

DIN EN 17720



ICS 65.080

Entwurf

Einsprüche bis 2023-06-21
Vorgesehen als Ersatz für
DIN CEN/TS 17720:2022-07

**Pflanzen-Biostimulanzien –
Bestimmung von Enterococcaceae;
Deutsche und Englische Fassung prEN 17720:2023**

Plant biostimulants –
Determination of Enterococcaceae;
German and English version prEN 17720:2023

Biostimulants des végétaux –
Détermination des Enterococcaceae;
Version allemande et anglaise prEN 17720:2023

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 40 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17720:2023) 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 siehe DIN ISO 5725-2

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 17720:2022-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Änderung der Veröffentlichungsform von einer Technischen Spezifikation zu einer Europäischen Norm;
- b) Ergänzung des informativen Anhangs B 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 ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

– *Entwurf* –

E DIN EN 17720:2023-05

– Leerseite –

Pflanzen-Biostimulanzien – Bestimmung von Enterococcaceae

Plant biostimulants – Determination of Enterococcaceae

Biostimulants des végétaux – Détermination des Enterococcaceae

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
5 Verdünnungsmittel, Selektivmedien und Test-Kit für die phänotypische Charakterisierung	8
5.1 Allgemeines	8
5.2 Verdünnungsmittel für die Erstverdünnung und für die Reihenverdünnungen	8
5.3 Selektivmedien	8
5.4 Phänotypische Charakterisierung und Bestätigung	9
6 Geräte und Glasgeräte	9
7 Probenahme	9
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	9
8.1 Allgemeines	9
8.2 Flüssigkeit – wasserbasierte Formulierungen	10
8.3 Flüssigkeit – ölbasierte Formulierungen (emulgierbares Konzentrat – EC)	10
8.4 Feststoff – als wasserdispergierbares Pulver (WP, en: wettable powder) formuliert	10
8.5 Feststoff – als wasserdispergierbares Granulat (WDG) formuliert	10
8.6 Feststoff – als Pellets, Granulat, Mikrogranulat (langsame Freisetzung) formuliert	10
8.7 Feststoff – Substrat	10
9 Durchführung	10
9.1 Beimpfung und Bebrütung der Platten	10
9.2 Auswertung der Ergebnisse	11
9.3 Bestätigungsschritt auf BEA	11
9.4 Katalasetest	11
10 Angabe der Ergebnisse	11
11 Präzision	11
11.1 Allgemeines	11
11.2 Ringversuch	11
11.3 Wiederholpräzision	11
11.4 Vergleichpräzision	12
12 Untersuchungsbericht	12
Anhang A (normativ) Lösungen, Medien	13
A.1 Verdünnungsmittel für die Erstverdünnung und für die Reihenverdünnungen	13
A.1.1 Allgemeines	13
A.1.2 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)	13
A.1.3 Peptonsalz-Lösung	13
A.1.4 Gepuffertes Peptonwasser (BPW, en: buffered peptone water)	13
A.2 Selektivmedien	14
A.2.1 Agar nach Slanetz und Bartley	14
A.2.2 Galle-Äsculin-Azid-Agar	14
Anhang B (informativ) Wiederholpräzision und Vergleichpräzision des Verfahrens	15
B.1 Im Ringversuch verwendete Materialien	15
B.2 Ergebnisse des Ringversuchs	15
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	17
Literaturhinweise	18

Tabellen

Tabelle 1 — Agrarökologische Grundsätze und die Rolle von Biostimulanzen [1]	5
Tabelle B.1 — Materialien, die im Ringversuch zur Bestimmung von Enterokokken in Pflanzen-Biostimulanzen untersucht wurden	15
Tabelle B.2 — Ergebnisse des Ringversuchs zur Bestimmung von Enterokokken in Pflanzen-Biostimulanzen	15
Tabelle ZA.1 — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Verordnung (EU) 2019/1009	17

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17720:2023) 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 17720:2022 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 am Boden, an Pflanzen, als Samenbehandlung usw. angewendet werden. Ein mikrobielles Pflanzen-Biostimulans besteht aus einem Mikroorganismus oder einem Konsortium von Mikroorganismen, wie in der Komponentenmaterialkategorie 7 des Anhangs II der EU-Düngeprodukteverordnung angegeben.

Dieses Dokument ist anzuwenden für alle mikrobiellen Biostimulanzien in der Landwirtschaft.

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

Tabelle 1 — Agrarökologische Grundsätze und die Rolle von Biostimulanzien [1]

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>Mycorrhizae</i>
— symbiotischer Austausch, d. h. <i>Rhizobiaceae/Fabaceae</i>
— Sekrete, die Pflanzenhormone nachahmen (d. h. <i>Trichoderma</i>)
durch Regulierung pflanzenphysiologischer Prozesse
— z. B. Wachstum, Stoffwechsel, Pflanzenentwicklung usw.
Verbesserung der biogeochemischen Kreisläufe
— Verbesserung der Aufnahme von Nährstoffelementen
— Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Nährstoffelementen im Boden
— Stimulierung des Abbaus organischer Substanz

Dieses Verfahren wurde zur Zählung von Enterokokken entwickelt, um die Europäische Kommission zu befähigen, die korrekte Kennzeichnung von Pflanzen-Biostimulanzien zu überwachen. Es beruht im Wesentlichen auf EN 15788:2009, *Futtermittel — Keimzählung von Enterococcus spp. (E. faecium)*. Das Verfahren beruht auf einer umfassenden Prüfung von 12 vorher ausgewählten, handelsüblich verfügbaren Nährmedien für den Nachweis und die Zählung von Enterokokken. Das beschriebene Verfahren wurde in einem Ringversuch [2] bestätigt.

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 Anwenders, geeignete Vorichtsmaßnahmen 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 Verfahren wurde zur Bestimmung von Enterokokken in Biostimulanzien als einzelner Mikroorganismus-Bestandteil oder in einem Gemisch mit anderen Mikroorganismen entwickelt. Dieses Dokument ist nicht anwendbar auf mineralische Düngemittel, die als Ergänzungsfuttermittel festgelegt sind, hauptsächlich aus Mineralstoffen zusammengesetzt sind und mindestens 40 % Rohasche enthalten (Richtlinie 79/373/EWG) [3].

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 ISO 7218:2007¹, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen (ISO 7218:2007)*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten 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

Enterococcus spp.

Bakterien, welche nach Bebrütung von Ausstrichplatten unter aeroben Bedingungen für 44 h bei einer Temperatur von 36 °C Kolonien auf dem festgelegten Selektivagar nach Slanetz und Bartley bilden

Anmerkung 1 zum Begriff: Beschreibung der Kolonien:

- rund;
- konvex bis gewölbt;
- glattrandig;
- glänzende Oberfläche;
- rosa, rote, braune Farbe;
- opak.

Anmerkung 2 zum Begriff: Der Koloniegröße variiert zwischen 0,5 mm und 2 mm im Durchmesser.

Anmerkung 3 zum Begriff: Bei Verwendung von Galle-Äsculin-Azid-Agar (BEA; en: Bile Esculin Azide) zeigt das die Kolonien umgebende Nährmedium infolge der Hydrolyse des Äsculins eine dunkelbraune bis schwarze Färbung.

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

Anmerkung 4 zum Begriff: Eine mikroskopische Untersuchung der ausgewählten Kolonien zeigt typischerweise Diplokokken oder kurze Kokkenketten.

4 Kurzbeschreibung

Eine Erstverdünnung der Probe wird in einem Verdünnungsmittel mit geeigneter Pufferkapazität mithilfe eines geeigneten Homogenisators hergestellt. Verdünnungen der Erstverdünnung (zehnfache Reihenverdünnungen) müssen unmittelbar vor dem Absetzen der Schwebstoffe hergestellt werden. Danach werden 0,1 ml jeder Verdünnung auf dem Agar nach Slanetz und Bartley ausplattiert. Dieses Selektivmedium (wie in EN ISO 7899-2:2000 berichtet) hemmt das Wachstum gramnegativer Bakterien und von *Staphylococcus*. Bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ wird 44 h bebrütet. Die wachsenden Kolonien zeigen eine rosarote oder rotbraune Färbung und sollten durch nachfolgende Beimpfung vorgewärmter BEA-Platten (bei 44°C für 2 h) weiter bestätigt werden.

Wenn das Erreichen einer niedrigeren Nachweisgrenze erforderlich ist, können 1 ml des unverdünnten Bio-stimulanzprodukts oder 1 ml der Erstverdünnung (10^{-1}) auf der Oberfläche der Agarplatten (140 mm Durchmesser oder 3 kleinere Platten mit einem Durchmesser von 90 mm) ausgestrichen werden.

BEA-Platten werden mit 0,1 ml der gewählten Verdünnungen beimpft. Die Platten werden unter aeroben Bedingungen für (24 ± 2) h bei $(44 \pm 1)^\circ\text{C}$ bebrütet.

Die vermuteten Enterokokkenkolonien werden gezählt und die Anzahl koloniebildender Einheiten (KBE) je g oder je ml wird berechnet.

Um die Koloniezahl zu verifizieren, darf eine phänotypische Charakterisierung und Bestätigung einer Auswahl von Kolonien mithilfe eines Identifizierungskits (im Handel erhältlich) durchgeführt werden.

5 Verdünnungsmittel, Selektivmedien und Test-Kit für die phänotypische Charakterisierung

5.1 Allgemeines

Zu aktueller Laborpraxis siehe EN ISO 7218:2007¹ und EN ISO 11133:2014².

Die Zusammensetzung von Nährmedien und Reagenzien sowie deren Herstellung sind in Anhang A (normativ) beschrieben.

5.2 Verdünnungsmittel für die Erstverdünnung und für die Reihenverdünnungen

Das Verdünnungsmittel wird verwendet, um, zur Herstellung einer ersten zehnfach verdünnten Probenverdünnung in geeigneten Behältern (z. B. Universalbehälter, Flaschen oder Kolben), die Probe zu dispergieren und zehnfach zu verdünnen (10^{-1}).

In Anhang A werden einige geeignete Verdünnungsmittel aufgeführt. Andere Verdünnungsmittel dürfen verwendet werden, wenn sie sich für die Anwendung als geeignet erwiesen haben.

5.3 Selektivmedien

Agar nach Slanetz und Bartley und BEA (bei verschiedenen Lieferanten erhältlich) werden als Selektivmedien verwendet. Zur Zusammensetzung und Herstellung siehe Anhang A.

² Geändert durch EN ISO 11133:2014/A1:2018 und EN ISO 11133:2014/A2:2020.