

# ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation  
de l'accréditation, de la sécurité et qualité  
des produits et services

## ILNAS-EN ISO 5667-16:2017

### **Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (ISO 5667-16:2017)**

Water quality - Sampling - Part 16:  
Guidance on biotesting of samples (ISO  
5667-16:2017)

Qualité de l'eau - Échantillonnage - Partie  
16: Lignes directrices pour les essais  
biologiques des échantillons (ISO  
5667-16:2017)

05/2017



## Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN ISO 5667-16:2017 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN ISO 5667-16:2017 übernommen.

Alle interessierten Personen, welche Mitglied einer luxemburgischen Organisation sind, können sich kostenlos an der Entwicklung von luxemburgischen (ILNAS), europäischen (CEN, CENELEC) und internationalen (ISO, IEC) Normen beteiligen:

- Inhalt der Normen beeinflussen und mitgestalten
- Künftige Entwicklungen vorhersehen
- An Sitzungen der technischen Komitees teilnehmen

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

### **DIESES WERK IST URHEBERRECHTLICH GESCHÜTZT**

Kein Teil dieser Veröffentlichung darf ohne schriftliche Einwilligung weder vervielfältigt noch in sonstiger Weise genutzt werden - sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopien oder auf andere Art!

Deutsche Fassung

## Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (ISO 5667-16:2017)

Water quality - Sampling - Part 16: Guidance on biotesting of samples (ISO 5667-16:2017)

Qualité de l'eau - Échantillonnage - Partie 16: Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons (ISO 5667-16:2017)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 9. Februar 2017 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 CEN-CENELEC-Management-Zentrum 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, Serbien, 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

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

# Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort .....	4
Vorwort .....	5
Einleitung .....	6
<b>1 Anwendungsbereich.....</b>	<b>8</b>
<b>2 Normative Verweisungen.....</b>	<b>8</b>
<b>3 Begriffe .....</b>	<b>8</b>
<b>4 Allgemeine Hinweise zum Testdesign .....</b>	<b>13</b>
4.1 Allgemeines .....	13
4.2 Replikate.....	13
4.2.1 Allgemeines .....	13
4.2.2 Geringste, nicht wirksame Verdünnung ( <i>G</i> -Wert).....	13
4.2.3 Hypothesenprüfung — Zwei-Stichproben-Vergleiche.....	14
4.2.4 Konzentrations- /Verdünnungs-Wirkungsbeziehung.....	15
<b>5 Auswertung.....</b>	<b>15</b>
5.1 Allgemeines .....	15
5.2 Statistische Analyse .....	15
<b>6 Probenahme und Transport.....</b>	<b>16</b>
6.1 Allgemeines .....	16
6.2 Probenahmeausrüstung.....	16
6.2.1 Allgemeines .....	16
6.2.2 Probenbehälter .....	17
6.3 Befüllung von Probenbehältern.....	18
6.4 Probenkennzeichnung und Aufzeichnungen .....	18
6.5 Probenteilung .....	18
6.6 Transport.....	19
6.7 Kontamination während der Probenahme .....	19
6.8 Qualitätskontrolltechniken der Probenahme .....	19
<b>7 Vorbehandlung.....</b>	<b>20</b>
7.1 Allgemeines .....	20
7.2 Konservierung und Lagerung .....	20
7.3 Auftauen.....	21
7.4 Homogenisieren.....	21
7.5 Trennung von gelösten und partikulären Bestandteilen .....	22
7.6 Probenanreicherung .....	23
7.6.1 Allgemeines .....	23
7.6.2 Extraktionsverfahren.....	23
7.7 pH-Wert-Einstellung.....	24
<b>8 Geräte und Ausrüstung.....</b>	<b>24</b>
8.1 Auswahl der Geräte.....	24
8.2 Reinigung der Geräte und Ausrüstung .....	25

<b>9</b>	<b>Beeinträchtigung der Testdurchführung .....</b>	<b>25</b>
<b>9.1</b>	<b>Probleme und Präventionsmaßnahmen bei Proben, die entfernbare Bestandteile enthalten.....</b>	<b>25</b>
9.1.1	Allgemeines .....	25
9.1.2	Verflüchtigung.....	26
9.1.3	Aufschäumen.....	26
9.1.4	Adsorption .....	26
9.1.5	Ausfällung/Ausflockung .....	26
9.1.6	Abbau .....	26
<b>9.2</b>	<b>Probleme und Präventionsmaßnahmen bei farbigen und/oder trüben Proben .....</b>	<b>27</b>
<b>10</b>	<b>Herstellung von Stammlösungen und Testansätzen .....</b>	<b>27</b>
10.1	Wasserlösliche Substanzen.....	27
10.2	Schwerlösliche Stoffe .....	27
10.2.1	Allgemeines .....	27
10.2.2	Untersuchungen im Bereich der Wasserlöslichkeit .....	28
10.2.3	Dispersionen und Emulsionen .....	28
10.2.4	Spezielle Probleme bei Substanzgemischen oder technischen Produkten .....	29
10.2.5	Limit-Test.....	29
<b>11</b>	<b>Qualitätssicherung für biologische Testverfahren .....</b>	<b>30</b>
11.1	Allgemeines .....	30
11.2	Qualitätssicherung im Zusammenhang mit der Untersuchung von Umweltproben.....	30
<b>12</b>	<b>Untersuchungsbericht.....</b>	<b>31</b>
	<b>Literaturhinweise.....</b>	<b>34</b>

## Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 5667-16:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis November 2017, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2017 zurückgezogen werden.

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

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 5667-16:1998.

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, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

### Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 5667-16:2017 wurde von CEN als EN ISO 5667-16:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

## Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO 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 staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Themen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) 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. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe [www.iso.org/directives](http://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 erhaltenen Patenterklärungen (siehe [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: [www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 147, *Water quality*, Unterkomitee SC 6, *Sampling (general methods)*.

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

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 5667 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

## Einleitung

Biologische Testverfahren eignen sich für die Bestimmung der Wirkung von Umweltproben oder chemischen Substanzen auf die jeweiligen Testorganismen unter den im Experiment festgelegten Bedingungen. Umweltproben sind, z. B. behandeltes kommunales Abwasser und Industrieabwasser, Süßwasser, wässrige Extrakte von Feststoffen (z. B. Sickerwasser, Eluate), Porenwasser von Sedimenten. Die Wirkung kann fördernd oder hemmend sein und kann durch die Reaktion der Organismen (z. B. Tod, Wachstum, morphologische und physiologische Veränderungen oder allgemein Änderungen molekularer Wirkmechanismen) festgestellt werden. Hemmwirkungen werden durch toxische Wasserinhaltsstoffe oder andere Wirkungen von Schadstoffe (Noxen) ausgelöst werden.

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

Außer der direkten toxischen Wirkung eines oder mehrerer Probenbestandteile können biologische Wirkungen durch das Zusammenwirken aller Stoffe verursacht werden. Solch ein Zusammenwirken schließt die Wirkung von beispielsweise Substanzen ein, die an sich nicht toxisch sind, aber die chemischen oder physikalischen Eigenschaften der Testansätze stören, indem sie mit den testspezifischen Zusatzstoffen (z. B. Nährstoffe, Salze) interagieren und infolgedessen auch die Lebensbedingungen der Testorganismen beeinflussen. Dieses gilt beispielsweise für sauerstoffzehrende Substanzen, und 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).

Die Ergebnisse des biologischen Testverfahrens beziehen sich vor allem auf die im Test verwendeten Organismen und die für das Testverfahren vereinbarten Bedingungen. Eine durch standardisierte biologische 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. schützende Körperhüllen, Reparaturmechanismen) entfernt oder deaktiviert werden.

Grundsätzlich gibt es keine einzelne Testspezies, die eingesetzt werden kann, um alle möglichen Auswirkungen auf die Biozönose oder das Ökosystem unter den verschiedenen Kombinationen 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 sollten verschiedene Aspekte bei der Probenahme und der Probenbehandlung berücksichtigt werden, um eine Veränderung der Probeneigenschaften zu vermeiden. Dies gilt für das Verfahren der Probenahme, einschließlich Probenahmeausrüstung und Probenbehälter, genauso wie für den Transport zum Labor. Die Probenvorbehandlung und -lagerung sowie das Herstellen von z. B. Stammlösungen können das Testergebnis ebenfalls beeinflussen.

Darüber hinaus kann auch die zu untersuchende Probe bei der Durchführung des Biotests experimentelle Schwierigkeiten verursachen. Umweltproben (z. B. Abwasser, Eluate) sind komplexe Gemische und können beispielsweise schwerlösliche, flüchtige, instabile, farbige Stoffe oder suspendierte, manchmal kolloidale, Partikel enthalten. Die Komplexität und Heterogenität der Testmaterialien sind Ursache verschiedener experimenteller Probleme bei der Durchführung von Biotests.