-10
ISO 11074	siehe	DIN EN ISO 11074
ISO 11885	siehe	DIN EN ISO 11885
ISO 15088	siehe	DIN EN ISO 15088
ISO/TR 15462	siehe	DIN SPEC 1164
ISO 15473	siehe	DIN ISO 15473
ISO/IEC 17025	siehe	DIN EN ISO/IEC 17025
ISO 18589-1	siehe	DIN ISO 18589-1
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 – eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (L 1).

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 5667-16:1999-02 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Abschnitt 3 Begriffe aufgenommen;
- b) Ausbau und Struktur der Norm unter Anpassung aktueller fachlicher Weiterentwicklungen geändert;
- c) Norm redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN 38402-11, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Teil 11: Probenahme von Abwasser (A 11)*

DIN EN ISO 5667-1, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 1: Anleitung zur Erstellung von Probenahmeprogrammen und Probenahmetechniken*

DIN EN ISO 5667-3, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben*

DIN EN ISO 5667-14, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 14: Anleitung zur Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle bei der Entnahme und Handhabung von umweltrelevanten Wasserproben*

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

DIN EN ISO 5667-19, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 19: Anleitung zur Probenahme mariner Sedimente*

DIN EN ISO 8692, *Wasserbeschaffenheit — Süßwasseralgen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen*

DIN EN ISO 10253, *Wasserbeschaffenheit — Wachstumshemmtest mit marinen Algen *Skeletonema costatum* und *Phaeodactylum tricornutum**

DIN EN ISO 10993-10, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 10: Prüfungen auf Irritation und Hautsensibilisierung*

DIN EN ISO 11074, *Bodenbeschaffenheit — Wörterbuch*

DIN EN ISO 15088, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*)*

DIN EN ISO 11885, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung von ausgewählten Elementen durch induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (ICP-OES)*

DIN EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

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

DIN ISO 6107-6, *Wasserbeschaffenheit — Wörterbuch — Teil 6*

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

DIN ISO 15473, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung für Laboratoriumsuntersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit von organischen Chemikalien im Boden unter anaeroben Bedingungen*

DIN ISO 18589-1, *Ermittlung der Radioaktivität in der Umwelt — Erdboden — Teil 1: Allgemeiner Leitfaden und Begriffe*

DIN SPEC 1164, *Wasserbeschaffenheit — Auswahl von Prüfverfahren für die biologische Abbaubarkeit*

Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (ISO/DIS 5667-16:2016)

Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 16 : Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons (ISO/DIS 5667-16:2016)

Water quality — Sampling — Part 16: Guidance on biotesting of samples (ISO/DIS 5667-16:2016)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.7g

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	8
4 Allgemeine Hinweise zur Testkonzeption	12
4.1 Allgemeines	12
4.2 Replikate	13
5 Auswertung	15
5.1 Allgemeines	15
5.2 Statistische Analyse	15
6 Probenahme und Transport	15
6.1 Allgemeines	15
6.2 Probenahmeausrüstung	16
6.3 Befüllungszustand von Probenbehältern	17
6.4 Probenidentifizierung und Berichte	18
6.5 Probenteilung	18
6.6 Transport	18
6.7 Kontamination während der Probenahme	19
6.8 Qualitätskontrolltechniken der Probenahme	19
7 Vorbehandlung	19
7.1 Konservierung und Lagerung	19
7.2 Auftauen	20
7.3 Homogenisieren	20
7.4 Trennung von gelösten und partikulären Bestandteilen	20
7.5 Vorkonzentration	21
7.6 pH-Wert-Einstellung	22
8 Geräte und Ausrüstung	23
8.1 Auswahl der Geräte	23
8.2 Reinigung der Geräte und Ausrüstung	23
9 Beeinträchtigung der Testdurchführung	23
9.1 Probleme und Präventionsmaßnahmen bei Proben, die entfernbare Bestandteile enthalten	23
9.2 Probleme und Präventionsmaßnahmen bei farbigen und/oder trüben Proben	25
10 Herstellung von Stammlösungen und Testansätzen	26
10.1 Wasserlösliche Substanzen	26
10.2 Schwerlösliche Stoffe	26
11 Qualitätssicherung für biologische Testverfahren	28
11.1 Allgemeines	28
11.2 Qualitätssicherung im Zusammenhang mit der Untersuchung von Umweltproben	29
12 Untersuchungsbericht	29
Literaturhinweise	32

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 5667-16:2016) 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.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 5667-16:1998 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 5667-16:2016 wurde vom CEN als prEN ISO 5667-16:2016 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

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 (siehe 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 (siehe www.iso.org/patents).

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

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der WTO-Grundsätze zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: Foreword - Supplementary information.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 147, *Water quality*, Unterkomitee SC 6, *Sampling (general methods)* und, auf der Grundlage der Wiener Vereinbarung, das CEN/TC 230 „Wasseranalytik“.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 5667-16:1998), die technisch überarbeitet wurde.

ISO 5667 besteht unter dem allgemeinen Titel *Water quality — Sampling* aus folgenden Teilen:

- *Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques*
- *Part 3: Preservation and handling of water samples*
- *Part 4: Guidance on sampling from lakes, natural and man-made*
- *Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems*
- *Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams*
- *Part 7: Guidance on sampling of water and steam in boiler plants*
- *Part 8: Guidance on the sampling of wet deposition*
- *Part 9: Guidance on sampling from marine waters*

- *Part 10: Guidance on sampling of waste waters*
- *Part 11: Guidance on sampling of groundwaters*
- *Part 12: Guidance on sampling of bottom sediments*
- *Part 13: Guidance on sampling of sludges*
- *Part 14: Guidance on quality assurance and quality control of environmental water sampling and handling*
- *Part 15: Guidance on the preservation and handling of sludge and sediment samples*
- *Part 16: Guidance on biotesting of samples*
- *Part 17: Guidance on sampling of bulk suspended solids*
- *Part 19: Guidance on sampling of marine sediments*
- *Part 20: Guidance on the use of sampling data for decision making - Compliance with thresholds and classification systems*
- *Part 21: Guidance on sampling of drinking water distributed by tankers or means other than distribution pipes*
- *Part 22: Guidance on design and installation of groundwater monitoring points*
- *Part 23: Guidance on passive sampling in surface waters*

Einleitung

Biologische Testverfahren („Biotests“) sind zur Bestimmung der Wirkung von Umweltproben, z. B. behandeltes kommunales und industrielles Abwasser, Frischwasser, wässrigen Extrakten (z. B. Sickerwasser, Eluate) von Feststoffen, Porenwasser von Sedimenten, Gesamtsediment oder chemischen Substanzen unter den im Experiment festgelegten Bedingungen auf die jeweiligen Testorganismen geeignet. Diese Wirkungen können entweder fördernd oder hemmend sein und können durch die Reaktion der Organismen (z. B. durch Tod, Wachstum, (Zell-)Proliferation, morphologische und physiologische Veränderungen) festgestellt werden. Hemmwirkungen werden durch toxische Wasserinhaltsstoffe oder andere Wirkungen von Schadstoffe (Noxen) ausgelöst werden.

Die im biologischen Testverfahren messbare, scheinbare Toxizität ist das Ergebnis einer Wechselwirkung zwischen den Bestandteilen einer Umweltprobe oder einer toxischen Substanz und dem Testorganismus. Das Schutzpotential des biologischen Systems, z. B. durch metabolische Entgiftung und Exkretion (Ausscheidung), ist ein integraler Bestandteil des biologischen Testverfahrens.

Außer der direkten toxischen Wirkung eines oder mehrerer Probenbestandteile können biologische Schadwirkungen durch das Zusammenwirken aller Schadstoffe verursacht werden (z. B. durch Substanzen, die an sich nicht toxisch sind, aber die chemischen oder physikalischen Eigenschaften von Testansätzen) durch Störung mit den testspezifischen Zusatzstoffen (z. B. Nährstoffe, Salze) beeinflussen und daraus folgend auch die Lebensbedingungen der Organismen. Dieses gilt beispielsweise für sauerstoffzehrende Substanzen, Farb- oder Trübstoffe, die den Lichteinfall vermindern.

Zu den biologischen Testverfahren gehören auch solche Verfahren, bei denen die Wirkung von Organismen auf Substanzen geprüft wird (z. B. Untersuchungen zum mikrobiellen Abbau).

Das Ergebnis des biologischen Testverfahrens bezieht sich vor allem auf die im Test verwendeten Organismen und die im Testverfahren vereinbarten Bedingungen. Eine durch standardisierte Testverfahren festgestellte schädigende Wirkung kann einen Hinweis geben, dass die aquatischen Organismen und die Biozönose gefährdet sein könnten. Die Ergebnisse erlauben jedoch keine direkten oder extrapolativen Hinweise in Bezug auf das Auftreten ähnlicher Effekte in der aquatischen Umwelt. Dies gilt in besonderer Weise für suborganismische Testverfahren, da wichtige Eigenschaften und physiologische Funktionen intakter Organismen (z. B. Schutzmaßnahmen, Reparaturmechanismen) entfernt oder deaktiviert werden.

Grundsätzlich gibt es keinen Organismus, der eingesetzt werden kann, um alle möglichen Auswirkungen auf die Biozönose oder das Ökosystem unter den verschiedenen Konstellationen abiotischer oder biotischer Bedingungen zu untersuchen. Lediglich wenige („Modell“-)Arten, die relevante ökologische Funktionen repräsentieren, können in der Praxis getestet werden.

Neben diesen grundsätzlichen und praktischen Grenzen bei der Auswahl der Testorganismen, kann auch die zu untersuchende Probe beim Biotest experimentelle Schwierigkeiten verursachen. Umweltproben (z. B. Abwasser, Gesamtsediment) sind komplexe Gemische und enthalten häufig schwerlösliche, flüchtige, instabile, farbige Substanzen und/oder suspendierte, manchmal kolloide Partikel. Die Komplexität und die Heterogenität der Materialien sind bei der Durchführung von Biotests Ursache einer Vielfalt experimenteller Probleme.

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

- physikalischer Art (z. B. Phasentrennung, Sedimentation, Verflüchtigung);
- chemischer Art (z. B. Hydrolyse, Photodegradation, 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 von ISO 5667 ist einer aus einer Gruppe von Internationalen Normen, die sich mit der Probenahme von Wasser befassen und sollte in Verbindung mit den anderen Teilen von ISO 5667, insbesondere den Teilen 1, 3 und 15, gelesen werden.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 5667 gibt praktische Hinweise zur Probenahme, Vorbehandlung, Durchführung und Bewertung von Umweltproben im Zusammenhang mit der Durchführung von biologischen Testverfahren. Informationen werden gegeben, wie mit den Problemen bei den biologischen Testverfahren in Bezug auf die Probe und mit der Eignung der Testkonzeption umzugehen ist.

Es ist beabsichtigt, praktische Erfahrung hinsichtlich zu treffender Vorkehrungen zu vermitteln, indem erfolgreich bewährte Verfahren beschrieben sind, um einige der experimentellen Probleme bei biologischen Testverfahren von Wässern zu lösen oder zu umgehen.

Soweit möglich, wurde auf bestehende Internationale Normen und Leitlinien verwiesen. Die Informationen aus Veröffentlichungen und mündliche Mitteilungen sind ebenfalls eingearbeitet.

Vor allem werden substanzbezogene Probleme in Bezug auf die Probenahme und Vorbehandlung von Umweltproben (z. B. Abwasserproben) bei der Durchführung von Biotests berücksichtigt.

Besondere Berücksichtigung finden ökotoxikologische Testverfahren mit Organismen (Tests mit ausgewählter Art (en: Single-species Biotests)). Einige Darlegungen in dieser allgemeinen Anleitung beziehen sich auch auf Biotests, die „Single-cell Systeme“ (In-vitro-Biotest) anwenden, und auf Untersuchungen zum biologischen Abbau, sofern die Probenahme und die Probenvorbereitung betroffen sind. Ebenso wird auf die Untersuchung von Substanzen in Bezug auf den Bereich der Wasserlöslichkeit eingegangen.

Dieser Teil von ISO 5667 gilt für biologische Testverfahren zur Bestimmung der Wirkung von Umweltproben, z. B. behandeltes kommunales und industrielles Abwasser, Frischwasser, wässrige Extrakte (z. B. Sickerwasser, Eluate), Porenwasser von Sedimenten und Gesamtsediment. Dieser Teil von ISO 5667 ist auch auf chemische Substanzen anwendbar.

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

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 5667-1, *Water quality — Sampling — Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques*

ISO 5667-10, *Water quality — Sampling — Part 10: Guidance on sampling of waste waters*

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

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Blindwertprobe

Gemisch von Wasser und Nährstoffen ohne den Testorganismus

3.2

Zelldichte

x

Anzahl der Zellen je Volumeneinheit Medium

[QUELLE: ISO 10253:2006 [1], 3.1]

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Zelldichte wird in Zellen je Milliliter angegeben.

3.3

Kontrolle

Kontrollmedium (3.4) oder Kontrollboden (3.5) einschließlich der Organismen, die im Test eingesetzt werden, ohne das Testgut

3.4

Kontrollmedium

während des Tests angewendete Kombination aus Wasser und Zusatzstoffen (Additiven) (z. B. Nährstoffe, Salz)

3.5

Kontrollboden

Kontrollsediment

während des Tests verwendeter definierter künstlicher oder natürlicher Boden

[QUELLE: ISO 10872:2010 [2], 3.7, modifiziert]

3.6

Verdünnungsstufe

D

reziproker Wert des Volumenanteils von Abwasser im Verdünnungswasser, bei dem der Test durchgeführt wird

BEISPIEL 250 ml Abwasser in einem Gesamtvolumen von 1 000 ml (Volumenanteil 25 %) ergibt die Verdünnungsstufe $D = 4$.

[QUELLE: ISO 15088:2007 [3], 3.2]

3.7

Verdünnungswasser

Wasser, das zur Untersuchungsprobe hinzugegeben wird, um eine Serie definierter Verdünnungen herzustellen

[QUELLE: ISO 20079:2005 [4], 3.7]

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Zusammensetzung des Wassers ist in dem bestimmten Test festgelegt.

3.8

effektive Konzentration

Wirkkonzentration

EC_x

Konzentration des Testmaterials im Wasser oder Boden, die zu einer Veränderung von x % in der Reaktion während einer festgelegten Zeitspanne führt

[QUELLE: ISO/TS 20281:2006 [4], 3.8.1]

3.9

Feldblindwertprobe

im Laboratorium vorbereiteter Behälter mit Wasser oder anderer Blindwertmatrix, der durch das Probenahmepersonal während der Probenahme am Ort der Probenahme aufgestellt wird, um mögliche Kontaminationen aus der Umwelt nachzuweisen

[QUELLE: ISO 11074:2005 [5], 4.5.3]

3.10

(spezifische) Wachstumsrate

proportionale Zunahmerate der Zelldichte je Zeiteinheit: (1/Tag)

[QUELLE: ISO 10253:2006 [1], 3.2]

3.11

geringste, nicht wirksame Verdünnung/Verdünnungsstufe

niedrigste unwirksame Verdünnung

LID

(en: lowest ineffective dilution/dilution factor)

geringste, nicht wirksame untersuchte Verdünnungsstufe D (3.6) bei der keine Hemmung oder nur Effekte, die die testspezifische Schwankung nicht überschreiten, beobachtet werden

[QUELLE: ISO 15088:2007 [3], 3.5]

3.12

Nährmedium

wässrige Lösung von Nährstoffen und Spurenelementen, die für das Wachstum der Testorganismen notwendig sind

[QUELLE: ISO 20079:2005 [4], 3.17, modifiziert]

3.13

Positivkontrolle

beliebige gut beschriebene Referenzsubstanz, die, wenn nach einem bestimmten Testverfahren bewertet, die Eignung des Testsystems zur Erzielung einer reproduzierbaren, in geeignetem Maße positiven oder reaktiven Rückantwort im Testsystem nachweist

[QUELLE: ISO 10993-10:2010 [7], 3.14, modifiziert]

3.14

Referenzsubstanz

bekannte Substanz zur Verifizierung der Empfindlichkeit (Sensibilität) des Verfahrens

3.15

Referenzansatz

Wirkung oder Verhalten einer aus vorangegangenen Tests (Referenzsubstanz) bekannten und innerhalb der Rahmenbedingungen einer Testreihe als Testgut untersuchten Substanz

[QUELLE: ISO 21338:2010 [8], 3.5]

3.16

Replik

Mehrfachmessung

einzelne Prüfkammer, die eine vorgeschriebene Anzahl von Organismen enthält, entweder in einer Konzentration (Behandlung) des Testgutes oder in einer Kontrolle

[QUELLE: Reference Environment Canada 2005 [21]]

3.17

Probe

Menge von Material, die aus einer größeren Materialmenge ausgewählt, gesammelt und zu Prüfzwecken entnommen wurde

[QUELLE: ISO 18589-1:2005 [20], 3.3.1]

Anmerkung 1 zum Begriff: Das Verfahren der Auswahl der Probe kann im Probenahmeplan beschrieben werden.

Anmerkung 2 zum Begriff: Das Material kommt aus der Umwelt (z. B. Abwasser, Sediment oder ein Eluat), ist eine chemische Substanz oder Zubereitung oder ein ähnliches Material.

3.18

Probenvorbehandlung

Probenvorbereitung

Sammelbegriff für sämtliche Verfahrensweisen, die für die Konditionierung einer Probe bis zu einem definierten Zustand eingesetzt werden, der eine anschließende Untersuchung ermöglicht

Anmerkung 1 zum Begriff: In Abhängigkeit von den Anforderungen des Verfahrens umfasst die Vorbehandlung der Probe beispielsweise die Konservierung und Lagerung (Aufbewahrung), Zentrifugation, Filtration, Homogenisierung, Vorkonzentrierung sowie die Einstellung des pH-Wertes.

3.19

Probenlagerung

Probenaufbewahrung

Vorgang und Ergebnis des Aufbewahrens einer Probe unter vorab festgelegten Bedingungen für eine (üblicherweise) festgelegte Dauer zwischen der Probenahme und der weiteren Bearbeitung einer Probe

[QUELLE: ISO 5667-3:2012 [10], 3.3]

Anmerkung 1 zum Begriff: Die angegebene Zeit ist die maximale Zeitspanne.

3.20

Stammkultur

Kultur einer einzelnen Art zur Bewahrung der ursprünglich definierten Arten im Laboratorium

[QUELLE: ISO 20079:2005 [4], 3.21, modifiziert]

3.21

Stammlösung

eine aus Chemikalien angemessener Reinheit hergestellte Lösung mit exakt bekannter Konzentration des oder der Analyten

[QUELLE: ISO 11885:2007 [9], 3.23]

3.22

Aufbewahrungszeit

Zeitspanne zwischen Füllen der Probenbehälter und weiterer Behandlung der Probe im Laboratorium bei Lagerung unter festgelegten Bedingungen

[QUELLE: ISO 5667-3:2012 [10], 3.4]

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Probenahme endet, sobald der Probenbehälter mit der Probe gefüllt worden ist. Die Aufbewahrungszeit endet, sobald der Analytiker die Probe nimmt, um die Probenvorbereitung vor Beginn der Analyse zu beginnen.

3.23

Teilprobe

repräsentative Teilmenge, die der Probe entnommen wurde

[QUELLE: ISO 5667-19:2004 [11], 3.7]

3.24

Testansatz

Gemisch von Testmedium, unverdünnt oder mit Wasser verdünnt, einschließlich der Testorganismen

[QUELLE: ISO 8692:2004 [13], 3.6, modifiziert]

3.25

Testmedium

Gemisch von Verdünnungswasser, testspezifischen Zusatzstoffen (Additiven) und des Testgutes

[QUELLE: ISO 8692:2004 [13], 3.5]

3.26

Testgut

Untersuchungsprobe

unverdünnte, verdünnte oder anderweitig vorbereitete Teilprobe des Testansatzes, nach Abschluss aller (x.y) Arbeitsschritte der Vorbereitung (Vorbehandlung)

[QUELLE: ISO 6107-6:2004 [6], 92, modifiziert]

3.27

Prüfsubstanz

chemische Substanz, die zur Untersuchung dem Prüfsystem zugegeben wird

[QUELLE: ISO 15473:2002 [12], 3.10]

3.28

Testmaterial

zu untersuchendes Material

[QUELLE: ISO 17126:2005 [14], 3.3]

4 Allgemeine Hinweise zur Testkonzeption

4.1 Allgemeines

Bei jedem Testverfahren sollten mehrere Replikate der Kontrolle und der Behandlungsgruppen untersucht werden. Die Mindestanzahl der Replikate ist üblicherweise in der entsprechenden Norm beschrieben. In 4.2.3 ist ein Beispiel angegeben, wie die erforderliche Anzahl von Beobachtungen (Replikaten) berechnet werden kann.

Es wird empfohlen, beispielsweise durch Randomisierung der Anordnung der Testgefäße in der Testkammer den Einfluss von Abweichungen bei den Testbedingungen (z. B. Licht, Temperatur) auf ein Mindestmaß zu verringern.

Um sicherzustellen, dass die Testbedingungen des Laboratoriums (einschließlich des Zustandes und der Empfindlichkeit der Testorganismen) angemessen sind und nicht signifikant verändert wurden, sollte eine Referenzsubstanz als Positivkontrolle untersucht werden.

4.2 Replikate

4.2.1 Allgemeines

Vorzugsweise werden drei statistische Ansätze bei der statistischen Analyse der Ergebnisse aus den ökotoxischen Testverfahren mit Umweltproben durchgeführt: (1) Bestimmung der geringsten, nicht wirksamen Verdünnung (LID) bei der Untersuchung von Abwasser, (2) Zwei-Stichproben-Vergleiche zwischen der Kontrolle (oder dem Referenzansatz) und entweder dem Testansatz oder den Ansätzen der Positivkontrolle (toxischer Standard) und (3) Berechnung von Punktschätzungen (z. B. EC20, LC50) aus der modellierten Konzentrations-/Verdünnungs-/Wirkungsbeziehung.

Bei der ökotoxischen Untersuchung von Umweltproben ist die Bestimmung der Konzentration, bei der keine Wirkung zu betrachten ist (en: no observed effect concentration, NOEC) und der geringsten Konzentration, bei der eine Wirkung zu beobachten ist (en: lowest observed effect concentration, LOEC) normalerweise nicht vorgesehen und wird daher hier nicht weiter beachtet. Muss die Bewertung der NOEC ausnahmsweise durchgeführt werden, ist ISO/TS 20281 [15] zu beachten.

Die Anzahl der Replikate ist hauptsächlich bei der Hypothesenprüfung (z. B. Zwei-Stichproben-Vergleiche) kritisch und ist von der Variabilität des zu bewertenden, betreffenden Endpunkts ab, der Mindestwirkungsgröße, die durch eine statistische Untersuchung und die statistische Aussagekraft nachgewiesen werden muss. Die Abschätzung einer ECx stellt andere Anforderungen an das Untersuchungskonzept als die für den Zwei-Stichproben-Vergleich erforderlichen (siehe ISO/TS 20281 [15]).

4.2.2 Geringste, nicht wirksame Verdünnung (LID)

Bei der Toxizitätsprüfung von Abwasser wird die Wasserprobe nach einem definierten Schema von Verdünnungen (*D*) verdünnt. Die geringste, nicht wirksame Verdünnung (LID) bezeichnet den Testansatz mit der höchsten Konzentration, bei dem noch keine Hemmung oder Mortalität beobachtet wird oder nur Wirkungen, die die testspezifisch auftretende Grenze nicht überschreiten (z. B. ISO/TS 20281 [4]: 10%ige Hemmung der Wachstumsrate von *Lemna spec.*). *D* wird als reziproker Wert des Volumenanteils von Abwasser im Testansatz angegeben.

Dieser Ansatz erfordert keine weitere statistische Analyse (z. B. Hypothesenprüfung).

4.2.3 Hypothesenprüfung — Zwei-Stichproben-Vergleiche

Die statistischen Zwei-Stichproben-Vergleiche spielen eine wichtige Rolle bei der Untersuchung von Umweltproben. Sie werden durchgeführt, um Proben aus verschiedenen Probenahmestellen mit einer Referenzstelle (z. B. Proben aus einem verschmutzten Bereich von Fließgewässern mit einer Probe aus einer nicht verschmutzten Referenzstelle stromaufwärts) zu vergleichen.

Unter einigen Umständen, wenn beispielsweise nur gewünscht wird, zu ermitteln, ob eine gegebene Verdünnungsstufe eine Wirkung zeigt, darf ein Zwei-Stichproben-Vergleich durchgeführt werden (siehe 10.2.5), der einen Vergleich von Reaktionen (Wirkungen) in einer Kontrolle und einer Testkonzentration oder einer Positivkontrolle umfasst.

Bei der Durchführung von Zwei-Stichproben-Vergleichen ist die Art der Endpunktdaten, d. h. ob quantale (qualitative) oder metrische (quantitative) Variable untersucht werden, von entscheidender Bedeutung für die Auswahl des Testverfahrens und die Berechnung der erforderlichen Probengrößen (Replikate). Zusätzlich erfordert eine statistische Untersuchung auf der Grundlage einer Varianzanalyse (en: analysis of variance, ANOVA) die Normalverteilung und Varianzhomogenität der Daten.

Die im akuten Test ermittelte Mortalität (oder Immobilität) der Testorganismen ist eine typische quantale Variable.

Im Gegensatz dazu zeigen metrische Variable kontinuierliche Zuwächse, d. h. eine Erhöhung der Wirkung. Typische metrische Variable sind z. B. Körperlänge oder Biomasse, Stoffwechselraten, Sauerstoffproduktions- oder -verbrauchsraten oder enzymatische Umwandlungsraten. Auch die Anzahl von Jungtieren (Reproduktionszahl) darf näherungsweise als metrische Variable betrachtet werden.

Formeln zur Berechnung der erforderlichen Anzahl von Beobachtungen (Replikaten) werden von statistischen Fachbüchern und -zeitschriften (z. B. Verweisungen [21] und [24]) bereitgestellt. Wenn beispielsweise vorgesehen ist, eine in einer Wasser- oder Sedimentprobe aus einem verschmutzten Standort gemessene metrische Variable (z. B. Biomasse) und von einem Referenzstandort zu vergleichen, wird ein Zwei-Stichproben-t-Test durchgeführt. Die Berechnung der erforderlichen Probengröße ist in Gleichung (1) (siehe Verweisung [21]) angegeben:

$$n \geq 2 \left(\frac{\sigma}{\delta} \right)^2 (t_{\alpha,df} + 2t_{\beta,df})^2 \quad (1)$$

Dabei ist/sind

- n die Anzahl der Replikate;
- σ die wahre Standardabweichung des Endpunktes;
- δ die kleinste wahre Differenz;
- df die Freiheitsgrade (hier: $df = n_1 + n_2 - 2$);
- α die signifikante Stufe (z. B. 0,05);
- β der Typ-II-Fehler ($1 - \beta$ wird als „Teststärke“ des statistischen Tests bezeichnet und gibt die gewünschte Wahrscheinlichkeit an, dass eine Differenz ermittelt wird, die signifikant ist (wenn sie kleiner als δ ist);
- $t_{\alpha,df}/t_{\beta,df}$ die Werte aus einer zweiseitigen t -Tabelle mit df Freiheitsgraden.

Es ist erforderlich, nur dass das Verhältnis von σ zu δ bekannt ist, nicht deren tatsächlichen Werte (z. B. wenn der Variationskoeffizient 20 % und die gewünschte nachweisbare Differenz 10 % beträgt, ist das Verhältnis gleich 2). In Bezug auf die Formeln von anderen Testverfahren sind statistische Fachbücher oder ISO /TS 20281 [4] zu berücksichtigen.

4.2.4 Wirkungsbeziehung der Konzentration und Verdünnung

Die Modellierung der Konzentrations- und Verdünnungswirkungen können zur Bestimmung der durch die Volumenanteile des Testgutes hervorgerufenen definitiven Wirkungsgrößen (z. B. EC10, EC50, LC50) eingesetzt werden. Sie muss zur Analyse der Wirkungen von Referenzsubstanzen eingesetzt werden, um die Leistungsfähigkeit des Testsystems (z. B. ISO 20079 [4]) nachzuweisen. Das Testverfahren gilt als gültig, wenn die ermittelte EC50 für die Referenzsubstanz von einer in früheren Ringversuchen bestimmten unteren und oberen Grenz-EC50 eingeklammert wird.

Die wichtigste Anforderung an die Konzeption ist das Vorhandensein einer ausreichenden Anzahl von Konzentrations- (Verdünnungs-)gruppen. Dieses darf zu Lasten der Anzahl der Replikate je Gruppe erfolgen (z. B. Beibehaltung der Gesamtgröße der Untersuchung), da die Präzision der geschätzten ECx überwiegend von der Gesamtgröße der Untersuchung abhängt, anstatt von der Probengröße je Konzentrations- oder Verdünnungsgruppe.

Wiederum ist die Art der Endpunktdaten, d. h. ob quantale (qualitative) oder metrische (quantitative) Variable bestimmt werden, von entscheidender Bedeutung für die Testkonzeption und das statistische Verfahren. Hinsichtlich weiterer Informationen siehe ISO/TS 20281 [15].

5 Auswertung

5.1 Allgemeines

Die Auswertung der Testergebnisse umfasst zunächst eine kritische Dateninspektion sowie eine Darstellung und Beschreibung der Testergebnisse unter Anwendung von Diagrammen, Tabellen und geeigneten statistischen Kenngrößen, z. B. von Mittelwerten und Streuungsmaßen (beschreibende Statistik).

In vielen Fällen schließt sich eine weitergehende statistische Bearbeitung an, die der Ermittlung von Konzentrations- oder Dosis-/Wirkungsbeziehungen dient, um geeignete statistische Kenngrößen für das Wirkungsquantum zu berechnen und um die statistische Signifikanz zu überprüfen (schätzende und testende Statistiken). Diese weitergehende statistische Auswertung ist aber nur dann sinnvoll, wenn die Daten für diesen Zweck angemessen sind. Dieses erfordert zunächst eine kritische Überprüfung der Daten.

5.2 Statistische Analyse

Die statistische Analyse der Daten aus der Ökotoxizitätsprüfung von Umweltproben sollte nach dem aktuellen Stand der Technik erfolgen, wie in ISO/TS 20281 [15] oder in der entsprechenden Norm des Ökotoxizitätstests festgelegt. Insbesondere sollte der Versuchsleiter das Folgende berücksichtigen.

Die Daten sollten vollständig in tabellarischer oder graphischer Form dokumentiert werden.

Auf der Grundlage der Art der Datenskala sollte ein geeignetes statistisches Verfahren ausgewählt werden.

Mit der Hypothesenprüfung sollte eine Maßgröße der statistischen Teststärke der erfolgten statistischen Testverfahrensweise zur Verfügung gestellt werden (z. B. kleinste nachweisbare (= signifikante) Differenz (siehe Verweisungen [21] und [24])).

Mit der Modellierung der Konzentrations-/Verdünnungs-/Wirkungsbeziehung sollte die Vertrauensgrenze (z. B. 95 %-Vertrauensbereich) für die angegebenen EC_x oder LC_x zur Verfügung gestellt werden.

Es ist sehr zu empfehlen, sämtliche statistischen Berechnungen unter Anwendung einer validierten statistischen Software durchzuführen.

6 Probenahme und Transport

6.1 Allgemeines

Die Probenahme ist der erste Arbeitsschritt bei der Durchführung biologischer, chemischer und physikalischer Untersuchungen. Das Ziel der Probenahme sollte der Erhalt einer repräsentativen Probe für die festgelegte wissenschaftliche Fragestellung sein und deren Lieferung zum Laboratorium auf korrekte Weise.

Als ein Ergebnis von physikalischen, chemischen oder biologischen Reaktionen, die in der Zeitspanne zwischen Probenahme und der Analyse stattfinden können, sind Umweltproben änderungsanfällig. Die Art und die Rate dieser Reaktionen sind häufig derart, dass die Probe wesentlich verändert werden kann und somit nicht mehr repräsentativ für die ursprüngliche Probe sein wird, wenn die erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen während der Probenahme, des Transportes und der Lagerung nicht getroffen werden. Das Ausmaß dieser Veränderungen ist beispielsweise abhängig von der chemischen und biologischen Beschaffenheit der Probe, vom Material der Probenahmeausrüstung (Probenahmegefäß und Probenbehälter), vom Transport und der Vorbehandlung (z. B. Lagerung, Konservierung). Sich beispielsweise aus der unsachgemäßen Probenahme und Vorbehandlung der Probe ergebende Fehler können nicht korrigiert werden.

Dieser Teil von ISO 5667 ist für die Anwendung in Verbindung mit ISO 5667-1 vorgesehen, die die allgemeinen Prinzipien aufstellt und Anleitungen zu der Gestaltung von Probenahmeprogrammen und Probenahmetechniken in Bezug auf alle Aspekte der Probenahme von Wasser (einschließlich Abwasser, Schlamm, Abflüsse und Bodenablagerungen) bereitstellt: z. B. die Auswahl von repräsentativen Probenahmestellen, Zeitpunkt und Häufigkeit der Probenahme, Probenahmetechniken, Ausrüstungsteile für die Probe in Bezug auf physikalische oder chemische Kenngrößen, Vermeidung von Kontamination, Transport der Proben zum Lager oder Laboratorium und die dortige Lagerung der Proben, Probenidentifizierung und Aufzeichnungen.

Falls Stich- (Punkt-) oder Mischproben nicht vor Ort analysiert werden können und ein Transport zu einem Laboratorium zur Analyse erfolgen muss, enthält ISO 5667-3 [10] Anleitungen hinsichtlich der Bestimmung von physikalisch-chemischen Kenngrößen. Sie etabliert allgemeine Anforderungen sowohl in Bezug auf die Handhabung und Konservierung von Proben, den Probentransport, die Probenannahme und -identifizierung als auch auf die Probenlagerung. Hinsichtlich der Konservierung und Handhabung von Schlamm- und Sedimentproben siehe ISO 5667-15.

Im Allgemeinen ist der Probenahmeansatz für die Durchführung von Biotests kompatibel mit dem Ansatz für die chemische Analyse. In jedem Fall wird die Konsultation mit dem Laboratorium dringend empfohlen, das den Biotest durchführt.

6.2 Probenahmeausrüstung

Die Bestimmungen zur Probenahmeausrüstung, insbesondere zum verwendeten Material, gelten sowohl für das Probengefäß als auch für die Probenahmegefäße. Die Art der Behälter und Ausrüstungsteile für die Probe sollten in Abstimmung mit dem untersuchenden Laboratorium ausgewählt werden, weil für einige Biotests nur bestimmte Materialien für die Probenahme, den Transport und die Lagerung geeignet sind. Spezifische Anforderungen in Bezug auf das Probenahmematerial, die in einer bestehenden ISO-Biotest-Norm beschrieben sind, sind obligatorisch.

6.2.1 Probenbehälter

Die Auswahl von Probenbehältern ist von wesentlicher Bedeutung und ISO 5667-1 und ISO 5667-3 [10] enthalten Anleitungen hinsichtlich dieser Thematik.

Der überwiegende Teil der folgenden Anweisungen und Empfehlungen sind aus ISO 5667-1 zitiert.

Die Probebehälter sollten entsprechend gestaltet sein, damit die Zusammensetzung der Probe vor Verlusten infolge von Adsorption und Verflüchtigung oder vor der Kontamination mit Fremdsubstanzen bewahrt wird. Die am häufigsten auftretenden Probleme bestehen in der Adsorption von chemischen Substanzen an den Wänden des Probenahmegefäßes oder Probenbehälters, der Kontamination vor der Probenahme durch unsachgemäße Reinigung des Probenahmegefäßes oder Probenbehälters sowie durch die Kontamination der Probe durch das Material, aus dem das Probenahmegefäß oder der Probenbehälter besteht.

Der zum Sammeln und Aufbewahren der Probe genutzte Probenbehälter sollte unter Berücksichtigung der folgenden Aspekte ausgewählt werden, z. B. Beständigkeit gegen extreme Temperaturen, Bruchfestigkeit, einfaches und gutes Verschließen (Abdichtung) und erneutes Öffnen, Größe, Form, Gewicht, Verfügbarkeit, Preis, Möglichkeit der Reinigung und Wiederverwendbarkeit usw.

Bei lichtempfindlichen Materialien sollte lichtabsorbierendes Glas angewendet werden. Nichtrostender Stahl sollte bei der Entnahme von Wasserproben unter hoher Temperatur und/oder hohem Druck berücksichtigt werden, oder falls die Probenahme in Bezug auf Spurenkonzentrationen von organischem Material erfolgt.

Zusätzlich zu den vorstehend beschriebenen gewünschten Eigenschaften sollten die für das Sammeln und Lagern der Proben genutzten Probenbehälter unter Berücksichtigung der folgenden vorrangigen Kriterien ausgewählt werden (insbesondere wenn die zu analysierenden Bestandteile in Spurenmengen vorliegen):

- a) Minimierung der Kontamination der Probe durch den Werkstoff, aus dem Behälter oder dessen Stopfen hergestellt ist, z. B. durch Auslaugen von anorganischen Bestandteilen aus Glas (besonders Alkaliglas) und organischen Verbindungen und Metallen aus Kunststoffen und Elastomeren (Stopfenauskleidung aus PVC, Neoprenhülsen);
- b) Möglichkeit, die Wände der Behälter zu reinigen, um die Oberflächenkontamination durch Spurenbestandteile, z. B. Schwermetalle, zu verringern;
- c) Verwendung chemisch und biologisch inerter Behälterwerkstoffe, um die Reaktion zwischen den Bestandteilen der Probe und dem Behälter zu vermeiden oder auf ein Mindestmaß zu verringern;
- d) Probenbehälter können auch Fehler durch die Adsorption von chemischen Determinanten verursachen. Spurenmetalle sind für diesen Effekt besonders anfällig, jedoch können auch andere Determinanten (z. B. Detergenzien, Pflanzenschutzmittel, Phosphate) zu Fehlern führen.

Der Probenbehälter muss beständig gegen Erhitzen und Gefrieren sein und sollte autoklavierbar und leicht zu reinigen sein. Behälter aus Polypropylen (PP), Polytetrafluorethylen (PTFE) oder Polyethylen (PE) sind geeignet, jedoch ist Polyethylen nicht autoklavierbar. Glasflaschen sind im Allgemeinen (jedoch nicht immer) für organische chemische Bestandteile und biologische Spezies geeignet.

Das Volumen, die Form und das Material der Probenbehälter sind von der Art der Probe, der Anzahl der Replikate, dem für die Biotests erforderlichen Volumen sowie von der Notwendigkeit der Konservierung und Lagerung der Proben vor der weiteren Bearbeitung abhängig.

Das Volumen der gesammelten Probe sollte für die geforderten Analysen und für die Wiederholungsanalysen ausreichend sein. Die Verwendung von sehr kleinen Probenvolumina kann dazu führen, dass die gesammelten Proben nicht repräsentativ sind. Zusätzlich können kleine Proben infolge des relativ großen Fläche/Volumen-Verhältnisses auch die Probleme der Adsorption vergrößern.

6.3 Befüllungszustand von Probenbehältern

Um die möglichen Einflüsse auf die Probe während des Transportes auf ein Mindestmaß zu verringern, wird empfohlen, die Behälter vollständig zu füllen.

Sofern das Einfrieren zur Konservierung vorgesehen ist, sollten die Probenbehälter nur bis zu einem bestimmten Grad gefüllt werden, der die Volumenvergrößerung ermöglicht (Vermeidung von Bruch).

Folgende Probleme können bei einer Teilfüllung auftreten:

- verstärktes Durchschütteln während des Transports, das zu einem Auseinanderfallen von Agglomeraten führt;
- Wechselwirkung mit der Gasphase, die zum Ausgasen führt;
- Oxidation von Substanzen, die z. B. bei Schwermetallen zu Niederschlägen führt.

Werden entsprechend den Empfehlungen vollständig gefüllte Probenbehälter transportiert, erfolgt die Volumenreduzierung im Laboratorium. Hinsichtlich der Homogenisierung siehe 7.3.

6.4 Probenidentifizierung und Berichte

Die Probenbehälter sollten klar und zweifelsfrei gekennzeichnet werden, sodass später die analytischen Ergebnisse richtig interpretiert werden können.

Auf dem Etikett des Probenbehälters sollte eine eindeutige Kennung, die mindestens die Probennummer, Probendatum und -ort umfasst, vorhanden sein. Alle weiteren Informationen sind zusätzlich und hängen von den Zielen des bestimmten Messprogramms und den Anforderungen des folgenden Biotests ab und können im Probenbericht angegeben werden. Behälteretiketten sollten beständig gegen Befeuchten, Trocknen und Gefrieren sein ohne sich abzulösen oder unleserlich zu werden. Um die Anwendung am Standort zu ermöglichen, sollte das Etikettensystem wasserfest sein.

Etiketten oder Formulare sollten immer zum Zeitpunkt der Probensammlung ausgefüllt werden.

6.5 Probenteilung

Die Probenteilung kann aus mehreren Gründen erforderlich sein. Häufig ist die Probenteilung notwendig, z. B. um eine Rückstellprobe zu erhalten oder falls verschiedene Biotests nicht nebeneinander durchgeführt werden können oder wenn unterschiedliche Testverfahren die Handhabung und Aufbewahrung der Probe auf eine besondere Weise erfordern.

Die Probenteilung kann bald nach der Probenahme vor Ort, im Laboratorium vor der weiteren Behandlung oder nach dem Auftauen erfolgen. Der Zeitpunkt ist von der wissenschaftlichen Fragestellung abhängig.

Die Verfahrensweise der Probenteilung muss sicherstellen, dass die Teilproben repräsentativ bleiben. Vor der Probenteilung muss die Probe vor der Aufteilung sorgfältig gemischt werden. Um Teilproben von gleicher Qualität zu erhalten, sollte sichergestellt sein, dass die Sammelprobe während des Probenteilungsprozesses ihre Homogenität beibehält (z. B. durch kontinuierliches Schütteln oder Rühren). Das gilt besonders im Fall von Zweiphasen-Gemischen, z. B. Wässer, die suspendierte Partikel enthalten.

Übriggebliebene getrennt gelagert tiefgefroren Teilproben sollten gesichert werden, bis die endgültige Auswertung durchgeführt wurde.

6.6 Transport

Die Proben müssen nach der Probenahme möglichst schnell zum Laboratorium geliefert werden.

Während des Transportes müssen die Probenbehälter frost- und bruchsicher aufbewahrt und vor Exposition gegenüber Licht, Temperaturerhöhung und externer Kontamination geschützt werden.

Verfahren zum Kühlen oder Einfrieren (siehe 7.1) müssen für die Probe angewendet werden, um die für den Transport und die Lagerung verfügbare Zeitspanne zu verlängern. Die Kühlung sollte nach der Probenahme möglichst schnell beginnen, beispielsweise in Kühlboxen mit Eis (kein Trockeneis), gefrorenen Gelpackungen oder Kühlelementen. Eine Kühleinrichtung im Transportfahrzeug ist auch geeignet. Eine Kühltemperatur während des Transportes von 2 °C bis 8 °C hat sich für viele Anwendungen als geeignet erwiesen. Die empfohlene Kühltemperatur gilt für die Umgebung der Probe (z. B. innerhalb der Kühlbox) und nicht für die Probe selbst.

Die zum Kühlen oder Einfrieren angewendeten Verfahrensweisen müssen den Anweisungen des die Analyse durchführenden Laboratoriums entsprechen.

Sofern die Proben durch Kühlen konserviert werden, muss die Zeitspanne zwischen der Probenahme und der Analyse (Lagerungsdauer) innerhalb der für den jeweiligen Biotest festgelegten Zeit bleiben. Üblicherweise beträgt die Lagerungsdauer 48 h.

Hinsichtlich weiterer Informationen siehe ISO 5667-3 [10], ISO 5667-14 [16] und ISO 5667-15.