

DIN EN ISO 19040-1:2023-12 (D)

Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des estrogenen Potentials von Wasser und Abwasser - Teil 1: Hefe-Estrogenscreening (*Saccharomyces cerevisiae*) (ISO 19040-1:2018); Deutsche Fassung EN ISO 19040-1:2022

| Inhalt | Seite |
|---|--------------|
| Europäisches Vorwort..... | 9 |
| Vorwort..... | 10 |
| 1 Anwendungsbereich..... | 11 |
| 2 Normative Verweisungen | 11 |
| 3 Begriffe | 11 |
| 4 Grundlage des Verfahrens | 14 |
| 5 Störungen..... | 15 |
| 6 Geräte und Materialien..... | 15 |
| 7 Reagenzien, Teststamm und Medien | 16 |
| 7.1 Reagenzien | 16 |
| 7.2 Wasser, Qualität 3 nach ISO 3696; Wasser mit einer Leitfähigkeit von bis zu 5 µS/cm ist geeignet | 18 |
| 7.3 Teststamm | 18 |
| 7.4 Medien | 18 |
| 7.4.1 10× SD-Medium..... | 18 |
| 7.4.2 10× McD-DO-Medium (McDonnell) | 18 |
| 7.4.3 Glucoselösung..... | 18 |
| 7.4.4 CuSO ₄ -Lösung, 10 mmol/l..... | 18 |
| 7.4.5 Ampicillin-Stammlösung..... | 19 |
| 7.4.6 Streptomycin-Stammlösung | 19 |
| 7.4.7 Wachstumsmedium (McDonnell) | 19 |
| 7.4.8 Expositionsmedium (McDonnell) | 19 |
| 7.4.9 Wässrige ethanolische Lösung, Volumenanteil 0,3 % | 19 |
| 7.4.10 Wässrige Glycerinlösung, Volumenanteil 30 %..... | 19 |
| 7.4.11 17β-Estradiol (E2) Stammlösung..... | 20 |
| 7.4.12 LacZ-Puffer | 20 |
| 7.4.13 LacZ-Reaktionsmischung..... | 20 |
| 8 Probenahme und Proben..... | 21 |
| 8.1 Allgemeines..... | 21 |
| 8.2 Flaschen und Probenmaterial | 21 |
| 8.3 Vorbereitung von Flaschen und Geräten für die Probenahme..... | 21 |
| 8.4 Probenahmeverfahren | 21 |
| 8.5 Probentransport..... | 21 |
| 8.6 Vorbehandlung der Proben | 22 |
| 8.7 Lagerung der Proben..... | 22 |
| 9 Testverfahren..... | 22 |
| 9.1 Herstellung von Kryokulturen für die Langzeitlagerung | 22 |
| 9.2 Übernachtkultur | 23 |
| 9.3 Testansatz für wässrige Proben | 23 |
| 9.3.1 Vorbereitung..... | 23 |
| 9.3.2 Herstellung der Referenzverdünnungsreihe | 23 |

| | | |
|---|--|----|
| 9.3.3 | Negativkontrolle..... | 25 |
| 9.3.4 | Leer-Replikat..... | 25 |
| 9.3.5 | Probenverdünnung | 25 |
| 9.3.6 | Feldblindwert..... | 25 |
| 9.3.7 | Plattenbelegung..... | 25 |
| 9.3.8 | Animpfen der Testplatte | 25 |
| 9.4 | Messung..... | 27 |
| 9.4.1 | Messung der Zelldichte..... | 27 |
| 9.4.2 | Messung der Reporterogenaktivität..... | 27 |
| 9.5 | Berechnung der korrigierten Extinktion und der Reporterogeninduktion..... | 28 |
| 9.6 | Berechnung des relativen Wachstums | 29 |
| 9.7 | Bestimmung der EC ₅₀ der Referenzverbindung durch lineare Interpolation | 29 |
| 10 | Gültigkeitskriterien..... | 29 |
| 11 | Bewertungskriterien..... | 30 |
| 12 | Untersuchungsbericht | 30 |
| Anhang A (normativ) Stammselektion | | 31 |
| A.1 | Allgemeines..... | 31 |
| A.2 | Agarplatten zur Stammselektion | 31 |
| A.3 | Ausplattieren des Teststamms | 31 |
| Anhang B (informativ) Testplattenbelegung..... | | 32 |
| Anhang C (informativ) Schema des Testprinzips | | 33 |
| Anhang D (informativ) Testung von Chemikalien und Extrakten..... | | 34 |
| D.1 | Allgemeines..... | 34 |
| D.2 | Extraktion von Wasserproben..... | 34 |
| D.3 | Test mit verdünnten organischen Lösungen oder Extrakten | 34 |
| D.4 | Direktes Testen von organischen Lösungen oder Extrakten | 34 |
| D.5 | Daten aus der Literatur | 35 |
| Anhang E (informativ) Herstellung von Verdünnungsreihen | | 38 |
| Anhang F (informativ) Verfahrenskenndaten..... | | 40 |
| F.1 | Design des Ringversuchs | 40 |
| F.1.1 | Allgemeines..... | 40 |
| F.1.2 | Beschreibung der Proben..... | 40 |
| F.1.3 | Teilnehmende Labore..... | 41 |
| F.2 | Ergebnisse des Ringversuchs | 41 |
| F.2.1 | Allgemeines..... | 41 |
| F.2.2 | Zusammenfassung der 17 β -Estradioläquivalentkonzentrationen (EEQ)..... | 42 |
| F.2.3 | Zusammenfassung der geringsten nicht wirksamen Verdünnung LID (G-Wert) | 48 |
| F.2.4 | Richtigkeit der Ergebnisse | 53 |
| Anhang G (informativ) Verwendung anderer Hefestämme von <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | | 57 |
| G.1 | Allgemeines..... | 57 |
| G.2 | Teststamm nach Routledge und Sumpter [(25)]..... | 57 |
| G.2.1 | Allgemeines..... | 57 |
| G.2.2 | Beschreibung des Teststammes | 57 |
| G.2.3 | Medien | 57 |
| G.2.4 | Stammselektion | 58 |
| G.2.5 | Durchführung..... | 59 |
| G.2.6 | Gültigkeitskriterien..... | 59 |
| Anhang H (informativ) Statistische Bewertung | | 60 |
| Anhang I (informativ) Berechnung von 17 β -Estradiol-Äquivalenten | | 62 |
| I.1 | Allgemeines..... | 62 |
| I.2 | Modellierung der Konzentrations-Wirkungsbeziehung | 62 |
| I.3 | Berechnung von 17 β -Estradiol-Äquivalenten für Proben | 63 |

| | | |
|--|--|----|
| I.4 | Angaben von Estradiol-Äquivalenten für Proben..... | 64 |
| Anhang J (informativ) Bestimmung der geringsten nicht wirksamen Verdünnung (G-Wert) — Vereinfachte Auswertung für die Abwassertestung | | |
| J.1 | Allgemeines..... | 65 |
| J.2 | Grundlage des Verfahrens | 65 |
| J.3 | Herstellung von Verdünnungen zur Bestimmung des G-Werts..... | 65 |
| J.4 | Test zur Bestimmung des G-Werts..... | 65 |
| J.5 | Ergebnisbewertung — G-Wert, Abwässer | 65 |
| J.6 | Dokumentation der Ergebnisse | 66 |
| Literaturhinweise | | 67 |

Bilder

| | | |
|----------|---|----|
| Bild C.1 | — Grundlegendes Testprinzip des YES | 33 |
| Bild F.1 | — Zusammenfassung der 17 β -Estradiol Äquivalentkonzentrationen (EEQ) [ng/l] der Proben S2, S3, S5, S7 und S8 | 48 |
| Bild F.2 | — Zusammenfassung der geringsten nicht wirksamen Verdünnung (G-Wert) der Proben S2, S3, S5, S7 und S8 | 52 |
| Bild F.3 | — Zusammenfassung der Richtigkeit für die Proben S5 und S7 (ausgedrückt in absoluten Differenzen zum angenommenen Wert) | 56 |

Tabellen

| | | |
|-------------|--|----|
| Tabelle 1 | — Herstellung der E2-Verdünnungsreihe | 24 |
| Tabelle B.1 | — Belegung mit zwei Proben und sieben aufeinanderfolgenden Verdünnungsstufen mit vier Replikaten | 32 |
| Tabelle D.1 | — Zusammenfassung relativer Potenzen im Vergleich zu 17 β -Estradiol für ausgewählte Verbindungen..... | 36 |
| Tabelle E.1 | — Herstellung von Verdünnungsreihen | 38 |
| Tabelle F.1 | — Beschreibung der Proben | 40 |
| Tabelle F.2 | — Überblick über die getesteten Proben..... | 41 |
| Tabelle F.3 | — Zusammenfassung der EEQ-Ergebnisse [ng/l] des Yeast Estrogen Screen (YES, McDonnell [10])..... | 43 |
| Tabelle F.4 | — Zusammenfassung der G-Werte des Yeast Estrogen Screen (YES, McDonnell [10])..... | 49 |
| Tabelle F.5 | — Zusammenfassung der Schätzung der Richtigkeit für die Proben S5 und S7 (Yeast Estrogen Screen (YES, McDonnell [10])..... | 54 |