

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