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 Reportergenaktivität ... 27
9.5 Berechnung der korrigierten Extinktion und der Reportergeninduktion ... 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 17β-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 *Saccharomyces cerevisiae* ... 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 17β-Estradiol-Äquivalenten ... 62
I.1 Allgemeines ... 62
I.2 Modellierung der Konzentrations-Wirkungsbeziehung ... 62
I.3 Berechnung von 17β-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 65
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 17β-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 17β-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