

DIN EN 16421

ICS 07.100.20

**Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen Gebrauch –
Vermehrung von Mikroorganismen;
Deutsche Fassung EN 16421:2014**

Influence of materials on water for human consumption –
Enhancement of microbial growth (EMG);
German version EN 16421:2014

Influence des matériaux sur l'eau destinée à la consommation humaine –
Stimulation de la croissance microbienne (SCM);
Version allemande EN 16421:2014

Diese Norm wurde in das DVGW-Regelwerk aufgenommen.

Gesamtumfang 70 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 16421:2014) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 164 „Wasserversorgung“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) erarbeitet.

Für die deutsche Mitarbeit ist der Arbeitsausschuss NA 119-04-14 AA „Werkstoffe und Bauteile in Kontakt mit Trinkwasser“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) verantwortlich.

Deutsche Fassung

**Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen
Gebrauch - Vermehrung von Mikroorganismen**

Influence of materials on water for human consumption -
Enhancement of microbial growth (EMG)

Influence des matériaux sur l'eau destinée à la
consommation humaine - Stimulation de la croissance
microbienne (SCM)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 25. Oktober 2014 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 letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN-CENELEC 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 Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

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



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

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	6
Einleitung.....	7
1 Anwendungsbereich	9
2 Normative Verweisungen	9
3 Begriffe	10
4 Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen Gebrauch — Vermehrung von Mikroorganismen (EMG) — Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von Biomasseproduktionspotential (BPP), gemessen durch ATP	12
4.1 Allgemeines	12
4.2 Grundlagen des Verfahrens.....	12
4.3 Geräte.....	12
4.3.1 Anforderungen	12
4.3.2 Gefäße, Behälter, Stopfen und Verbindungsstücke sowie übliche Laborgeräte	12
4.3.3 Reinigung	13
4.3.4 Handschuhe	13
4.3.5 Platten	13
4.3.6 Prüfbehälter	13
4.3.7 Prüfröhrchen	13
4.3.8 Brutschrank (oder Wärmekammer).....	13
4.3.9 Sterilisatoren	13
4.3.10 Membranfilter	13
4.3.11 Autoklav	13
4.4 Reagenzien	14
4.4.1 Prüfwasser.....	14
4.4.2 Verdünnungswasser	14
4.4.3 Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung.....	14
4.4.4 Kaliumnitrat-Lösung.....	15
4.4.5 Natriumacetat-Lösung.....	15
4.4.6 Inokulum	15
4.4.7 Spezifikationen für Kontrollen.....	16
4.5 Proben und Kontrollen	16
4.5.1 Probenahme, Transport und Lagerung von Proben	16
4.5.2 Vorbereitung der Prüfstücke	17
4.6 Vorbehandlung der Prüfstücke	18
4.6.1 Allgemeines	18
4.6.2 Spülen	18
4.6.3 Stagnation	18
4.6.4 Vorwaschen	18
4.7 Durchführung	18
4.7.1 Übersicht	18
4.7.2 Verunreinigung mit ATP.....	19
4.7.3 Vorbereitung der Prüfbehälter.....	19
4.7.4 Prüfstücke	19
4.7.5 Bebrütung.....	19
4.7.6 Positiv- und Negativkontrollen.....	19
4.7.7 Wechsel des Prüfwassers.....	20
4.7.8 Messung der ATP-Konzentrationen.....	20
4.8 Berechnung der Prüfergebnisse	20
4.8.1 Biomasseproduktion (BP).....	20

4.9	Reproduzierbarkeit und Wiederholbarkeit.....	23
4.10	Prüfbericht	23
4.10.1	Allgemeines	23
4.10.2	Material-/Produktbezogene Angaben	24
4.10.3	Angaben zum Prüfverfahren	24
4.10.4	Prüfergebnisse	25
5	Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen Gebrauch — Vermehrung von Mikroorganismen (EMG) — Verfahren 2: Gemessen mit Hilfe des Volumens des Biofilms	25
5.1	Allgemeines	25
5.2	Grundlagen des Verfahrens	25
5.3	Grundlegende Anforderungen	25
5.4	Geräte und Reagenzien.....	26
5.4.1	Desinfektionsmittel	26
5.4.2	Prüfwasser	26
5.4.3	Spezifikationen für Kontrollen	26
5.4.4	Prüfbehälter und Prüfmodul für Rohre und Schläuche.....	27
5.4.5	Schaber.....	27
5.4.6	Zentrifuge	27
5.4.7	Glasgeräte zum Zentrifugieren	27
5.4.8	Durchflussmessgerät.....	27
5.5	Proben und Prüfstücke	27
5.5.1	Probenahme, Transport und Lagerung.....	27
5.5.2	Vorbereitung der Prüfstücke	28
5.6	Durchführung.....	29
5.6.1	Allgemeines	29
5.6.2	Durchführung im Prüfbehälter	29
5.6.3	Durchführung im Prüfmodul für Rohre und Schläuche	29
5.6.4	Vorbereitung der Prüfbehälter bzw. Prüfmodule für Rohre und Schläuche	30
5.6.5	Vorbehandlung der Prüfstücke	30
5.6.6	Entnahme der Prüfstücke	30
5.6.7	Untersuchung der Prüfstücke	30
5.6.8	Erneutes Exponieren nach der Ernte	30
5.6.9	Zentrifugieren und Bestimmung des Biofilms	31
5.6.10	Untersuchung des Biofilms.....	31
5.6.11	Prüfzeiträume.....	31
5.7	Berechnung der Prüfergebnisse.....	33
5.8	Beurteilung der einwandfreien Durchführung der Prüfung	33
5.9	Prüfbericht	34
5.9.1	Allgemeines	34
5.9.2	Material-/Produktbezogene Angaben	34
5.9.3	Angaben zum Prüfverfahren	35
5.9.4	Prüfergebnisse	35
6	Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen Gebrauch — Vermehrung von Mikroorganismen (EMG) — Verfahren 3: Gemessen mit Hilfe des mittleren Verbrauchs von gelöstem Sauerstoff.....	36
6.1	Allgemeines	36
6.2	Grundlagen des Verfahrens	36
6.3	Prüfräume.....	36
6.3.1	Allgemeines	36
6.3.2	Sicherheit	36
6.4	Geräte und Reagenzien.....	36
6.4.1	Allgemeines	36
6.4.2	Impfwasser	37
6.4.3	Prüfwasser	37
6.4.4	Prüfbehälter	38
6.4.5	Messgerät für gelösten Sauerstoff	39
6.4.6	Brutschrank/Kammer bei 30 °C.....	39
6.4.7	Polyethylenbeutel.....	39

6.4.8	Glasplatten	39
6.4.9	Messingkupplungen	39
6.4.10	Spezielle Glasplatten	39
6.5	Vorbereitung der Prüfstücke	39
6.5.1	Allgemeines	39
6.5.2	Art der Prüfstücke	40
6.6	Größe von Prüfstücken und Prüfbehälter	40
6.6.1	Allgemeines	40
6.6.2	Probenlagerung	41
6.6.3	Besondere Anforderungen	41
6.6.4	Spezifikationen für Kontrollen	45
6.6.5	Prüfwasser-Kontrolle	45
6.7	Durchführung	45
6.7.1	Vorbereitung der Prüfbehälter	45
6.7.2	Bebrütung	46
6.7.3	Wechsel des Prüfwassers	46
6.7.4	Messung des gelösten Sauerstoffs	47
6.8	Berechnung der Prüfergebnisse	48
6.8.1	Berechnung des Mittelwertes der Differenz der Werte für gelösten Sauerstoff (MDOD)	48
6.8.2	Validierung der Ergebnisse	48
6.8.3	Wiederholpräzision und Vergleichpräzision	48
6.9	Prüfbericht	49
6.9.1	Allgemeines	49
6.9.2	Material-/Produktbezogene Angaben	49
6.9.3	Angaben zum Prüfverfahren	51
6.9.4	Prüfergebnisse	51
Anhang A (normativ) Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von Biomasseproduktionspotential (BPP), gemessen durch ATP - Beurteilung der Eignung von Prüfwasser zur Verwendung in der BPP-Prüfung (Biostabilität und die Notwendigkeit der Zugabe von Spurenelementen)		52
Anhang B (normativ) Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von Biomasseproduktionspotential (BPP), gemessen durch ATP - Vorschrift für die ATP-Analyse		54
B.1	Einleitung	54
B.2	Geräte und Glasgeräte	54
B.3	Reagenzien und Hilfsstoffe	54
B.3.1	Allgemeines	54
B.3.2	Steriles Wasser	54
B.3.3	ATP-Lösungen für Standardverdünnungen und Kalibrierkurven	54
B.3.4	Lösung von Luciferin/Luciferase (Enzym)	56
B.3.5	Reagens für die ATP-Extraktion	56
B.4	Probenahme	56
B.5	Durchführung	56
B.5.1	Allgemeines	56
B.5.2	Nullwasser	56
B.5.3	Kontrollverdünnungen	56
B.5.4	Proben	57
B.6	Angabe der Ergebnisse	57
B.6.1	Wasserproben	57
B.6.2	Materialproben	57
B.7	Prüfbericht	58
B.8	Qualitätskontrolle der Kalibrierkurven	58
Anhang C (informativ) Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von Biomasseproduktionspotential (BPP), gemessen durch ATP - ATP und dessen Messung		59
Anhang D (informativ) Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von Biomasseproduktionspotential (BPP), gemessen durch ATP - Bewertung von Verfahren zum Entfernen anhaftender Biomasse		60
D.1	Einleitung	60
D.2	Verfahren zum Entfernen anhaftender Biomasse	60
D.2.1	Allgemeines	60

D.2.2	Abstriche	60
D.2.3	Niedrigenergie-Ultraschallbehandlung (LES)	60
D.2.4	Hochenergie-Ultraschallbehandlung (HES).....	61
D.3	Wirksamkeit der Entfernungungsverfahren	61
Anhang E	(informativ) Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von Biomasseproduktionspotential (BPP), gemessen durch ATP	62
Anhang F	(informativ) Verfahren 2: Gemessen mit Hilfe des Volumens des Biofilms	63
Anhang G	(informativ) Verfahren 2: Gemessen mit Hilfe des Volumens des Biofilms	64
Anhang H	(informativ) Verfahren 3: Gemessen mit Hilfe des mittleren Verbrauchs von gelöstem Sauerstoff	67
Literaturhinweise		68

Vorwort

Dieses Dokument (EN 16421:2014) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 164 „Wasserversorgung“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Juni 2015, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Juni 2015 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

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

Einleitung

Wasser für den menschlichen Gebrauch kommt mit Bauprodukten bei der Speicherung, dem Transport und der Verteilung, einschließlich Wassersystemen innerhalb von Gebäuden, in Kontakt. Die in diesen Produkten verwendeten Materialien werden auf der Grundlage technischer Anforderungen und Kriterien in Bezug auf deren Einfluss auf die Wasserbeschaffenheit, z. B. die Freisetzung von Substanzen und Auswirkungen auf Geruch, Geschmack oder Färbung des Wassers, ausgewählt. Probleme hinsichtlich der Wasserbeschaffenheit können jedoch auch auftreten, wenn derartige Materialien die Vermehrung von Mikroorganismen fördern.

Da in nichtmetallischen Materialien vorliegende organische Substanzen (in Form von Inhaltsstoffen, Verunreinigungen oder prozessbedingten Nebenprodukten) von Mikroorganismen verwertet werden können und somit zu einer deutlichen Verschlechterung der organoleptischen, physikalischen oder mikrobiologischen Qualität des Wassers, mit dem sie in Kontakt sind, führen können, ist ein Prüfverfahren zur Bestimmung der Vermehrung von Mikroorganismen erforderlich. Mikrobielles Wachstum kann im Wasser selbst oder an der Grenzfläche Material/Wasser auftreten.

Materialien, die das mikrobielle Wachstum potentiell unterstützen, führen aufgrund des Einflusses verschiedener Umweltfaktoren, z. B. mikrobiologische Qualität des Wassers, Temperatur, Vorhandensein von Desinfektionsmittelrückständen oder andere wachstumshemmende Faktoren, nicht zwangsläufig in jeder Situation zu einer Verschlechterung der Wasserbeschaffenheit.

Zweck der vorliegenden Norm ist die Beschreibung von drei europäischen Prüfverfahren, die angewendet werden können, um die Fähigkeit von nichtmetallischen Materialien, die Vermehrung von Mikroorganismen in Trinkwasser zu fördern, zu bestimmen.

- a) Verfahren 1 ermittelt das Biomasseproduktionspotential (BPP) durch die Nutzung der Änderungen der ATP-Konzentrationen als Ersatzgröße für die aktive Biomasse. Dieses in den Niederlanden entwickelte Verfahren wurde als Teil des CPDW-Projektes 2003 und 2006 weiter ausgebaut.
- b) Verfahren 2 nutzt eine volumetrische Messung des Biofilms. Dieses deutsche Verfahren wurde erstmals 1984 als DVGW W 270 veröffentlicht und wird mit den seit vielen Jahren bewährten Grenzwerten zu Zertifizierungszwecken angewendet.
- c) Verfahren 3 nutzt den Verbrauch von gelöstem Sauerstoff im Wasser als Ersatzgröße für die mikrobielle Aktivität (mittlere Differenz der Werte für gelösten Sauerstoff (en: mean dissolved oxygen difference) MDOD). Dieses britische Verfahren, das erstmals 1982 als BS DD82 herausgegeben und als BS 6920, Teil 2.4 veröffentlicht wurde (1988 und 2000), wird bei der Zulassung von Materialien mit Grenzwerten angewendet.

Bei jedem Verfahren werden somit andere Leistungskenngrößen angewendet, was die Anwendung des jeweiligen Verfahrens bei speziellen Materialien oder Produktarten ermöglicht, jedoch auch mit Einschränkungen verbunden ist. Zum Beispiel können mit dem BPP- (Verfahren 1) und dem MDOD-Verfahren (Verfahren 3) derzeit keine Mehrschichtverbundrohre geprüft werden und mit dem ATP- (Verfahren 1) und dem volumetrischen Verfahren (Verfahren 2) keine Fette oder Schmierstoffe. Harmonisierte Produktnormen geben die spezifische Methodologie vor, die befolgt werden muss; diese wird Materialart und Art der Bauteile berücksichtigen.

Bei allen drei Verfahren werden natürliche Mischungen aquatischer Organismen zur Beurteilung der Förderung des Wachstums durch die Materialprobe eingesetzt. Die natürliche Flora besteht aus vielen Stämmen, die an das Leben in einer verhältnismäßig lebensfeindlichen Umwelt, wie z. B. Trinkwasser, angepasst sind und die Ergebnisse der Prüfungen unter Verwendung von natürlicher Flora korrelieren in der Praxis nachweislich gut mit dem Wachstum auf Materialien. Die Anzahl, Arten und Wachstumsanforderungen von im Trinkwasser vorhandenen ungefährlichen Mikroorganismen unterscheiden sich erheblich und es gibt kein einzelnes Kultivierungsverfahren zur Zählung sämtlicher aquatischer Mikroorganismen, die in einer Wasserprobe vorhanden sein können. Deshalb wird die Gesamtanzahl von Mikroorganismen im Allgemeinen unter Anwendung einfacher indirekter Messungen von deren Aktivität beurteilt.

Bei jedem in der vorliegenden Europäischen Norm beschriebenen Verfahren wird eine andere Technik zur Beurteilung des geförderten mikrobiellen Wachstums angewendet. Bei dem in Verfahren 1 beschriebenen BPP-Verfahren wird das Oberflächenwachstum und planktonische Wachstum von Mikroorganismen unter Verwendung von Adenosintriphosphat (ATP) als ein Ersatzverfahren für die Bestimmung der aktiven Biomasse bestimmt. Bei dem in Verfahren 2 beschriebenen volumetrischen Verfahren (DVGW) wird die Summe sowohl des aktiven als auch des nicht aktiven Biofilms auf der Oberfläche des zu untersuchenden Materials (lebende und tote Mikroorganismen sowie extrazelluläre polymere Substanzen) volumetrisch bestimmt. Bei dem in Verfahren 3 beschriebenen MDOD-Verfahren wird die Messung des Verbrauchs von gelöstem Sauerstoff als Ersatzgröße für das Wachstum sowohl des Biofilms als auch planktonischer aquatischer Mikroorganismen verwendet (die meisten der Organismen, die zu einem merklichen mikrobiellen Wachstum beitragen, atmen aerob und üben einen Einfluss auf die Konzentration des gelösten Sauerstoffs im Wasser in den Prüfsystemen aus).

Eine Vielzahl von Faktoren kann die Fähigkeit lebender Organismen beeinflussen, auf vorhersagbare Weise zu reagieren, und folglich sind Validierungsverfahren ein wesentlicher Bestandteil jedes biologischen Untersuchungsverfahrens. Bei allen drei Verfahren erfolgt die Validierung durch die Verwendung von Referenzmaterialien.

Es ist wichtig zu beachten, dass keines der drei Verfahren Schlussfolgerungen zum physikalischen (einschließlich Oberflächenrauheit), chemischen oder toxikologischen Verhalten der Materialien oder deren Beständigkeit gegenüber Reinigungs- oder Desinfektionsmitteln zulässt. Außerdem liefert keines der Verfahren Angaben zur Pathogenität von Mikroorganismen, deren Zahl sich durch aus dem zu untersuchenden Material stammende Nährstoffe erhöhen kann.

WARNUNG — Die im vorliegenden Dokument beschriebenen Prüfungen sollten nur in Laboratorien mit geeigneten Einrichtungen und nur von angemessen qualifiziertem Personal mit einem entsprechenden chemischen und mikrobiologischen Fachwissen durchgeführt werden. Mikrobiologische Standardverfahren sollten durchgängig eingehalten werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt drei Verfahren zur Bestimmung der Fähigkeit von nichtmetallischen Werkstoffen, das Wachstum von Mikroorganismen zu fördern, fest.

Diese Europäische Norm gilt für diejenigen Materialien, die unter verschiedenen Bedingungen für den Einsatz zum Transport und zur Speicherung von Wasser für den menschlichen Gebrauch bestimmt sind.

Die Norm ermöglicht die Prüfung einer einzelnen Materialart oder eines Produkts, bei dem sich nur ein Material in Kontakt mit Wasser befindet. Sie ist nicht geeignet zur Anwendung bei zusammengesetzten Produkten, bei denen mehr als ein Material dem Wasser ausgesetzt ist.

ANMERKUNG Die Ergebnisse jedes Verfahrens sind nicht direkt vergleichbar.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, 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).

EN 901, *Produkte zur Aufbereitung von Wasser für den menschlichen Gebrauch — Natriumhypochlorit*

prEN 1254-1:2007, *Kupfer und Kupferlegierungen — Fittings — Teil 1: Kapillarlötfittings für Kupferrohre (Weich- und Hartlöt)*

EN 1484, *Wasseranalytik — Anleitungen zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC)*

EN 10088-1, *Nichtrostende Stähle — Teil 1: Verzeichnis der nichtrostenden Stähle*

EN 14944-1, *Einfluss von zementgebundenen Produkten auf Wasser für den menschlichen Gebrauch — Prüfverfahren — Teil 1: Einfluss fabrikmäßig hergestellter zementgebundener Produkte auf organoleptische Parameter*

EN ISO 3696:1995, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696:1987)*

EN ISO 5814, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des gelösten Sauerstoffs — Elektrochemisches Verfahren (ISO 5814)*

EN ISO 7393-2, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung von freiem Chlor und Gesamtchlor — Teil 2: Kolorimetrisches Verfahren mit N,N-Diethyl-1,4-Phenylendiamin für Routinekontrollen (ISO 7393-2)*

EN ISO 9308-1, *Wasserbeschaffenheit — Zählung von Escherichia coli und coliformen Bakterien — Teil 1: Membranfiltrationsverfahren für Wässer mit niedriger Begleitflora (ISO 9308-1)*

EN ISO 10012, *Messmanagementsysteme — Anforderungen an Messproben und Messmittel (ISO 10012)*

EN ISO 10523, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Werts (ISO 10523)*

EN ISO 13385-1, *Geometrische Produktspezifikation (GPS) — Längenmessgeräte — Teil 1: Messschieber; Konstruktionsmerkmale und messtechnische Anforderungen (ISO 13385-1)*

EN ISO 13385-2, *Geometrische Produktspezifikation (GPS) — Längenmessgeräte — Teil 2: Tiefenmessschieber; Konstruktionsmerkmale und messtechnische Anforderungen (ISO 13385-2)*

EN ISO 16266, *Wasserbeschaffenheit — Nachweis und Zählung von Pseudomonas aeruginosa — Membranfiltrationsverfahren (ISO 16266)*

ISO 2016, *Capillary solder fittings for copper tubes — Assembly dimensions and tests*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

ATP

Adenosintriphosphat ist die in den Zellen sämtlicher lebender Organismen gebildete Verbindung, die im Zusammenhang mit dem vorliegenden Verfahren zur Messung der Menge an aktiver Biomasse im Wasser und auf der Oberfläche eines Prüfstückes verwendet wird.

3.2

Konzentration der anhaftenden Biomasse (AB)

an einer Oberfläche anhaftende Mikroorganismen, die ATP produzieren

3.3

Biofilm

Zustand mikrobiologischer Organismen, die an mit wässrigen Flüssigkeiten in Berührung kommenden Oberflächen anhaften und üblicherweise in eine selbst produzierte Matrix oder extrazelluläre polymere Substanz eingebettet sind

Anmerkung 1 zum Begriff: Beinhaltet lebende und nicht lebende Organismen.

3.4

Biomasseproduktion (BP)

Summe der anhaftenden Biomasse (3.2) und der suspendierten Biomasse (3.14)

3.5

Biomasseproduktionspotential (BPP)

Mittelwert von Messungen der Biomasseproduktion (3.4), der unter Berücksichtigung des Mittelwerts des Wachstums in Verbindung mit einer Negativkontrolle erhalten wird

3.6

Kontrollen

spezifische Prüfstücke mit bekannten Eigenschaften im Hinblick auf das mikrobielle Wachstum

Anmerkung 1 zum Begriff: Kontrollen werden verwendet, um eine einwandfreie Durchführung der Prüfung nachzuweisen.

3.7

Trinkwasser

Wasser für den menschlichen Gebrauch nach der EG-Richtlinie 98/83/EG (über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch)

3.8

Material

aus einzelnen Stoffen bestehender Gegenstand mit festgelegter Zusammensetzung und festgelegtem Herstellungsverfahren

3.9

Negativkontrolle

spezifische Prüfstücke, die aus Materialien hergestellt sind, von denen bekannt ist, dass sie das mikrobielle Wachstum nicht fördern

3.10

Positivkontrolle

spezifische Prüfstücke, die aus Materialien hergestellt sind, von denen bekannt ist, dass sie das mikrobielle Wachstum fördern

3.11

Produkt

hergestellter Gegenstand in seiner endgültigen Form

Anmerkung 1 zum Begriff: Beispiele von Produkttypen:

- Produkte aus einem einzigen Material;
- zusammengesetzte Produkte: Diese Produkte bestehen aus zwei oder mehreren Bauteilen, möglicherweise aus verschiedenen Materialien;
- Produkte aus Verbundmaterialien: Diese Produkte bestehen aus zwei oder mehreren Schichten, die miteinander verbunden einen Gegenstand bilden;
- Produkte mit bestimmter Rezeptur: Diese Produkte werden durch chemische Verarbeitung erzeugt, im Anschluss derer die originalen Bestandteile, z. B. Schmier- und Klebstoffe, nicht länger feststellbar sind;
- vor Ort angewandte Produkte: Produkte, solche wie Beschichtungen und Auskleidungen, die am Markt als Einsatzstoffe angeboten und vor Ort gemischt und angewandt werden.

3.12

gereinigtes Wasser

gereinigtes Wasser nach Qualität 3 der EN ISO 3696:1995

3.13

Oberflächenbesiedlung

an einer in Berührung mit Trinkwasser befindlichen Oberfläche anhaftende Biomasse, die nur über Kontaktkulturen, Abstriche oder andere geeignete mikrobiologische Prüfmethoden ermittelt werden kann

3.14

Konzentration der suspendierten Biomasse (SB)

Mikroorganismen, die ATP im Prüfwasser produzieren

3.15

Prüfstück

Prüfmuster oder Teil (Teile) der Probe, der (die) konditioniert, behandelt oder auf andere Weise für die Prüfung vorbereitet worden ist (sind), um ein einzelnes Prüfergebnis zu erhalten

3.16

Probe

zur Prüfung gezogene Einheit(en) aus einer Charge oder einem Los

3.17

Prüfwasser

Trinkwasser (3.7) mit für jedes Prüfverfahren spezifischen Zusatzanforderungen

3.18

Spurenelemente

spezifische Substanzen, die im Prüfwasser vorhanden sein müssen, um ein konstantes mikrobielles Wachstum sicherzustellen

4 Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen Gebrauch — Vermehrung von Mikroorganismen (EMG) — Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von Biomasseproduktionspotential (BPP), gemessen durch ATP

4.1 Allgemeines

Die Anhänge A bis E sind Bestandteil von Verfahren 1: Gemessen mit Hilfe von BPP.

Dieses Verfahren beschreibt die Prüfung des Biomasseproduktionspotentials (BPP), wobei das Wachstum von Mikroorganismen in Gegenwart eines für einen festgelegten Zeitraum in biologisch stabilem Wasser bebrüteten Materials bestimmt wird.

Die Bestimmung des Biomasseproduktionspotentials (BPP) ist ein Verfahren zur Prüfung der Fähigkeit des Materials, das Wachstum von Mikroorganismen zu fördern, das auf einer Kombination der folgenden zwei Prinzipien beruht:

- a) chargenbasierte Prüfbedingungen mit einem Wechsel des Prüfwassers alle 7 d, und
- b) Bestimmung der Menge an aktiver Biomasse durch Messung von Adenosintriphosphat (ATP). Informationen zu ATP und dessen Messung sind in Anhang C angeführt.

4.2 Grundlagen des Verfahrens

Repräsentative Proben des zu untersuchenden Materials werden in einem entsprechend geänderten Trinkwasser bebrütet und mit einer Mischung natürlich vorkommender Mikroorganismen, die einem Oberflächengewässer entnommen wurden, beimpft. Die Prüfstücke werden für einen festgelegten Zeitraum (16 Wochen) bei einem konstanten Oberflächen/Volumen-Verhältnis von $0,16 \text{ cm}^{-1}$ bebrütet. Dieses Verhältnis wird konstant gehalten, indem das Volumen an Wasser in den Prüfbehältern angeglichen wird, wenn ein Prüfstück zur Messung der Biomasse entnommen wird.

Das Prüfwasser wird alle 7 d einmal gewechselt.

Die Bildung von Biomasse auf dem Prüfstück und im Wasser wird durch Messung von Adenosintriphosphat (ATP) nach 56 d, 84 d und 112 d Bebrütung bestimmt. Die Menge an ATP wird als ein Maß für die Menge aktiver Biomasse verwendet. Die mit einer bestimmten Oberfläche des Prüfstückes verbundene Biomasse wird aus der Menge der anhaftenden und der suspendierten Biomasse berechnet.

Jede Prüfung wird durch die zufriedenstellende Leistung der Positiv- und Negativkontrollen unter gleichwertigen Bedingungen validiert.

Das Prüfverfahren ist in Anhang E schematisch dargestellt.

4.3 Geräte

4.3.1 Anforderungen

Reinigung und Sterilisation - sämtliche Geräte müssen unter Anwendung von Verfahren gereinigt und sterilisiert werden, durch die sie für den Gebrauch geeignet werden.

Geräte und Reagenzien speziell für die Messung von ATP sind getrennt in Anhang B aufgeführt.

4.3.2 Gefäße, Behälter, Stopfen und Verbindungsstücke sowie übliche Laborgeräte

Gefäße, Behälter, Stopfen und Verbindungsstücke sowie übliche Laborgeräte müssen aus einem Material, wie z. B. Glas und nichtrostendem Stahl, der unter den festgelegten Prüfbedingungen inert ist, bestehen. Für Verbindungsstücke und Stopfen kann PTFE verwendet werden, vorausgesetzt, es kommt nicht in Kontakt mit dem Prüfwasser. PTFE ist ungeeignet für größere Flächen, wie Behälter.

4.3.3 Reinigung

Allgemeine Laborglasgeräte, Platten aus nichtrostendem Stahl, Prüfbehälter und Prüfröhrchen für Verdünnungswasser müssen mit einem Verfahren gereinigt werden, mit dem der gesamte organische Kohlenstoff entfernt wird, um die Anforderungen der Prüfung zu erfüllen.

ANMERKUNG Ein mögliches Verfahren ist das Waschen mit einem biologisch abbaubaren Laborreinigungsmittel mit anschließendem Spülen mit einer Salzsäure-Lösung, hergestellt durch langsame Zugabe von $(0,5 \pm 0,01)$ l konzentrierter Salzsäure (konzentriert, 30 % (m/V), zur Analyse) zu $(0,5 \pm 0,01)$ l gereinigtem Wasser und gründliches Spülen mit gereinigtem Wasser. Glasgeräte, Platten und Prüfbehälter sind ablaufen zu lassen und in einem Trockenschrank zu trocknen. Prüfröhrchen sind ablaufen zu lassen, mit Kappen zu verschließen und für 4 h bei 150 °C bis 175 °C zu trocknen.

4.3.4 Handschuhe

Handschuhe zur Handhabung von Prüfstücken, um eine Verunreinigung mit ATP und organischem Kohlenstoff zu vermeiden. Gepuderte Latexhandschuhe sollten vermieden werden.

4.3.5 Platten

Platten müssen aus einem entsprechenden Material bestehen, um vollständig mit dem zu untersuchenden Material bedeckt zu werden. Platten müssen nach dem in 4.3.3 beschriebenen Reinigungsverfahren gereinigt werden.

4.3.6 Prüfbehälter

Prüfbehälter umfassen Glasgefäße mit Schraubverschluss mit einem Volumen von 1 000 ml, einem Innendurchmesser des Halses von 57 mm und mit einem Deckel mit PTFE-Einlage. Prüfbehälter müssen nach dem in 4.3.3 beschriebenen Reinigungsverfahren gereinigt werden.

4.3.7 Prüfröhrchen

Prüfröhrchen müssen sterile Glasröhrchen zur Herstellung von Verdünnungen oder zur Aufnahme von Prüfstücken während der Ultraschallbehandlung sein, ausgestattet mit sterilen Deckeln. Prüfröhrchen müssen nach dem in 4.3.3 beschriebenen Reinigungsverfahren gereinigt werden.

4.3.8 Brutschrank (oder Wärmekammer)

Brutschränke müssen in der Lage sein, eine Prüftemperatur von (30 ± 2) °C aufrechtzuerhalten (unter Ausschluss von Licht) und müssen frei von flüchtigen organischen Verbindungen sein.

ANMERKUNG Flüchtige organische Verbindungen in der Luft führen in den Prüfbehältern zu einem mikrobiellen Wachstum, wodurch das den Prüfstücken zuzuordnende Wachstum überdeckt wird.

4.3.9 Sterilisatoren

Sterilisatoren müssen in der Lage sein, Temperaturen von (160 ± 10) °C, (250 ± 10) °C und (550 ± 20) °C aufrechtzuerhalten.

4.3.10 Membranfilter

Membranfilter müssen eine Porenweite von 1,2 µm aufweisen und werden zum Filtrieren des Inokulums (4.4.6) eingesetzt.

4.3.11 Autoklav

Der Autoklav muss ein Druckgefäß sein, der in der Lage ist, (121 ± 3) °C und einen Überdruck von 103 kPa aufrechtzuerhalten.

4.4 Reagenzien

4.4.1 Prüfwasser

Das Prüfwasser darf keine schädigenden Wirkungen auf Bakterien haben und muss die in Tabelle 1 festgelegten Qualitätskriterien erfüllen. Dies kann Trinkwasser sein, das die zusätzlichen Anforderungen aus Tabelle 1 erfüllt.

Tabelle 1 — Qualitätskriterien für Prüfwasser

Qualitätskriterien	Konzentration (mg/l)	Bemerkung
Konzentration von Wasserstoffionen ($\log_{10}$) (pH)	6,5 bis 8,5	Konzentration muss in den festgelegten Bereich fallen. Befindet sich der pH-Wert außerhalb des in der Tabelle 1 angegebenen Bereichs, so ist der pH-Wert des Wassers entsprechend einzustellen, entweder mit Salzsäure- oder mit Natriumhydroxid-Lösung.
Freies Chlor	< 0,02	Wenn ein Desinfektionsmittelrückstand vorliegt, sollte dieser durch Filtration durch granulierte Aktivkohle neutralisiert werden.
Sauerstoff	> 6,5	—
PO_4^{3-} -Phosphor	2,0 bis 6,7	Kaliumdihydrogenphosphat (4.4.3) hinzufügen, wenn die Konzentration unter 2 mg/l liegt.
NO_3^- -Stickstoff	5 bis 11,3	Kaliumnitrat (4.4.4) hinzufügen, wenn die Konzentration unter 5 mg/l liegt.
Ammonium-Stickstoff	< 0,05	—
Kupfer	< 0,05	—
Silber	< 0,01	—
Gesamter gelöster organischer Kohlenstoff	< 2	—
Biostabilität (durchschnittliche Höchstkonzentration von ATP)	< 10 ngATP/l	Nach Anhang A prüfen.
Spurenelemente (3.18)	—	Bei Wasser mit geringem Gehalt an Spurenelementen bei Bedarf hinzuzufügen (siehe Anhang A).

4.4.2 Verdünnungswasser

Verdünnungswasser ist autoklaviertes gereinigtes Wasser (3.12).

4.4.3 Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung

Zusammensetzung:

- Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4), (790 ± 10) mg;
- gereinigtes Wasser (3.12), 100 ml.

Herstellung: Das Kaliumdihydrogenphosphat ist in gereinigtem Wasser zu lösen und diese Lösung ist 15 min bei $(121 \pm 3)^\circ\text{C}$ zu autoklavieren. Die Lösung ist für die Zeitdauer von höchstens einem Monat bei $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ in dicht verschlossenen Behältern aufzubewahren. Wenn die endgültige PO_4^{3-} -Konzentration außerhalb des Bereichs von Tabelle 1 liegt, sind ATP-freie Pipetten zu verwenden, um Lösungen von Kaliumdihydrogenphosphat hinzuzugeben.

4.4.4 Kaliumnitrat-Lösung

Zusammensetzung:

- Kaliumnitrat (KNO_3), $(3,25 \pm 0,05)$ g;
- gereinigtes Wasser (3.12), 100 ml.

Herstellung: Das Kaliumnitrat ist in gereinigtem Wasser zu lösen und diese Lösung ist 15 min bei $(121 \pm 3)^\circ\text{C}$ zu autoklavieren. Die Lösung ist für die Zeitdauer von höchstens einem Monat bei $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ in dicht verschlossenen Behältern aufzubewahren. Wenn die endgültige NO_3 -Konzentration außerhalb des Bereichs von Tabelle 1 liegt, sind ATP-freie Pipetten zu verwenden, um Lösungen von Kaliumnitrat hinzuzufügen.

4.4.5 Natriumacetat-Lösung

Zusammensetzung:

- Natriumacetat (wasserfrei), $(25,6 \pm 0,1)$ g;
- gereinigtes Wasser (3.12), 100 ml.

Herstellung: Das Natriumacetat ist in gereinigtem Wasser zu lösen. $(1 \pm 0,1)$ ml dieser Lösung sind zu $(9 \pm 0,1)$ ml autoklavierten Trinkwassers in ein sauberes und steriles Kulturröhrchen mit Deckel aus nichtrostendem Stahl zu geben und dieses Röhrchen ist für 30 min in Wasser bei $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$ zu legen.

$(0,4 \pm 0,05)$ ml dieser Lösung sind mit einer 1-ml-Pipette in einen Behälter mit 600 ml Prüfwasser zu geben.

Diese Lösung muss innerhalb von (6 ± 2) h verwendet werden; für jede Prüfung ist eine frische Lösung herzustellen.

4.4.6 Inokulum

Das Inokulum muss aus frisch aus einem Oberflächengewässer entnommenem Wasser bestehen, das für die Entnahme von Wasser für den menschlichen Gebrauch geeignet ist. Die Beschaffenheit des Oberflächengewässers und dessen mikrobiologischer Zustand unterscheiden sich in Abhängigkeit von der Herkunft.

Das Wasser muss eine Konzentration von Wasserstoffionen, die einem pH-Wert zwischen 5,5 und 9,0 entspricht, und eine Kupferkonzentration von weniger als 0,05 mg/l aufweisen.

Herstellung: Das Wasser wird vor dem Gebrauch vorbehandelt, um alle Organismen zu entfernen, die sich störend auf die Prüfung auswirken können.

Eine Membranfiltereinheit mit dem Membranfilter (4.3.10) ist zusammenzusetzen. Der Membranfilter ist mit etwa 250 ml gereinigtem Wasser (3.12) zu spülen, um lösliche organische Kohlenstoffverbindungen von der Membran zu entfernen; dieses gereinigte Wasser ist zu verwerfen. Das frisch aus einem Oberflächengewässer entnommene Wasser ist durch die Membran zu filtrieren und das Filtrat ist in einem sterilen Kolben aufzufangen.

Das Filtrat ist unter Ausschluss von Licht bei $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ höchstens 7 d aufzubewahren.

Sehr trübes Wasser von einem Oberflächengewässer (nach der Filtration) oder sichtbar grünes Wasser mit Algenwachstum sollte nicht als Inokulum verwendet werden.

4.4.7 Spezifikationen für Kontrollen

4.4.7.1 Positivkontrolle

Ein Prüfstück aus weichmacherhaltigem PVC.

Bei jeder Prüfung muss das positive Referenzmaterial einen Mittelwert (Mittelwert aus drei Messungen des Biomasseproduktionspotentials (BPP) nach 56 d, 84 d und 112 d) von etwa 10 000 pg ATP/cm² oder mehr ergeben.

Wenn das Ergebnis für das positive Referenzmaterial unterhalb dieses Wertes von 10 000 pg ATP/cm² liegt, muss die gesamte Prüfung abgebrochen und mit neuen Prüfstücken und frischem Inokulum wiederholt werden.

4.4.7.2 Negativkontrolle

Ein Prüfstück aus Borosilcatglas.

Bei jeder Prüfung muss das negative Referenzmaterial einen Mittelwert (Mittelwert aus drei Messungen des Biomasseproduktionspotentials (BPP) nach 56 d, 84 d und 112 d) von etwa 100 pg ATP/cm² oder weniger ergeben.

Wenn das Ergebnis für das negative Referenzmaterial oberhalb dieses Wertes von 100 pg ATP/cm² liegt, muss die gesamte Prüfung abgebrochen und mit neuen Prüfstücken, frischem Inokulum und Prüfstücken (4.3) wiederholt werden.

4.5 Proben und Kontrollen

4.5.1 Probenahme, Transport und Lagerung von Proben

Die Probe sollte von einer Charge stammen, die unter typischen Fertigungsbedingungen hergestellt wurde und für den vorgesehenen Verwendungszweck des Materials im Kontakt mit Trinkwasser repräsentativ ist.

Produkte, wie Dichtungen und O-Ringe, können als Ganzes geprüft werden, vorausgesetzt, sie sind von geeigneter Größe. Große Produkte (z. B. Rohre) sollten geschnitten werden, um Prüfstücke von gewünschter Oberfläche und Größe zu erhalten.

Es ist sicherzustellen, dass die Oberfläche der Prüfstücke, die für einen Kontakt mit dem Prüfwasser vorgesehen ist, frei von Klebeband, Etiketten, Tinten- oder Bleistiftmarkierungen ist. Es ist darauf zu achten, dass Transport- und Lagerungsbedingungen die Prüfergebnisse nicht beeinflussen.

Die Proben müssen unter Ausschluss von Licht bei $(23 \pm 5)^\circ\text{C}$ in Behältern aus nichtrostendem Stahl, Papiertücher, Glas oder anderen Werkstoffen, die die Ergebnisse der Prüfung nicht beeinflussen, gelagert werden, es sei denn, der Lieferant der Proben gibt schriftliche alternative Lagerungsbedingungen vor, wie die, denen die Materialien/Produkte in der Praxis ausgesetzt sind. Die Materialien sollten vor der Prüfung nicht länger als einen Monat gelagert werden.

Aufbewahrungshüllen oder -taschen dürfen nicht verschlossen werden. Trockenpulver darf nicht verwendet werden und eine Reinigung darf nicht durchgeführt werden, es sei denn, eine dieser Verfahrensweisen ist Teil der üblichen Herstellungsverfahren. Die Aufbewahrungsbehälter sind unter Anwendung der gleichen Verfahren zu reinigen, die bei den Prüfbehältern angewendet werden.

4.5.2 Vorbereitung der Prüfstücke

4.5.2.1 Allgemeines

Die Prüfstücke (3.15) aus der Probe (3.16) sind so vorzubereiten, dass nur die Oberfläche, die für einen Kontakt mit dem Trinkwasser vorgesehen ist, dem Prüfwasser (4.4.1) ausgesetzt wird.

Das Oberflächen/Volumen-Verhältnis des Prüfstückes muss $(0,16 \pm 0,02) \text{ cm}^{-1}$ betragen; wenn es notwendig ist, dieses zu erreichen, muss ein Prüfstück aus mehr als einem Probenanteil bestehen.

Sofern praktikabel, muss das mit drei Prüfmustern oder Anteilen als ein Prüfstück erreicht werden, die jeweils eine Oberfläche von $(50 \pm 5) \text{ cm}^2$ aufweisen und in $(900 \pm 20) \text{ ml}$ Prüfwasser eingetaucht werden.

Bei homogenen Materialien ist es zulässig, die gesamten Prüfstücke dem Prüfwasser auszusetzen, einschließlich der Oberflächen, die nicht dafür vorgesehen sind, mit Trinkwasser in Kontakt zu kommen.

Wenn ein homogenes Material in Stücke geschnitten werden muss, um die erforderliche Größe des Prüfstückes zu erhalten, sollte dies auf eine Weise erfolgen, die sicherstellt, dass die Fläche der Schnittkanten so klein wie möglich ist.

Bei nicht homogenen Materialien sollten spezielle Prüfstücke hergestellt werden, bei denen nur die Oberfläche, die für den Kontakt mit Wasser vorgesehen ist, während der Prüfung dem Wasser ausgesetzt wird.

4.5.2.2 Fabrikmäßig aufgebrachte Beschichtungen

Prüfstücke mit fabrikmäßig aufgetragenen Beschichtungen müssen vom Hersteller nach dem üblichen Herstellungsverfahren vorbereitet werden. Die Prüftafeln/-platten müssen in Übereinstimmung mit den üblichen Herstellungsbedingungen in der Fabrik vollständig beschichtet werden. Ist dies praktisch nicht durchführbar, ist ein Verfahren anzuwenden, das eine gleichwertige Materialoberfläche ergibt, wie sie bei dem üblichen Herstellungsverfahren entsteht.

Für das Prüfstück müssen alle notwendigen Angaben zur Material- und Chemikaliensicherheit vorliegen.

4.5.2.3 Vor Ort aufgebrachte Materialien

Die Prüfstücke mit vor Ort aufgetragenen Beschichtungen sind vom Hersteller oder einem Auftragnehmer unter Aufsicht der zuständigen Stelle nach den schriftlichen Anweisungen des Herstellers vorzubereiten. Die Prüftafeln/-platten müssen in Übereinstimmung mit den üblichen Herstellungsverfahren vollständig beschichtet werden. Ist dies praktisch nicht durchführbar, ist ein Verfahren anzuwenden, das eine gleichwertige Materialoberfläche ergibt, wie sie bei dem üblichen Herstellungsverfahren entsteht.

Wenn ein Transport der Prüfstücke zum Prüflabor notwendig ist, dann muss diese Zeitspanne Teil der Aushärtungsbedingungen (z. B. Dauer und Temperatur) sein. Die Prüfstücke müssen innerhalb der Aushärtungszeit angeliefert werden.

Es ist darauf zu achten, dass sichergestellt wird, dass Materialien und Prüfstücke beim Transport nicht verunreinigt werden.

Mit der Prüfung ist zu beginnen, sobald die Aushärtungszeit abgeschlossen ist.

Für die Prüfstücke müssen alle notwendigen Angaben zur Material- und Chemikaliensicherheit vorliegen.

4.6 Vorbehandlung der Prüfstücke

4.6.1 Allgemeines

Es sollten nur die in diesem Abschnitt festgelegten Verfahren zur Reinigung der Prüfstücke angewendet werden, es sei denn, als Teil des normalen Einbaus und/oder der normalen Inbetriebnahme des konkreten Materials/Produkts sind spezielle Verfahren erforderlich.

Die Prüfstücke werden vor der Prüfung durch Verfahren, die Spülen, Stagnation und Vorwaschen einschließen, vorbehandelt.

4.6.2 Spülen

Die Prüfstücke sind in einem Gefäß (z. B. einem Becherglas) mit Trinkwasser zu spülen, wobei eine derartige Wasserströmung von unten nach oben vorliegt, dass die berechnete Geschwindigkeit, bezogen auf die obere offene Oberfläche des Gefäßes, von 1 m/min bis 3 m/min für die Dauer von (60 ± 5) min beträgt.

Anschließend werden die Prüfstücke unter statischen Bedingungen nach 4.6.3 belassen.

4.6.3 Stagnation

Die Prüfstücke sind für eine Dauer von (24 ± 1) h bei (23 ± 2) °C in Prüfwasser (4.4.1) einzutauchen. Anschließend sind die Prüfstücke zu entnehmen und vorzuwaschen (4.6.4).

4.6.4 Vorwaschen

Die Prüfstücke sind erneut (60 ± 5) min wie in 4.6.2 zu spülen und anschließend $(2 \pm 0,5)$ min mit Prüfwasser (4.4.1) abzuspielen.

4.7 Durchführung

4.7.1 Übersicht

Für eine Prüfung eines Materials werden zwei Behälter für Parallelansätze vorbereitet, welche jeweils drei Prüfstücke (oder die den Prüfstücken entsprechende Anzahl von Prüfmustern oder Anteilen) enthalten, die in dem geforderten Volumen von Prüfwasser mit Inokulum eingetaucht sind. Außerdem werden für jede Positiv- und Negativkontrolle zwei Behälter mit drei Prüfstücken (oder der den Prüfstücken entsprechenden Anzahl von Prüfmustern oder Anteilen) und dem geforderten Volumen an Wasser und Inokulum vorbereitet. Sämtliche Behälter werden unter denselben Bedingungen bebrütet.

Das Prüfwasser wird im Verlauf der Prüfung in allen Behältern alle 7 d gewechselt. An den Tagen 56, 84 und 112 werden bei allen Behältern vor dem Wechsel des Prüfwassers Proben zur Bestimmung der Menge der suspendierten Biomasse und der anhaftenden Biomasse durch ATP-Messung entnommen. Zur Bestimmung der Menge der anhaftenden Biomasse erfolgt die Messung an einem Prüfstück und an einer positiven und einer negativen Kontrolle, die anschließend verworfen werden. Um der Entnahme der jeweiligen Prüfstücke Rechnung zu tragen, wird anschließend das Volumen des Prüfwassers angepasst.

Die Prüfung wird am Tag 112 beendet.

Die zeitliche Planung und Abfolge des gesamten Prozesses, einschließlich der kritischen Schritte, sind in Tabelle 2 dargestellt. Weitere Einzelheiten siehe Anhang E.

Tabelle 2 — Zusammenfassung von zeitlicher Planung und Abfolge des Prüfverfahrens

Tag	Prüfwasser (± 20) ml	Zugaben		ATP
		Inokulum	Zusätze	Bestimmungen
0	900	Ja	Bei Bedarf	—
7 bis 49 einschließlich	900	Nein	Bei Bedarf	—
56	600	Nein	Bei Bedarf	Ja
63 bis 77 einschließlich	600	Nein	Bei Bedarf	—
84	300	Nein	Bei Bedarf	Ja
91 bis 105 einschließlich	300	Nein	Bei Bedarf	—
112	Ende der Prüfung			Ja

4.7.2 Verunreinigung mit ATP

Es ist sicherzustellen, dass alle Geräte (4.3) vor dem Gebrauch in dieser Prüfung gründlich gereinigt und sterilisiert werden.

Es sind Vorkehrungen zu treffen, um eine Verunreinigung der Prüfstücke und Geräte mit ATP zu vermeiden; deshalb ist der direkte Kontakt zwischen Haut und Prüfstücken, Geräten und Reagenzien durch Verwendung von nicht gepuderten Polyethylenhandschuhen und von Pinzetten zu verhindern. Für jede Materialart sind gesonderte Handschuhe und Pinzetten zu verwenden.

4.7.3 Vorbereitung der Prüfbehälter

Mit einem 1-Liter-Messzylinder (4.3.2) sind 900 ml Prüfwasser (4.4.1) in die für die Prüfung benötigten Behälter zu geben. Das Prüfwasser muss den Kriterien in Tabelle 1 entsprechen.

In jeden Prüfbehälter (4.3.6) sind mit einer Messpipette (4.3.2) 9 ml Inokulum hinzuzufügen. Es ist sicherzustellen, dass zur Bildung einer Reihe aus Behältern mit Prüfstücken und den zugehörigen Kontrollen nur eine Charge des Inokulums (4.4.6) verwendet wird.

4.7.4 Prüfstücke

In jeden der beiden vorbereiteten Prüfbehälter (4.7.3) mit Prüfwasser und Inokulum sind drei vorbehandelte Prüfstücke, jedes Prüfstück mit einer Gesamtoberfläche von 50 cm², zu geben. Die Prüfstücke sollten einzeln auf der Auflagefläche des Behälters liegen.

Wenn die Dichte der drei Prüfstücke kleiner als die des Wassers ist, ist sicherzustellen, dass die Prüfstücke für die Dauer der Prüfung in das Prüfwasser eingetaucht sind, indem nichtrostende Stahlgewichte, gereinigt nach 4.3.3, verwendet werden.

4.7.5 Bebrütung

Die Prüfbehälter mit den Prüfstücken sind unter Ausschluss von Licht bei (30 ± 2) °C zu bebrüten (4.3.8).

4.7.6 Positiv- und Negativkontrollen

Für die Negativkontrolle sind drei negative Prüfstücke, jedes Prüfstück mit einer Gesamtoberfläche von 50 cm², in jeden der beiden Behälter (4.7.3) mit Prüfwasser und Inokulum zu geben.

Für die Positivkontrolle sind drei positive Prüfstücke, jedes Prüfstück mit einer Gesamtoberfläche von 50 cm², in jeden der beiden Behälter (4.7.3) mit Prüfwasser und Inokulum zu geben.

Die Prüfbehälter mit den positiven und negativen Kontrollen sind unter Ausschluss von Licht bei (30 ± 2) °C zu bebrüten (4.3.8).