

DIN EN 17719



ICS 65.080

Entwurf

Einsprüche bis 2023-06-21
Vorgesehen als Ersatz für
DIN CEN/TS 17719:2022-07

**Pflanzen-Biostimulanzien –
Bestimmung der anaeroben Keimzahl;
Deutsche und Englische Fassung prEN 17719:2023**

Plant biostimulants –
Determination of the anaerobic plate count;
German and English version prEN 17719:2023

Biostimulants des végétaux –
Détermination du dénombrement sur plaque des germes anaérobies;
Version allemande et anglaise prEN 17719:2023

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-04-21 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 42 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17719:2023) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-03-06 AA „Pflanzen-Biostimulanzien“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 5725-2:2019	siehe	DIN ISO 5725-2:2022-05
ISO 11139:2018	siehe	DIN EN ISO 11139:2019-05

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN CEN/TS 17719:2022-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Änderung der Veröffentlichungsform von einer Technischen Spezifikation zu einer Europäischen Norm;
- b) Ergänzung des informativen Anhangs C mit Ringversuchsdaten zur Wiederhol- und Vergleichpräzision des Verfahrens;
- c) Ergänzung des informativen Anhangs ZA zum Zusammenhang mit der Verordnung für EU-Düngeprodukte.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 11139:2019-05, *Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge — Vokabular, das bei der Sterilisation und zugehöriger Ausrüstung sowie in Prozessnormen verwendet wird (ISO 11139:2018); Deutsche und Englische Fassung EN ISO 11139:2018*

DIN ISO 5725-2:2022-05, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:2019); Text Deutsch und Englisch*

– *Entwurf* –

E DIN EN 17719:2023-05

– Leerseite –

April 2023

prEN 17719

Pflanzen-Biostimulanzien – Bestimmung der anaeroben Keimzahl

Plant biostimulants – Determination of the anaerobic plate count

Biostimulants des végétaux – Détermination du dénombrement sur plaque des germes anaérobies

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
4.1 Allgemeines	8
4.2 Kurzbeschreibung	8
5 Nährmedien und Reagenzien	8
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien	8
7 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	9
7.1 Allgemeines	9
7.2 Flüssigkeit – wasserbasierte Formulierungen	9
7.3 Flüssigkeit – ölbasierte Formulierungen (emulgierbares Konzentrat – EC)	9
7.4 Feststoff – als wasserdispergierbares Pulver (WP, en: wettable powder) formuliert	9
7.5 Feststoff – als wasserdispergierbares Granulat (WDG) formuliert	10
7.6 Feststoff – als Pellets, Granulat, Mikrogranulat (langsame Freisetzung) formuliert	10
7.7 Feste Substrate	10
8 Durchführung	10
8.1 Prüfmenge, Erstverdünnung und Verdünnungen	10
8.2 Beimpfung und Bebrütung	10
8.3 Kritischer Lenkungspunkt	10
9 Berechnung	10
10 Angabe der Ergebnisse	11
11 Leistungsmerkmale des Verfahrens	11
11.1 Ringversuche	11
11.2 Empfindlichkeit	11
11.3 Spezifität	11
12 Untersuchungsbericht	11
13 Qualitätssicherung	12
Anhang A (informativ) Leitfaden für die Berechnung und Dokumentation der Zählungen von Anaerobierplatten (ANPC)	13
A.1 Allgemeines	13
A.2 Beispiel	13
Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien und Reagenzien	14
B.1 Anaerobier-Agar (ANA)	14
B.1.1 Grundmedium	14
B.1.2 Heminlösung	15
B.1.3 Vitamin-K1-Lösung	15
B.1.4 Gepuffertes Peptonwasser	15
Anhang C (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs zur Zählung von Anaerobierplatten	17
C.1 Ergebnisse des Ringversuchs	17
C.2 Statistische Analyse	17
Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Verordnung (EU) 2019/1009 zur Bereitstellung von EU-Düngeprodukten auf dem Markt	19
Literaturhinweise	20

Tabellen

Tabelle 1 — Agrarökologische Grundsätze und die Rolle von Biostimulanzen	5
Tabelle C.1 — Ergebnisse der Datenanalyse nach Untersuchung von handelsüblichen Biostimulanzen	18
Tabelle ZA.1 — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Verordnung (EU) 2019/1009	19

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17719:2023) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird CEN/TS 17719:2022 ersetzen.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelsassoziation CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinie(n)/Verordnung(en).

Zum Zusammenhang mit EU-Richtlinie(n)/Verordnung(en) siehe informativen Anhang ZA, der Bestandteil dieses Dokuments ist.

Einleitung

Dieses Dokument wurde von den Experten des CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ erarbeitet. Das Europäische Komitee für Normung (CEN) wurde von der Europäischen Kommission (EC) beauftragt, Europäische Normen bzw. europäische Normungsergebnisse zu verfassen, die der Umsetzung der Verordnung (EU) 2019/1009 vom 5. Juni 2019 mit Vorschriften für die Bereitstellung von EU-Düngeprodukten auf dem Markt („Düngeprodukteverordnung“) dienen sollen. Dieser Normungsauftrag, vorgestellt als SRM/564 und M/564/Amd1, ist auch ein Beitrag zur Strategie „Innovating for Sustainable Growth: A Bioeconomy for Europe“. Im Rahmen dieses Normungsauftrags wurde die Arbeitsgruppe 5 „Kennzeichnung und Bezeichnungen“ (en: Labelling and denominations) gebildet, um ein Arbeitsprogramm zu entwickeln.

Das Technische Komitee CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ wurde eingerichtet, um dieses Arbeitsprogramm auszuführen, wobei eine Normenreihe erarbeitet wird. Das Interesse an Biostimulanzien als wertvolles Hilfsmittel für die Landwirtschaft ist in Europa deutlich gestiegen. Es wurde erkannt, dass der Normung eine wichtige Rolle zukommt, wenn es darum geht, den Einsatz von Biostimulanzien zu fördern. Die Arbeit des CEN/TC 455 ist darauf ausgerichtet, die Zuverlässigkeit der Lieferkette zu verbessern und so das Vertrauen von Landwirten, Industrie und Verbrauchern in Pflanzen-Biostimulanzien zu stärken, und wird die Kommerzialisierung der europäischen Biostimulanzienindustrie fördern und unterstützen.

Biostimulanzien, die in der Landwirtschaft eingesetzt werden, können auf vielfältige Weise angewendet werden: auf dem Boden, auf der Pflanze, als Samenbehandlung usw. Ein mikrobielles Pflanzen-Biostimulans besteht aus einem Mikroorganismus oder einem Konsortium von Mikroorganismen, wie in der Komponentenkategorie 7 des Anhangs II der EU-Düngeprodukteverordnung (EU) 2019/1009 [1] angegeben.

Das Verfahren ist auf mikrobielle Pflanzen-Biostimulanzien anwendbar, ausgenommen jene, die aus aeroben Bakterien bestehen, um zu überprüfen, ob die Konzentration der Anaerobier die entsprechenden Grenzwerte der EU-Düngeprodukteverordnung nicht überschreitet.

Tabelle 1 fasst viele der agrarökologischen Grundsätze und die Rolle von Biostimulanzien zusammen.

Tabelle 1 — Agrarökologische Grundsätze und die Rolle von Biostimulanzien

Steigerung der Biodiversität
durch Verbesserung der Qualität/Quantität der Mikroorganismen im Boden
Stärkung biologischer Regulations- und Wechselwirkungsmechanismen
durch Verstärkung der Wechselwirkungen zwischen Pflanzen und Mikroorganismen
— symbiotischer Austausch, d. h. <i>Mykorrhizae</i>
— symbiotischer Austausch, d. h. <i>Rhizobiaceae/Fabaceae</i>
— Sekrete, die Pflanzenhormone nachahmen (d. h. <i>Trichoderma</i>)
durch Regulierung pflanzenphysiologischer Prozesse
— z. B. Beispiel Wachstum, Stoffwechsel, Pflanzenentwicklung usw.
Verbesserung der biogeochemischen Kreisläufe
— Verbesserung der Aufnahme von Nährstoffelementen
— Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Nährstoffelementen im Boden
— Anregung des Abbaus organischer Substanz

WARNUNG — Personen, die dieses Dokument anwenden, sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, alle gegebenenfalls zutreffenden Sicherheitsprobleme im Zusammenhang mit seiner Anwendung zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des

- Entwurf -

**E DIN EN 17719:2023-05
prEN 17719:2023 (D)**

Anwenders, geeignete Vorsichtsmaßnahmen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und die Einhaltung nationaler Vorschriften sicherzustellen.

WICHTIG — Es ist unerlässlich, dass nach diesem Dokument durchgeführte Prüfungen von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument stellt ein horizontales Verfahren zur Zählung von Mikroorganismen, die nach anaerober Bebrütung bei 30 °C in einem festen Medium wachsen und Kolonien bilden können, zur Verfügung.

Das Verfahren ist auf mikrobielle Pflanzen-Biostimulanzien anwendbar, ausgenommen jene, die aus aeroben Bakterien bestehen, um zu überprüfen, ob die Konzentration der Anaerobier die entsprechenden Grenzwerte der EU-Düngeprodukteverordnung [1] nicht überschreitet.

Dieses Verfahren ist nicht anzuwenden für die mikrobiologische Überwachung der Umgebung, in der die mikrobiellen Pflanzen-Biostimulanzien hergestellt werden.

Es können keine Informationen über potentielle humanpathogene Keime aus der Auszählung der anaeroben koloniebildenden Einheiten abgeleitet werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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 17708:—¹, *Pflanzen-Biostimulanzien — Probenvorbereitung für die mikrobielle Analyse*

EN 17724:—², *Pflanzen-Biostimulanzien — Terminologie*

EN ISO 7218:2007³, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen (ISO 7218:2007)*

EN ISO 11133:2014⁴, *Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser — Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien (ISO 11133:2014)*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach EN 17724:—² und die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

Mikroorganismus

zelluläre oder nichtzelluläre mikrobiologische Einheiten einschließlich niederer Pilze und Viren, die zur Replikation oder zur Weitergabe von genetischem Material fähig sind

[QUELLE: Verordnung (EG) Nr. 1107/2009, Artikel 3, Punkt 15]

1 In Vorbereitung.

2 In Vorbereitung.

3 Geändert durch EN ISO 7218:2007/A1:2013.

4 Geändert durch EN ISO 11133:2014/A1:2018 und EN ISO 11133:2014/A2:2020.

3.2

fakultativer Organismus

Mikroorganismus, der sowohl zum aeroben als auch zum anaeroben Stoffwechsel fähig ist

[QUELLE: EN ISO 11139:2018, 3.114]

3.3

obligater Anaerobier

Organismus, der nur in Abwesenheit von molekularem Sauerstoff lebt und sich vermehrt

[QUELLE: EN ISO 11139:2018, 3.186]

3.4

Anzahl lebensfähiger Mikroorganismen

Wert, der durch Zählung der wiedergewinnbaren koloniebildenden Einheiten ermittelt wird

[QUELLE: EN ISO 11139:2018, 3.316]

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Lebensfähige anaerobe Bakterien werden mithilfe des Plattenzählverfahrens in einer anaeroben Umgebung [2] ausgezählt. Bei der Anwendung des Verfahrens muss vorsichtig vorgegangen werden, da Isolate pathogen sein können.

4.2 Kurzbeschreibung

Zur Herstellung einer Gussplatte wird eine feste Menge einer Verdünnung der Untersuchungsprobe in eine leere Petrischale gegeben und mit einem festgelegten geschmolzenen Nähragar vermischt.

Die Platten werden unter anaeroben Bedingungen bei $30\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ für 48 h bis 72 h bebrütet.

Die Anzahl von Mikroorganismen je Gramm oder je Milliliter der Untersuchungsprobe wird wie in Abschnitt 9 festgelegt berechnet.

5 Nährmedien und Reagenzien

Zur üblichen Laborpraxis müssen EN 17708:—¹ und EN ISO 11133:2014⁴ angewendet werden.

Die Zusammensetzung des anaeroben Agars (ANA) [3] und der Reagenzien sowie deren Herstellung sind in Anhang B beschrieben.

6 Geräte und Verbrauchsmaterialien

6.1 Spezielle Geräte, anaerober Brutschrank, BBL GasPak oder ein gleichwertiges Gerät, ausgestattet mit GasPak Wasserstoff- und CO₂-Entwicklerumschlägen mit Anaerob-Indikator.

6.2 Gerät für die Trockensterilisation (Heißluft-Sterilisator) und Dampfsterilisation (Autoklav), das nach EN ISO 7218:2007³ angewendet werden muss.

6.3 Trocken- oder Brutschrank, in einem Bereich von 30 °C bis $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ einstellbar.

6.4 Wasserbad, auf $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ einstellbar.

6.5 pH-Messgerät mit einer Fehlergrenze der Kalibrierung von $\pm 0,1$ pH-Einheiten bei 25 °C .

6.6 Sterile Messpipetten oder automatische Pipetten mit einem Nennvolumen von 0,1 ml, 0,5 ml, 1 ml und 10 ml.

6.7 Sterile Petrischalen mit einem Durchmesser von etwa 90 mm und (optional) großer Größe (Durchmesser etwa 140 mm).

6.8 Kühlschrank, einstellbar auf $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$.

6.9 Peristaltischer Mischer (Stomacher^{®5}) mit sterilen 400-ml-Beuteln.

6.10 Mischermotor und Behälter oder Vortex-Mischer.

7 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

7.1 Allgemeines

Um eine tatsächlich repräsentative Analyseeinheit sicherzustellen, werden Flüssigkeiten oder frei fließende Materialien bewegt, bis sie homogen sind. Handelt es sich bei der Probeneinheit um einen Feststoff, wird die Analyseeinheit erstellt, indem an mehreren Stellen innerhalb der Probeneinheit ein Anteil entnommen wird. Um den Arbeitsaufwand zu reduzieren, dürfen die Analyseeinheiten für die Analyse zusammengefasst werden. Es wird empfohlen, dass eine Sammelprobe nicht mehr als fünf Analyseeinheiten enthält.

Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen sind in EN 17708:—¹ beschrieben.

Eine repräsentative Probe des Produkts sollte unter Berücksichtigung der verschiedenen Formulierungen von Pflanzen-Biostimulanzien hergestellt werden.

Um die Auswirkungen der Probenahme auf die Signifikanz und die Zuverlässigkeit der Analyseergebnisse möglichst gering zu halten, sollte die Anzahl der untersuchten Parallelproben auf 5 erhöht werden.

7.2 Flüssigkeit – wasserbasierte Formulierungen

25 ml des Produkts (die Analyseeinheit) werden aseptisch in einen sterilen 400-ml-Stomacher[®]-Beutel (6.9) oder in einen Mischerbehälter (6.10) gefüllt, der 225 ml eines geeigneten sterilen Verdünnungsmittels (d. h. gepuffertes Peptonwasser) enthält, das auf Raumtemperatur gehalten wird. Für eine gründliche Durchmischung wird je nach Bedarf ein Mixer, ein Stomacher oder ein Vortex-Mischer eingesetzt.

7.3 Flüssigkeit – ölbasierte Formulierungen (emulgierbares Konzentrat – EC)

25 ml des Produkts (die Analyseeinheit) werden aseptisch in einen sterilen 400-ml-Stomacher[®]-Beutel (6.9) oder in einen Mischerbehälter (6.10) gefüllt, der 225 ml eines geeigneten sterilen Verdünnungsmittels (d. h. gepuffertes Peptonwasser) enthält, das auf Raumtemperatur gehalten wird. Für eine gründliche Durchmischung wird je nach Bedarf ein Mixer, ein Stomacher oder ein Vortex-Mischer eingesetzt.

7.4 Feststoff – als wasserdispergierbares Pulver (WP, en: wettable powder) formuliert

25 g des Produkts (die Analyseeinheit) werden aseptisch in einen sterilen 400-ml-Stomacher[®]-Beutel (6.9) gefüllt, der 225 ml eines geeigneten sterilen Verdünnungsmittels (d. h. gepuffertes Peptonwasser) enthält, das auf Raumtemperatur gehalten wird. Die Mischung wird 2 min bei höherer Geschwindigkeit mit einem Stomacher[®] (6.9) homogenisiert.

5 Stomacher[®] ist ein Beispiel für ein handelsübliches geeignetes Produkt. Diese Angabe dient zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch CEN.