

# VEREIN FÜR BEWEGUNGSFORSCHUNG e.V. INSTITUT FÜR STRÖMUNGSWISSENSCHAFTEN

HERRISCHRIED IM SÜDSCHWARZWALD

## UNTERSUCHUNGSBEDINGUNGEN FÜR WASSERPROBEN MIT DER ALGENUNTERSUCHUNG

### Vorbemerkung

Algen werden heute in der Toxikologie und, wenn auch seltener, in der Trinkwasserwirtschaft als Indikatoren für die Wasserqualität verwendet.<sup>1</sup> Als Ergänzung zu chemisch-analytischen Testverfahren zeigen lebende Organismen ein Gesamtbild der Wirkung einer Wasserprobe. Im Institut für Strömungswissenschaften werden mit Algen Wasseruntersuchungen durchgeführt, die an Normen angelehnt und erweitert wurden. So werden neben den herkömmlichen Wachstumsparametern auch die Veränderungen der Morphologie sowie des Vermehrungszyklus zu einer Beurteilung herangezogen, durch welche auch schwache Beeinflussungen der Wasserqualität aufgezeigt werden können.

### Versuchsbedingungen

Kulturbedingungen und Kulturmedium folgen mit einigen Modifikationen (s. u.) den Anweisungen einer EU-Direktive.<sup>2</sup> Als Versuchsorganismus wird *Pediastrum duplex* (*p. duplex*) der Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen, SAG Nr. 28.83, verwendet. Zur Kultur werden je Wasserprobe und Behandlungsgerät je 30 ml Probelösung in 3 Parallelkulturen in 100 ml EMK gefüllt unter Zusatz der in der EU-Direktive angegebenen Mineralsalze. Die Lösungen und Geräte sind steril, die Probelösungen der Wässer bleiben jedoch unbehandelt, werden also nicht sterilisiert. Die weiteren Arbeiten erfolgen jeweils unter sterilen Bedingungen. Die Übersicht über die Kulturbedingungen zeigt Tabelle 1.

Beleuchtung	6 Philips TL-D 58W-865-Röhren, Farbtemperatur 6500 K Hell- / Dunkelrhythmus von 16 / 8 h
Beleuchtungsstärke	143 ± 4,4 µE / m <sup>2</sup> s, entsprechend etwa 8000 lx
Bestimmung des Wachstums	photometrisch bei 446 nm
Vorkultur	mehrwöchig bei Kontrolle der Zellmorphologie
Zelldichte bei Versuchsbeginn	OD <sub>446</sub> = ~ 0,005 entsprechend etwa 5 • 10 <sup>5</sup> Zoenobien / ml
Temperatur	25 ± 0,1 °C
Weiteres	leichte Bewegung bei 110 U/min im Wasserbad eines Aquatron der Firma Infors, Bottmingen, Schweiz

Tabelle 1: Versuchsparameter unter Standardbedingungen

Wachstum und pH-Wert werden innerhalb des Versuchszeitraums fortlaufend kontrolliert. Zum Versuchsbeginn und bei der Entnahme der Zellen zur morphologischen Auswertung wird zusätzlich der Sauerstoffgehalt der Kulturen gemessen. Zur morphologischen Auswertung werden aus drei Parallelkulturen jeweils Zellsuspensionen von 1 ml Lösung entnommen, eine angemessene Menge mikroskopiert und hieraus mindestens 60 bis etwa 100 Algenzellen / -zoenobien fotografiert. Anhand der Bilder werden die Zellzahl und Größe der Zoenobien bestimmt und diese dem entsprechenden Morphotyp zugeordnet. Jede Wasserprobe wird mit dreifachem Ansatz untersucht.

<sup>1</sup>IEC Directive 92/69 EEC, EPA (2012), OECD (2011)

<sup>2</sup>EC Directive 92/69 EEC

Entsprechend der jeweiligen Verteilung der morphologischen Formen erfolgt im Vergleich zur Referenz (zumeist obige Bedingungen mit A. dest. als Probelösung, soweit nicht entsprechend der Fragestellung verändert) eine Darstellung des Wachstumsmusters bzw. der jeweiligen Abweichungen davon. Hieraus können z. T. Beurteilungen der Wirkung einer Wasserprobe auf die Algenspezies erfolgen. Jeder Versuch ist zeitlich begrenzt, da das Wachstumsmedium durch Nährstoffentzug und Abgabe von Stoffwechselprodukten so verändert wird, dass schließlich keine kontrollierten Wachstumsbedingungen mehr bestehen. Entsprechend der Norm ist diese Zeit auf 3 Tage festgelegt. Dies entspricht bei einer Teilungsdauer von etwa 25 Stunden drei Vermehrungsschritten oder Verdopplungen. Die Bestimmung der Verteilung und des Anteils der Morphotypen innerhalb der Kulturen wird jeweils nach etwa einer bzw. drei Verdopplungen (angegeben als 24 h bzw. 72 h) durchgeführt.

### **Grenzen der Aussagemöglichkeiten**

Das Ergebnis der Untersuchung stellt einen einmaligen, punktuellen Blick auf die Probe mithilfe einer Methode dar. Es empfiehlt sich, diesen durch weitere, in zeitlich verschiedenen Abständen erfolgende Untersuchungen zu vertiefen sowie die Ergebnisse durch weitere Methoden zur Untersuchung der Probe zu erweitern.

### **Auftragsannahme und Terminabsprache**

Das Institut für Strömungswissenschaften ist ein gemeinnütziges Forschungsinstitut, kein gewerbliches Dienstleistungsunternehmen für Warentestgutachten. Wir nehmen jedoch Untersuchungsaufträge an und beraten Sie gerne.

Um die Wasserproben möglichst frisch untersuchen zu können, ist für die Einteilung unserer Kapazitäten Terminabsprache notwendig. Wir führen Untersuchungen nur nach schriftlicher Erteilung eines Auftrags auf der Grundlage dieser Untersuchungsbedingungen mit Terminvereinbarung sowie erfolgter Anzahlung durch. Die vereinbarten Absprachen sind für beide Seiten verbindlich.

### **Probenahme, Gefäße**

Art und Zeitpunkt der Probenahme und der Versuche bedürfen der Absprache. Wir stellen dem Auftraggeber die notwendigen Flaschen entsprechend unseren Laborstandards zur Verfügung, ohne die die Vergleichbarkeit mit anderen Wasserproben nicht gewährleistet ist. Verlangt der Auftraggeber entgegen unserem Rat die Anlieferung der Proben in anderen Flaschen, so gehen alle daraus entstehenden Folgen, auch eingeschränkte Aussagemöglichkeiten der Ergebnisse, zu seinen Lasten. Probenahme und Transport sollen nach der *beiliegenden Anleitung* erfolgen. Die Flaschen und die entsprechenden Begleitscheine müssen gemäß dieser Anleitung beschriftet sein. Wünscht der Auftraggeber eine besondere Behandlung der Proben bei Verpackung, Aufbewahrung, Handhabung etc., so muss dies bei Auftragserteilung formuliert werden. Die Untersuchungen erfolgen mit größtmöglicher Sorgfalt, aber ohne Gewähr. Wir kommen nicht für Mängel und Schäden auf, welche auf unsachgemäßer Abfüllung und Verpackung, Unsauberkeit der Probe oder unsachgemäßem Transport beruhen.

### **Deklaration der Proben**

Entsprechen die Proben in hygienischer und toxikologischer Hinsicht nicht einwandfreien Trinkwässern, sichert der Auftraggeber zu, Abweichungen davon im Auftrag zu benennen. Gibt der Auftraggeber chiffrierte Wasserproben zur Untersuchung, so entbindet ihn dies nicht von dieser Verpflichtung. Für alle unmittelbaren und mittelbaren Aufwendungen, Schäden und deren Folgen, die uns bzw. unseren Mitarbeitern im Umgang mit nicht deklarierten Stoffen oder Proben mit falschen Angaben entstehen, haftet der Auftraggeber. Wir behalten uns vor, bei Bedenken in

hygienischer oder toxikologischer Hinsicht oder wenn Zweifel an der Trinkwasserqualität bestehen, die Untersuchung zu verweigern.

### **Preise**

Der Preis für die Algen-Untersuchung einer frei Haus angelieferten Wasserprobe in Trinkwasserqualität beträgt **480,00 € + MwSt**, inklusive Bereitstellung der Probenflaschen, eines kurzen Beratungsgesprächs und des Untersuchungsberichts.

Für weitergehende Leistungen bitten wir um eine Rücksprache für die Absprache einer gesonderten Vereinbarung. Unsere Preise sind Selbstkostenpreise und gelten jeweils zuzüglich der gesetzlichen Mehrwertsteuer (z. Zt. 19 %). Die Mehrwertsteuer muss auch bei Aufträgen aus dem Ausland berechnet werden, da unsere Dienstleistungen nicht als Warenexport gelten.

### **Zahlungsbedingungen**

Der Auftraggeber verpflichtet sich, nach Erhalt der Auftragsbestätigung eine Anzahlung in Höhe von 30 Prozent der Auftragssumme zu entrichten. Wird der Auftrag bis zwei Wochen vor dem vereinbarten Untersuchungstermin storniert, so wird die Anzahlung zurückerstattet. Die Restvergütung ist mit Rechnungsstellung fällig. Zahlungen sind innerhalb von 30 Tagen rein netto fällig. Zahlungen aus dem Ausland sind spesenfrei zu leisten. Bis zur Zahlung der Vergütung behalten wir uns die Zurückbehaltung des Untersuchungsberichtes vor.

### **Untersuchungsergebnisse**

Der Auftraggeber erhält von uns einen schriftlichen Untersuchungsbericht mit Befund, grafischer Zusammenfassung sowie Beurteilung der Proben (verschlüsselte Proben werden zunächst vergleichend charakterisiert und bewertet). Der Untersuchungsbericht wird i. d. Regel innerhalb von 4 Wochen nach der Untersuchung erstellt. Die Aussagen im Bericht erfolgen nach bestem Wissen und Gewissen entsprechend dem Stand der Forschung. Sie beziehen sich nur auf die eingesandten Proben und erlauben keine weitergehenden allgemeinen Rückschlüsse: Wasservorkommen unterliegen Qualitätsschwankungen je nach Entnahmezeitpunkt, daher kann aus den Untersuchungsergebnissen von Stichproben keine Aussage über eine dauerhafte Qualität des betreffenden Wassers und dessen Herkunft abgeleitet werden. Eine verallgemeinerbare Aussage ist erst bei einer repräsentativen Proben- und Versuchsanzahl möglich. Die eventuelle Chiffrierung von Wasserproben wird vom Auftraggeber nach Erhalt des Untersuchungsberichts entschlüsselt.

### **Urheberrechte**

Text und evt. Abbildungen des Untersuchungsberichtes sind für den Auftraggeber zu dessen persönlicher Orientierung und interner Verwendung (z. B. bei Kundengesprächen) bestimmt. Die Urheberrechte liegen beim Institut für Strömungswissenschaften. Eine Veröffentlichung der Untersuchungsergebnisse und Abbildungen bedürfen einer gesonderten schriftlichen Vereinbarung. In ihr sind Umfang, Inhalt und Dauer des einzuräumenden Nutzungsrechtes sowie die hierfür anfallende Vergütung festzulegen. Eine Weitergabe unseres vollständigen, unveränderten Untersuchungsberichtes ist statthaft. Eine Verwendung für kommerzielle Werbezwecke ist grundsätzlich nicht gestattet. Bei Missbrauch dieser Urheberrechte können wir Unterlassung und Schadensersatz verlangen. Ein weitergehender Schadensersatzanspruch oder Anspruch aufgrund gesetzlicher Rechte bleibt hierdurch unberührt.

Das Institut für Strömungswissenschaften kann die Untersuchungsergebnisse als Beispiele ohne Namensnennung für wissenschaftliche Veröffentlichungen verwenden, wenn nicht bei Auftragserteilung anderes vereinbart wird. Eine Weitergabe des Untersuchungsberichts an Dritte erfolgt nicht.

## **Aufbewahrungs- und Rückgabepflicht**

Wasserproben und Verpackungen werden nur auf Verlangen des Einsenders und dann auf dessen Kosten zurückgeschickt. Ihre Aufbewahrung endet 1 Monat nach Ausfertigung des Untersuchungsberichts.

## **Vertragswirksamkeit**

Diese Untersuchungsbedingungen sind Vertragsbestandteil jedes Untersuchungsauftrags. Abweichungen davon und Ergänzungen bedürfen der Schriftform bei Auftragserteilung und unserer Bestätigung. Es ist ausschließlich das Recht der Bundesrepublik Deutschland anzuwenden. Gerichtsstand aus dem Vertrag ist Bad Säckingen. Mit dem Erscheinen dieser Untersuchungsbedingungen verlieren frühere Fassungen ihre Gültigkeit.

## **Literatur:**

European Community Directive 92/69/EEC C.3.(o. J.): Algal Inhibition Test.

Gupta, S., S. Agrawal (2007): Survival and reproduction in some algae under stress; *Folia Microbiol.* **52**: p. 603.

Hessen, D, E. van Donk (1993): Morphological changes in *Scenedesmus* induced by substances released from *Daphnia*. *Arch. F. Hydrobiol.* **127**: 129

EPA (2012): Ecological Effects Test Guidelines OCSPP 850.4500, Algal Toxicity, Washington, USA

Karasyova, T., E. Klose, R. Menzel, C. Steinberg (2007): Natural organic matter differently modulates growth of two closely related coccal algal species. *Env. Sci. Pollut. Res.* **14**: p. 88

Lampert, W., K. O. Rothhaupt, E. van Elert (1994): Chemical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). *Limnology and Oceanography* **39**: p. 1543

Lüring, M., E. van Donk (1991): Grazer-induced colony formation in *Scenedesmus acutus*; *J. Phycol.* **35**: p. 1120.

Lüring, M. (2001): Grazing-associated infochemicals induce colony formation in the green alga *Scenedesmus*; *Protist* **152**: p. 7.

Lüring, M. (2006): Effects of a surfactant (FFD-6) on *Scenedesmus* morphology and growth under different nutrient conditions; *Chemosphere* **62**: p. 1351.

Meyen (1828): Beobachtungen über einige niedere Algenformen. *Nov. Act. Physico-medica Akad. Caesar Leop. Carol. Nat.* **14**: 768

Neustupa, J., L. Hodac (2005): Changes in shape of the coenobial cells of an experimental strain of *Pediastrum duplex var. duplex* (Chlorophyta) reared at different pHs. *Preslia, Praha* **77**: p. 439

OECD (2011): Organisation for Economic Cooperation and Development: Algal growth inhibition test. OECD Guidelines for Testing of Chemicals 201, Paris, France.

Rojo *et. al.* ( 2009): Factors controlling the colonial structure of *Pediastrum tetras* (Chlorophyceae); *Hydrobiologia* **617**, p. 143.

Verschoor, A. M., I. van der Stap, N. R. Helmsing, M. Lüring, E. van Donk (2004): Inducible colony formation within the *Scenedesmaceae*: adaptive responses to info-chemicals from two different herbivore taxa. *J. Phycol.* **40**: p. 808

Von Elert, E., A. Franck (1999): Colony formation in *Scenedesmus*: grazer-mediated release and chemical features of the infochemical; *J. Plankton Res.* **21**: p. 789.

Yang, Z., F. Kong, X. Shi, H. Cao (2006): Morphological response of *Microcystis aeruginosa* to grazing by different sorts of zooplankton; *Hydrobiol.* **563**: p. 225.

## **ANLEITUNG FÜR ENTNAHME UND VERSAND VON WASSERPROBEN FÜR DIE UNTERSUCHUNG**

**Es liegt in Ihrem Interesse, für eine zuverlässige Probenahme die folgende Anleitung genau zu beachten.**

1. Für die Probenahme nur die von uns bereitgestellten Fläschchen verwenden! Wasserproben in anderen Flaschen werden von uns nicht untersucht.  
Hände vor der Probenahme gründlich waschen, Seifenreste sorgfältig abspülen!  
Die Fläschchen erst unmittelbar vor dem Abfüllen öffnen. Flaschenöffnung, Glasschliff des Stopfens bzw. Deckel, Deckelinnenseite bzw. Ausgießrand der Flasche dürfen nicht mit den Fingern berührt werden. Bitte die beiliegenden Folienhandschuhe verwenden.
2. Zur Vorbereitung der Probenahme: Bei Leitungswässern den Wasserhahn öffnen und das Wasser mindestens 5 Minuten mit mäßigem Strahl abfließen lassen, bis es gleichmäßig kühl kommt. Bei Quellen die Flasche in eine möglichst ruhig strömende Zone mit der Öffnung gegen die Strömung eintauchen. Keine Schöpf-Hilfsgefäße verwenden. Wasser nicht über die Finger oder über andere Gegenstände in die Flasche fließen lassen!
3. Fläschchen 2 x durchspülen: Fläschchen mit Probenwasser 1/4 bis 1/2 voll füllen, mit Glasschliffstopfen oder Schraubdeckel verschließen und gut durchschütteln; danach öffnen und entleeren. Diesen Vorgang einmal wiederholen.
4. Nun das Fläschchen mit der Wasserprobe füllen: Wasser möglichst sanft einfließen und nicht sprudeln lassen. Flasche ganz füllen – bis an den oberen Rand und gut verschließen (etwas Wasser wird dabei wieder aus der Flasche verdrängt, es bleibt meist keine – oder nur eine kleine – Luftblase in der Flasche). Glasschliffstopfen mit der mitgelieferten Federklemme sichern oder Schraubverschluss gut zudrehen.
5. Proben-Kennzeichnung: Flaschen nummerieren und die zu ihnen gehörende genaue Bezeichnung der Probe und des Entnahme-Ortes, sowie Datum und Uhrzeit der Entnahme auf dem Begleitschein mit wasserfestem Bleistift oder Kugelschreiber notieren. Den Begleitschein zusammen mit den Proben einsenden.
6. Probenaufbewahrung: Bitte die Proben nicht der direkten Sonne aussetzen.
7. Versand: Gefüllte Flaschen bis zum Versand dunkel, aufrecht und kühl, jedoch nicht eiskalt, aufstellen und sofort zur Post geben. Flaschen mit wasserdichtem Beutel umhüllen, damit Papierverpackung bei Wasserverlust nicht aufweicht. In genügend gepolsterter Verpackung an uns einsenden und auf dem Adressenetikett die Bezeichnung "Wasserprobe" anbringen. Im Inland als Päckchen befördern Bitte beachten Sie die Laufzeiten bei Postsendungen. Sendungen aus dem Ausland bitte per Eilboten/Express mit Zolldeklaration: "Wasserproben zur Untersuchung"