

# 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 <sub>4</sub> -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 <sub>50</sub> 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 $\beta$ -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 $\beta$ -Estradiol-Äquivalenten .....		62
I.1	Allgemeines.....	62
I.2	Modellierung der Konzentrations-Wirkungsbeziehung .....	62
I.3	Berechnung von 17 $\beta$ -Estradiol-Äquivalenten für Proben .....	63

I.4	Angaben von Estradiol-Äquivalenten für Proben.....	64
<b>Anhang J (informativ) Bestimmung der geringsten nicht wirksamen Verdünnung (G-Wert) — Vereinfachte Auswertung für die Abwassertestung .....</b>		
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 $\beta$ -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 $\beta$ -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