ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

ILNAS

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

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008

Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) - Teil 2:

Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) - Part 2:

Qualité de l'eau - Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de Vibrio fischeri (Essai de bactéries luminescentes) - Partie 2:

11/2008

Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN ISO 11348-2:2008 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 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

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

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!

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008

EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE

EN ISO 11348-2

November 2008

ICS 13.060.70

Ersatz für EN ISO 11348-2:1998

Deutsche Fassung

Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) - Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (ISO 11348-2:2007)

Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) - Part 2: Method using liquid-dried bacteria (ISO 11348-2:2007)

Qualité de l'eau - Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de Vibrio fischeri (Essai de bactéries luminescentes) - Partie 2: Méthode utilisant des bactéries déshydratées (ISO 11348-2:2007)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 29.Oktober 2008 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 letzen Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN 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 Zentralsekretariat mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

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

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

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

© 2008 CEN Alle Rechte der Verwertung, gleich in welcher Form und in welchem Verfahren, sind weltweit den nationalen Mitgliedern von CEN vorbehalten.

Ref. Nr. EN ISO 11348-2:2008 D

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

Inhalt

Seite

Vorwort 3

Einleitung 4

1 Anwendungsbereich 5

2 Normative Verweisungen 5

3 Grundlagen des Verfahrens 5

4 Störungen 6

5 Reagenzien und Materialien 6

6 Geräte 7

7 Probenahme und Probenvorbehandlung 8
7.1 Probenahme 8
7.2 Probenvorbehandlung 8

8 Durchführung 9

9 Auswertung 10
9.1 Hemmwirkung auf die Leuchtbakterien 10
9.2 Ermittlung der EC-Werte 11

10 Angabe der Ergebnisse 12

11 Gültigkeitskriterien 14

12 Präzision 14

13 Untersuchungsbericht 14

Anhang A (informativ) Verfahren zur Farbkorrektur 15

Anhang B (informativ) Verdünnungsstufe G — Herstellung der Verdünnungsreihe 18

Anhang C (informativ) Verfahrenskenndaten 22

Anhang D (informativ) Untersuchung von Meerwasserproben im Leuchtbakterientest mit flüssig getrockneten Bakterien 23

Literaturhinweise 26

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

Vorwort

Der Text von ISO 11348-2:2007 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water Quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 11348-2:2008 durch das Technische Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ übernommen, 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 Mai 2009, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Mai 2009 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 11348-2:1998.

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

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 11348-2:2007 wurde vom CEN als EN ISO 11348-2:2008 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

Einleitung

Nach der Reihe ISO 11348 kann die Messung mit frisch gezüchteten, gefriergetrockneten oder flüssig getrockneten Bakterien durchgeführt werden.

Vom Normenausschuss Wasserwesen im DIN und der ISO/TC 147/SC 5/WG 1 durchgeführte standardisierte Untersuchungen unter Bedingungen dieser Norm haben gezeigt, dass diese unterschiedlichen Verfahren 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. Ein Problem kann daraus resultieren, dass gefriergetrocknete und flüssig getrocknete Bakterien von unterschiedlichen Lieferanten bezogen werden können. Für die Anwendung kann das bedeuten, dass die Zusammensetzung der Medien nicht im Detail bekannt ist bzw. nicht nachvollzogen werden kann.

Deshalb wird in diesem Teil der Reihe von ISO 11348 zusätzlich zur Toxizitätsbestimmung mit frisch gezüchteten Bakterien (ISO 11348-1) und mit gefriergetrockneten Bakterien (ISO 11348-3) ein Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien beschrieben, dessen Durchführung in allen Einzelheiten vom Anwender nachvollzogen werden kann.

Die für die Untersuchungsergebnisse verantwortlichen Laboratorien haben so die Möglichkeit, das Verfahren auszuwählen, das, unter Berücksichtigung ihres Sachverstandes und der über die Wasserprobe zur Verfügung stehenden Informationen, am besten geeignet ist.

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

WARNUNG — Anwender dieses Teils von ISO 11348 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 Anwenders, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

WICHTIG — Es ist erforderlich, bei Untersuchungen nach diesem Teil von ISO 11348 Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

1 Anwendungsbereich

Die Reihe von ISO 11348 legt drei Verfahren zur Bestimmung der Hemmung der Lichtemission des marinen Bakteriums *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177) fest. Dieser Teil von ISO 11348 beschreibt ein Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien.

Das Verfahren gilt für:

— Abwasser;

— wässrige Extrakte und Sickerwasser;

— Süßwasser (Oberflächenwasser und Grundwasser);

— Meerwasser und Brackwasser;

— Eluate von Sedimenten (Süßwasser, Brackwasser und Meerwasser);

— Porenwasser;

— Einzelstoffe, in Wasser gelöst.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente 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 5667-16, *Water quality — Sampling — Part 16: Guidance on biotesting of samples*

ISO 5814, *Water quality — Determination of dissolved oxygen — Electrochemical probe method*

3 Grundlagen des Verfahrens

Die Hemmung der Lichtemission von *Vibrio fischeri* wird in einem Batch-Test ermittelt. Hierzu werden definierte Volumina der Probe oder einer verdünnten Probe mit der Leuchtbakteriensuspension in einer Küvette vereinigt.

Testkriterium ist die Abnahme der Lumineszenz, die nach einer Kontaktzeit von 15 min oder 30 min oder wahlweise nach 5 min gemessen wird. Hierbei muss ein Korrekturfaktor (f_{kt}) berücksichtigt werden, der ein Maß für die Leuchtintensitätsveränderung im Kontrollansatz während der Kontaktzeit darstellt. Die Hemmwirkung der Wasserprobe kann anhand von Verdünnungsreihen als G_{lb} (siehe Anhang B) oder als EC_{20}- und/oder EC_{50}-Wert ermittelt werden.

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

ILNAS-EN ISO 11348-2:2008 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

4 Störungen

Nicht gelöste, schwer lösliche oder flüchtige Stoffanteile oder Stoffe, die mit dem Verdünnungswasser oder der Testsuspension reagieren oder während des Tests ihren Zustand ändern, können das Testergebnis verfälschen oder die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse beeinträchtigen.

Bei stark gefärbtem oder trübem Wasser können Lichtverluste durch Absorption oder Lichtstreuung eintreten. Diese Störungen können durch eine Probenvorbehandlung (7.2) (Absetzen oder Zentrifugieren) oder z. B. durch Verwendung einer Farbkorrektur-Küvette mit Doppelwänden (siehe Anhang A) kompensiert werden.

Da Sauerstoff für die Biolumineszenz benötigt wird [6], kann bei stark sauerstoffzehrenden Proben oder Proben mit einem geringen Sauerstoffgehalt ein Sauerstoffmangel auftreten, der zu einer Hemmung der Lichtemission führen kann.

Enthält die Wasserprobe biologisch leicht abbaubare Nährstoffe, kann eine nicht durch Schadstoffe bedingte Abnahme der Biolumineszenz eintreten [1].

Proben mit einem pH-Wert außerhalb des Bereiches von 6,0 bis 8,5 können die Biolumineszenz beeinträchtigen [6], [7]. Soll der etwaige toxische Effekt des pH-Wertes unberücksichtigt bleiben, so ist eine pH-Wert-Einstellung notwendig.

Da es sich bei dem Testorganismus *Vibrio fischeri* um ein marines Bakterium handelt, führt die Untersuchung von meerwasserhaltigen Proben häufig zu einer Erhöhung der Biolumineszenz, wodurch Hemmwirkungen maskiert werden können (siehe Anhang D).

Salzkonzentrationen in der Wasserprobe über 30 g/l NaCl oder Stoffkonzentrationen anderer Substanzen gleicher Osmolarität können zusammen mit der im Test geforderten Salzaufstockung zu hyperosmotischen Effekten führen. Zur Vermeidung dieser Wirkungen sollte die resultierende Salzkonzentration die Osmolarität einer Natriumchlorid-Lösung von 35 g/l NaCl nicht überschreiten.

5 Reagenzien und Materialien

Als Reagenzien solche des Reinheitsgrades „zur Analyse“ und destilliertes Wasser oder Wasser gleichen Reinheitsgrades verwenden.

5.1 Testbakterien

Lumineszierende Bakterien des Stamms *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 verwenden. Die für die Toxizitätsmessungen verwendeten Bakteriensuspensionen werden aus den im Handel erhältlichen flüssig getrockneten Präparaten hergestellt. Die flüssig getrockneten Bakterien bei ≤ -18 °C aufbewahren und die Empfehlungen des Herstellers beachten. Die Bakterien beginnen direkt nach der Rekonstitution zu leuchten und sind dann direkt im Test einsetzbar.

5.2 **Natriumchlorid-Lösung**, als Verdünnungswasser

20 g Natriumchlorid (NaCl) in Wasser lösen und mit Wasser auf 1 l auffüllen.

5.3 **Natriumhydroxid-Lösung**, c(NaOH) z. B. = 1 mol/l.

5.4 **Salzsäure**, c(HCl) z. B. = 1 mol/l.

Zur Einstellung des pH-Wertes kann es erforderlich sein, Säuren oder Basen niedrigerer oder höherer Konzentrationen zu verwenden.