

**Untersuchungen zur Verifizierung
der Eignung des Algentests nach
DIN 38412-33 für wässrige Eluate bei
der Prüfung von Schleierinjektionen**

T 3301

T 3301

Dieser Forschungsbericht wurde mit modernsten Hochleistungskopierern auf Einzelanfrage hergestellt.

Die in dieser Forschungsarbeit enthaltenen Darstellungen und Empfehlungen geben die fachlichen Auffassungen der Verfasser wieder. Diese werden hier unverändert wiedergegeben, sie geben nicht unbedingt die Meinung des Zuwendungsgebers oder des Herausgebers wieder.

Die Originalmanuskripte wurden reprotechnisch, jedoch nicht inhaltlich überarbeitet. Die Druckqualität hängt von der reprotechnischen Eignung des Originalmanuskriptes ab, das uns vom Autor bzw. von der Forschungsstelle zur Verfügung gestellt wurde.

© by Fraunhofer IRB Verlag

2013

ISBN 978-3-8167-9038-9

Vervielfältigung, auch auszugsweise,
nur mit ausdrücklicher Zustimmung des Verlages.

Fraunhofer IRB Verlag

Fraunhofer-Informationszentrum Raum und Bau

Postfach 80 04 69

70504 Stuttgart

Nobelstraße 12

70569 Stuttgart

Telefon (07 11) 9 70 - 25 00

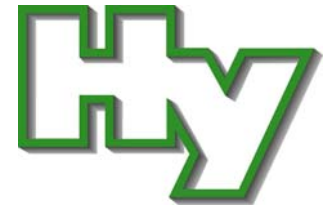
Telefax (07 11) 9 70 - 25 08

E-Mail irb@irb.fraunhofer.de

www.baufachinformation.de

Hygiene-Institut des Ruhrgebiets

Institut für Umwelthygiene und Toxikologie
Direktor: Prof. Dr. rer. nat. L. Dunemann



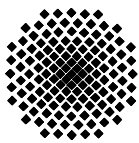
HYGIENE-INSTITUT · Postfach 10 12 55 · 45812 Gelsenkirchen

Besucher-/Paketanschrift
Rotthäuser Str. 21
45879 Gelsenkirchen

Zentrale (0209) 9242-0
Durchwahl (0209) 9242-210/-277
Telefax (0209) 9242-212
E-Mail r.weiss@hyg.de
Internet www.hyg.de

Unser Zeichen: **K-215067-12-WR**
Ansprechpartner: Dr. Andreas Koch und
Roland Weiß (Dipl.-Biol.)

Gelsenkirchen, Januar 2013



MPA **MPA STUTT GART**
Otto-Graf-Institut
Materialprüfungsanstalt Universität Stuttgart

Materialprüfungsanstalt Universität Stuttgart · Postfach 801140 · D-70511 Stuttgart

Forschungsbericht

über die Untersuchungen zur „Verifizierung der Eignung des Algentests nach DIN 38412-33 für wässrige Eluate bei der Prüfung von Schleierinjektionen“

Auftraggeber:

Deutsches Institut für Bauprodukte und Bauarten
Kolonnenstrasse 30 L
10829 Berlin

Geschäftszeichen:

P 52-5- 20.65-/11

Seitenzahl:

46 Seiten und Anlagen

Januar 2013

Der Forschungsbericht hinsichtlich der Eignung des Algentests nach DIN 38412-33 für wässrige Eluate bei der Prüfung von Schleierinjektionen gliedert sich **in zwei Arbeitsbereiche.**

Untersuchungen zur „Verifizierung der Eignung des Algentest nach DIN 38412-33 für wässrige Eluate bei der Prüfung von Schleierinjektionen“

wurden durch das Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Institut für Umwelthygiene und Toxikologie, Rotthausener Straße 21, 45879 Gelsenkirchen durchgeführt.

Untersuchungen zur Identifizierung und Quantifizierung von organischen Inhaltsstoffen in Säuleneluates von Boden-injektionsmitteln mittels 1H-Kernresonanzspektrometrie

wurden durch die Materialprüfungsanstalt Universität Stuttgart, Abteilung Dauerhaftigkeit und Schutz von Bauten und Anlagen, Pfaffenwaldring 32, 70569 Stuttgart durchgeführt.

Inhalt

	Seite
1. Ziel und Aufgabenstellung	6
2. Veranlassung	8
3. Prüfmaterial	8
4. Versuchsdurchführung	9
4.1 Säulenelution	9
4.2 Lagerung und Handhabung der Eluate	9
4.3 Charakterisierung des Eluats anhand ausgewählter physikalisch-chemischer und organoleptischer Parameter	10
4.4 Kernresonanzspektrometrie ($^1\text{H-NMR}$) zur Untersuchung der organischen Inhaltsstoffe der Eluate	11
4.5 Ergebnisse der Identifizierung und Quantifizierung der gelösten Inhaltsstoffe der Eluate mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie	13
4.6 Untersuchung der weißlichen Ausflockungen in den Eluaten mittels Infra-Rot-Spektroskopie (IR)	16
5. Untersuchungen zur akuten Toxizität gegenüber Wasserorganismen	17
5.1 Bestimmung der Algengiftigkeit	18
5.2 Bestimmung der Leuchtbakterientoxizität	20
5.3 Bestimmung der Daphnientoxizität	21
6. Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit	22
6.1 Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit – OECD Test 301 F (Manometrischer Respirationstest)	22
7. Zusammenfassung der Säulenelutionsversuche	23
8. Einfluss der Trübung auf das Algenwachstum	24
9. Einfluss der Nährmediumkonzentration auf die Algentoxizität von Prüfwässern des Säulenelutionsversuchs	25
10. Zusammenfassung	27
11. Diskussion	32
Literatur	45
Anlagen	

Abkürzungsverzeichnis / Begriffe

OECD:	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit (englisch: Organisation for Economic Co-operation and Development)
DIN:	Deutsches Institut für Normung e.V.
EN:	Europäische Norm
ISO:	Internationale Organisation für Normung (englisch: International Organisation for Standardization)
DIBt:	Deutsches Institut für Bautechnik
MPA:	Materialprüfungsanstalt der Universität Stuttgart
G:	Verdünnungsstufe (auch: Verdünnungsfaktor)
G _A -Wert:	Kleinster Wert von „G“ des Testansatzes, in dem unter den Bedingungen der Norm DIN 38412 Teil 33 eine Hemmwirkung der Biomasseproduktion < 20 % gemessen wird, sofern bei höheren Verdünnungsstufen keine Hemmung > 20 % festgestellt wird.
G _D -Wert:	Kleinster Wert von „G“ des Testansatzes, in dem unter den Bedingungen der Norm DIN 38412 Teil 30 alle Daphnien ihre Schwimmfähigkeit behalten.
G _L -Wert:	Kleinster Wert der Verdünnungsstufe „G“ des Testansatzes, bei dem unter den Bedingungen der Norm DIN EN ISO 11348-2 die Lichtemission von <i>Vibrio fischeri</i> < 20 % gehemmt wird.
EC	Effektive Konzentration
E _r C ₅₀	Mittlere Effektive Konzentration; Konzentration der Testsubstanz, bei der eine 50%ige Verminderung bzw. Hemmung der Wachstumsrate im Vergleich zur Kontrolle auftritt.
IC	Inhibitorische Konzentration
IC ₅₀	Mittlere Inhibitorische Konzentration
ECHA	European Chemicals Agency
pH-Wert:	Der pH-Wert ist der negative Wert des dekadischen Logarithmus der gemessenen Aktivität der Hydroniumionen in einer Lösung. Der pH-Wert ist ein Maß für die Acidität bzw. Basidität.
TOC:	Gesamter organischer Kohlenstoff (englisch: Total Organic Carbon)
DOC:	Gelöster organischer Kohlenstoff (englisch: Dissolved Organic Carbon)
CSB:	Chemischer Sauerstoffbedarf
ThSB	Theoretischer Sauerstoffbedarf

BSB:	Biochemischer Sauerstoffbedarf
O ₂ :	Sauerstoff
NMR:	Kernspinresonanzspektroskopie (englisch: Nuclear Magnetic Resonance)
IR-Spektroskopie:	Infrarotspektroskopie
LC:	Flüssigchromatographie (englisch: Liquid Chromatography)
MS:	Massenspektrometrie
NTU:	Internationale Standardeinheit der Trübung von Wasser (englisch: Nephelometric Turbidity Unit)

1. Ziel und Aufgabenstellung

Im Rahmen der umwelthygienischen Untersuchung und Beurteilung von Schleierinjektionen auf Acrylatbasis treten in den Eluaten in der Anfangsphase hohe TOC- bzw. DOC- Werte (> 200 mg/l) auf. Entsprechend den Vorgaben im „Grundsatzpapier des Deutschen Instituts für Bautechnik (DIBt) zur Bewertung von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ [DIBT 7] sind zur weiteren Beurteilung der Wirkung biologische Prüfungen vorgeschrieben. Im Rahmen dieser Prüfungen wurde bei einigen Produkten von Schleierinjektionen auf Basis von Polyacrylatssystemen in der Vergangenheit in den entsprechenden Eluaten eine hohe Algengiftigkeit ($G_A \gg 8$) gemäß der DIN 38412-33 „Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen“ nachgewiesen [Hygiene-Institut eigene Ergebnisse unveröffentlicht, Wagner 8]. Daneben gibt es Produkte für Schleierinjektionen ebenfalls auf Polyacrylatbasis, deren Eluate nur eine geringe Algentoxizität zeigen. Andere Indikatoren zur Beurteilung der Toxizität der Eluatinhaltstoffe wie z.B. Leuchtbakterientest und Daphnientest, aber auch bei terrestrischen Testverfahren (Ammoniumoxidationstest, mikrobielle Atmung) zeigen keine Auffälligkeiten. Diese scheinbare oder tatsächliche Diskrepanz zwischen Produkten gleicher oder ähnlicher Grundstruktur in Verbindung mit der Regelung in den DIBt-Grundsätzen [7], dass „höhere G_A -Werte unter Berücksichtigung der Ergebnisse des biologischen Abbaus bewertet werden und kein alleiniges Ausschlusskriterium sind (DIBt 2009, S. 15)“ zwingt zur Klärung der Frage nach einer möglichen Ursache dieses Effekts.

Parallel dazu sind in der Literatur erheblich unterschiedliche Angaben zur Algentoxizität von Acrylsäure bzw. Acrylat (Salze der Acrylsäure) zu finden. Je nach aquatischer Umgebung (Salzwasser/Süßwasser), Algenart sowie nach Angabe zur wirkenden Verbindung (Acrylsäure bzw. Acrylat) werden EC_{50} -Werte (72h) zwischen $0,04$ mg/l und > 320 mg/l berichtet. [ECHA und Wagner]. Aus den vorliegenden Literaturangaben kann, sofern man den Angaben zur Nomenklatur vertraut, auf eine hohe Algentoxizität von Acrylsäure rückgeschlossen werden. Die aquatische Toxizität von Acrylsäure unterscheidet sich auch von der entsprechenden Toxizität der Acrylsäurederivate (Meth- und Eth-Acrylsäure) [ECHA]. Betrachtet man die Reaktionsmechanismen von Acrylsäure näher, erscheint dies jedoch wenig plausibel. Acrylsäure ist eine sogenannte „mittelstarke“ Säure und vollständig in Wasser löslich. In reinem Wasser lässt sich aus dem pK_s - Wert (negativer Logarithmus der Säurekonstante K_S) von Acrylsäure ($pK_s = 4,22$) unter der Annahme einer Konzentration von 10 mg Acrylsäure/l (entsprechend $0,00014$ mol/l), ableiten, dass theoretisch etwa die Hälfte der Acrylsäure dissoziiert als Acrylat-

Anion und die andere Hälfte als Acrylsäure (gelöst) in reiner wässriger Lösung vorliegt. Bei höheren pH-Werten wird sich der Anteil an Acrylat (dissoziierter Acrylsäure) erhöhen. Es muss daher davon ausgegangen werden, dass in allen wässrigen Lösungen mit einem pH-Wert von ≤ 8 Acrylsäure (undissoziiert) in wässriger Lösung vorliegt. Unter Berücksichtigung der niedrigen EC_{50} -Werte könnte also rückgeschlossen werden, dass eine entsprechende algentoxische Wirkung auch in Eluaten mit niedrigeren TOC-Gehalten und notwendigerweise niedrigeren Acrylatgehalten zu erwarten ist. Erst ab pH- Werten ≥ 9 dürfte überschlägig de facto keine undissoziierte (freie) Acrylsäure in wässrigen Lösungen vorliegen. Zudem ist bekannt, dass Acrylate und Polyacrylate in der Lage sind, in Wasser gelöste Metallionen, wie z.B. Calcium-, Magnesium- und Kupferionen durch Komplexbildung zu binden und dem Wasser zu entziehen. Dieser Vorgang wird bei der Enthärtung von Wasser und zur Fällung von Schwermetallen aus Wasser technisch genutzt [11,12].

Neben diesen Effekten sind nach unserer Ansicht auch Polymerisationsprozesse in wässrigen Acrylsäure-Lösungen mit zu betrachten. Aus Untersuchungen zur Stabilität wässriger Acrylsäure-Lösungen ist bekannt, dass Sauerstoff als Polymerisationsinhibitor wirkt [9]. Bei einer Reduzierung des Gehalts an gelöstem Sauerstoff in wässrigen Lösungen muss von verschiedenen Polymerisationsreaktionen im System ausgegangen werden. Neben der Bildung von Monomer-Sauerstoff-Mischpolymerisaten werden unter anderem die Bildung 3-Hydroxypropionsäuren und deren Addukte mit Acrylsäure beschrieben [9]. Diese Addukte sind beispielsweise NMR-spektrometrisch in wässrigen Lösungen de facto ebenso wenig von Acrylat zu unterscheiden wie die freie Acrylsäure und das monomere Acrylat-Anion [9].

Diese komplexe Ausgangslage in Verbindung mit einer tatsächlichen oder scheinbar hohen Algentoxizität in Eluaten des Säulentests verschiedener Polyacrylat-Injektionsmitteln führen nahezu zwangsläufig zu große Schwierigkeiten bei der Beurteilung, ob die Zulassungsanforderungen des Deutschen Instituts für Bautechnik (DIBt), Berlin, für Bauprodukte, die erst nachträglich im Boden und Grundwasser aushärten, eingehalten werden [7].

Es gilt daher zu klären, ob für die hohen Algentoxizitäten ggf. andere Ursachen vorliegen und ob für den Algentest gemäß DIN 38412-33 Grenzen hinsichtlich seiner Anwendbarkeit bei der ökotoxikologischen Beurteilung von Polyacrylaten bestehen [1].

2. Veranlassung

Das Deutsche Institut für Bautechnik (DIBt), Berlin, beauftragte uns im Rahmen des Forschungsvorhabens „Eignung des Algentests nach DIN 38412-33 für wässrige Eluate bei der Prüfung von Schleierinjektionen“ (DIBt – Geschäftszeichen: P 52-5- 20.65-1380/11), den Säulenelutionsversuch gem. dem DIBt-Merkblatt „Bewertung der Auswirkung von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ mit Polyacrylatgelen durchzuführen und die Toxizität der Eluate aus der „TOC-Maximumsphase“ (Eluatfraktion aus drei Eluaten mit dem höchsten Summengehalt an organisch gebundenem Kohlenstoff–Total Organic Carbon (TOC)-) gegenüber Wasserorganismen zu untersuchen [7]. Des Weiteren sollten die biologische Abbaubarkeit sowie ausgewählte chemisch-physikalische Parameter bestimmt werden. Weiterhin sollte der Einfluss der Trübung auf den Algentest gem. DIN 38412-33 untersucht werden. Entsprechende Untersuchungen zu den möglichen organischen Inhaltsstoffen der Eluate wurden von der MPA Universität Stuttgart durchgeführt. Die organischen Inhaltsstoffe der Eluate wurden mittels Kernresonanzspektrometrie (¹H-NMR) und Infra-Rot-Spektrometrie (IR-ATR) ermittelt und quantifiziert.

Ferner galt zu klären, ob ggf. die Zugabe von Polyacrylaten bzw. deren gelöste Inhaltsstoffe das Nährstoffangebot der Algen im Testansatz wesentlich beeinflusst, so dass während der Testdurchführung eine Verringerung der Algenbiomasseproduktion eintritt und eine erhöhte Algentoxizität angezeigt wird.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in dem Bericht wiedergegeben und bewertet.

3. Prüfmaterial

Für die Säulenelutionsversuche wurden zwei Polyacrylatsysteme „Go-GL-ALG-11-I-d“ (1. Formulierung) und „Go-GL-ALG-12-II-c“ (2. Formulierung) der Firma MC-Bauchemie Müller GmbH & Co.KG, 46238 Bottrop, untersucht. Die genauen Rezepturangaben beider Produkte liegen dem DIBt, Berlin, vor.

Die von der MC-Bauchemie Müller GmbH & Co. KG, Bottrop, für die Untersuchungen übergebenen Polyacrylat-Systeme „Go-GL-ALG-11-I-d“ und „Go-GL-ALG-12-II-c“ / Charge Go 4116“ wurden jeweils mit dem Mischungsverhältnis: 25 GT Komponente A1 : 1 GT Komponente A2, 2% B-Lösung, A:B = 1 : 1 VT in die Säulen injiziert. Die Topfzeit betrug nach Angaben des Herstellers für beide Formulierungen 2 bis 3 Minuten. Nach einer Aushärtezeit von ca. 3 Minuten erfolgte der Start des Säulenversuchs.

4. Versuchsdurchführung

4.1 Säulenelution

In vier mit gewaschenem Sand (Frechen F 36) gefüllte Kunststoffsäulen (Ø 29 cm, Höhe 50 cm) wurde über seitlich angebrachte Packer und mit Hilfe der 2-Komponenten-Hochdruck-Injektionspumpe „MC-I 700“ jeweils etwa 1000 g des Systems injiziert (Säule A bis D)[8].

Die Injektionen von **Go-GL-ALG-11-I-d** erfolgten am 29.08.2011 und von **Go-GL-ALG-12-II-c** am 19.09.2011 durch Mitarbeiter der MC Bauchemie Müller GmbH & Co. KG.

Nach den Injektionen (Aushärtezeit 3 Min.) wurden die Säulen mit Trinkwasser der hiesigen zentralen Wasserversorgungsanlage (Ausgangswasser) beaufschlagt; der Wasserdurchfluss betrug ca. 4 l/h und die Wassertemperatur 20,5°C, die Wasserführung erfolgte von unten nach oben durch die Säulen. Die Entnahme der Wasserproben erfolgte fraktionsweise über einen Zeitraum von vierzehn Tagen.

Eine Zusammenstellung der Eluatfraktionen ist den als Anlage beigefügten Tabellen der Anlagen Nr. 1 bis 8 und Nr. 14 bis 21 zu entnehmen.

4.2 Lagerung und Handhabung der Eluate

Nach den Säulenelutionsversuch wurden die Eluate der Mischfraktionen des TOC-Maximums geteilt. Ein Teil der Eluate wurde für die NMR-Untersuchungen und für die Bestimmung der Daphnien-, Leuchtbakterien- und Algengiftigkeit sowie der Abbaubarkeit unmittelbar nach der Probenahme in einer Tiefkühltruhe bei -18 °C ($\pm -2\text{ °C}$) eingefroren und zwischengelagert.

Der andere Teil der Eluatfraktionen wurde für die anschließenden physikalisch-chemischen und organoleptischen Prüfungen jeweils unmittelbar untersucht bzw. bis zur Untersuchung in Kühlschränken bei ca. 5 °C für ein bis zwei Tage im Dunkeln aufbewahrt.

Ein Teil des eingefrorenen Eluats wurde für die weitergehenden NMR-Untersuchungen mit Hilfe eines PKW gekühlt (Kühlbox) zur Materialprüfanstalt der Universität Stuttgart, Pfaffenwaldring 32, 70569 Stuttgart, transportiert.

Das Eluat der „Abklingphase“ (Fraktion 20) wurde unmittelbar nach dem Säulenelutionsversuch bis zum Beginn der weitergehenden biologischen Untersuchungen in einer Tiefkühltruhe bei – 18 °C (\pm – 2 °C) eingefroren.

4.3 Charakterisierung des Eluats anhand ausgewählter physikalisch-chemischer und organoleptischer Parameter

Die Prüfwasserfraktionen wurden auf folgende Parameter untersucht: Färbung, Trübung, Geruch, Neigung zur Schaumbildung, elektrische Leitfähigkeit und pH-Wert sowie organisch gebundener Kohlenstoff (TOC).

Die Untersuchungen wurden nach folgenden Verfahren durchgeführt:

- | | |
|--|---|
| - äußere Beschaffenheit: | Qualitative Bestimmung von Färbung, Geruch und Neigung zur Schaumbildung. |
| - Trübung: | Bestimmung der Trübung nach EN ISO 7027:1999. |
| - pH-Wert: | Bestimmung des pH-Wertes nach DIN 38404 Teil 5. |
| - elektrische Leitfähigkeit: | Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit nach ISO 7888 : 1985. |
| - gesamt organisch gebundener Kohlenstoff (TOC): | Anleitung zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) nach EN 1484 : 1997. |

Die Tabellen der Anlagen 1 bis 8 und 14 bis 21 zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchungen.

Eine Beeinflussung der äußeren Beschaffenheit der Prüfwässer hinsichtlich der Färbung ist nicht festzustellen. Die Trübung der Eluatwässer der 1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ ist unter Berücksichtigung des Vergleichswassers weitgehend unauffällig; hingegen weisen die Säulenelutionswässer der 2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“ an den ersten beiden Versuchstagen eine leichte Trübung auf. Die Neigung zur Schaumbildung ist in den ersten Stunden nach der Injektion des Systems vorübergehend schwach ausgeprägt. Während des ersten und teilweise zweiten Versuchstages haftet den Wasserfraktionen ein organischer Geruch an, der aber im weiteren Versuchsverlauf deutlich abnimmt.

Nach der Injektion des Systems und im weiteren Versuchsverlauf entsprach der pH-Wert der Prüfwässer annähernd dem pH-Wert des Vergleichswassers.

Die Abgabe organischer Inhaltsstoffe, bestimmt als gesamter organisch gebundener Kohlenstoff (TOC) erreichte in den Prüfwässern der 1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ der Fraktionen 2 bis 4 (Säule A und B) und der Fraktionen 3 bis 5 (Säule C und D) ihr Maximum.

In den Prüfwässern der 2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“ wurde das TOC-Maximum in den Fraktionen 4 bis 6 (Säule A bis D) erreicht. Die höchsten TOC-Konzentrationen wurden mit 344 mg/l (1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“, Fraktion 3, Säule B) und 315 mg/l (2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“, Fraktion 4, Säule A) bestimmt.

4.4 Kernresonanzspektrometrie ($^1\text{H-NMR}$) zur Untersuchung der organischen Inhaltsstoffe der Eluate

4.4.1 Methodenbeschreibung

In den in der Vergangenheit durchgeführten Untersuchungen wurden im Regelfall das entsprechende Eluat vorsichtig zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit D_2O aufgenommen und diese D_2O -Lösung NMR-spektrometrisch untersucht. Dieses Verfahren ist jedoch nur einsetzbar, wenn größere Mengen ($> 0,5$ l) an Eluat vorhanden sind. Zudem werden flüchtige Anteile der Proben (z.B. Methanol) ganz oder in Anteilen beim Eindampfen aus der Probe ausgetrieben. Zudem können schwer lösliche Anteile ganz oder teilweise ausfallen. Daher wurde das Verfahren zwischenzeitlich weiter modifiziert. Nach Zugabe von ca. 5 % D_2O zu den wässrigen Lösungen wurde zur Unterdrückung der intensiven H_2O -Resonanz in den hier direkt in wässrigen Lösungen aufgenommenen $^1\text{H-NMR}$ -Spektren eine Lösungsmittel-Unterdrückung

hier Vorsättigung / Pulstechnik kombiniert. Dabei wird die Wasserresonanz mit Hilfe von relativ langen selektiven Pulsen („cw-Pulses“) unterdrückt (Zeit zur Aufnahme eines Spektrums im NMR bis zu 6 h). In den vorbereitenden Modelluntersuchungen an der als Referenzsubstanz eingesetzten monomeren Acrylsäure (frei) bzw. deren Magnesium-Salze (Mg-Acrylat, monomer) konnte mit der Methode eine Unterdrückung des Wassersignals von über 94 % erzielt werden. Zeitgleich werden benachbarte Signale olefinischer Protonen nicht messbar beeinflusst, was eine zuverlässige Quantifizierung der in den Eluaten gelösten Analyten ermöglichte. Die Quantifizierung erfolgte gegen einen internen Standard – Dimethylsulfoxyd (DMSO). Alle Lösungen /Eluate wurden vor der Untersuchung filtriert. Die flockigen Ausfällungen in den Proben P26537, P26539-A, P26539-B wurden gesondert zentrifugal abgetrennt, getrocknet, gewogen.

Insgesamt lagen die in der nachfolgenden Tabelle 1 genannten Eluatproben zur Untersuchung vor, die am 09.12.2011 am Hygiene-Institut Gelsenkirchen in tiefgefrorenem Zustand abgeholt wurden:

Tabelle 1. Untersuchte Eluate (tiefgefroren; Probenbeschreibung nach dem Auftauvorgang)

Probenbezeichnung Hygiene-Institut	Produkt	Beschreibung der Probe nach dem Auftauen	MPA - Probennummer
Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max.	MC-Bauchemie 1. Formulierung	Farblose wässrige Lösung mit feiner weißlichen Ausflockung	26537
Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max. nach Abbautest	MC-Bauchemie 1. Formulierung	farblose wässrige Lösung mit feiner grünen Ausflockung	26538
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, „4 + 5 + 6“	MC-Bauchemie 2. Formulierung	Farblose wässrige Lösung mit feinen weißlichen Ausflockung	26539- A
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, „7 + 8 + 9“	MC-Bauchemie 2. Formulierung	Farblose wässrige Lösung mit feiner weißlichen Ausflockung	26539 - B
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, nach Abbautest	MC-Bauchemie 2. Formulierung	Farblose wässrige Lösung ohne Ausflockung	26540

4.4.2 Referenz- bzw. Standardsubstanzen:

Acrylsäure in wässriger Lösung

Magnesium Salz der Acrylsäure (Mg-Acrylat) in wässrige Lösung

Beide Substanzen wurden als Referenzmaterialien vom Hygiene-Institut Gelsenkirchen zur Verfügung gestellt und zusammen mit den Eluat-Proben in Gelsenkirchen abgeholt.

4.4.3 Kalibration der Methode mit Acrylsäure bzw. Acrylat-Anion in wässrigen Lösungen

Methodenbedingt kann NMR-spektrometrisch nicht zwischen einer freien Säure (hier Acrylsäure) und deren Anion (hier monomeres Acrylat) unterschieden werden. NMR-spektrometrisch unterscheidbar sind jedoch, wie entsprechende Voruntersuchungen zeigen konnten, Acrylate bzw. Acrylsäure von anderen Acrylsäureverbindungen wie z.B. Acrylsäureestern und Methacrylaten. Zur Bestimmung der Nachweisgrenze an monomerer Acrylsäure bzw. monomerem Acrylat in den wässrigen Eluaten wurden wässrige Lösungen der als Referenz mitgelieferten Acrylsäure angesetzt und die Lösung mit NaOH auf pH 9 eingestellt (0,5 mg/l; 1 mg/l; 5 mg/l und 10 mg/l) und in der Folge die entsprechenden ¹H-NMR-Spektren aufgenommen (Messdauer im NMR bis zu 6 h je Probe). Die Bestimmungsgrenze für Acrylsäure bzw. Acrylate in wässrigen Lösungen ohne Aufkonzentrierungsprozess liegt bei 1 mg/l, die Nachweisgrenze 0,5 mg Acrylat/ (vgl. Spektrenbeilage NMR-Spektren 1, 2 und 3).

4.5 Ergebnisse der Identifizierung und Quantifizierung der gelösten Inhaltsstoffe der Eluate mittels 1H-NMR-Spektroskopie

Nach dem Auftauen der tiefgefrorenen Eluate konnten visuell weißlichen bzw. farblosen Ausflockungen in den Eluaten erkannt werden. Diese Ausflockungen sind in üblichen organischen Lösemitteln unlöslich und wurden daher vor den NMR-spektrometrischen Untersuchungen durch Zentrifugieren abgetrennt und gesondert untersucht (vgl. Punkt 3.3 IR-spektrometrische Identifizierung der weißlichen, opagen Ausflockungen)

In den nachfolgenden Tabellen 2 bis 6 sind die Ergebnisse der NMR-spektroskopischen Untersuchungen der filtrierten Eluate wiedergegeben.

Tabelle 2. Zusammensetzung der Probe Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max. (MPA Pr. Nr. 26537; NMR-Spektrum Nummer 4 Spektrenbeilage)

Komponente	$\delta^{1)}$ (H ₂ O/D ₂ O) (ppm)	Konzentration in mg/l	Organischer Kohlenstoff (DOC)* in mg/l
gelöste Acrylsäure (Salz)	5.9-6.1 (m), 5.55 (d)	332	166
Ethylenglykol	3.6 (s)	36	14
weitere nicht in einzelnen identifizierbare Verbindungen	1.80 (s), 1.82 (s) 2.82 (s), 3.0-3.2 (m)	1,0 mmol/l	ca. 12
Formiat	8.35 (s)	2.8	< 0,5
Summe C			192

Org.C*/DOC * = Kohlenstoff organisch gebunden berechnet über Stöchiometrie

Tabelle 3. Zusammensetzung der Probe Go-GL-ALG-11-I-d: Säule B max., nach Abbauteat (MPA Pr. Nr. P26538, NMR-Spektrum Nummer 5 Spektrenbeilage)

Komponente	$\delta^{1)}$ (H ₂ O/D ₂ O) (ppm)	Konzentration in mg/l	Organischer Kohlenstoff (DOC)* in mg/l
aliphatische KW	0.8-1.6	Spuren, Konzentration nicht bestimmbar	n.b.
Formiat	8.35 (s)	0.3	< 0,5
Summe C			< 1

Org.C*/DOC * = Kohlenstoff organisch gebunden berechnet über Stöchiometrie

Tabelle 4. Zusammensetzung der Probe Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max., „4 + 5 + 6“ (MPA Pr. Nr. 26539-A, NMR-Spektrum Nummer 6 Spektrenbeilage)

Komponente	δ^1 (H ₂ O/D ₂ O) (ppm)	Konzentration in mg/l	Organischer Kohlenstoff (DOC)* in mg/l
gelöste Acrylsäure (Salz)	5.9-6.1 (m), 5.55 (d)	30	15
Ethylenglykol	3.6 (s)	19	7
X-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	1.80 (s), 1.82 (s) 2.82 (s), 3.0-3.2 (m)	ca. 50	28
Formiat	8.35 (s)	0,5	< 0,5
Summe C			50

Org.C*/DOC * = Kohlenstoff organisch gebunden berechnet über Stöchiometrie

Tabelle 5. Zusammensetzung der Probe Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max., nach Abbautest (MPA Pr. Nr. P26540, NMR-Spektrum Nummer 6 Spektrenbeilage)

Komponente	δ^1 (H ₂ O/D ₂ O) (ppm)	Konzentration in mg/l	Organischer Kohlenstoff (DOC)* in mg/l
aliphatische KW	0.8-1.6	Spuren, Konzentration nicht bestimmbar	n.b.
Formiat	8.35 (s)	5	1
Summe C			1

Org.C*/DOC * = Kohlenstoff organisch gebunden berechnet über Stöchiometrie

Tabelle 6. Zusammensetzung der Probe Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max., „7 + 8 + 9“
 (MPA Pr. Nr. 26539-B, NMR-Spektrum Nummer 7 Spektrenbeilage)

Komponente	$\delta^{(1)}$ (H ₂ O/D ₂ O) (ppm)	Konzentration in mg/l	Organischer Kohlenstoff (DOC)* in mg/l
gelöste Acrylsäure (Salz)	5.9-6.1 (m), 5.55 (d)	25	13
Ethylenglykol	3.6 (s)	22	8
X-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	1.80 (s), 1.82 (s) 2.82 (s), 3.0-3.2 (m)	ca. 25	6
Formiat	8.35 (s)	5	1
Summe C			28

Org.C*/DOC * = Kohlenstoff organisch gebunden berechnet über Stöchiometrie

4.6 Untersuchung der weißlichen Ausflockungen in den Eluaten mittels Infra-Rot-Spektroskopie (IR)

Die in den Eluaten nach dem Auftauen erkennbaren weißlichen bzw. farblosen Ausflockungen sind in üblichen organischen Lösemitteln unlöslich und daher NMR-spektroskopisch über klassische NMR-Spektroskopie nicht identifizierbar. Die entsprechenden Ausflockungen wurden durch Zentrifugieren abgetrennt, getrocknet (105 °C) und anschließend die Menge durch Auswiegen ermittelt. Die IR-spektroskopischen Untersuchungen der getrockneten Proben zeigen, dass die IR-Spektren der getrockneten Ausflockungen sehr gut mit dem IR-Spektrum von Na- oder K- Polyacrylat (Spektrenbibliothek) übereinstimmen.

Tabelle 7. Ergebnisse der Untersuchungen der weißlichen bzw. farblosen Ausflockungen in den wässrigen Eluaten der Säulenelution (IR-Spekten Beilage 1)

Probenbezeichnung Hygiene-Institut	Produkt	Rückstand / Festphase in mg/l	Identifikation des Rückstands mit IR- Spektroskopie (Spektrenbibliothek)
Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max.	MC-Bauchemie 1. Formulierung	20	Na- oder K- Polyacrylat
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, „4 + 5 + 6“	MC-Bauchemie 2. Formulierung	87	Na- oder K- Polyacrylat
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, „7 + 8 + 9“	MC-Bauchemie 2. Formulierung	470	Na- oder K- Polyacrylat

5. Untersuchungen zur akuten Toxizität gegenüber Wasserorganismen

Zur Bestimmung der akuten Toxizität des Prüfmateri­als „Go-GL-ALG-11-I-d“ und „Go-GL-ALG-12-II-c“ gegenüber höheren und niederen Wasserorganismen wurden die Eluatfraktionen des TOC-Maximums der Säulen B, C und D bzw. A, C und D und die Eluate der entsprechenden TOC-Abklingphasen den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen unterzogen. Die Auswahl der Säulen erfolgte anhand der höchsten TOC-Konzentrationen in der Maximum-Phase der Prüfwässer.

Die Untersuchungen zur Bestimmung der Toxizität gegenüber Daphnien und Leuchtbakterien waren nicht unmittelbarer Gegenstand des Forschungsvorhabens. Diese Überprüfungen wurden jedoch zusätzlich durchgeführt, um die Prüfmuster in umwelthygienischer Sicht näher charakterisieren und vergleichen zu können. Weiterhin sollte sichergestellt werden, dass keine weiteren toxischen Effekte, die ggf. Auswirkungen auf die Algentoxizität haben können, vorliegen.

In der Vergangenheit zeigten die Untersuchungen von Polyacrylaten bei den entsprechenden Prüfwässern keine signifikanten toxischen Wirkungen gegenüber Daphnien und Leuchtbakterien auf.

5.1 Bestimmung der Algengiftigkeit

Die Bestimmung der Hemmwirkung der Eluate gegenüber Grünalgen (*Desmodesmus subspicatus*) erfolgte nach DIN 38412 Teil 33 [1]. Hierbei wird eine Grünalgensuspension 72 Stunden unter definierten Bedingungen ($23\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$; Dauerbeleuchtung von etwa 8000 Lux) in einem Nährmedium mit unterschiedlichen Verdünnungen des Prüfmaterials kultiviert. Das Eluat wird vor Versuchsbeginn auf einen pH-Wert von $7 \pm 0,2$ eingestellt.

Aus dem Vergleich der Zellvermehrung unter den Versuchsbedingungen nach 72 Stunden mit und ohne Einwirkung des Testgutes wird die Hemmwirkung ermittelt. Als Bezugsgröße für die Bestimmung der Algenbiomasse wird die lichtinduzierte, bei einer Wellenlänge von $\lambda = 685\text{ nm}$ gemessene, Chlorophyll- Fluoreszenz verwendet.

Als Ergebnis gilt der kleinste Wert der Verdünnungsstufe (G_A -Wert), bei dem unter den Bedingungen dieses Verfahrens eine Hemmwirkung der Biomasseproduktion von $< 20\%$ gemessen wird, sofern bei höheren Verdünnungsstufen keine Hemmung $> 20\%$ festgestellt wird. Zur Veranschaulichung des Algentests sind in den als Anlagen Nr. 1 und Nr. 2 aufgeführten Bildern eine Lichtbank für die Anzucht von Algen und die Grünalge „*Desmodesmus subspicatus*“ abgebildet.

Im vorliegenden Fall wurden folgende G_A -Werte ermittelt.

Tabelle 8. Verdünnungsstufen (G_A -Werte) der Eluatfraktionen des TOC-Maximums vor und nach dem Abbau sowie der Abklingphase (Fraktion 20).

Probe	Parameter	Verdünnungsstufe (G_A -Wert)
1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ Fraktionen des TOC-Maximums (Säulen B, C und D)		768
1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ Eluatfraktionen der Abklingphase (Säulen B, C und D, Fraktion 20)		1
1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ Fraktion des TOC-Maximums (Säule B) nach Abbaubarkeit (OECD-Test 301F)		1
2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“ Fraktionen des TOC-Maximums (Säulen A, C und D)		768
2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“ Eluatfraktionen der Abklingphase (Säulen A, C und D, Fraktion 20)		1
2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“ Fraktion des TOC-Maximums (Säule A) nach Abbaubarkeit (OECD-Test 301F)		1

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass die Fraktionen des TOC-Maximums der 1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-d“ und der 2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“ eine erhöhte Algengiftigkeit ($G_A = 768$) aufwiesen.

Die Eluatfraktionen der Abklingphasen (Fraktionen 20) zeigten keine Verminderung des Wachstums der Algen ($G_A = 1$) und die Eluate des TOC-Maximums beider Produkte waren nach der Durchführung des Abbautests nicht algengiftig ($G_A = 1$).

5.2 Bestimmung der Leuchtbakterientoxizität

Um Aussagen über eine ggf. vorliegende Toxizität des zu untersuchenden Eluates gegenüber Mikroorganismen machen zu können, wurde ein Leuchtbakterientoxizitätstest gem. EN ISO 11348-2 durchgeführt [3]. Das Verfahren beruht darauf, dass unter festgelegten Bedingungen definierte Volumina des Testgutes jeweils mit einer Leuchtbakteriensuspension vermengt werden. Nach Ende der Testdauer von 30 Minuten wird die eingetretene Hemmung der Lichtemission bestimmt.

Die Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* erfolgt nach dem in der EN ISO 11348-2:2009-05* beschriebenen Verfahren ("Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien"). Die Eluate der Mischfraktionen des TOC-Maximums (Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“, Fraktion 2 bis 4, Säule B und Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“, Fraktion 4 bis 6, Säule A) wurden hinsichtlich der Leuchtbakterientoxizität überprüft. Die Eluate wurden vor Versuchsbeginn auf einen pH-Wert von ca. 7,2 eingestellt.

Es wird der kleinste Wert der Verdünnungsstufe (sog. G_L -Wert) der geprüften wässrigen Probe ermittelt, bei der die Lichtemission der Bakterien der Spezies *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177 < 20% gehemmt wird.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Zusammenstellung aufgeführt.

Tabelle 9. G_L -Werte der Mischfraktionen des TOC-Maximums

Parameter	Probe	1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d	2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c
		Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4), Säule B	Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4), Säule B
Leuchtbakterientoxizität	G_L -Wert*	4	1

* Kleinster Wert der Verdünnungsstufe G des Testansatzes, bei dem unter den Bedingungen dieses Verfahrens die Lichtemission < 20 % gehemmt wird.

Die ermittelten Toxizitätswerte für die Leuchtbakteriengiftigkeit der Fraktionen des TOC-Maximums erfüllen die Anforderungskriterien des DIBt Merkblattes „Bewertung und Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser – Teil 1“.

5.3 Bestimmung der Daphnientoxizität

Die Bestimmung der Daphnientoxizität erfolgte mit Hilfe des in der DIN 38412 Teil 30 beschriebenen Verfahrens mit dem Testorganismus *Daphnia magna STRAUS* (Wasserfloh) [2].

Das Probeneluat wurde auf einen pH-Wert von $7,0 \pm 0,2$ eingestellt und in einer Verdünnungsreihe mit Wasser vermischt. In einem doppelten Testansatz je Verdünnungsstufe wurden jeweils fünf 2 bis 26 Stunden alte Daphnien eingesetzt und 24 Stunden bei 20 ± 2 °C bei diffusem Licht gehältert. Als Maß für die innerhalb von 24 Stunden nicht toxische Wirkung dient die Verdünnungsstufe (G_D -Wert) des Eluates, bei der unter den Bedingungen der Norm mindestens 9 von 10 Daphnien ihre Schwimmfähigkeit behalten.

Die Ergebnisse der nicht akut giftigen Wirkung gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen sind nachfolgend aufgeführt.

Tabelle 10. G_D -Werte der Mischfraktionen des TOC-Maximums

Parameter	Probe	1. Formulierung	2. Formulierung
		Go-GL-ALG-11-I-d	Go-GL-ALG-12-II-c
		Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4), Säule B	Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4), Säule B
Daphnientoxizität	G_D -Wert*	1	1

* Kleinster Wert der Verdünnungsstufe G des Testansatzes, bei dem unter den Bedingungen dieses Verfahrens mindestens 9 von 10 Daphnien ihre Schwimmfähigkeit behalten.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass bei der niedrigsten Verdünnungsstufe ($G_D = 1$) der Mischfraktionen des TOC-Maximums der Formulierungen „Go-GL-ALG-11-I-d“ und „Go-GL-ALG-12-II-c“ keine schwimmunfähigen Daphnien feststellbar waren.

6 Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit

6.1 Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit – OECD-Test 301 F (Manometrischer Respirationstest)

Das biologische Abbauverhalten der Eluate der Mischfraktionen des TOC-Maximums wurde in Anlehnung an die Vorschrift OECD-301 F (Manometrischer Respirationstest) über den biochemischen Sauerstoffbedarf auf manometrischem Wege ermittelt [4,5,15-17]. Letztgenannte Verfahrensweise gibt nicht nur ein Maß für den oxidativen Abbau der organischen Inhaltsstoffe durch Mikroorganismen wieder, sondern lässt aufgrund des entsprechenden Kurvenverlaufes auch Aussagen über die Kinetik des Abbaus zu. Als Berechnungsgröße im Hinblick auf die Abbaurate diene der nach der Dichromatmethode experimentell festgestellte chemische Sauerstoffbedarf (CSB), der als Maß für die vollständige Mineralisation der organischen Substanz der Testflüssigkeit herangezogen werden kann. Abweichend von der Testvorschrift OECD-301 F wurden im vorliegenden Fall die unverdünnten Eluatproben der Mischfraktionen des TOC-Maximums der Säule B (Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“, Fraktion 2 bis 4) und Säule A (Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“, Fraktion 4 bis 6) hinsichtlich des Abbauverhaltens der organischen Inhaltsstoffe untersucht, da nach den Abbautests die Eluate im Hinblick auf die Argentozizität in den Verdünnungsstufen G_A 1 und größer zu überprüfen waren.

Als Referenzsubstanz zur Kontrolle der Aktivität des Inokulums diene Natriumbenzoat.

Wie den als Anlagen (s. Anlage Nr. 15 und Anlage Nr. 28) beigefügten grafischen Darstellungen der auf manometrischem Wege ermittelten biochemischen Abbaukinetik entnommen werden können, beträgt der mikrobiologische Abbau der biochemisch oxidierbaren Inhaltsstoffe unter den gewählten Versuchsbedingungen nach etwa 28 Tagen 89 % (Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“, Fraktion 2 bis 4, Säule B) und 88 % (Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-c“, Fraktion 4 bis 6, Säule A).

Die Referenzsubstanz Natriumbenzoat (CSB-Anfangskonzentration: 251 mgO₂/l) ist nach 10 Tagen zu 84 % abgebaut (BSB nach 10 Tagen = 211 mgO₂/l); nach 28 Tagen beträgt die Abbaubarkeit 93 % (BSB nach 28 Tagen = 234 mgO₂/l). Das Inokulum zeigt somit eine ausreichende Aktivität. Bei ergänzenden Untersuchungen mit Natriumbenzoat (ThSB-Anfangskonzentration: 334 mg O₂/l und 668 mg O₂/l) konnten zu einem späteren Zeitpunkt Abbauraten nach 28 Tagen von 82 % bzw. 87 % ermittelt werden.

In der Regel wird der OECD-Test 301 F mit einer Konzentration der Prüfsubstanz von 100 mg /l und einem Theoretischen Sauerstoffbedarf (ThSB) bzw. Chemischen Sauerstoffbedarf (CSB) von 50 – 100 mg O₂/l durchgeführt. Die v.g. Untersuchungsergebnisse (einschließlich Referenzsubstanz) zeigen, dass im vorliegenden Fall auch bei höheren Ausgangskonzentrationen unter den standardisierten Prüfbedingungen des OECD-301 F-Tests eine „leichte“ biologische Abbaubarkeit nachweisbar ist.

Weiterhin zeigen Untersuchungen hinsichtlich der Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit von Acrylsäure und ausgewählten Acrylaten, wie z.B. Magnesiumdiacrylat, dass diese Substanzen leicht biologisch abbaubar sind [18,19].

7. Zusammenfassung der Säulenelutionsversuche

Die im Wasser gelösten Inhaltstoffe des TOC-Maximums von den Polyacrylatsystemen „Go-GL-ALG-11-I-d“ und „Go-GL-ALG-12-II-c“ wiesen nach den Säulenelutionsversuchen eine erhöhte Algengiftigkeit auf. Die Abbautests ergaben, dass die gelösten organischen Verbindungen des TOC-Maximums unter den gewählten Versuchsbedingungen relativ schnell abbaubar waren.

Nach den Abbautests zeigten beide Prüfwässer keine offenkundigen Anzeichen von Toxizität bei Algen auf.

Die ermittelten Toxizitätswerte für die Leuchtbakterien lagen für die Mischfraktionen des TOC-Maximums bei G_L-Werten von „4“ („Go-GL-ALG-11-I-d“) und „1“ („Go-GL-ALG-12-II-c“).

Die Fraktionen des TOC-Maximums wiesen unter den gewählten Versuchsbedingungen für beide Formulierungen keine Daphnientoxizität auf (G_D-Wert: „1“).

8. Einfluss der Trübung auf das Algenwachstum

Der Einfluss der Trübung auf das Algenwachstum wurde mit unbehandelter, pyrogener Kieselsäure „CAB-O-SIL M5“ bei verschiedenen Trübungsstufen untersucht.

„CAB-O-SIL M5“ besteht aus weißem Siliziumdioxid mit amorpher Struktur, das in der Technik als Fließmittel und verstärkendes Mittel bei Beschichtungen eingesetzt wird. „CAB-O-SIL M5“ weist ein geringes Gewicht und eine relativ große Oberfläche auf. „CAB-O-SIL“ ist nicht als wassergefährdender Stoff eingestuft (Fisch- und Daphniengiftigkeit: $EC_{50} > 10000$ mg/l). Aufgrund der v.g. Stoffeigenschaften wurde „CAB-O-SIL M5“ von uns als Trübungsstoff für die Ermittlung des Einflusses der Trübung auf das Algenwachstum eingesetzt.

Mit Hilfe von entmineralisiertem Wasser wurden Lösungen mit verschiedenen Konzentrationsstufen an „CAB-O-SIL M5“ und entsprechend unterschiedlichen Trübungen angesetzt. Die Hemmung des Algenwachstums wurde gemäß DIN 38412-33 mit unterschiedlichen Konzentrationen an Nährlösung getestet.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 11. Einfluss der Trübung auf das Algenwachstum
 (Trübungsstoff: unbehandelte, pyrogene Kieselsäure)

Trübung (NTU)	Hemmwirkung bei halber Nährmedium- konzentration gem. DIN 38412-33	Hemmwirkung bei einfacher Nährmedium- konzentration gem. DIN 38412-33	Hemmwirkung bei zweifacher Nährmedium- konzentration gem. DIN 38412-33
1,3	41 %	38 %	3,3 %
2,5	74 %	63 %	38 %
5,6	80 %	78 %	58 %
10,4	83 %	80 %	78 %
20,7	> 85 %	> 85 %	84 %
44,4	> 85 %	> 85 %	> 85 %

Die Untersuchungsergebnisse zeigen eine deutliche Verminderung der Algenbiomasseproduktion mit zunehmender Trübung der Prüfwässer. Bei verminderter bzw. erhöhter Zugabe an Nährmedium in den Prüflösungen tritt dieser Effekt verstärkt bzw. verringert auf.

9. Einfluss der Nährmediumkonzentration auf die Algentoxizität von Prüfwässern des Säulenelutionsversuchs

Zur Klärung der Frage, ob Polyacrylate oder deren gelöste Inhaltsstoffe das Nährstoffangebot der Algen beeinflussen, wurde von den beiden Polyacrylatsystemen jeweils ein Eluat des Säulenversuchs (TOC-Maximum) gem. DIN 38412-33 hinsichtlich der Hemmwirkung auf das Algenwachstum untersucht. Für die Untersuchungen wurde sowohl das einfache Nährmedium entsprechend der Norm DIN 38412-33 (siehe hierzu auch Punkt 5.1) als auch die doppelte und dreifache Menge an Nährsalzen (DIN 38412-33, Punkt 8.3.1, Lösung I), Eisen-Komplexen (DIN 38412-33, Punkt 8.3.2, Lösung II) und Spurenelementen (DIN 38412-33, Punkt 8.3.3, Lösung III) bei gleicher Menge an Natriumhydrogenkarbonat wie bei dem „normalen“ Nährmedium verwendet.

Tabelle 12. Nährmediumkonzentrationen

	Einfache Nährmediumkonzentration (Endkonzentration in den Test- und Kontrollansätzen)	Zweifache Nährmediumkonzentration (Endkonzentration in den Test- und Kontrollansätzen)	Dreifache Nährmediumkonzentration (Endkonzentration in den Test- und Kontrollansätzen)
Lösung I: NH ₄ Cl MgCl ₂ x 6 H ₂ O CaCl ₂ x 2 H ₂ O MgSO ₄ x 7 H ₂ O KH ₂ PO ₄	15 mg/l 12 mg/l 18 mg/l 15 mg/l 1,6 mg/l	30 mg/l 24 mg/l 36 mg/l 30 mg/l 3,2 mg/l	45 mg/l 36 mg/l 48 mg/l 45 mg/l 4,8 mg/l
Lösung II: FeCl ₃ x 6 H ₂ O Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O	80 µg/l 100 µg/l	160 µg/l 200 µg/l	240 µg/l 300 µg/l
Lösung III: H ₃ BO ₃ Mn ₂ C ₂ x 4 H ₂ O ZnCl ₂ CoCl ₂ x 6 H ₂ O CuCl ₂ x 2 H ₂ O Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O NaHCO ₃	185 µg/l 415 µg/l 3 µg/l 1,5 µg/l 0,01 µg/l 7 µg/l 300 mg/l	370 µg/l 830 µg/l 6 µg/l 3 µg/l 0,02 µg/l 14 µg/l 300 mg/l	555 µg/l 1245 µg/l 9 µg/l 4,5 µg/l 0,03 µg/l 21 µg/l 300 mg/l

Die Bestimmung der Algentoxizität der Eluate der Mischfraktion des Maximums für die 1. und 2. Formulierung erfolgte mit Hilfe des in der Norm 38412-33 beschriebenen Verfahrens und mit den v.g. Nährmedien.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 13. Einfluss der Nährmediumkonzentration auf die Algentoxizität von Prüfwässern

	1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule B Mischfraktion des Maximums (Frakt. 2 bis 4)	2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A Mischfraktion des Maximums (Frakt. 4 bis 6)
Einfache Nährmediumkonzentration	$G_A = 768$	$G_A = 768$
Zweifache Nährmediumkonzentration*	$G_A = 192$	$G_A = 128$
Dreifache Nährmediumkonzentration*	$G_A = 192$	$G_A = 128$

* Die Proben wurden unmittelbar vor Versuchsbeginn aufgetaut.

Wie die in der Tabelle wiedergegebenen Versuchsergebnisse verdeutlichen, konnte durch Zugabe an Nährmedium eine Verringerung der Algentoxizität der Mischfraktionen des TOC-Maximums nachgewiesen werden.

Die Verringerung der Algentoxizität durch Erhöhung der Nährmediumkonzentration lässt u.E. die Vermutung zu, dass neben einer „normalen“ Förderung der Wachstumsrate die Polyacrylate einen Teil der Nährstoffe, insbesondere Spurenelemente, komplexieren, so dass diese Stoffe nicht mehr für das Wachstum der Algen zur Verfügung stehen. Die Bildung der Algenbiomasse wird so wesentlich beeinträchtigt. Durch Zugabe einer erhöhten Nährstoffmenge kann dieser Effekt ausgeglichen werden.

10. Zusammenfassung

Im Rahmen des Forschungsvorhabens „Untersuchungen zur Verifizierung der Eignung des Algentests nach DIN 38412-33 für wässrige Eluate bei der Prüfung von Schleierinjektionen“ wurden Eluate der Produkte „Go-GL-ALG-11-I-d“ und „Go-GL-ALG-12-II-C“ der MC-Bauchemie Müller GmbH & Co. KG, Bottrop, untersucht. Die Eluate wurden mit Hilfe von Säulenversuchen gewonnen [8].

Eine Beeinflussung der äußeren Beschaffenheit der Eluate hinsichtlich Färbung war nicht festzustellen. Die Neigung zur Schaumbildung war in den ersten Stunden nach der Injektion des Systems vorübergehend schwach. Die Trübung der Eluate war bei der 1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ relativ unauffällig (Maximum: Säule A, 2. Fraktion, Trübung = 1,24 NTU), hingegen zeigen die Eluate der 2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-C“ am ersten Tag des Säulenversuches eine deutlichere Trübung auf (Maximum: Säule B, 7. Fraktion, Trübung = 36,9 NTU). Während des ersten Versuchstages haftete den Wasserfraktionen anfänglich ein organischer Geruch an, der aber im weiteren Versuchsverlauf deutlich abnahm.

Mit den Injektionen der Systeme und im weiteren Versuchsverlauf entsprach der pH-Wert der Eluate beider Produkte annähernd dem pH-Wert des Vergleichswassers.

Die Abgabe organischer Inhaltsstoffe, bestimmt als gesamt organisch gebundener Kohlenstoff (TOC) erreicht bei der Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ in den Fraktionen 2 bis 4 (Säule A und B) und 3 bis 5 (Säule C und D) ihr Maximum. Die höchsten TOC-Konzentrationen der Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-C“ wurden in den Fraktionen 4 bis 6 (Säule A und D) bestimmt. Aus den Fraktionen 2 bis 4 der Säule A und B bzw. 3 bis 5 der Säule C und D (1. Formulierung „Go-GL-ALG-11-I-d“ sowie der Fraktionen 4 bis 6 der Säulen A, B, C. und D der 2. Formulierung „Go-GL-ALG-12-II-C“ wurden Mischfraktionen gebildet, die als Maximum der TOC-Elution betrachtet wurden.

Die Untersuchungen zur Toxizität dieser Mischfraktionen, hier anhand des Leuchtbakterientestes, des Daphnientestes und des Algentestes, erfolgte aus Eluaten die zur Konservierung tiefgefroren waren. Weder das Eluat des Maximums der 1. Formulierung noch das der 2. Formulierung hatte einen nennenswerten Einfluss auf die Lichtemission der Leuchtbakterien ($G_L = 4$ und $G_L = 1$) und auf die Schwimffähigkeit der Daphnien (beide Prüfwässer $G_D = 1$).

Beide Mischeluate hatten jedoch eine deutliche Hemmung des Algenwachstums bewirkt ($G_A = 768$). Trotz der anfänglich deutlich unterschiedlichen Trübungen der Ausgangslösungen beider Prüfmuster zeigen die Eluate der „TOC-Maximumsphase“ beider Formulierungen die gleichen Algtoxizitätswerte auf. Die Eluate der Abklingphase (Fraktion 20) wiesen keine Hemmwirkungen auf ($G_A = 1$).

Die Überprüfungen der Mischfraktionen des TOC-Maximums der Formulierungen „Go-GL-ALG-11-I-d“ (Säule B, Fraktion 2-4) und „Go-GL-ALG-12-II-C“ (Säule A, Fraktion 4-6) im Hinblick auf das Abbauverhalten nach OECD-Test 301 F erfolgten mit den jeweiligen unverdünnten wässrigen Eluaten. Die gelösten organischen Inhaltsstoffe wurden nach 28 Tagen zu 89 % bzw. 88 % abgebaut.

Nach Beendigung des Abbautests wurden die Prüfwässer in Bezug auf ihre Hemmwirkung auf das Algenwachstum geprüft. Diese Prüfwässer zeigten keinen hemmenden Einfluss auf das Algenwachstum ($G_A = 1$).

Die ebenfalls konservierten (tiefgefroren) Eluate der 1. Formulierung und der 2. Formulierung wurden im Hinblick auf die Bestimmung der Zusammensetzung der gelösten organischen Verbindungen durch die Materialprüfungsanstalt der Universität Stuttgart (MPA Stuttgart), Stuttgart, untersucht.

Nach dem Auftauen der wässrigen Eluate konnten in den Proben des TOC-Maximums beider Produkte (Go-GL-ALG-11-I-d, Säule B und Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A) und in einer weiteren Probe des Trübungsmaximums (Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A, Fraktion 7+8+9) weißliche bzw. farblose Ausflockungen nachgewiesen werden. IR-spektrometrische Untersuchungen dieser Ausfällungen zeigten, dass es sich bei den Ausfällungen um Natrium- oder Kalium-Polyacrylate handelt. Der negative Einfluss von Partikeln, die die Trübung verursachen bzw. verursachen können, auf das Algenwachstum konnte an Hand von Versuchen mit einem inerten Trübungsmittel, hier unbehandelte, pyrogene Kieselsäure, nachgewiesen werden. Bereits geringe Trübungen – hier NTU 2,5 zeigen eine deutliche negative Wirkung auf das Algenwachstum (vgl. Tabelle 11, Abschnitt 8)

In den Eluaten des TOC-Maximums beider Produkte konnten neben dem gelösten Acrylat/Acrylsäure zusätzlich Ethylenglykol und Formiat nachgewiesen werden. In den Mischeluaten 4 bis 6 und 7 bis 9 der Formulierung Go-GL-ALG-12-IIC ist zusätzlich ein primäres Amin (Basis Ethylamin) nachweisbar. Nach Durchführung des Abbautests waren in den Eluaten des TOC-Maximums nur noch Formiat in Konzentrationen zwischen 0,5 und 5 mg/l und in Spuren nicht näher identifizierbare Kohlenwasserstoffe ($c < 0,1$ mg/l) nachweisbar. Eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der hier durchgeführten Untersuchungen ist den nachfolgenden Tabellen 14 und 15 zu entnehmen.

Tabelle 14. Übersicht der Ergebnisse zu Produkt Go-GL-ALG-11 – I d - 1. Formulierung, Säule B

Untersuchtes Eluat	Parameter									
	TOC – Eluat	DOC – NMR im Eluat *	Acrylsäure / Acrylat – NMR im Eluat *	Polyacrylat (ungelöst) im Eluat *	Trübung**	Algtox G _A -Wert*	Algtox G _A -Wert* 2-fache Nährmedium	Algtox G _A -Wert* 3-fache Nährmedium	Daphnien*	Leuchtbakterien*
	in mg/l				Verdünnungsstufen					
TOC-Mischfraktion Maximum (2 bis 4)	251	192	332	20	0,32	768	128	128	1	4
TOC-Mischfraktion Maximum (2 bis 4) nach Abbautest (OECD 301 F)	2,8	< 1	< NWG	n.n..	n.b.	1	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Abklingphase, Fraktion 20	2,8	n.b.	n.b.	n.b.	0,14	1	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

* = Ergebnisse von konservierten (tiefgefroren bei – 18°C und wieder aufgetauten) Proben

**= Ergebnisse unmittelbar nach der Probenahme von nicht eingefrorenen Proben

NWG = Nachweisgrenze Acrylat 0,5 mg/l

n.n. = nicht nachweisbar

n.b. = nicht bestimmt

Tabelle 15. Übersicht der Ergebnisse zu Produkt Go-GL-ALG-12 – 1 c - 2. Formulierung, Säule A

Untersuchtes Eluat	Parameter									
	TOC – Eluat	DOC – NMR im Eluat *	Acrylsäure / Acrylat – NMR im Eluat *	Polyacrylat (ungelöst) im Eluat *	Trübung**	Algentox G _A -Wert*	Algentox G _A -Wert* 2-fache Nährmedium	Algentox G _A -Wert* 3-fache Nährmedium	Daphnien*	Leuchtbakterien*
	in mg/l					Verdünnungsstufen				
TOC-Mischfraktion Maximum (4 bis 6)	242	50	30	87	3,99	768	128	128	1	1
TOC-Mischfraktion (7+8+9)	64,7	28	25	470	27,9	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
TOC-Mischfraktion Maximum (4 bis 6) nach Abbautest (OECD 301 F)	3,0	1	< NWG	n.n.	n.b.	1	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Abklingphase, Fraktion 20	3,0	n.b.	n.b.	n.b.	0,19	1	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

* = Ergebnisse aus konservierten (tiefgefroren bei – 18°C und wieder aufgetauten) Proben

**= Ergebnisse unmittelbar nach der Probenahme von nicht eingefrorenen Proben

NWG = Nachweisgrenze Acrylat = 0,5 mg/l

n.n. = nicht nachweisbar

n.b. = nicht bestimmt

11. Diskussion

Ein Vergleich der analytisch ermittelten TOC-Gehalte der Eluate mit Ausflockungen mit den TOC- bzw. DOC-Werten, die sich aus den Ergebnissen der NMR-Untersuchungen ermitteln ließen, weist keine gute Korrelation auf. In der Regel treten diese Unterschiede zwischen dem aus NMR-Daten berechneten und dem gemessenen TOC dann auf, wenn die gelösten organischen Verbindungen mit Hilfe der NMR-Spektroskopie nicht nachweisbar sind oder flüchtige Verbindungen bei der Präparation der Proben, wie z.B. durch Verdunstung, verloren gehen.

Im vorliegenden Fall konnten in den Eluaten beider Formulierungen nach dem Auftauen neben gelösten organischen Verbindungen mehr oder weniger deutliche Ausfällungen und Ausflockungen von Polyacrylaten (Natrium- oder Kalium-Polyacrylate) nachgewiesen werden. Wie und warum diese Ausfällungen auftraten, lässt sich nachträglich nicht eindeutig klären.

Aus der Literatur ist jedoch bekannt, dass z.B. Acrylsäure bzw. Acrylatmonomere bei Raumtemperatur stark polymerisieren und daher mit Polymerisationsinhibitoren (z.B. Hydrochinonmonomethylether) stabilisiert werden. Kühlt man die acrylsäure- bzw. acrylathaltige Lösung ab, so trennen sich die Acrylsäure und die Monomere von dem Stabilisator. Wird diese Lösung eingefroren und ohne eine Vermischung mit dem Inhibitor wieder aufgetaut, so können die unstabilisierten Monomere bzw. die Acrylsäure ungehindert polymerisieren [13,14].

Aus Untersuchungen zur Stabilität und Lagerung wässriger Acrylsäure ist nachgewiesen worden, dass gelöster Sauerstoff ebenfalls als Polymerisationsinhibitor wirkt. Das Abkühlen dieser Lösung kann zu einer teilweisen „Verarmung“ an gelöstem Sauerstoff führen, so dass beim Auftauen ggf. eine Polymerisation stattfindet [13]. Des Weiteren können verschiedene chemische Reaktionen zu einer Verminderung der Stabilisatoren einschließlich des Gehaltes an gelöstem Sauerstoff führen [10].

Der Einfluss der Trübung auf das Algenwachstum wurde mit wässrigen Lösungen unbehandelter, pyrogener Kieselsäure untersucht. Die Untersuchungen zeigen, dass mit zunehmender Trübung die Biomasseproduktion deutlich abnimmt. Dieser Effekt kann durch eine erhöhte Zugabe an Nährmedium verringert werden.

Acrylate und Polyacrylate sind in der Lage, in Wasser gelöste Metallionen, wie z.B. Calcium-, Magnesium- und Kupferionen durch Komplexbildung zu binden und dem Wasser zu entziehen. Dieser Vorgang wird bei der Enthärtung von Wasser und zur Fällung von Schwermetallen aus Wasser technisch genutzt [11,12].

Zur Klärung der Frage, ob ggf. die Polyacrylate oder deren gelöste Inhaltsstoffe das Nährstoffangebot der Algen beeinflusst, wurden Algentests mit unterschiedlichen Nährstoffangeboten (Nährsalze, Eisen-Komplex, und Spurenelementen) durchgeführt. Die Prüfungen zeigten, dass durch Zugabe an Nährmedium eine Verringerung der Algentoxizität bei Eluaten des TOC-Maximus der Formulierungen „Go-GL-ALG-11-I-d“ und „Go-GL-ALG-12-II-c“ nachweisbar waren. Es ist u.E. davon auszugehen, dass durch die Erhöhung des Nährstoffangebots der Teil an Nährstoffen, der durch eine Komplexbildung das Algenwachstum hemmt, ausgeglichen wird und den Algen für das Wachstum zur Verfügung steht.

Als ein Indiz für den Einfluss der Komplexbildung von essentiellen Spurenstoffen und Elementen durch Polyacrylate auf das Algenwachstum ist aus unserer Sicht auch die Tatsache zu sehen, dass Acrylate bzw. Acrylsäure bei marinen Algen, die in einem wässrigen Medium mit einer wesentlich größeren gelösten Salzfraktion leben, eine geringere Algentoxizität aufweisen als Süßwasseralgen. So wurden für Acrylsäure Wirkkonzentrationen ($E_{rC_{50}}$ -Wert) hinsichtlich der Hemmwirkung der Wachsrates von marinen Algen nach einem fünftägigen Untersuchungszeitraum in einer Größenordnung von 50 mg/l bis > 320 mg/l ermittelt; hingegen konnten für Süßwasseralgen nach 72 Stunden $E_{rC_{50}}$ -Werte von 0,13 mg/l und 0,205 mg/l bestimmt werden [20].

Die Bilder in den Anlagen Nr. 3 und Nr. 4 zeigen Ausflockungen in einer aufgetauten Eluatprobe, die zuvor bei -18°C eingefroren war. Die lichtmikroskopischen Aufnahmen verdeutlichen schleierförmige Ausflockungen, die ein „normales“ Algenwachstum hemmen können, indem z.B. die einzelligen Algen sich an die plastischen organischen Strukturen anlagern und feste Konglomerate bilden oder von diesen Ausflockungen eingeschlossen werden.

Für die wasserlöslichen und damit auswaschbaren Inhaltsstoffe von Betonen konnte gezeigt werden, dass die Kernresonanzspektrometrie (¹H-NMR-Spektrometrie) eine geeignete Methode ist, diese organischen Inhaltsstoffe in wässrigen Lösungen (wässrige Extrakte/Eluate) zu identifizieren und zu quantifizieren [8, 23-25].

In ersten Versuchen zur Bestimmung auswaschbarer Inhaltsstoffe aus Acrylatgelen (hier Ergebnisse aus der Trogeluation eines ausgehärteten Polyacrylatwürfels über 56 Tage) wurde Triethanolamin als Hauptkomponente in allen Eluat ermittelt. Die Gehalte an Acrylat waren vergleichsweise niedrig. Mit Ausnahme des 1. und des 4. Eluats konnte eine gute Übereinstimmung zwischen dem gemessenen und dem berechneten „Total organic compound“ (TOC = organischer Kohlenstoff gesamt) (vgl. Tabelle 16) gefunden werden.

Tabelle 16. Vergleich TOC gemessen zu organischem Kohlenstoff (berechnet) Trogeluation eines ausgehärteten Polyacrylat-Würfels (Kantenlänge 10 cm).

Eluat	Triethanolamin in mg/l	Acrylsäuresalz (Acrylat) in mg/l	Organischer Kohlenstoff in mg/l (berechnet)	TOC in mg/l
1	325	6	157	427
2	300	1	142	167
3	290	1	138	137
4	275	10	135	244
5	390	4	187	237
6	430	6	206	238
7	370	1	176	206

(Quelle: Bestimmung organischer Inhaltsstoffe in Trogeluaten als Grundlage zur Beurteilung möglicher Belastung von Sickerwässern nach Kontakt mit Betonen – Teilprojekt der MPA im Rahmen des Sickerwasser – Prognose Projekts der RWTH Aachen)

Für Eluate aus der Säuleneluation von Bodeninjektionsmitteln (Schleierinjektionen) auf Basis von Polyacrylaten konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Kernresonanzspektrometrie (¹H-NMR) eine geeignete Methode ist, diese organischen Inhaltsstoffe in wässrigen Lösungen (wässrige Extrakte/Eluate) zu identifizieren und zu quantifizieren (vgl. Tabelle 17).

Tabelle 17. Gehalte organische Einzelverbindungen in Säuleneluat von Schleierinjektionen ermittelt mit $^1\text{H-NMR}$ sowie der aus den stöchiometrischen Verhältnissen berechnete Gehalt an (organischem) Kohlenstoff im Vergleich mit den gemessenen Gehalten an gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC) bzw. TOC

Verbindung identifiziert mit $^1\text{H-NMR}$	Probe					
	A		B		C	
	Gehalt	org. C*	Gehalt	org. C*	Gehalt	org. C*
	mg/l					
Triethanolamin	7	4	15	7	12	6
Diethanolamin	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Formiat	< 1	< 1	< 1	< 1	6,5	3
Acetat	< 1	< 1	< 1	< 1	6,3	3
(Poly)-Ethylenglykol(e)	95	38	130	50	90	35
gelöste Acrylate (Salze der Acrylsäure)	430	216	580	290	240	121
Organischer Kohlenstoff (Rechenwert ΣC)		258		347		168
DOC (Messwert/Mittelwert n= 3)		266		343		173

Org.C* = stöchiometrisch errechnet

Proben A,B und C sowie DOC-Ergebnisse zur Verfügung gestellt aus dem Vorhaben "Laborvergleichstest zur Normierung der inversen Säulenelution.." Prof. Dr. K. Terytze
 Fachbereich Geowissenschaften Institut für Physische Geographie AG Organische Umweltgeochemie [8,25]

Im Rahmen der vorliegenden NMR-spektrometrischen Untersuchungen galt es, die Inhaltsstoffe von insgesamt 5 Eluat (entnommen zu verschiedenen Zeitpunkten während der Säulenextraktion) vor und nach dem Abbaustest auf Inhaltsstoffe zu identifizieren und zu quantifizieren. Ziel war es Hinweise auf eine stoffliche Ursache der gelegentlich sehr hohen G_A -Werte des Algentests im Bereich von Eluat mit vergleichsweise hohen TOC-Gehalten zu erhalten.

In der nachfolgenden Tabelle werden die hier ermittelten Gehalte an DOC (gelöster organischer Kohlenstoff) mit den beim Hygiene-Institut des Ruhrgebiets (HY), Gelsenkirchen, ermittelten TOC-Gehalten der entsprechenden Eluate verglichen. Zusätzlich werden die als Ausflockung aufgetretenen und abgetrennten Polyacrylate auf organischen Kohlenstoff umgerechnet und zu den NMR-spektrometrisch ermittelten Gehalten der wässrigen Eluate addiert.

Tabelle 18. Vergleich der DOC-Gehalte (berechnet aus stöchiometrischen Verhältnissen) mit gemessenen TOC, unter Berücksichtigung des organischen Kohlenstoffs aus den unlöslichen und ausgefallenen Polyacrylat-Anteilen (vgl. Tabelle 1)

Probenbezeichnung Hygiene-Institut	TOC in mg/l (Ergebnisse HY Gelsenkirchen)	DOC in mg/l (berechnet aus NMR)	Polyacrylat- Ausflockung Trockengewicht in mg/l	Organischer Kohlenstoff in mg/l (berechnet aus NMR gelöste Anteile + PAc*)
Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max.	251	192	20	212
Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max. nach Abbautest	2,8	< 1	n.n.	< 1
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, „4 + 5 + 6“	242	50	87	137
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, nach Abbautest	3,0	1	n.n.	1
Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max, „7 + 8 + 9“	64,7	28	470	498

PAc* = Polyacrylat Ausflockung

Nach unseren bisherigen Erfahrungen mit den NMR-spektrometrischen Untersuchungen wässriger Eluate konnte in der Regel eine gute Übereinstimmung des gemessenen TOC-Werts mit dem aus den stöchiometrischen Faktoren abgeleiteten und berechneten TOC- bzw. DOC-Werten gesehen werden, wenn der TOC bzw. DOC > 50 mg/l betrug (vgl. Tab. 1 und 2 sowie [8,25]) und der Verlust an flüchtigen Eluatsinhaltsstoffen wie z.B. Triethanolamin vernachlässigt werden kann. Im Gegensatz treten bei den hier durchgeführten Untersuchungen teilweise signifikanten Unterschieden zwischen TOC (gemessen) und TOC (berechnet auf Basis NMR-Spektrometrie) auf. Eindeutig ist, dass in den beiden Eluaten nach dem biologischen Abbautest mit sehr niedrigem TOC (gemessen) nur sehr geringe Mengen an organischen Verbindungen und damit auch keine Anteile an Acrylat bzw. Acrylsäure mehr nachweisbar sind. Auch die Probe Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max. mit geringen Mengen an Polyacrylatfeststoff im Eluat zeigt noch eine ausreichende Übereinstimmung zwischen dem gemessenen und dem aus NMR-Daten berechneten TOC. Keine Übereinstimmung ist für die beiden Eluate (Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max. „4 + 5 + 6“ und Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max. „7 + 8 + 9“) feststellbar, wobei im Besonderen die großen Mengen an Polyacrylatfeststoff im Eluat der Probe Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max. „7 + 8 + 9“ nicht erklärbar sind. Aus den Vorversuchen ist ableitbar, dass dort wo Unterschiede zwischen dem berechneten und dem gemessenen TOC auftreten, der berechnete TOC aus den NMR-Daten kleiner ist als der TOC-Messwert. Dies hängt in der Regel damit zusammen, dass entweder NMR-spektrometrisch nicht identifizierbare organische Verbindungen in den Eluaten vorliegen oder wie bei den Untersuchungen, die in Tabelle 1 wiedergegeben sind, flüchtige Inhaltsstoffe (hier Triethanolamin als Hauptkomponente) während des damals gewählten Anreicherungsschritts teilweise durch Verdampfen verloren gingen.

Die hier vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die im Rahmen der hier untersuchten Eluate von Bodeninjektionsgelen auf Acrylatbasis nach der Konservierung durch Tiefrieren (- 18 °C) und Auftauen eine visuell erkennbare weißlich, opake Ausfällung/Ausflockung aufweisen, die in anderen Eluaten vergleichbarer Bodeninjektionsgele nicht erkennbar war, die nur gekühlt, jedoch nicht gefroren waren (vgl. Tab. 2 und [8,25]). Bei diesen Ausflockungen handelte es sich eindeutig um Polyacrylate (vgl. Spektrenbeilage IR(ATR) - Spektren S 9). Sowohl ursprünglich klare als auch leicht getrübe Eluate wiesen nach dem Einfrieren und Auftauen der Proben Ausflockungen von Polyacrylaten auf. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass im Gegensatz zu den Erwartungen die Methode des Tiefrierens als Probenkonservierungstechnik einen erheblichen Einfluss auf die Zusammensetzung der Eluate von Produkten auf Basis wässriger Acrylate hat.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Identifizierung und Quantifizierung der Inhaltsstoffen galt es unter anderem Hinweise auf mögliche Inhaltsstoffe zu finden, die eine Erklärung für die teilweise erheblichen Unterschiede der algentoxischen Wirkung der Eluate verschiedener Produkte bieten könnten. In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben zur Algentoxizität. Während für Acrylsäure ein IC_{50} -Wert von 0,31 mg/l (72h) zu finden ist, wird dem Acrylat-Anion bzw. dem Salz der Acrylsäure ein IC_{50} -Wert von 171 mg/l zugeordnet [8].

Für die weitere Diskussion des Effekts der unterschiedlichen Algentoxizitäten von Bodeninjektionsmitteln auf Acrylsäurebasis einerseits und der hier vorliegenden Ergebnisse (Ausflockung) andererseits muss man den Chemismus von Acrylsäure in wässriger Lösung orientierend näher betrachten. Daher sind sowohl die Dissoziation von Acrylsäure mit dem Acrylat-Anion als Reaktionsprodukt, als auch die möglichen Polymerisationsreaktionen von Acrylsäure in wässrigen Lösungen zu beachten. Acrylsäure ist vollständig in Wasser löslich, sie gehört zu den mittelstarken Säuren. In reinem Wasser lässt sich aus dem pK_s (negativer Logarithmus der Säurekonstante K_S) von Acrylsäure ($pK_s = 4,22$) unter der Annahme einer Konzentration von 10 mg Acrylsäure/l (entsprechend 0,00014 mol/l), ableiten, dass theoretisch etwa die Hälfte der Acrylsäure dissoziiert als Acrylat-Anion und damit die andere Hälfte als Acrylsäure (gelöst) in reiner wässriger Lösung vorliegen. In den auf pH 9 eingestellten Kalibrierlösungen (Punkt 3) ist bei der Analyse davon auszugehen, dass nach der pH-Werts-Einstellung nur noch Acrylat-Anionen bzw. das Natriumsalz der Acrylsäure und keine Acrylsäure (gelöst) mehr in den Analysenlösungen vorliegt. Insgesamt ist daher davon auszugehen, dass in allen Bodeninjektionsmitteln die Acrylsäure in wässriger Lösung enthalten und einen pH-Wert ≤ 9 aufweisen, immer ein mehr oder minder kleiner Anteil an freier Acrylsäure in Wasser gelöst vorhanden ist. Dies gilt nicht für Produkte deren Ausgangsbasis bzw. Inhaltsstoffe die Salze der Acrylsäure (z.B. Mg-Acrylat) sind.

Für eine Abschätzung der Konzentrationen an Acrylat bzw. Acrylsäure in den Verdünnungsstufen der Algentest, die sowohl für die FU-Berlin [5] als auch vom Hygiene-Institut des Ruhrgebiets (HY), Gelsenkirchen, durchgeführt wurden, werden die mittels NMR ermittelten Acrylatgehalte der Säuleneluate der TOC-Maximumphasen und der Abklingphasen berücksichtigt.

Tabelle 19 zeigt als Ausgangsdaten für eine Abschätzung die Massenkonzentration an Acrylat, den Gehalt an Acrylat berechnet als gelöster organischer Kohlenstoff (DOC), den gesamten DOC-Gehalt, der mittels NMR bestimmt wurde, und den DOC- bzw. TOC-Gehalt, der mit Hilfe eines Kohlenstoffdetektors ermittelt wurde, für ausgewählte Eluate der Algentestversuche.

Weiterhin ist der prozentuale Anteil des Summengehaltes an Kohlenstoff, bezogen auf den „Gesamt-DOC-NMR-Gehalt“ und die berechnete DOC-Acrylat (NMR)-Konzentration, sowie die Verdünnungsstufe des Algentest, bei der die Hemmwirkung der Algenbiomasseproduktion < 20 % ist, aufgeführt.

Tabelle 19. Ausgangsdaten

Produkt	Gehalt an Acrylat in mg/l	Gehalt an Acrylat berechnet als DOC in mg/l	Gesamt – DOC – NMR (Messwert-DOC/TOC in Klammern)	%-Anteil Gesamt C (bezogen auf Acrylat-DOC und DOC-NMR)	G _A
FU-Berlin MC-Go-GI					
A (max)	430	216	258 (266)	84	>> 16 (>1024*)
B (max)	580	290	347 (243)	84	>> 16 (>1024*)
C (max)	240	121	168 (173)	72	>> 16 (>1024*)
HY, Gelsenk.					
MC-Go-GL 11 (max)	332	166	192 (251)	86	768
MC-Go-GL-12 (max)	30	15	50 (242)	30	768
MC-Go-GL-12 7+8+9	25	13	28 (65)	46	n.b.

* Nachuntersuchungen

Tabelle 20 zeigt eine Zusammenstellung der für die Proben berechneten Acrylat- (bzw. Acrylsäure-) Konzentrationen.

Tabelle 20. Berechnung des Gehalts an Acrylat (bzw. Acrylsäure) in den jeweiligen Verdünnungen (unter Berücksichtigung der Zugabe von Nährlösung und Volumen Algenlösung) – Basis Anteil an Acrylat / Acrylsäure im Eluat (vgl. Tab. 19)

Produkt	Gehalt an Acrylat in mg/l im Eluat	Rechnerisch ermittelter Gehalt an Acrylat/Acrylsäure in der Testlösung (Algentest) in mg/l bei 100 ml Testvolumen (ausgehend von 80 ml Eluat entsprechend DIN 38 412-33 – Algentest)				
		G 1	G 8	G 16	G 500	G 1000
FU-Berlin MC-Go-GI						
A (max)	430	344	54	27	0,9	0,4
B (max)	580	464	73	36	1,2	0,6
C (max)	240	192	30	15	0,5	0,2
HY, Gelsenk.						
MC-Go-GL 11 (max)	332	266	42	21	0,7	0,3
MC-Go-GL-12 (max)	30	24	4	2	0,06	0,03

Aus den Ergebnissen der NMR-Untersuchungen und den entsprechenden Verdünnungen lassen sich die Konzentrationen an Acrylat/Acrylsäure in den Testansätzen (Eluat + Verdünnungswasser + Nährlösung + Algenlösung) mit einem Verdünnungsverhältnis von 1:500 („G 500“) in Größenordnungen von 0,06 mg/l bis 1,2 mg/l berechnen. Für die Verdünnungsstufe „G 1000“ betragen die Konzentrationen an Acrylat/Acrylsäure 0,2 mg/l bis 0,6 mg/l (Mittelwert: 0,4 mg/l). In beiden Verdünnungen („G 500“ für MC-Go-GL 11 (max) und MC-Go-GL-12 (max), HY-Gelsenkirchen und „G 1000“ für PAC 1 A, B und C, FU-Berlin) ist eine Hemmung des Algenwachstums nachweisbar.

Unter Berücksichtigung der Annahme, dass das Elutionsverhalten in der Abklingphase des Säulenversuches den gleichen Bedingungen wie denen in der TOC-Maximumphase entspricht, lassen sich für die Abklingphase die in der Tabelle 21 aufgeführten Konzentrationen an Acrylat bzw. Acrylsäure rechnerisch ermitteln.

Tabelle 21. Abschätzung der Konzentration an Acrylat/Acrylsäure in der Abklingphase , hier Ergebnis Algentest = G1 (Ergebnisse HY Gelsenkirchen)

Produkt	Gehalt an Acrylat in mg/l im Eluat (max.)	DOC/TOC nach NMR im Eluat in mg/l	DOC/TOC in der Abklingphase (DOC-Messung)	Gehalt an Acryl. in mg/l im Testansatz in der Abklingphase (berechnet)	Ergebnis Algentest
	mg/l				
FU-Berlin MC-Go-GI					
A (max)	430	258	2	2,7	G 1
B (max)	580	347	2	2,7	G 1
C (max)	240	168	2	2,3	G 1
HY, Gelsenk.					
MC-Go-GL 11 (max)	332	192	3	4,2	G 1
MC-Go-GL- 12 (max)	30	50	3	1,4	G 1

Die rechnerisch ermittelten Konzentrationen an Acrylat bzw. Acrylsäure liegen in einem Bereich von 1,4 mg/l bis 4,2 mg/l. Die Algentests dieser Eluate zeigen keine Wachstumshemmung > 20 %.

Prüfungen der Algengiftigkeit gemäß DIN 38412 L33 mit Acrylsäure weisen bei Nominalkonzentrationen von 2,5 mg/l, 1,25 mg/l, 0,625 mg/l und 0,313 mg/l Hemmwirkungen von 99 % bis 76 % auf. Die Hemmwirkungen sind somit deutlich größer als 20 %.

Tabelle 22 zeigt die Hemmwirkung des Algenwachstums von Acrylsäure mit einer einfachen Nährmediumkonzentration. Die Nominalkonzentrationen an Acrylsäure beziehen sich hierbei jeweils auf eine Gesamttestlösung von 100 ml (wässrige Acrylsäurelösung + Nährmedium + Algenlösung).

Tabelle 22. Einfluss von Acrylsäure auf das Algenwachstum (Algentest nach DIN 38412 L33)* hier: Einfache Nährmediumkonzentration

Acrylsäure	Konzentration** (mg/l)	Hemmung (%)	pH-Wert	
			Testanfang	Testende
Probe 1	2,5	99	8,2	8,6
Probe 2	2,5	99	8,2	8,6
Probe 3	2,5	98	8,2	8,6
Probe 1	1,25	98	8,2	8,6
Probe 2	1,25	99	8,2	8,6
Probe 3	1,25	98	8,2	8,5
Probe 1	0,625	89	8,2	8,5
Probe 2	0,625	95	8,2	8,5
Probe 3	0,625	94	8,2	8,5
Probe 1	0,313	76	8,2	8,6
Probe 2	0,313	88	8,2	8,5
Probe 3	0,313	82	8,2	8,5

* Anmerkung: Fremdanalytik eines akkreditierten Labors.

**Anmerkung: Konzentration an Acrylsäure in der Testlösung (Wasser + Nährlösung + Algenlösung).

Bezogen auf die nominelle Anfangskonzentration von 2,5 mg Acrylsäure/l wurden erst ab den Verdünnungsstufen 1:96 („G 96“) bzw. 1:128 („G 128“) Hemmwirkungen von <20% ermittelt. Diese Verdünnungsstufen entsprechen rechnerisch Nominalkonzentrationen an Acrylsäure von 0,03 mg/l bzw. 0,02 mg/l.

Wie die in der Tabelle 23 aufgeführten Untersuchungsergebnisse verdeutlichen, weisen Vergleichsmessungen der Algentoxizität von Acrylsäure mit der doppelten Nährmediumkonzentration (Anmerkung: die Natriumhydrogen-Konzentration (NaHCO_3) entspricht hierbei der einfachen Nährmediumkonzentration) für die Nominalkonzentrationen 2,5 mg/l, 1,25 mg/l, 0,625 mg/l und 0,313 mg/l Hemmwirkungen von 98% bis 74% auf. Signifikante Unterschiede hinsichtlich der Hemmwirkung von Acrylsäure auf das Algenwachstum konnten im Vergleich zu den Untersuchungen mit der einfachen Nährmediumkonzentration bei der Zugabe der doppelten Nährmediumkonzentration unter den standardisierten Testbedingungen nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 23. Einfluss von Acrylsäure auf das Algenwachstum (Algentest nach DIN 38412 L33)*
 hier: Doppelte Nährmediumkonzentration**

Acrylsäure	Konzentration*** (mg/l)	Hemmung (%)	pH-Wert	
			Testanfang	Testende
Probe 3	2,5	98	8,1	8,7
Probe 3	1,25	98	8,1	8,6
Probe 3	0,625	93	8,1	8,6
Probe 3	0,313	74	8,1	8,7

* Anmerkung: Fremdanalytik eines akkreditierten Labors.

** Anmerkung: Die NaHCO_3 -Konzentration entspricht der einfachen Nährmediumkonzentration.

***Anmerkung: Konzentration an Acrylsäure in der Testlösung (Wasser + Nährlösung + Algenlösung).

Aufgrund der relativ hohen Algentoxizität der Acrylsäure und der nicht nachgewiesenen Algentoxizität der Testlösungen der sog. Abklingphase und der Eluate nach dem Abbaueversuch (jeweils G_A 1) ist davon auszugehen, dass der Anteil an Acrylsäure in diesen wässrigen Lösungen deutlich unterhalb der mittels NMR-Analytik nachweisbaren Acrylsäurekonzentration von 0,5 mg/l liegt. Für die Eluate des TOC-Maximus lässt sich aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zur Algentoxizität der Prüflösungen jedoch keine eindeutige Zuordnung hinsichtlich des toxikologischen Potentials der Inhaltsstoffe durchführen.

Neben der Salzbildung ist davon auszugehen, dass auch Polymerisationsprozesse in wässrigen Acrylsäure-Lösungen ablaufen können. Aus Untersuchungen zur Stabilität wässriger Acrylsäure-Lösungen ist bekannt, dass Sauerstoff als Polymerisationsinhibitor wirkt [9]. Bei einer Reduzierung des Gehalts an gelöstem Sauerstoff in wässrigen Lösungen muss von verschiedenen Polymerisationsreaktionen im System ausgegangen werden. Neben der Bildung von Monomer-Sauerstoff-Mischpolymerisaten werden unter anderem die Bildung 3-Hydroxypropionsäuren und deren Addukte mit Acrylsäure beschrieben [9]. Diese Addukte sind

NMR-spektrometrisch in wässrigen Lösungen de facto ebenso wenig nicht zu unterscheiden wie die freie Acrylsäure und das monomere Acrylat-Anion [9]. Alle diese Ausgangs- und Reaktionsprodukte werden, sofern in Wasser gelöst NMR-spektrometrisch summarisch als Acrylat erfasst. Im vorliegenden Fall sind in den tiefgefrorenen und aufgetauten Eluaten eindeutig Polyacrylate als Reaktionsprodukte nachweisbar. Ob und in welchem Umfang das Tieffrieren und Auftauen der Proben den Gehalt an gelöstem Sauerstoff beeinflusst haben, kann nur schwer beurteilt werden. Lagen vor dem Einfrieren klare Eluate vor, ist die Polymerisation von Acrylat bzw. Acrylsäure für die Bildung von Polyacrylaten in den Eluaten entweder während des Einfrier- oder Auftauprozesses ursächlich.

Insgesamt wird die Frage der Inhaltsstoffe von wässrigen Eluaten der Säulenextraktion von Bodeninjektionsmitteln auf Acrylatbasis von einer Reihe von Parametern wesentlich beeinflusst. Für eine weitergehende Identifizierung der Inhaltsstoffe der Eluate der hier eingesetzten Produkte ist daher der Einsatz anderer Analysenverfahren wie z.B. der Flüssigchromatographie/Massenspektrometrie (LC/MS) erforderlich, auf die im Rahmen dieses Vorhabens nicht zurückgegriffen werden konnte. In keinem Fall ist Tieffrieren von Eluatproben als Konservierungsmethode geeignet.

Zur weitergehenden Identifizierung der gelösten organischen Inhaltsstoffe in dem zu überprüfenden Eluat sollten neben der NMR- Spektroskopie auch weitere geeignete Analysenverfahren wie z.B. Derivatisierung spezifischer Verbindungen mit anschließender gaschromatographischer Detektion oder Flüssigkeitschromatographie/Massenspektrometrie (LC-MS bzw. LC-MS/MS) zur Anwendung kommen [21,22].

Das Verfahren DIN 38412-33 „Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen“ ist nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen aus unserer Sicht nur bedingt für die Überprüfung der Algengiftigkeit von wässrigen Eluaten bei Schleierinjektionen geeignet. Das Verfahren ist nur dann aussagekräftig, wenn die Prüflösungen einen relativ geringen Anteil an Trübungen und Ausfällungen aufweisen.

Die Schwebstoffe sollten sich in der in dem Verfahren DIN 38412-33 vorgegebenen Sedimentationszeit von ca. 2 Stunden absetzen und sedimentieren; weiterhin sollte der Polymerisationsprozess nach dem Säulenelutionsveruch abgeschlossen sein und die gelösten organischen Inhaltstoffe des Eluats dürfen nicht mit den Nährlösungen reagieren.

Wir schlagen daher vor, dass die Prüfwässer vor ihrer Untersuchung durch geeignete Verfahren von Trübstoffen und Ausfällungen getrennt werden. Ist dies nicht möglich bzw. nicht gewünscht, so sollten alternative Verfahren, wie z.B. der Wasserlinsentest, verwendet werden [6]. Die Eignung dieser Tests für Schleierinjektionen muss jedoch überprüft werden.

Aus den Ergebnissen der v.g. Untersuchungen ergibt sich die Fragestellung, ob die Trübung in Prüfwässern bei Schleierinjektionsprüfungen reproduzierbar auftritt und ob die Trübung reproduzierbar bestimmt werden kann. Hierzu müsste eine größere Anzahl an Prüfwässern, die unter gleichen Bedingungen hergestellt wurden, in Abhängigkeit von unterschiedlichen Randbedingungen, wie z.B. pH-Wert, Licht, Temperatur, Zugabe von unterschiedlichen Gehalten an Nährlösungen, auf die Parameter Trübung und Algengiftigkeit untersucht werden.

Weiterhin schlagen wir vor, die Eluate der Schleierinjektionen auf Acrylatbasis stets kurzfristig nach dem Säuleneluatversuch zu untersuchen und zunächst nur bei Raumtemperatur ($> 15^{\circ}\text{C}$) dunkel zu lagern. Ist es trotzdem erforderlich, dass das wässrige Probenmaterial eingefroren werden muss, so sollte die Probe unter Rühren bzw. Schwenken und ggf. unter Sauerstoffzutritt aufgetaut werden, damit keine Trennung der Stabilisatoren und kein Sauerstoffmangel eintreten kann [13]. Nach dem Auftauen ist der DOC- und/oder TOC-Gehalt der Probe zu ermitteln und mit den Konzentrationswerten vor dem Einfrieren zu vergleichen. Ist ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des organischen Kohlenstoffgehaltes vor und nach dem Einfrieren feststellbar, so ist grundsätzlich die weitere Vorgehensweise im Hinblick auf die Bestimmung der Algengiftigkeit mit dem Deutschen Institut für Bautechnik (DIBt), Berlin, abzustimmen. Die Eignung dieses Verfahrens sollte ebenfalls überprüft werden.

Dr.rer.nat. Andreas Koch
Hygiene-Institut des Ruhrgebiets
Leiter der Abteilung für wasserhygienische Materialprüfungen

Dr.rer.nat. Gerhard Volland
Materialprüfungsanstalt
Universität Stuttgart
Abteilungsleiter
Abteilung Dauerhaftigkeit und
Schutz von Bauten und Anlagen

Roland Weiß
Hygiene-Institut des Ruhrgebiets
Dipl.-Biologe
Abt. für wasserhygienische
Materialprüfungen

Literatur

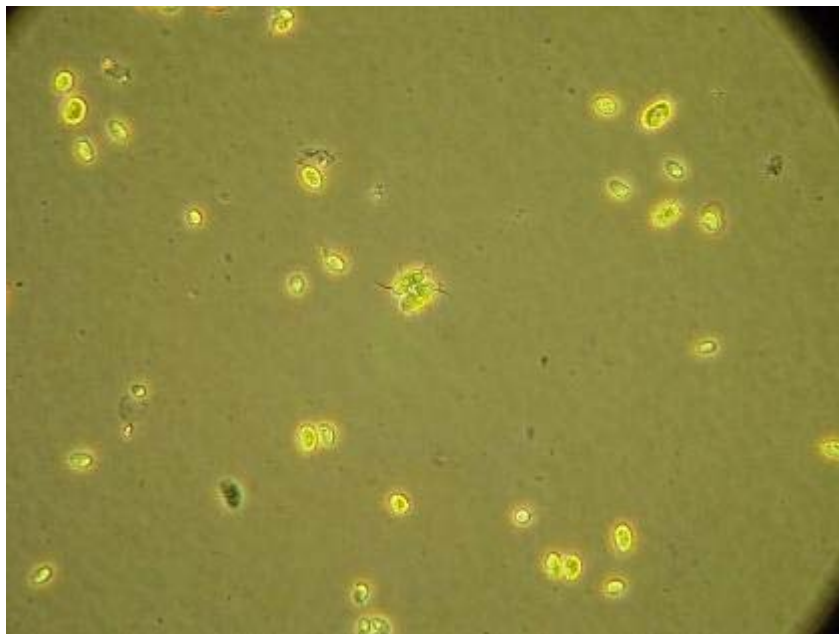
- [1] DIN 38412 -33: 1991-03: Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen (L33).
- [2] DIN 38412-30: 1989-03: Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen (L30).
- [3] DIN EN ISO 11348-2:2009-05: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* – Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (L52).
- [4] OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS 301, Adopted: 17.07.92: "Ready Biodegradability".
- [5] OECD-Test-Guideline 301 F: "Manometric respirometry test", 17.07.92.
- [6] EN ISO 20079:2006 (D): Wasserlinsen (*Lemna minor*) – Wachstumshemmtest (L49).
- [7] Deutsches Institut für Bautechnik (DIBt): „Grundsätze zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“, Teile I (Mai 2009), Teil II (September 2011), Teil III (Fassung Mai 2009). Berlin: Deutsches Institut für Bautechnik, DIBt
- [8] R. Wagner „Inverser Säulenversuch zur Beurteilung der Auswirkung von Bodeninjektionsmitteln auf Boden und Grundwasser“, Dissertation Freie Universität Berlin 2011.
- [9] H. Brand „Reaktionstechnische Studien zum Einfluss von Wasser auf die Stabilität von Acrylsäure“, Dissertation Technische Universität Darmstadt 2011.
- [10] H. Becker „Polymerisationsinhibierung von (Meth-)Acrylaten - Stabilisator- und Sauerstoffverbrauch -“, Dissertation Technische Universität Darmstadt 2003.
- [11] N. Loges „Kontrolle der Morphologie und Polymorphie von Calciumcarbonat durch monomere und polymere ionische Additive“, Dissertation Johannes Gutenberg-Universität Mainz 2009.
- [12] S. Lages „Untersuchungen zum Kollabierungs- und Aggregationsverhalten von gelösten Polyacrylaten in Gegenwart zweiwertiger Kationen“, Dissertation Universität Paderborn 2009.
- [13] Ullmanns Encyclopädie der technischen Chemie, Band 7, 4. Auflage, Verlag Chemie Weinheim / Bergstr..
- [14] Römpps Chemie-Lexikon, 8. Auflage, Franck`sche Verlagshandlung Stuttgart.
- [15] F. Conzelmann „Einfache Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit nach OECD 301 F mit dem OxiTop“, melliand Sonderdruck 10/1996, 700-702.

- [16] L.P.O`Malley „Evaluattion and modification of the OECD 301 F respirometry biodegradation test method with regard to test substance concentration and inoculum“, Water, Air and Soil Pollution (2006) 177: 251-265, Springer 2006.
- [17] K. Roppola “Environmental applications of manometric respirometric methods”, Faculty of Science, Department of Chemistry, University of Oulu, Finland, Acta Univ. Oul. A 527, 2009.
- [18] EUROPEAN CHEMICALS AGENCY (ECHA), Internet Datenbank: Information on Chemicals / Search for Chemicals / Acrylic Acid / Registered Substances / 1,000,000-10,000,000 tonnes per annum / Environmental fate and pathways / Biodegradation / Biodegradation in water: screening tests.
- [19] Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31 (REACH-Verordnung), MC-Bauchemie Müller GmbH Co. KG, D-46238 Bottrop, überarbeitet am: 08.12.2010, Handelsname: Magnesiumdiacrylat
- [20] EUROPEAN CHEMICALS AGENCY (ECHA), Internet Datenbank: Information on Chemicals / Search for Chemicals / Acrylic Acid / Registered Substances / 1,000,000-10,000,000 tonnes per annum / Ecotoxicological Information / Aquatic toxicity / Toxicity to aquatic algae and cyanobacteria.
- [21] Appathurai Vairavamurthy, M.O.Andreae, J.M.Brooks “Determination of Acrylic Acid in Aqueous Samples by Elerctron Capture Gas Chromatography after Extraction with Tri-n-octylphosphine Oxide and Derivatization with Pentafluorbenzyl Bromide”, Anal. Chem.. 1986, 58, 2684-2687.
- [22] Ch. Rück “Untersuchung der Permeation von Etikettenklebstoffen auf Polyacrylatbasis durch pharmazeutische Kunststoffbehältnisse“, Dissertation Freie Universität Berlin 2009.
- [23] Volland G. ; Herterich U. Betonzusatzmittel in Beton – Untersuchungen zum Nachweis von Zusatzmitteln und deren mobiler Reaktions- bzw. Abbauprodukte mittels polarer Lösemittel mit Hilfe der Kernresonanzspektrometrie Abschlussbericht DIBt – Forschungsvorhaben 32-5-20.37-1027/02 – 2003
- [24] Volland, G., Herterich, U., Krause, G., Reinhardt, H.W. Nachweis von Betonzusatzmitteln in erhärteten, zementgebundenen Baustoffen Beton+Fertigteil-Technik BFT 11, 2005 S 48 – 56
- [25] Prof. Dr. K. Terytze Fachbereich Geowissenschaften Institut für Physische Geographie AG Organische Umweltgeochemie "Laborvergleichstest zur Normierung der inversen Säulenelution nach Schössner und Validierung der Parameter und Kriterien für die ökotoxikologische Bewertung von Bauprodukten mittels Ammoniumoxidations- und Bodenatmungstest als Bestandteil einer ökotoxikologischen Testbatterie zur Bewertung der Wirkungen von Bauprodukten auf Böden (Bewertung der ökotoxikologischen Auswirkungen von Bauprodukten auf Böden - Teil III)" - Forschungsbericht für das deutsche Institut für Bautechnik, Berlin

Bild 1: Lichtbank mit temperierbarem Wasserbad für die Anzucht von Algen

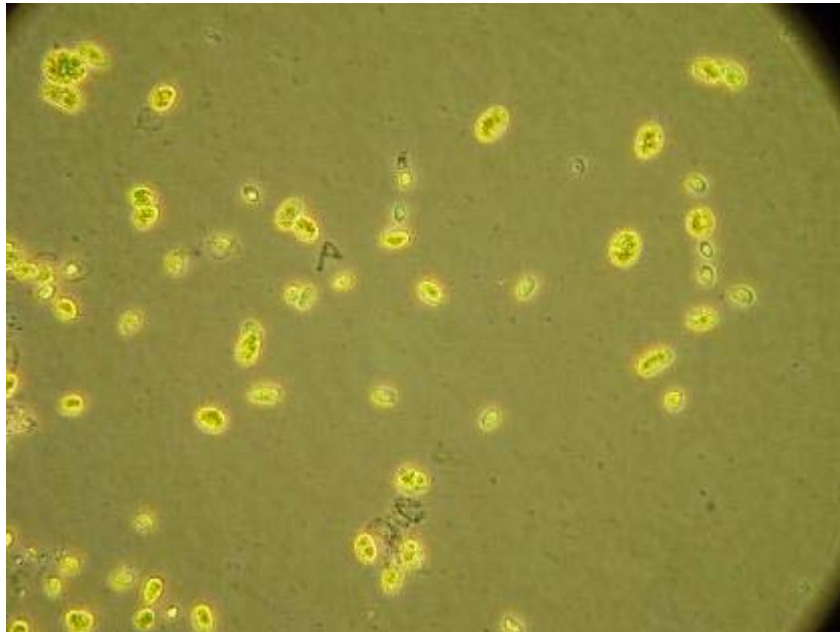


Bild 2: Grünalge „*Desmodesmus subspicatus*“



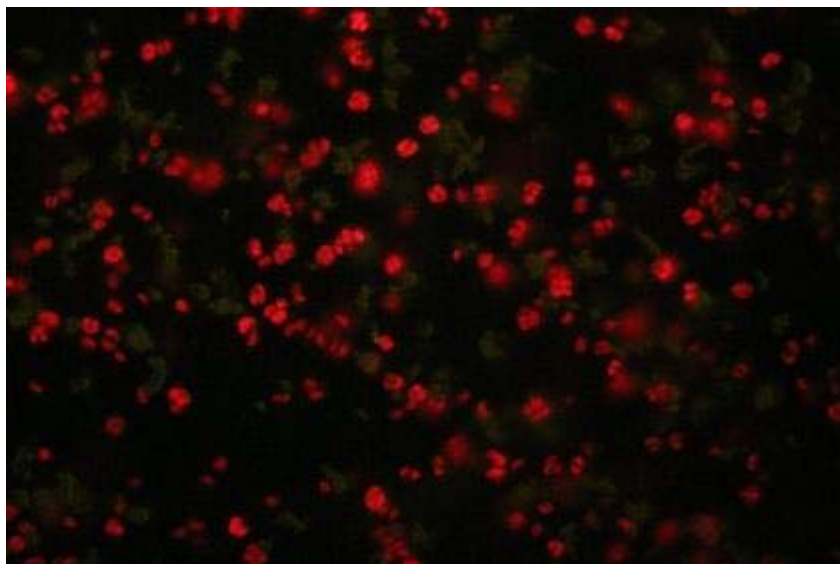
(Lichtmikroskopie, Phasenkontrast, 400-fache Vergrößerung)

Bild 3: Grünalge „Desmodesmus subspicatus“



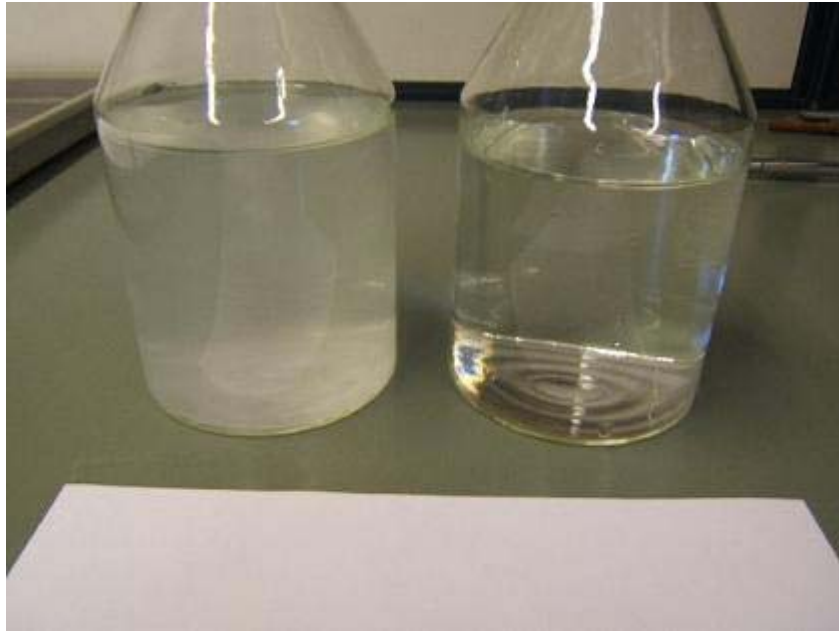
(Lichtmikroskopie, Phasenkontrast, 400-fache Vergrößerung)

Bild 4: Grünalge „Desmodesmus subspicatus“



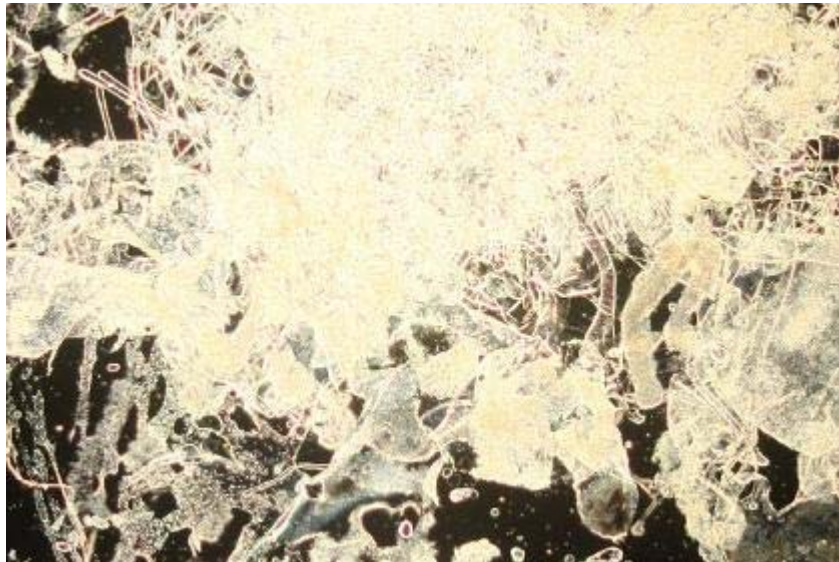
(Fluoreszenzmikroskopie)

Bild 5: Eluat des TOC-Maximums nach dem Auftauen (Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule C)
Linke Flasche: Unfiltriertes Eluat mit Ausflockungen, rechte Flasche: membranfiltriertes Eluat



(Linke Flasche: unfiltriertes Eluat mit Ausflockungen; rechte Flasche: membranfiltriertes Eluat)

Bild 6: Ausflockungen im Eluat



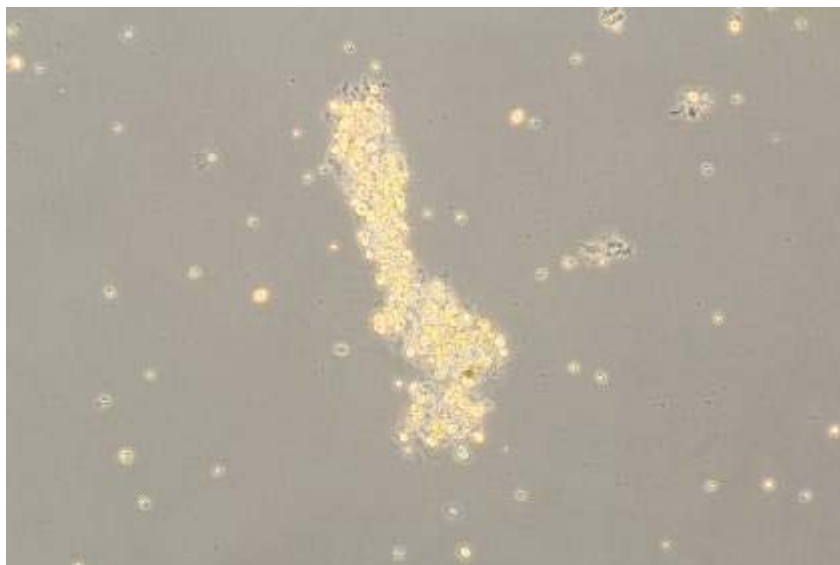
(Lichtmikroskopie, Dunkelfeld, 50-fache Vergrößerung)

Bild 7: Ausflockungen im Eluat



(Lichtmikroskopie, Phasenkontrast, 100-fache Vergrößerung)

Bild 8: Anlagerung von *Desmodesmus subspicatus* an einer Ausflockung eines Eluats



(Lichtmikroskopie, Phasenkontrast, 100-fache Vergrößerung)

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule A)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	29.08.2011	farblos	ohne	keine
1	29.08.2011 / 10:05	farblos	schwach sandig	keine
2	29.08.2011 / 10:35	farblos	schwach organisch	schwach
3	29.08.2011 / 11:05	farblos	organisch	schwach
4	29.08.2011 / 11:35	farblos	stark organisch	schwach
5	29.08.2011 / 12:05	farblos	organisch	schwach
6	29.08.2011 / 12:35	farblos	organisch	schwach
7	29.08.2011 / 13:05	farblos	organisch	schwach
8	29.08.2011 / 13:35	farblos	schwach organisch	schwach
9	29.08.2011 / 14:05	farblos	schwach organisch	schwach
10	29.08.2011 / 14:35	farblos	schwach organisch	schwach
11	29.08.2011 / 15:05	farblos	schwach organisch	schwach
12	29.08.2011 / 15:35	farblos	schwach organisch	schwach
13	29.08.2011 / 16:05	farblos	schwach organisch	schwach
14	29.08.2011 / 16:35	farblos	schwach organisch	schwach
15	29.08.2011 / 17:05	farblos	schwach organisch	keine
Vergleichswasser	30.08.2011	farblos	ohne	keine
16	30.08.2011 / 10:05	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	31.08.2011	farblos	ohne	keine
17	31.08.2011 / 10:05	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	02.09.2011	farblos	ohne	keine
18	02.09.2011 / 10:05	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	05.09.2011	farblos	ohne	keine
19	05.09.2011 / 10:05	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	12.09.2011	farblos	ohne	keine
20	12.09.2011 / 10:05	farblos	ohne	keine

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule A)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähig- keit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	29.08.2011	7,6	507	2,7	0,12
1	29.08.2011 / 10:05	7,9	499	2,8	1,24
2	29.08.2011 / 10:35	7,8	824	190	0,23
3	29.08.2011 / 11:05	7,8	1008	294	0,11
4	29.08.2011 / 11:35	7,8	714	98,8	0,33
5	29.08.2011 / 12:05	7,7	611	57,3	0,28
6	29.08.2011 / 12:35	7,7	583	35,2	0,22
7	29.08.2011 / 13:05	7,8	554	17,5	0,32
8	29.08.2011 / 13:35	7,8	545	13,6	0,21
9	29.08.2011 / 14:05	7,8	542	10,6	0,23
10	29.08.2011 / 14:35	7,7	535	8,9	0,22
11	29.08.2011 / 15:05	7,7	533	8,1	0,23
12	29.08.2011 / 15:35	7,7	531	7,3	0,31
13	29.08.2011 / 16:05	7,8	529	7,0	0,29
14	29.08.2011 / 16:35	7,8	527	6,6	0,32
15	29.08.2011 / 17:05	7,8	526	6,3	0,26
Vergleichswasser	30.08.2011	7,6	502	2,6	0,12
16	30.08.2011 / 10:05	7,8	512	3,9	0,22
Vergleichswasser	31.08.2011	7,6	508	2,6	0,11
17	31.08.2011 / 10:05	7,8	519	3,6	0,12
Vergleichswasser	02.09.2011	7,6	502	2,5	0,17
18	02.09.2011 / 10:05	7,9	506	3,0	0,08
Vergleichswasser	05.09.2011	7,6	506	2,8	0,19
19	05.09.2011 / 10:05	7,7	509	2,8	0,09
Vergleichswasser	12.09.2011	7,5	510	2,6	0,13
20	12.09.2011 / 10:05	7,7	519	2,7	0,07

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule B)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	29.08.2011	farblos	ohne	keine
1	29.08.2011 / 10:04	farblos	schwach sandig	keine
2	29.08.2011 / 10:34	farblos	schwach organisch	schwach
3	29.08.2011 / 11:04	farblos	organisch	schwach
4	29.08.2011 / 11:34	farblos	stark organisch	schwach
5	29.08.2011 / 12:04	farblos	organisch	schwach
6	29.08.2011 / 12:34	farblos	organisch	schwach
7	29.08.2011 / 13:04	farblos	organisch	schwach
8	29.08.2011 / 13:34	farblos	schwach organisch	schwach
9	29.08.2011 / 14:04	farblos	schwach organisch	schwach
10	29.08.2011 / 14:34	farblos	schwach organisch	schwach
11	29.08.2011 / 15:04	farblos	schwach organisch	schwach
12	29.08.2011 / 15:34	farblos	schwach organisch	schwach
13	29.08.2011 / 16:04	farblos	schwach organisch	schwach
14	29.08.2011 / 16:34	farblos	schwach organisch	schwach
15	29.08.2011 / 17:04	farblos	schwach organisch	keine
Vergleichswasser	30.08.2011	farblos	ohne	keine
16	30.08.2011 / 10:04	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	31.08.2011	farblos	ohne	keine
17	31.08.2011 / 10:04	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	02.09.2011	farblos	ohne	keine
18	02.09.2011 / 10:04	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	05.09.2011	farblos	ohne	keine
19	05.09.2011 / 10:04	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	12.09.2011	farblos	ohne	keine
20	12.09.2011 / 10:04	farblos	ohne	keine

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule B)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähigkeit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	29.08.2011	7,6	507	2,7	0,12
1	29.08.2011 / 10:04	7,9	477	3,0	1,18
2	29.08.2011 / 10:34	7,8	835	208	0,39
3	29.08.2011 / 11:04	7,8	1054	344	0,34
4	29.08.2011 / 11:34	7,7	859	200	0,23
5	29.08.2011 / 12:04	7,8	718	105	0,27
6	29.08.2011 / 12:34	7,8	629	58,2	0,32
7	29.08.2011 / 13:04	7,8	587	35,6	0,31
8	29.08.2011 / 13:34	7,8	567	24,9	0,42
9	29.08.2011 / 14:04	7,8	557	18,2	0,46
10	29.08.2011 / 14:34	7,8	548	14,5	0,34
11	29.08.2011 / 15:04	7,8	542	12,3	0,41
12	29.08.2011 / 15:34	7,8	538	10,2	0,42
13	29.08.2011 / 16:04	7,8	535	8,9	0,42
14	29.08.2011 / 16:34	7,8	534	8,2	0,45
15	29.08.2011 / 17:04	7,8	531	7,6	0,34
Vergleichswasser	30.08.2011	7,6	502	2,6	0,12
16	30.08.2011 / 10:04	7,8	514	4,1	0,31
Vergleichswasser	31.08.2011	7,6	508	2,6	0,11
17	31.08.2011 / 10:04	7,8	520	3,5	0,23
Vergleichswasser	02.09.2011	7,6	502	2,5	0,17
18	02.09.2011 / 10:04	7,9	520	3,3	0,08
Vergleichswasser	05.09.2011	7,6	506	2,8	0,19
19	05.09.2011 / 10:04	7,8	509	2,9	0,08
Vergleichswasser	12.09.2011	7,5	510	2,6	0,13
20	12.09.2011 / 10:04	7,7	511	2,8	0,14

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule C)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	29.08.2011	farblos	ohne	keine
1	29.08.2011 / 10:02	farblos	schwach sandig	keine
2	29.08.2011 / 10:32	farblos	schwach sandig	keine
3	29.08.2011 / 11:02	farblos	schwach organisch	schwach
4	29.08.2011 / 11:32	farblos	organisch	schwach
5	29.08.2011 / 12:02	farblos	stark organisch	schwach
6	29.08.2011 / 12:32	farblos	organisch	schwach
7	29.08.2011 / 13:02	farblos	organisch	schwach
8	29.08.2011 / 13:32	farblos	schwach organisch	schwach
9	29.08.2011 / 14:02	farblos	schwach organisch	schwach
10	29.08.2011 / 14:32	farblos	schwach organisch	schwach
11	29.08.2011 / 15:02	farblos	schwach organisch	schwach
12	29.08.2011 / 15:32	farblos	schwach organisch	schwach
13	29.08.2011 / 16:02	farblos	schwach organisch	schwach
14	29.08.2011 / 16:32	farblos	schwach organisch	schwach
15	29.08.2011 / 17:02	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	30.08.2011	farblos	ohne	keine
16	30.08.2011 / 10:02	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	31.08.2011	farblos	ohne	keine
17	31.08.2011 / 10:02	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	02.09.2011	farblos	ohne	keine
18	02.09.2011 / 10:02	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	05.09.2011	farblos	ohne	keine
19	05.09.2011 / 10:02	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	12.09.2011	farblos	ohne	keine
20	12.09.2011 / 10:02	farblos	ohne	keine

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule C)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähigkeit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	29.08.2011	7,6	507	2,7	0,12
1	29.08.2011 / 10:02	7,7	499	2,8	0,91
2	29.08.2011 / 10:32	7,7	500	2,9	0,33
3	29.08.2011 / 11:02	7,6	733	124	0,21
4	29.08.2011 / 11:32	7,6	1005	305	0,13
5	29.08.2011 / 12:02	7,6	868	201	0,24
6	29.08.2011 / 12:32	7,6	691	94,4	0,38
7	29.08.2011 / 13:02	7,6	608	44,3	0,32
8	29.08.2011 / 13:32	7,7	584	30,8	0,39
9	29.08.2011 / 14:02	7,7	562	21,3	0,44
10	29.08.2011 / 14:32	7,8	548	15,4	0,48
11	29.08.2011 / 15:02	7,7	541	12,9	0,48
12	29.08.2011 / 15:32	7,7	536	10,0	0,49
13	29.08.2011 / 16:02	7,8	534	8,4	0,60
14	29.08.2011 / 16:32	7,7	531	7,6	0,47
15	29.08.2011 / 17:02	7,7	529	7,0	0,41
Vergleichswasser	30.08.2011	7,6	502	2,6	0,12
16	30.08.2011 / 10:02	7,8	513	3,3	0,17
Vergleichswasser	31.08.2011	7,6	508	2,6	0,11
17	31.08.2011 / 10:02	7,7	521	3,4	0,22
Vergleichswasser	02.09.2011	7,6	502	2,5	0,17
18	02.09.2011 / 10:02	7,9	508	3,2	0,10
Vergleichswasser	05.09.2011	7,6	506	2,8	0,19
19	05.09.2011 / 10:02	7,8	509	2,9	0,09
Vergleichswasser	12.09.2011	7,5	510	2,6	0,13
20	12.09.2011 / 10:02	7,7	511	2,9	0,08

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule D)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	29.08.2011	farblos	ohne	keine
1	29.08.2011 / 10:00	farblos	schwach sandig	keine
2	29.08.2011 / 10:30	farblos	schwach organisch	schwach
3	29.08.2011 / 11:00	farblos	organisch	schwach
4	29.08.2011 / 11:30	farblos	organisch	schwach
5	29.08.2011 / 12:00	farblos	organisch	schwach
6	29.08.2011 / 12:30	farblos	organisch	schwach
7	29.08.2011 / 13:00	farblos	organisch	schwach
8	29.08.2011 / 13:30	farblos	schwach organisch	schwach
9	29.08.2011 / 14:00	farblos	schwach organisch	schwach
10	29.08.2011 / 14:30	farblos	schwach organisch	schwach
11	29.08.2011 / 15:00	farblos	schwach organisch	schwach
12	29.08.2011 / 15:30	farblos	schwach organisch	schwach
13	29.08.2011 / 16:00	farblos	schwach organisch	schwach
14	29.08.2011 / 16:30	farblos	schwach organisch	schwach
15	29.08.2011 / 17:00	farblos	schwach organisch	schwach
Vergleichswasser	30.08.2011	farblos	ohne	keine
16	30.08.2011 / 10:00	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	31.08.2011	farblos	ohne	keine
17	31.08.2011 / 10:00	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	02.09.2011	farblos	ohne	keine
18	02.09.2011 / 10:00	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	05.09.2011	farblos	ohne	keine
19	05.09.2011 / 10:00	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	12.09.2011	farblos	ohne	keine
20	12.09.2011 / 10:00	farblos	ohne	keine

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule D)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähigkeit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	29.08.2011	7,6	507	2,7	0,12
1	29.08.2011 / 10:00	7,6	505	3,0	0,97
2	29.08.2011 / 10:30	7,7	570	38,5	0,86
3	29.08.2011 / 11:00	7,5	980	274	0,20
4	29.08.2011 / 11:30	7,6	941	259	0,33
5	29.08.2011 / 12:00	7,7	816	176	0,28
6	29.08.2011 / 12:30	7,6	708	111	0,36
7	29.08.2011 / 13:00	7,7	629	59,0	0,53
8	29.08.2011 / 13:30	7,7	618	51,5	0,45
9	29.08.2011 / 14:00	7,7	605	41,8	0,51
10	29.08.2011 / 14:30	7,8	595	37,6	0,39
11	29.08.2011 / 15:00	7,8	588	34,6	0,58
12	29.08.2011 / 15:30	7,7	585	32,1	0,46
13	29.08.2011 / 16:00	7,8	580	30,3	0,36
14	29.08.2011 / 16:30	7,8	574	29,3	0,34
15	29.08.2011 / 17:00	7,7	570	28,0	0,29
Vergleichswasser	30.08.2011	7,6	502	2,6	0,12
16	30.08.2011 / 10:00	7,7	517	5,2	0,22
Vergleichswasser	31.08.2011	7,6	508	2,6	0,11
17	31.08.2011 / 10:00	7,7	525	3,9	0,15
Vergleichswasser	02.09.2011	7,6	502	2,5	0,17
18	02.09.2011 / 10:00	7,8	506	3,3	0,16
Vergleichswasser	05.09.2011	7,6	506	2,8	0,19
19	05.09.2011 / 10:00	7,8	509	3,0	0,07
Vergleichswasser	12.09.2011	7,5	510	2,6	0,13
20	12.09.2011 / 10:00	7,6	511	2,6	0,08

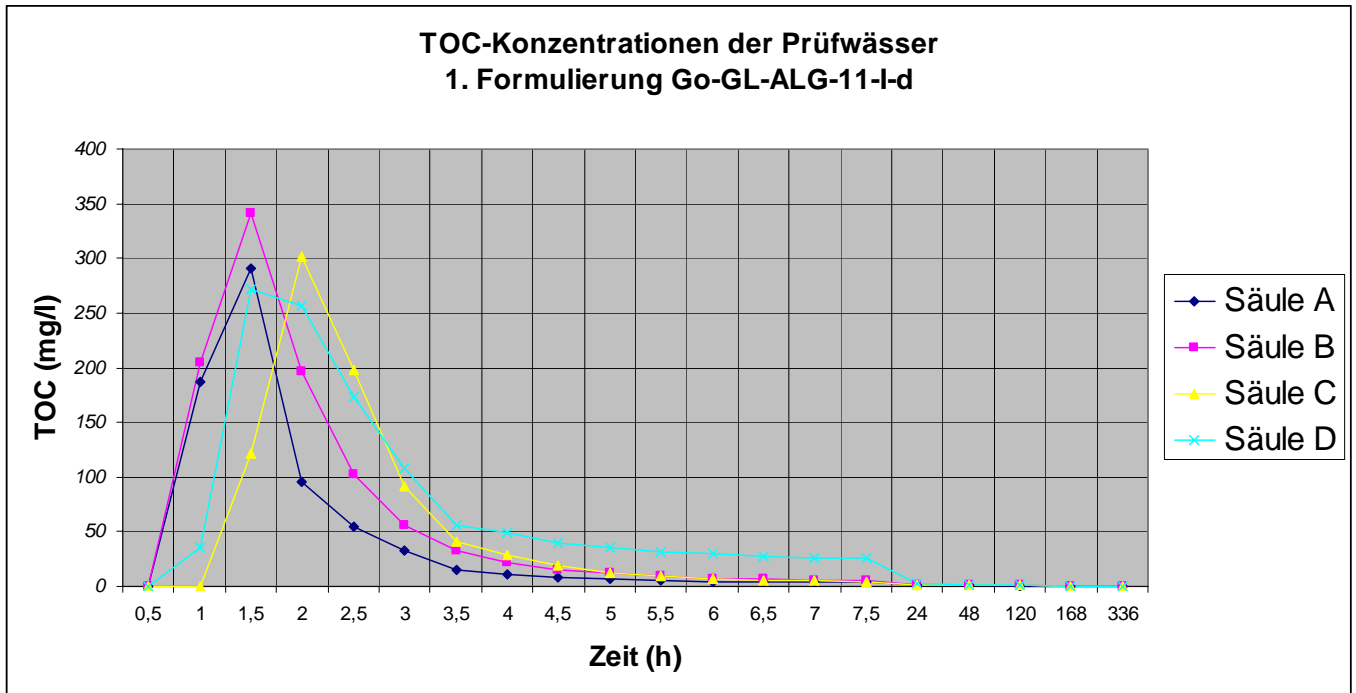


Tabelle: Analysen der Prüfwasserfraktionen Säule B, C und D, 1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d

Probe	Algentoxizität
Säule B, Mischfraktion des Maximums (Frakt. 2 bis 4)	$G_A = 768$
Säule B, Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)	$G_A = 1$
Säule C, Mischfraktion des Maximums (Frakt. 3 bis 5)	$G_A = 768$
Säule C, Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)	$G_A = 1$
Säule D, Mischfraktion des Maximums (Frakt. 3 bis 5)	$G_A = 768$
Säule D, Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)	$G_A = 1$

1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Umströmungsversuch (Säule B)

Tabelle: Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse der TOC-Maxima-Fraktion

Parameter	1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4)
-----------	---

Eluatzusammensetzung vor Abbautest	
TOC-Maximum (Mischfraktion Säulentest)	251 mg/l
Algengiftigkeit (G _A), vor Abbautest	768
Eluatzusammensetzung mittels NMR-Spektroskopie* (vor Abbautest):	
∑ DOC*	93 mg/l
Acrylsäure (Salze)*	133 mg/l (≈ DOC: 67 mg/l)
Ethylenglykol*	36 mg/l (≈ DOC: 14 mg/l)
weitere nicht in einzelnen identifizierbaren Verbindungen*	(≈ DOC: 12 mg/l)
Ausfällung ("farblose gummiartige Produkte", grav. Best.)*	20 mg
Abbaubarkeit	89 %

Eluatzusammensetzung nach Abbautest	
Eluatzusammensetzung mittels NMR-Spektroskopie* (nach Abbautest):	
Formiat*	0,3 mg/l (≈ DOC: 0,05 mg/l)
aliphatische Kohlenwasserstoffe*	Spuren, Konz. nicht bestimmbar
Algengiftigkeit (G _A), nach Abbautest	1

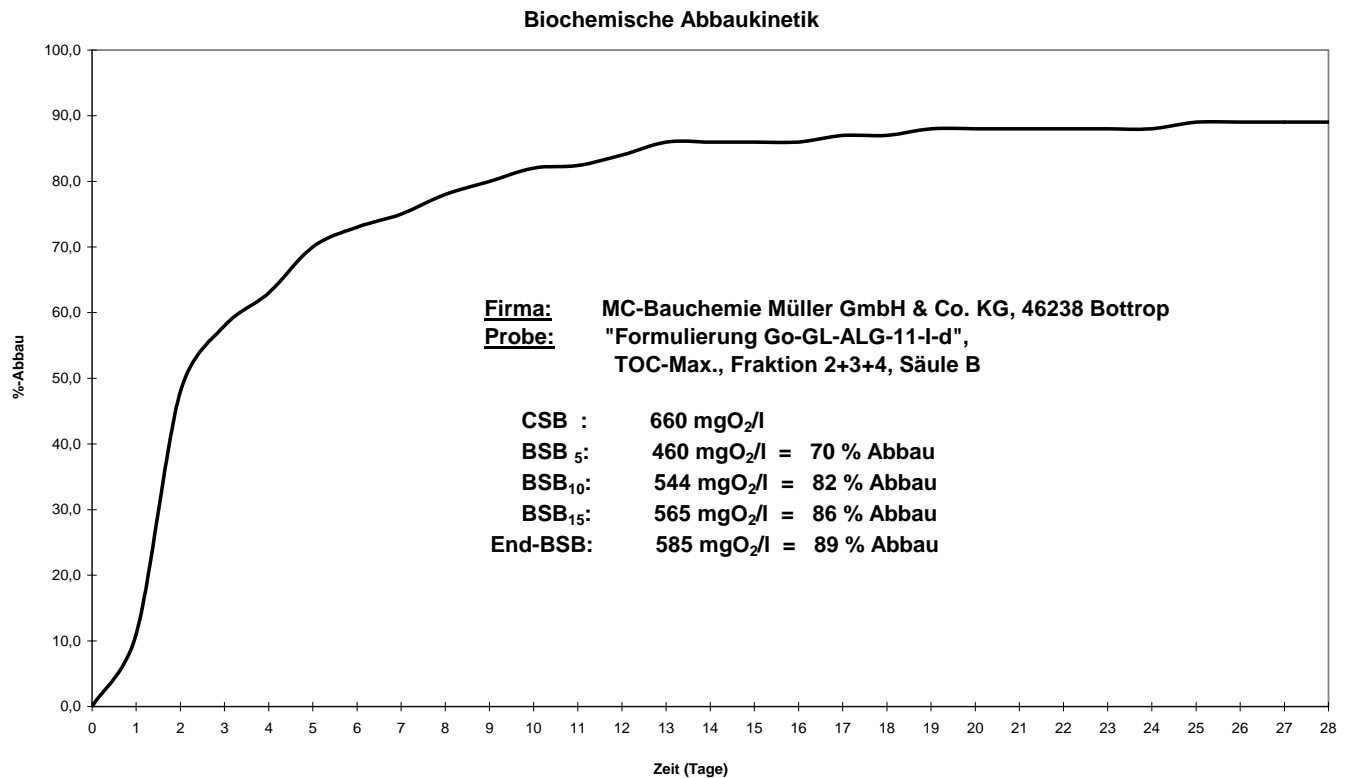
* Fremdanalytik: MPA Universität Stuttgart, Stuttgart

Tabelle: Biologische Abbautests der Prüfwasserfraktion Säule B

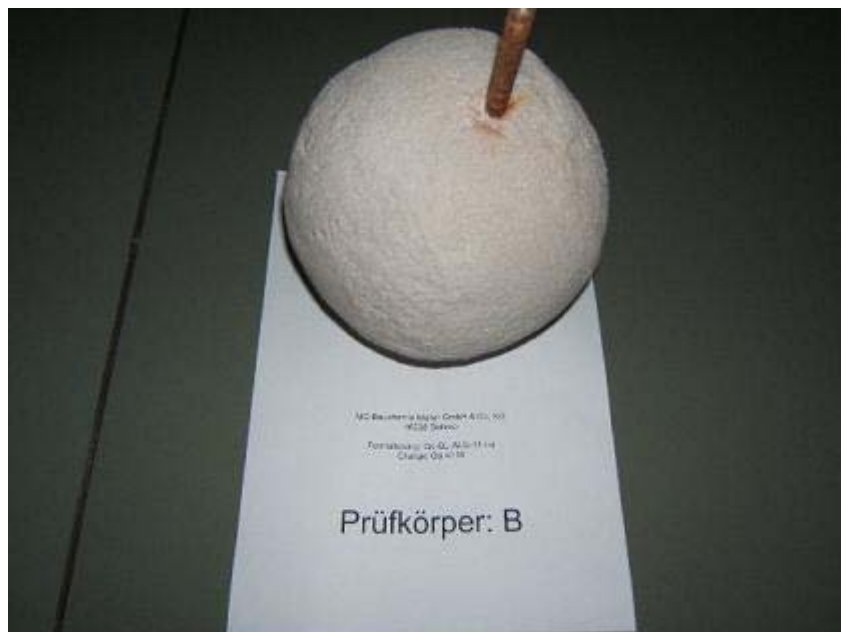
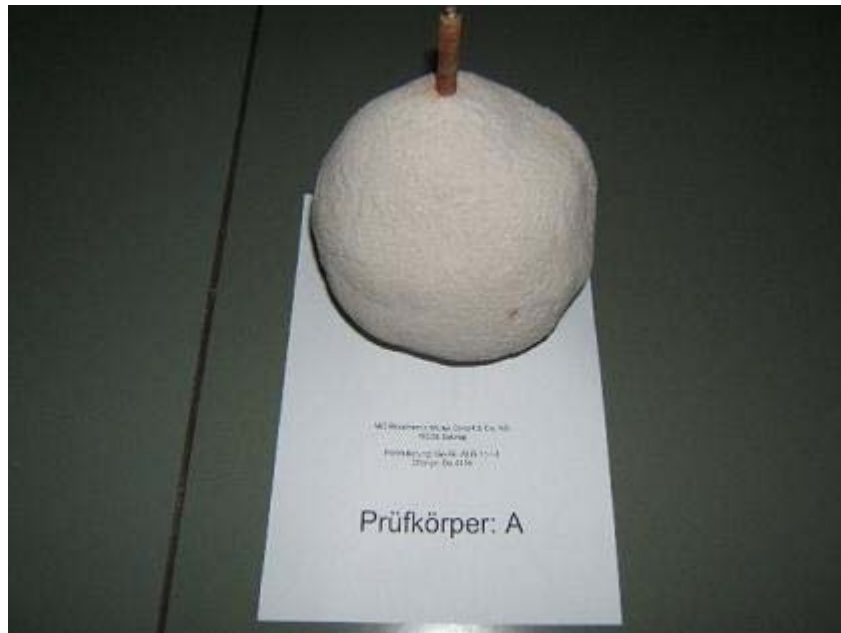
Parameter	OECD-Test 301 F (Manometrischer Respirationstest) Mischfraktion des Maximums (Frakt. 2 bis 4)
CSB	660 mg/l
Biologischer Abbau nach 5 Tagen	70 %
Biologischer Abbau nach 28 Tagen	89 %

Tabelle: Analyse der Prüfwasserfraktionen Säule B

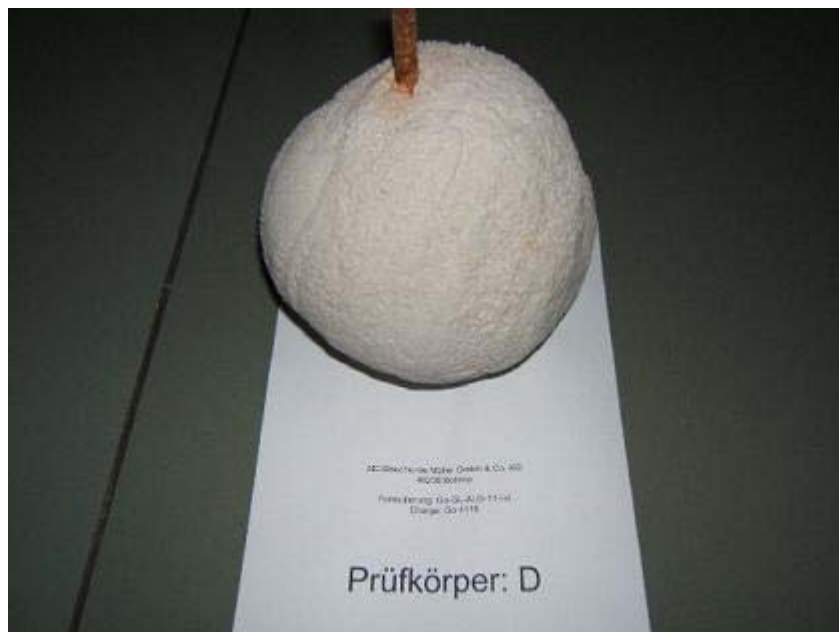
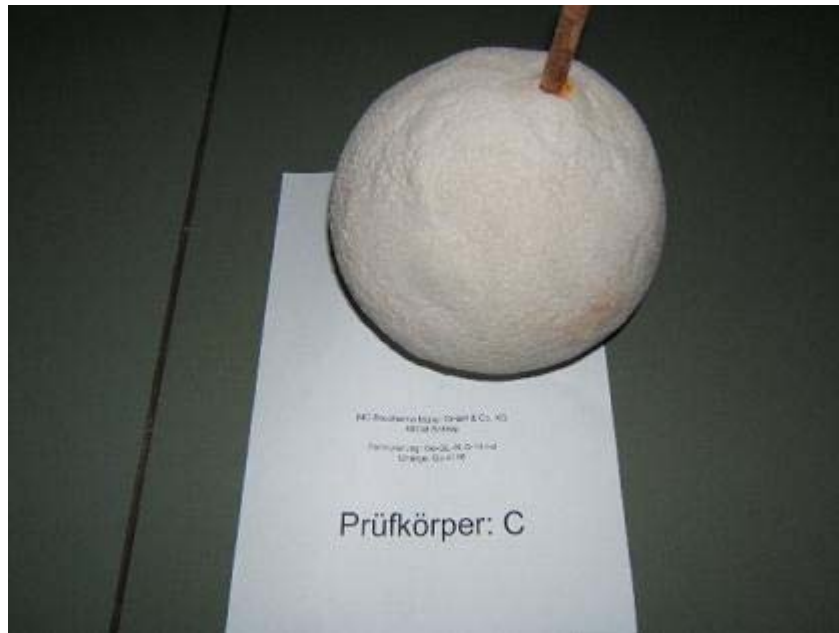
Parameter	1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d (Säule B) Mischfraktion des Maximums (Frakt. 2 bis 4)	1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d (Säule B) Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)
Leuchtbakterientoxizität	$G_L = 4$	-
Daphnientoxizität	$G_D = 1$	-
Algentoxizität vor Abbaubarkeit	$G_A = 768$	$G_A = 1$
Algentoxizität nach Abbaubarkeit	$G_A = 1$	-
TOC mg/l	251	-
biologischer Abbau nach 28 Tagen in %	89	-



1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d



1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d



2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule A)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	19.09.2011	farblos	ohne	keine
1	19.09.2011 / 09:09	farblos	sandig	keine
2	19.09.2011 / 09:39	farblos	organisch	keine
3	19.09.2011 / 10:09	farblos	schwach organisch	schwach
4	19.09.2011 / 10:39	farblos	organisch	schwach
5	19.09.2011 / 11:09	farblos	organisch	schwach
6	19.09.2011 / 11:39	farblos	stark organisch	schwach
7	19.09.2011 / 12:09	farblos	stark organisch	schwach
8	19.09.2011 / 12:39	farblos	stark organisch	schwach
9	19.09.2011 / 13:09	farblos	stark organisch	schwach
10	19.09.2011 / 13:39	farblos	organisch	schwach
11	19.09.2011 / 14:09	farblos	organisch	schwach
12	19.09.2011 / 14:39	farblos	organisch	schwach
13	19.09.2011 / 15:09	farblos	organisch	schwach
14	19.09.2011 / 15:39	farblos	organisch	schwach
15	19.09.2011 / 16:09	farblos	organisch	keine
Vergleichswasser	20.09.2011	farblos	ohne	keine
16	20.09.2011 / 09:09	farblos	schwach organisch	keine
Vergleichswasser	21.09.2011	farblos	ohne	keine
17	21.09.2011 / 09:09	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	23.09.2011	farblos	ohne	keine
18	23.09.2011 / 09:09	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	26.09.2011	farblos	ohne	keine
19	26.09.2011 / 09:09	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	03.10.2011	farblos	ohne	keine
20	03.10.2011 / 09:09	farblos	ohne	keine

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule A)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähigkeit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	19.09.2011	7,9	490	2,3	0,11
1	19.09.2011 / 09:09	7,9	489	2,0	2,1
2	19.09.2011 / 09:39	7,8	494	2,1	0,24
3	19.09.2011 / 10:09	7,7	649	22,6	0,26
4	19.09.2011 / 10:39	7,6	1005	315	0,09
5	19.09.2011 / 11:09	7,7	925	270	0,18
6	19.09.2011 / 11:39	7,7	721	142	11,7
7	19.09.2011 / 12:09	7,7	629	81,2	32,5
8	19.09.2011 / 12:39	7,7	569	65,2	27,7
9	19.09.2011 / 13:09	7,6	556	47,7	23,6
10	19.09.2011 / 13:39	7,7	540	41,5	21,6
11	19.09.2011 / 14:09	7,7	528	40,5	20,0
12	19.09.2011 / 14:39	7,7	527	38,7	17,6
13	19.09.2011 / 15:09	7,7	518	34,4	15,8
14	19.09.2011 / 15:39	7,7	519	31,6	14,4
15	19.09.2011 / 16:09	7,6	515	28,9	12,9
Vergleichswasser	20.09.2011	7,7	498	2,4	0,08
16	20.09.2011 / 09:09	7,7	513	9,1	0,66
Vergleichswasser	21.09.2011	7,6	498	2,8	0,06
17	21.09.2011 / 09:09	7,7	511	5,9	0,25
Vergleichswasser	23.09.2011	7,4	494	2,6	0,22
18	23.09.2011 / 09:09	7,5	489	2,8	0,11
Vergleichswasser	26.09.2011	7,7	490	2,5	0,22
19	26.09.2011 / 09:09	7,7	487	2,8	0,18
Vergleichswasser	03.10.2011	7,7	492	2,5	0,12
20	03.10.2011 / 09:09	7,7	490	3,0	0,19

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule B)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	19.09.2011	farblos	ohne	keine
1	19.09.2011 / 09:08	farblos	schwach sandig	keine
2	19.09.2011 / 09:38	farblos	schwach sandig	keine
3	19.09.2011 / 10:08	farblos	schwach sandig	schwach
4	19.09.2011 / 10:38	farblos	organisch	schwach
5	19.09.2011 / 11:08	farblos	stark organisch	schwach
6	19.09.2011 / 11:38	farblos	stark organisch	schwach
7	19.09.2011 / 12:08	farblos	stark organisch	schwach
8	19.09.2011 / 12:38	farblos	stark organisch	schwach
9	19.09.2011 / 13:08	farblos	stark organisch	schwach
10	19.09.2011 / 13:38	farblos	organisch	schwach
11	19.09.2011 / 14:08	farblos	organisch	schwach
12	19.09.2011 / 14:38	farblos	organisch	schwach
13	19.09.2011 / 15:08	farblos	schwach organisch	schwach
14	19.09.2011 / 15:38	farblos	schwach organisch	schwach
15	19.09.2011 / 16:08	farblos	schwach organisch	keine
Vergleichswasser	20.09.2011	farblos	ohne	keine
16	20.09.2011 / 09:08	farblos	sehr schwach organisch	sehr schwach
Vergleichswasser	21.09.2011	farblos	ohne	keine
17	21.09.2011 / 09:08	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	23.09.2011	farblos	ohne	keine
18	23.09.2011 / 09:08	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	26.09.2011	farblos	ohne	keine
19	26.09.2011 / 09:08	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	03.10.2011	farblos	ohne	keine
20	03.10.2011 / 09:08	farblos	ohne	keine

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule B)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähigkeit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	19.09.2011	7,6	490	2,3	0,11
1	19.09.2011 / 09:08	7,9	488	2,7	1,63
2	19.09.2011 / 09:38	7,9	494	3,1	0,15
3	19.09.2011 / 10:08	7,7	668	92,6	0,30
4	19.09.2011 / 10:38	7,7	899	289	0,15
5	19.09.2011 / 11:08	7,7	797	189	0,06
6	19.09.2011 / 11:38	7,7	693	122	16,0
7	19.09.2011 / 12:08	7,7	610	80,8	36,9
8	19.09.2011 / 12:38	7,7	565	62,6	28,3
9	19.09.2011 / 13:08	7,7	548	52,6	23,7
10	19.09.2011 / 13:38	7,7	533	47,1	19,8
11	19.09.2011 / 14:08	7,6	530	41,6	18,3
12	19.09.2011 / 14:38	7,7	526	37,7	16,8
13	19.09.2011 / 15:08	7,7	519	35,0	15,9
14	19.09.2011 / 15:38	7,7	517	31,3	15,2
15	19.09.2011 / 16:08	7,7	514	29,1	14,1
Vergleichswasser	20.09.2011	7,7	498	2,4	0,08
16	20.09.2011 / 09:08	7,7	510	8,9	11,8
Vergleichswasser	21.09.2011	7,7	498	2,8	0,06
17	21.09.2011 / 09:08	7,7	504	3,4	0,25
Vergleichswasser	23.09.2011	7,4	494	2,6	0,22
18	23.09.2011 / 09:08	7,3	488	2,7	0,10
Vergleichswasser	26.09.2011	7,7	490	2,5	0,22
19	26.09.2011 / 09:08	7,7	490	2,8	0,28
Vergleichswasser	03.10.2011	7,7	492	2,5	0,12
20	03.10.2011 / 09:08	7,6	495	3,2	0,26

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule C)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	19.09.2011	farblos	ohne	keine
1	19.09.2011 / 09:07	farblos	sandig	keine
2	19.09.2011 / 09:37	farblos	sandig	keine
3	19.09.2011 / 10:07	farblos	sandig	schwach
4	19.09.2011 / 10:37	farblos	organisch	schwach
5	19.09.2011 / 11:07	farblos	stark organisch	schwach
6	19.09.2011 / 11:37	farblos	stark organisch	schwach
7	19.09.2011 / 12:07	farblos	stark organisch	schwach
8	19.09.2011 / 12:37	farblos	stark organisch	schwach
9	19.09.2011 / 13:07	farblos	stark organisch	schwach
10	19.09.2011 / 13:37	farblos	organisch	schwach
11	19.09.2011 / 14:07	farblos	organisch	schwach
12	19.09.2011 / 14:37	farblos	organisch	schwach
13	19.09.2011 / 15:07	farblos	organisch	schwach
14	19.09.2011 / 15:37	farblos	organisch	schwach
15	19.09.2011 / 16:07	farblos	schwach organisch	keine
Vergleichswasser	20.09.2011	farblos	ohne	keine
16	20.09.2011 / 09:07	farblos	schwach organisch	keine
Vergleichswasser	21.09.2011	farblos	ohne	keine
17	21.09.2011 / 09:07	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	23.09.2011	farblos	ohne	keine
18	23.09.2011 / 09:07	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	26.09.2011	farblos	ohne	keine
19	26.09.2011 / 09:07	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	03.10.2011	farblos	ohne	keine
20	03.10.2011 / 09:07	farblos	ohne	keine

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule C)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähigkeit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	19.09.2011	7,6	490	2,3	0,11
1	19.09.2011 / 09:07	7,8	492	2,8	1,22
2	19.09.2011 / 09:37	7,9	492	2,6	0,16
3	19.09.2011 / 10:07	7,8	596	56,6	0,13
4	19.09.2011 / 10:37	7,7	913	248	0,07
5	19.09.2011 / 11:07	7,7	948	274	0,15
6	19.09.2011 / 11:37	7,7	770	181	2,28
7	19.09.2011 / 12:07	7,7	623	84,6	21,9
8	19.09.2011 / 12:37	7,7	569	55,0	20,5
9	19.09.2011 / 13:07	7,7	549	49,4	19,2
10	19.09.2011 / 13:37	7,7	539	44,1	18,3
11	19.09.2011 / 14:07	7,7	533	43,7	17,5
12	19.09.2011 / 14:37	7,7	528	38,5	16,4
13	19.09.2011 / 15:07	7,7	522	33,5	14,6
14	19.09.2011 / 15:37	7,7	520	33,3	13,5
15	19.09.2011 / 16:07	7,7	517	30,2	13,0
Vergleichswasser	20.09.2011	7,7	498	2,4	0,08
16	20.09.2011 / 09:07	7,7	513	9,6	0,87
Vergleichswasser	21.09.2011	7,7	498	2,8	0,06
17	21.09.2011 / 09:07	7,7	506	3,6	0,27
Vergleichswasser	23.09.2011	7,4	494	2,6	0,22
18	23.09.2011 / 09:07	7,3	481	2,9	0,11
Vergleichswasser	26.09.2011	7,7	490	2,5	0,22
19	26.09.2011 / 09:07	7,7	489	2,9	0,32
Vergleichswasser	03.10.2011	7,7	492	2,5	0,12
20	03.10.2011 / 09:07	7,6	490	3,1	0,13

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule D)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	Färbung	Geruch	Neigung zur Schaumbildung
Vergleichswasser	19.09.2011	farblos	ohne	keine
1	19.09.2011 / 09:06	farblos	sandig	keine
2	19.09.2011 / 09:36	farblos	organisch	keine
3	19.09.2011 / 10:06	farblos	organisch	schwach
4	19.09.2011 / 10:36	farblos	organisch	schwach
5	19.09.2011 / 11:06	farblos	organisch	schwach
6	19.09.2011 / 11:36	farblos	stark organisch	schwach
7	19.09.2011 / 12:06	farblos	stark organisch	schwach
8	19.09.2011 / 12:36	farblos	stark organisch	schwach
9	19.09.2011 / 13:06	farblos	stark organisch	schwach
10	19.09.2011 / 13:36	farblos	organisch	schwach
11	19.09.2011 / 14:06	farblos	organisch	schwach
12	19.09.2011 / 14:36	farblos	organisch	schwach
13	19.09.2011 / 15:06	farblos	organisch	schwach
14	19.09.2011 / 15:36	farblos	organisch	schwach
15	19.09.2011 / 16:06	farblos	organisch	schwach
Vergleichswasser	20.09.2011	farblos	ohne	keine
16	20.09.2011 / 09:06	farblos	schwach organisch	keine
Vergleichswasser	21.09.2011	farblos	ohne	keine
17	21.09.2011 / 09:06	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	23.09.2011	farblos	ohne	keine
18	23.09.2011 / 09:06	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	26.09.2011	farblos	ohne	keine
19	26.09.2011 / 09:06	farblos	ohne	keine
Vergleichswasser	03.10.2011	farblos	ohne	keine
20	03.10.2011 / 09:06	farblos	ohne	keine

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule D)

Analyse der Prüfwasserfraktionen

Fraktion	Stunden nach Versuchsbeginn	pH-Wert	elektr. Leitfähigkeit $\mu\text{S}/\text{cm}$	TOC mg/l	Trübung NTU
Vergleichswasser	19.09.2011	7,6	490	2,3	0,11
1	19.09.2011 / 09:06	7,7	495	2,8	1,75
2	19.09.2011 / 09:36	7,8	493	2,8	0,13
3	19.09.2011 / 10:06	7,8	507	11,5	0,13
4	19.09.2011 / 10:36	7,6	770	160	0,10
5	19.09.2011 / 11:06	7,7	963	289	0,20
6	19.09.2011 / 11:36	7,7	896	248	1,15
7	19.09.2011 / 12:06	7,7	724	148	7,25
8	19.09.2011 / 12:36	7,7	630	86,8	25,1
9	19.09.2011 / 13:06	7,7	580	63,8	26,3
10	19.09.2011 / 13:36	7,7	555	62,8	25,8
11	19.09.2011 / 14:06	7,7	541	56,0	24,6
12	19.09.2011 / 14:36	7,7	532	49,7	22,9
13	19.09.2011 / 15:06	7,7	528	44,0	20,9
14	19.09.2011 / 15:36	7,7	526	40,7	19,1
15	19.09.2011 / 16:06	7,7	520	35,8	17,7
Vergleichswasser	20.09.2011	7,7	498	2,4	0,08
16	20.09.2011 / 09:06	7,7	511	10,6	2,27
Vergleichswasser	21.09.2011	7,7	498	2,8	0,06
17	21.09.2011 / 09:06	7,7	508	4,9	0,69
Vergleichswasser	23.09.2011	7,4	494	2,6	0,22
18	23.09.2011 / 09:06	7,4	487	2,7	0,07
Vergleichswasser	26.09.2011	7,7	490	2,5	0,22
19	26.09.2011 / 09:06	7,7	497	2,6	0,20
Vergleichswasser	03.10.2011	7,7	492	2,5	0,12
20	03.10.2011 / 09:06	7,6	492	2,9	0,18

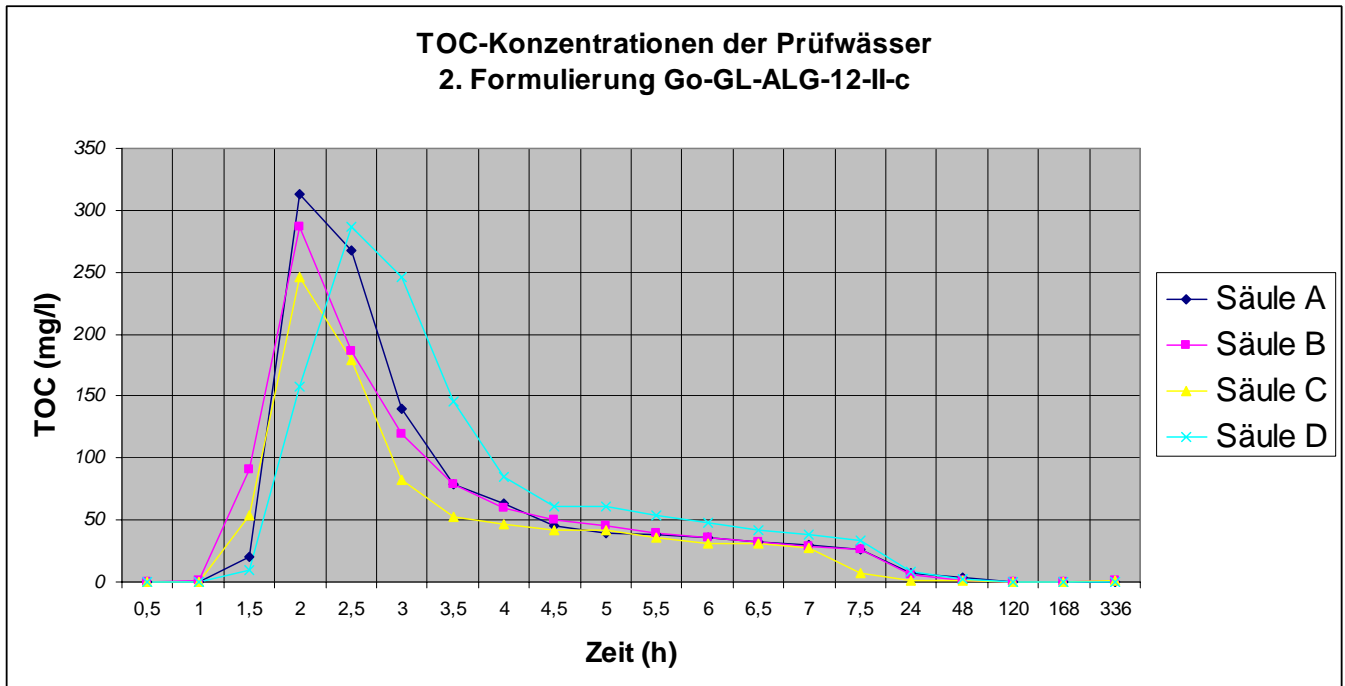


Tabelle: Analysen der Prüfwasserfraktionen Säule A, C und D, 2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c

Probe	Algtoxizität
Säule A, Mischfraktion des Maximums (Frakt. 4 bis 6)	$G_A = 768$
Säule A, Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)	$G_A = 1$
Säule C, Mischfraktion des Maximums (Frakt. 4 bis 6)	$G_A = 768$
Säule C, Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)	$G_A = 1$
Säule D, Mischfraktion des Maximums (Frakt. 4 bis 6)	$G_A = 768$
Säule D, Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)	$G_A = 1$

2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Umströmungsversuch (Säule A)

Tabelle: Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse der TOC-Maxima-Fraktion

Parameter	2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 4 bis 6)
-----------	--

Eluatzusammensetzung vor Abbautest	
TOC-Maximum (Mischfraktion Säulentest)	242 mg/l
Algengiftigkeit (G_A), vor Abbautest	768
Eluatzusammensetzung mittels NMR-Spektroskopie* (vor Abbautest):	
Σ DOC*	34,1 mg/l
Acrylsäure (Salze)*	30 mg/l (\approx DOC: 15 mg/l)
Ethylenglykol*	19 mg/l (\approx DOC: 7 mg/l)
X-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂ *	\approx 50 mg/l (\approx DOC: 12 mg/l)
Formiat*	0,5 mg/l (\approx DOC: 0,1 mg/l)
Ausfällung ("farblose gummiartige Produkte", grav. Best.)*	87 mg
Abbaubarkeit	88 %

Eluatzusammensetzung nach Abbautest	
Eluatzusammensetzung mittels NMR-Spektroskopie* (nach Abbautest):	
Formiat*	5 mg/l (\approx DOC: 1 mg/l)
aliphatische Kohlenwasserstoffe*	Spuren, Konz. nicht bestimmbar
Algengiftigkeit (G_A), nach Abbautest	1

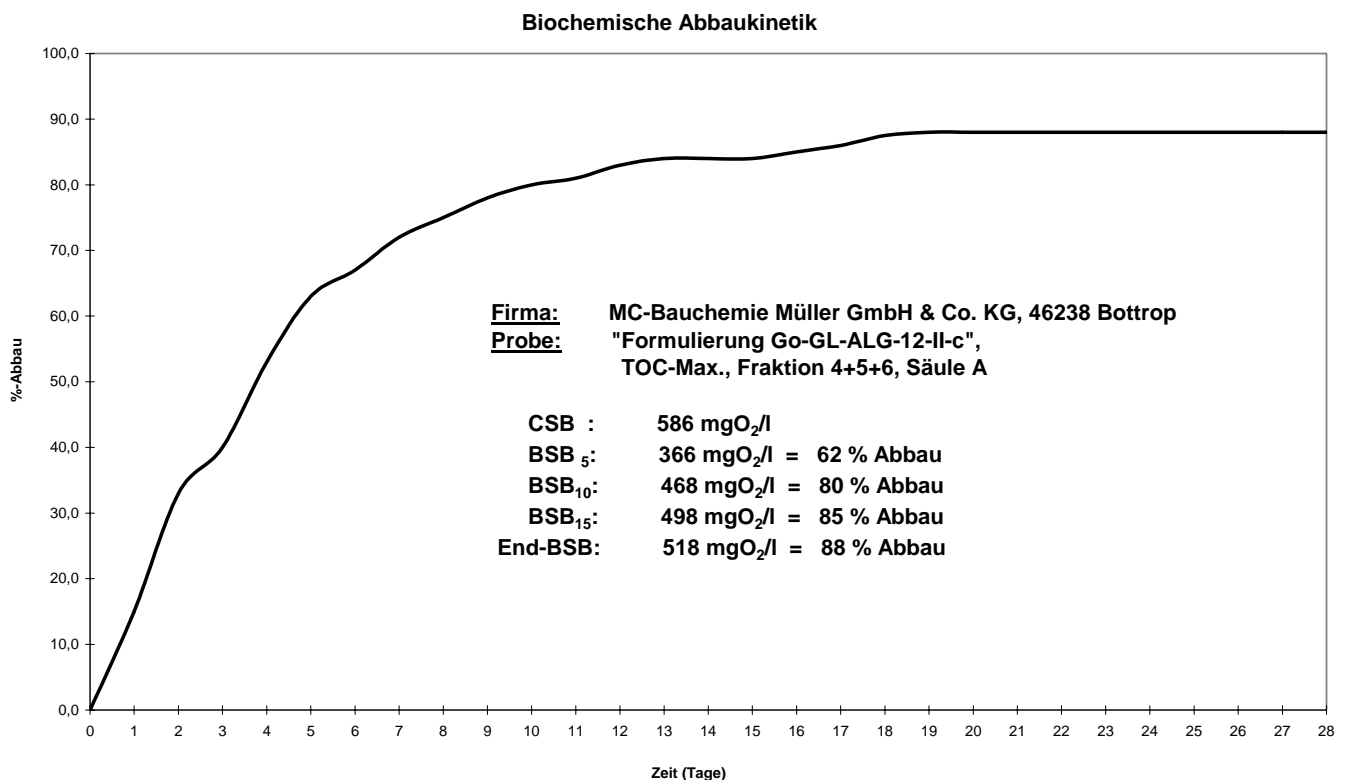
* Fremdanalytik: MPA Universität Stuttgart, Stuttgart

Tabelle: Biologische Abbautests der Prüfwasserfraktion Säule A

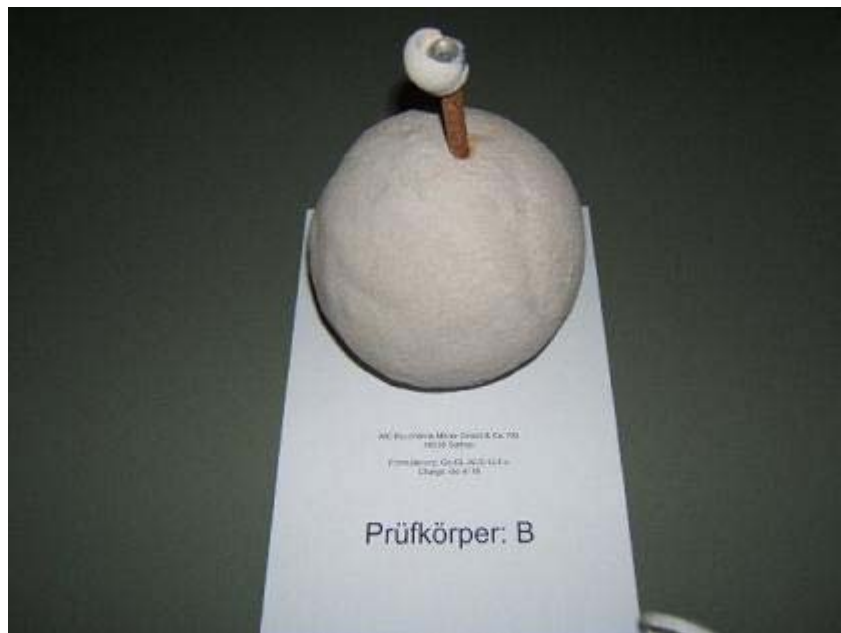
Parameter	OECD-Test 301 F (Manometrischer Respirationstest) Mischfraktion des Maximums (Frakt. 4 bis 6)
CSB	586 mg/l
Biologischer Abbau nach 5 Tagen	62 %
Biologischer Abbau nach 28 Tagen	88 %

Tabelle: Analyse der Prüfwasserfraktionen Säule A

Parameter	2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c	2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c
	(Säule A) Mischfraktion des Maximums (Frakt. 4 bis 6)	(Säule A) Fraktion der Abklingphase (Frakt. 20)
Leuchtbakterientoxizität	$G_L = 1$	-
Daphnientoxizität	$G_D = 1$	-
Algentoxizität vor Abbaubarkeit	$G_A = 768$	$G_A = 1$
Algentoxizität nach Abbaubarkeit	$G_A = 1$	-
TOC mg/l	242	-
biologischer Abbau nach 28 Tagen in %	88	-



2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c



2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c

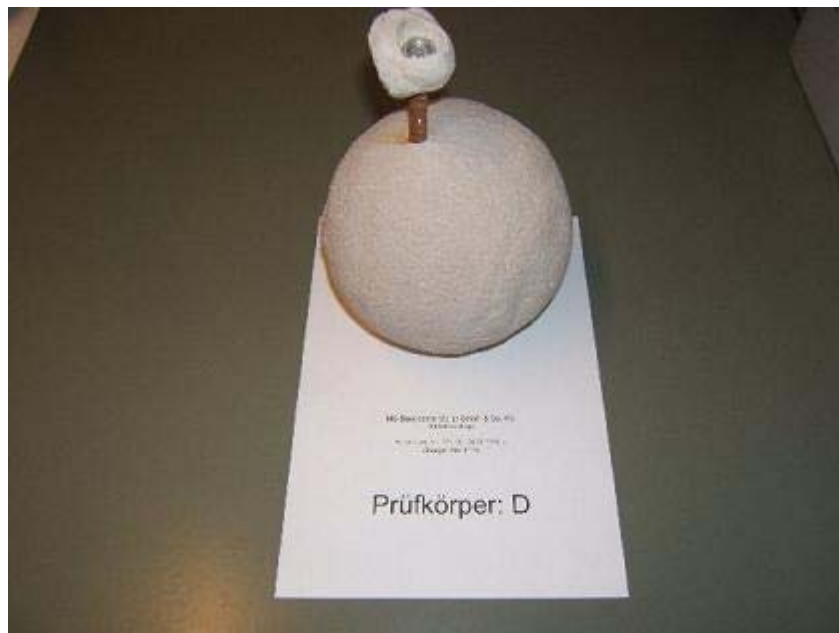
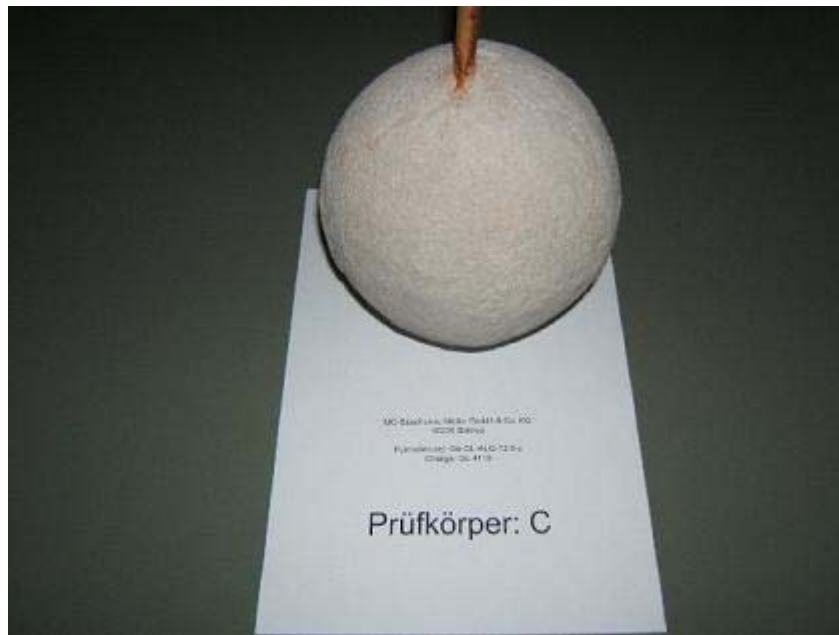


Tabelle: Einfluss der Trübung auf das Algenwachstum
 (Trübstoff: unbehandelte, pyrogene Kieselsäure)

Trübung (NTU)	Hemmwirkung bei halber Nährmedium- konzentration gem. DIN 38412-33	Hemmwirkung bei einfacher Nährmedium- konzentration gem. DIN 38412-33	Hemmwirkung bei zweifacher Nährmedium- konzentration gem. DIN 38412-33
1,3	41 %	38 %	3,3 %
2,5	74 %	63 %	38 %
5,6	80 %	78 %	58 %
10,4	83 %	80 %	78 %
20,7	> 85 %	> 85 %	84 %
44,4	> 85 %	> 85 %	> 85 %

* Förderung der Biomasseaktivität

Tabelle: Einfluss der Nährmediumkonzentration auf die Algentoxizität von Prüfwässern

	1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d (Säule B) Mischfraktion des Maximums (Frakt. 2 bis 4)	2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c (Säule A) Mischfraktion des Maximums (Frakt. 4 bis 6)
Einfache Nährmediumkonzentration*	G _A = 768	G _A = 768
Zweifache Nährmediumkonzentration*	G _A = 192	G _A = 128
Dreifache Nährmediumkonzentration*	G _A = 192	G _A = 128

* siehe Tabelle „Nährmediumkonzentrationen“

Tabelle: Nährmediumkonzentrationen

	Einfache Nährmedium- konzentration (Endkonzentration in den Test- und Kontrollansätzen)	Zweifache Nährmedium- konzentration (Endkonzentration in den Test- und Kontrollansätzen)	Dreifache Nährmedium- Konzentration (Endkonzentration in den Test- und Kontrollansätzen)
Lösung I: NH ₄ Cl MgCl ₂ x 6 H ₂ O CaCl ₂ x 2 H ₂ O MgSO ₄ x 7 H ₂ O KH ₂ PO ₄	15 mg/l 12 mg/l 18 mg/l 15 mg/l 1,6 mg/l	30 mg/l 24 mg/l 36 mg/l 30 mg/l 3,2 mg/l	45 mg/l 36 mg/l 48 mg/l 45 mg/l 4,8 mg/l
Lösung II: FeCl ₃ x 6 H ₂ O Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O	80 µg/l 100 µg/l	160 µg/l 200 µg/l	240 µg/l 300 µg/l
Lösung III: H ₃ BO ₃ Mn ₂ Cl ₂ x 4 H ₂ O ZnCl ₂ CoCl ₂ x 6 H ₂ O CuCl ₂ x 2 H ₂ O Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	185 µg/l 415 µg/l 3 µg/l 1,5 µg/l 0,01 µg/l 7 µg/l	370 µg/l 830 µg/l 6 µg/l 3 µg/l 0,02 µg/l 14 µg/l	555 µg/l 1245 µg/l 9 µg/l 4,5 µg/l 0,03 µg/l 21 µg/l
NaHCO ₃	300 mg/l	300 mg/l	300 mg/l

Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri*
(Leuchtbakterientest)

Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien

Verfahren : EN ISO 11348 – 2 (L 52)

1. Prinzip

Bestimmung der akuten Toxizität auf flüssiggetrocknete Leuchtbakterien. Gemessen wird die natürliche Leuchtleistung der verwendeten Mikroorganismen. Die Leuchthemmung durch die Probe wird gegen einen nicht toxischen Kontrollansatz bestimmt.

Anwendungsbereich

Kommunales und industrielles Abwasser, wässrige Eluate von Böden und Abfall, Lösungen, Oberflächenwässer, Meerwasser, Eluate von Sedimenten (Süßwasser, Brackwasser, Meerwasser) und Einzelstoffe in Wasser gelöst.

Der lineare Messbereich liegt zwischen 10% und 90% Hemmung.

2. Störungen

Gefärbte oder getrübbte Proben verursachen Mehrbefunde durch physikalische Lichtabsorption oder Streuung.

Der Farbeffekt kann durch die Aktivierung des Farbkorrekturprogramms im Analysengerät LUMIStox 300 berücksichtigt werden.

Proben mit akut hoher Sauerstoffzehrung können Leuchthemmungen verursachen, die nicht auf Toxizität zurückzuführen sind.

Die Verwendung von Cellulosenitrat- oder Celluloseacetatfiltern zur Probenfiltration kann zu nicht probenbedingten Leuchthemmungen führen. Die Verwendung von Polysulfonfiltern führt nicht zu Störungen im Test.

NaCl-Konzentrationen der Probe von weniger als 15 g/l oder mehr als 50 g/l bzw. deren Osmolaritätsäquivalente führen zu osmotisch bedingten Leuchthemmungen.

3. Geräte

Luminometer (z.B. LUMIStox 300 der Fa. Hach-Lange GmbH, D-40549 Düsseldorf)
Gefrierschrank bzw. Gefriertruhe, Kühlschrank, Wasserbad.

4. Reagenzien und Zubehör

Alle verwendeten Reagenzien müssen dem Reinheitsgrad "zur Analyse" entsprechen.

Reaktivierungslösung (Glucose / Natriumchlorid (NaCl), gepuffert auf pH 7,0), Dr. Lange, Düsseldorf

1 M Natriumhydroxid-Lösung (NaOH)

1 M Salzsäure (HCl)

2% NaCl-Lösung

Zinksulfat-Heptahydrat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$)

3,5-Dichlorphenol

Kaliumdichromat

Glasküvetten

Reaktionsglas (Dr. Lange)

Variable Pipette 0,2 – 1,0 ml

Pipettenspitzen 0,2 – 1,0 ml

Variable Pipette 1,0 – 5,0 ml

Pipettenspitzen 1,0 – 5,0 ml

Polysulfonfilter oder Membranfilter aus Mischestern.

Testbakterien

Röhrchen mit flüssiggetrockneten Leuchtbakterien des Stammes *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177
(Dr. Lange, Düsseldorf)

Lagerhinweise

Die Testreagenzien sind bei -18°C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Leuchtbakterien dürfen erst unmittelbar vor der Reaktivierung aufgetaut werden. Reaktivierte Bakterien sollten möglichst innerhalb von 4 Stunden aufgebraucht werden. Eine Zwischenlagerung der reaktivierten Bakterien darf nur im unverdünnten Zustand im Kühlschrank erfolgen. Mit fortschreitender Aufbewahrungszeit reaktivierter Bakterien kann es zu einer Verschiebung des Empfindlichkeitsspektrums der Bakterien kommen. Ein Wiedereinfrieren von aufgetauten Röhrchen mit flüssiggetrockneten Leuchtbakterien ist nicht möglich.

Die Reaktivierungslösung kann aufgetaut höchstens 2 Monate im Kühlschrank aufbewahrt werden. Es empfiehlt sich, bei längerer Lagerung die aufgetaute Reaktivierungslösung in 12 ml Portionen aufzuteilen und wieder einzufrieren.

5. Probenahme und Probenvorbereitung

Die Probe in chemisch inerten und sauberen Behältern nehmen. Die Behälter vollständig und fest verschließen. Nach der Probenahme die Proben so bald wie möglich untersuchen. Falls erforderlich, können die Proben bei einer Temperatur von 2°C bis 5°C im Dunkeln und in Glasbehältern bis zu 48 Stunden gelagert werden. Bis zu zwei Monate können sie bei ca. – 18°C gelagert werden. Es dürfen keine Chemikalien zur Probenkonservierung verwendet werden. pH-Wert-Einstellung und Aufsalzung ggf. unmittelbar vor der Untersuchung vornehmen.

6. Durchführung

6.1. Leucht Bakterien reaktivieren

Reaktivierungslösung auftauen. Im Kühlschrank aufbewahren. 12 ml Reaktivierungslösung in ein Reaktionsglas pipettieren, schütteln und auf 15 °C im LUMIS therm temperieren.

Leucht Bakterien erst unmittelbar vor der Reaktivierung auftauen, z.B. 2 Minuten im Wasserbad (Raumtemperatur).

Mit 0,5 ml Reaktivierungslösung die flüssiggetrockneten Leucht Bakterien resuspendieren und 15 Minuten auf 15 °C im LUMIS therm temperieren.

6.2. Probe vorbereiten und Verdünnungsreihe herstellen

6.2.1. Probe vorbereiten

Der Test muss für alle Verdünnungsstufen in Doppelansätzen durchgeführt werden.

- Trübe Probe z. B. filtrieren (Polysulfonfilter verwenden. Keine Cellulosenitrat- oder Celluloseacetatfilter verwenden) oder sedimentieren lassen.
- pH-Wert prüfen und dokumentieren. Bei einem pH-Wert zwischen 6,0 und 8,5 ist üblicherweise keine pH-Wert-Korrektur erforderlich, ggf. mit 1 M HCl oder 1 M NaOH korrigieren.

- Probe mit festem NaCl auf 2% (w/v) aufsalzen.
 - Wenn die Salzkonzentration der Probe 20 g/l übersteigt (Orientierungswert: Leitfähigkeit von 35 mS/cm) unterbleibt das Aufsalzen.
 - Der Salzgehalt der Probe sollte 50 g/l nicht übersteigen (entspricht einer Leitfähigkeit von ca. 70 mS/cm ohne Berücksichtigung anderer leitender Verbindungen).
- Bei Bedarf (hohe Toxizität) Probe mit 2% NaCl-Lösung vorverdünnen. Dabei eine Vorverdünnung aus den Stufen z.B. 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 etc. wählen. Ermittlung des Sauerstoffgehaltes und dokumentieren. Belüftung der Probe bei Sauerstoffkonzentration < 3 mg O₂/l.

6.2.2 Einrichtung des Messplatzes, Vorbereitung und Testdurchführung der Testansätze

Die Durchführungen werden entsprechend den Vorgaben der Bedienungsanleitung zu LUMIStox 300 und Handbuch zu Dr. Lange LUMIsoft 4 durchgeführt.

6.2.3 Auswertung

Die Auswertung erfolgt mittels der Software; hierbei ist den Angaben des Rechenprogramms zu folgen.

Berechnung des GL-Wertes gemäß DIN EN ISO 11348:

Definition:

- Io:** Leuchtintensität der Bakteriensuspension vor Zugabe von Probe („Ausgangsleuchte“).
It: Leuchtintensität der Testansätze nach der Inkubationszeit t („Endleuchten“ nach Zugabe der Probe).
IoK, ItK: Leuchtintensität der Kontrollansätze (2% NaCl)
fK: Korrekturfaktor
Ic: um fK korrigierter Io der Testansätze
%Ht: Leuchthemmung in % nach der Inkubationszeit t.
GL-Wert: Der Faktor der Testverdünnung (d.h. der G-Wert), mit der %Ht<20 erreicht wird.

1. Berechnung von fK: $fK = ItK / IoK$
2. Berechnung von Ic: $Ic = fK \times Io$
3. Berechnung von %Ht: $\%Ht = (Ic - It) \times 100 / Ic$

Gültigkeitskriterien:

1. fK liegt zwischen 0,6 und 1,3
2. % Abweichung bei fK ist ≤ 3

Testauswertung, Verfahren : EN ISO 11348 – 2 (L 52)

hier: **1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d,**

Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4), Säule B

Testorganismus: Vibrio fischeri (NRRL-B-11177)

Charge: 11158 (Fa. Dr. Lange)

Testdatum: 28.09.2011

Probenvorbehandlung: Sedimentation (1h)

Kontrollansatz (K)	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung nach 30 Minuten H ₃₀	Mittlere Hemmwirkung
K 1	1	0,7 %	
K 2	1	- 0,7 %	0 %
Testansatz (T) des Eluats			
T 1	4	16,2 %	
T 2	4	15,6 %	15,9 %
T 3	3	20,0 %	
T 4	3	20,6 %	20,3 %
T 5	2	26,6 %	
T 6	2	26,4 %	26,5 %
Kontrollansatz (K)			
K 3	1	0,4 %	
K 4	1	- 0,4 %	0 %
Referenzsubstanz	Konzentration		
Chrom (VI)	4,0 mg/l	48,8 %	
Chrom (VI)	4,0 mg/l	50,4 %	49,6 %

Untersuchungsergebnis: **G_L = 4**

Testauswertung, Verfahren : EN ISO 11348 – 2 (L 52)

hier: **2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c,**

Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 4 bis 6), Säule A

Testorganismus: Vibrio fischeri (NRRL-B-11177)

Charge: 11158 (Fa. Dr. Lange)

Testdatum: 13.10.2011

Probenvorbehandlung: Sedimentation (1h)

Kontrollansatz (K)	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung nach 30 Minuten H ₃₀	Mittlere Hemmwirkung
K 1	1	- 0,6 %	
K 2	1	0,6 %	0 %
Testansatz (T) des Eluats			
T 1	2	14,3 %	
T 2	2	15,0 %	14,6 %
Kontrollansatz (K)			
K 3	1	11,7 %	
K 4	1	15,9 %	13,8 %
Referenzsubstanz	Konzentration		
Chrom (VI)	4,0 mg/l	48,1 %	
Chrom (VI)	4,0 mg/l	47,3 %	47,7 %

Untersuchungsergebnis: **G_L = 1**

**Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien
über Verdünnungsstufen**

Verfahren : DIN 38 412 - L 30

1. Allgemeine Angaben

In einer Verdünnungsreihe wird Abwasser bzw. wässriges Eluat, abgestuft nach ganzzahligen Volumenverhältnissen, mit Verdünnungswasser vermischt. Nach einer 24stündigen Exposition der Testorganismen in den Mischungen wird die Verdünnungsstufe der nicht akut giftigen Mischung bestimmt.

2. Geräte

- pH-Messgerät
- Sauerstoffmessgerät
- Bechergläser aus Glas, Nennvolumen z.B. 20 ml, 50 ml, 2000 ml
- mattschwarze Unterlage
- Siebe mit Siebgewebe z.B. aus nichtrostendem Stahl
- Messpipetten
- Messkolben

3. Chemikalien

s. DIN 38412 - L 30; Kapitel 7

4. Testorganismus

Für die Durchführung der Untersuchungen wird als Testorganismus

"Daphnia magna STRAUS"

eingesetzt.

Die verwendete Klonzucht wurde vom Ruhrverband, Kronprinzenstraße 37, 45128 Essen, bezogen und wird seit mehreren Jahren im Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Gelsenkirchen, gehalten.

5. Vorbereitung

5.1 Zucht von *Daphnia magna* STRAUS

s. DIN 38412 - L 30; Kapitel 9 und 10.

Für die Zucht der Daphnien wird Grundwasser bekannter Herkunft verwendet. Hierbei erfolgt eine regelmäßige Kontrolle der Gehalte an Calcium-, Magnesium-, Natrium- und Kalium-Ionen sowie der Säurekapazität und des pH-Wertes. Als Verdünnungswasser wird ISO-Testwasser nach ISO-Norm 6341-1982 verwendet.

Um eine langfristige Reproduktion der Daphnien sicherzustellen, ist die Besatzdichte mit Alttieren je Anzuchtgefäß den Laborerfahrungen anzupassen; ggf. muss von der entsprechenden DIN-Empfehlung abgewichen werden.

5.2 Hälterung der Daphnien

Die Fütterung der Daphnien erfolgt mit einzelligen Grünalgen (*Desmodesmus subspicatus*).

6. Durchführung

s. DIN 38412 - L 30; Kapitel 10 - 11.

- Den pH-Wert der wässrigen Probe durch Zusatz von Salzsäure (0,1 mol/l) oder Natriumhydroxid-Lösung (0,1 mol/l) auf $7,0 \pm 0,2$ einstellen.
- Den Verdünnungsansatz aus 1 Volumenteil Abwasser bzw. Eluat und den erforderlichen Anteil Verdünnungswasser entsprechend Tabelle 1, DIN 38412 - L 30; Kapitel 10 – 11, herstellen.
- Die Verdünnungsansätze mindestens 1 bis 2h stehenlassen, so dass eine Sedimentation eventuell vorhandener Schwebstoffe zu ermöglichen.
- Für jede Verdünnungsstufe 2 Bechergläser, Nennvolumen 50 ml, mit jeweils 20 ml Volumen Verdünnungsansatz verwenden.
- In jedes Becherglas 5 Daphnien einsetzen.
- Für jede Testserie 2 Kontrollansätze ohne Abwasser bzw. Eluat ansetzen.
- Die Kontroll- und Testansätze ohne Futterzugabe bei 20 ± 2 °C stehenlassen.
- Nach Ablauf der 24 h die Anzahl an schwimmfähigen Daphnien ermitteln; hierbei die Testlösung durch leichtes Schwenken in Bewegung halten.

Gültigkeitskriterium:

Das Ergebnis ist nicht gültig, wenn im Kontrollansatz mehr als 1 Daphnie schwimmfähig ist.

7. Auswertung

Als Ergebnis gilt der kleinste Wert der Verdünnungsstufe G (G_D -Wert) des Testansatzes, bei dem mindestens 9 Daphnien ihre Schwimmfähigkeit behalten haben.

Testauswertung, Verfahren : DIN 38 412 - L 30

hier: **1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d**

Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4), Säule B

Testorganismus: Daphnia magna STRAUS (Alter:2 -26h)
 pH-Wert Probe: 7,16 (eingestellt)
 Probenvorbehandlung: Sedimentation (1h)
 Versuchsbeginn: 27.09.2011
 Versuchsende: 28.09.2011

	Anzahl schwimmunfähiger Daphnien nach 24 Stunden	pH-Wert Anfang	pH-Wert Ende	O ₂ -Gehalt Anfang (mg/l)	O ₂ -Gehalt Ende (mg/l)
Kontrollansatz 1	0 von 5	7,57	7,71	8,6	8,9
Kontrollansatz 2	0 von 5	7,57	7,74	8,6	8,9

Anteil Probe	Anteil Verdünnungswasser	Verdünnungsstufe G	Anzahl schwimmunfähiger Daphnien nach 24 Stunden	pH-Wert Anfang	pH-Wert Ende	O ₂ -Gehalt Anfang (mg/l)	O ₂ -Gehalt Ende (mg/l)
1	0	1	0 von 5	7,16	7,97	8,1	7,8
1	0	1	0 von 5	7,16	7,99	8,1	7,8
1	1	2	0 von 5	7,28	7,92	8,2	8,6
1	1	2	0 von 5	7,28	7,95	8,2	8,6

Untersuchungsergebnis: **G_D = 1**

Testauswertung, Verfahren : DIN 38 412 - L 30

hier: **2. Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c**

Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 4 bis 6), Säule A

Testorganismus: Daphnia magna STRAUS (Alter:2 -26h)
 pH-Wert Probe: 7,10 (eingestellt)
 Probenvorbehandlung: Sedimentation (1h)
 Versuchsbeginn: 12.10.2011
 Versuchsende: 13.10.2011

	Anzahl schwimmunfähiger Daphnien nach 24 Stunden	pH-Wert Anfang	pH-Wert Ende	O ₂ -Gehalt Anfang (mg/l)	O ₂ -Gehalt Ende (mg/l)
Kontrollansatz 1	0 von 5	7,57	7,69	8,9	8,8
Kontrollansatz 2	0 von 5	7,57	7,72	8,9	8,8

Anteil Probe	Anteil Verdünnungswasser	Verdünnungsstufe G	Anzahl schwimmunfähiger Daphnien nach 24 Stunden	pH-Wert Anfang	pH-Wert Ende	O ₂ -Gehalt Anfang (mg/l)	O ₂ -Gehalt Ende (mg/l)
1	0	1	0 von 5	7,13	8,11	9,3	8,6
1	0	1	0 von 5	7,13	8,15	9,3	8,6

Untersuchungsergebnis: **G_D = 1**

Manometrischer Respirationstest

Verfahren : OECD - Richtlinie 301 F

1. Allgemeines

Im Rahmen dieses Verfahrens wird von Mikroorganismen zur Oxidation von organischen Verbindungen Sauerstoff verbraucht. Dieser wird aus dem über der Probe befindlichen Gasraum ersetzt. Bedingt durch die Oxidation entsteht Kohlenstoffdioxid, das in den Gasraum entweicht und in Kaliumhydroxid-Lösung oder festem Natriumhydroxid aufgefangen wird. Auf diese Weise wird das Kohlenstoffdioxid aus dem Gasgleichgewicht entfernt, wodurch sich in der Flasche ein Unterdruck ausbildet, der manometrisch bestimmt wird.

1.1 Voraussetzungen

Geeignete Chemikalien: -

nicht flüchtige und wasserlösliche (Löslichkeit: mehr als 100 ppm) organische Chemikalien.

nur gering wasserlösliche Chemikalien

flüchtige Chemikalien (wenn $C_{\text{Wasser}}/C_{\text{Luft}} \geq 1$)

Nicht einsetzbare Chemikalien:

flüchtige chemische Substanzen (wenn $C_{\text{Wasser}}/C_{\text{Luft}} < 1$)

Definitionen:

$$\text{Prozentsatz des Abbaus} = \frac{BOD - B}{TOD} \times 100\%$$

oder

$$\text{Prozentsatz des Abbaus} = \frac{BOD - B}{CSB} \times 100\%$$

BOD (BSB): Biochemischer Sauerstoffbedarf (experimentell) - in mg - der zu testenden Verbindung und der Referenzsubstanz, gemessen an der Verlaufskurve des biochemischen Sauerstoffbedarfs.

B: Sauerstoffverbrauch (experimentell) - in mg - des Ausgangs-Kulturmediums, ohne Zusatz der zu testenden Verbindung, gemessen an der Verlaufskurve des biochemischen Sauerstoffbedarfs.

TOD (ThSB): Theoretischer Sauerstoffbedarf (theoretisch) - in mg -, für die vollständige Oxidation der zu testenden Verbindung.

COD (CSB): Chemischer Sauerstoffbedarf (experimentell) - in mg -, für die vollständige Oxidation der zu testenden Verbindung.

Bezugssubstanzen:

Um die Aktivität des Impfmittels nachzuprüfen, ist die Benutzung einer Kontrollsubstanz wünschenswert. Für diesen Zweck können z.B. Anilin, Natriumazetat oder Natriumbenzoessäure-ester benutzt werden.

2. Geräte

- a) Braunglasflasche
- b) BSB-Gerät, z.B. Sensomat, Fa. Aqualytic
- c) Überlaufmesskolben
- d) pH-Messgerät
- e) diverse Glasgeräte
- f) Magnetrührstäbchen
- g) klimatisierter Versuchsraum oder Klimaschrank

3. Chemikalien

- a) Natronlauge, $c = 0,1 \text{ mol/l}$
- b) Schwefelsäure, $c = 0,1 \text{ mol/l}$
- c) Nährsalzlösung bestehend aus:

Lösung A:

21,75 g Dikaliumhydrogenphosphat, 8,5 g Kaliumdihydrogenphosphat, 33,4 g Dinatriummonohydrogenorthophosphat-Dihydrat und 0,5 g Ammoniumchlorid werden in Wasser gelöst und das Volumen bis auf 1000 ml aufgefüllt.

Lösung B:

22,5 g Magnesiumsulfatheptahydrat wird in Wasser gelöst und das Volumen bis auf 1000 ml aufgefüllt.

Lösung C:

27,5 g Calciumchlorid wird in Wasser gelöst und das Volumen bis auf 1000 ml aufgefüllt.

Lösung D

0,25 g Eisenchloridhexahydrat wird in Wasser gelöst und das Volumen bis auf 1000 ml aufgefüllt.

10 ml der Lösungen **A** werden mit 800 ml deionisiertem Wasser gemischt, dann 1 ml der Lösungen **B**, **C** und **D** hinzugeben und auf 1000 ml auffüllen.

Wird die Originalprobe ohne Zwischenverdünnungen untersucht, so werden die Lösungen A - D direkt den einzelnen Testansätzen zugegeben, so dass folgende Konzentrationen im mineralischem Nährmedium vorliegen: Phosphor (116 mg/l), Stickstoff (1,3 mg/l), Natrium (86 mg/l), Kalium (122 mg/l), Magnesium (2,2 mg/l), Calcium (9,9 mg/l), Eisen (0,05-0,1 mg/l).

- d) Kalilauge, 45 %ig und Natriumhydroxid (fest)
- e) Referenzsubstanz, z.B. Anilin, Natriumbenzoat oder Natriumacetat
- f) Belebtschlamm aus einer kommunalen Kläranlage mit einem Trockensubstanzgehalt von 30 mg/l, der Belebtschlamm ist mehrmals mit Leitungswasser zu reinigen.
- g) Prüf- und Referenzlösung: Die Lösungen sind jeweils (ggf. aus Stammlösungen) in einer Konzentration von normalerweise 100 mg/l Substanz entsprechend einem „Theoretischen Sauerstoffbedarf“ (ThSB) bzw. „Chemischen Sauerstoffbedarf“ (CSB) von mindestens 50-100 mg/l zuzubereiten. Die pH-Werte sind, falls erforderlich, auf $7,4 \pm 0,2$ einzustellen.

4. Durchführung

In der Regel werden 5 Braunglasflaschen wie folgt befüllt (s. hierzu Bedienungsanleitung des BSB-Gerätes):

Flasche 1+2 (Prüfsuspension): Probenlösung, Nährlösung und Belebtschlamm

Flasche 3+4 (Inokulum-Blindwert): entmineralisiertes Wasser, Nährlösung
und Belebtschlamm

Flasche 5 (Verfahrenskontrolle) : entmineralisiertes Wasser, Referenzsubstanz,
Nährlösung und Belebtschlamm

Wenn erforderlich zusätzlich:

Flasche 6 (Sterilkontrolle): Probenlösung und sterilisierende Substanz
(z.B. Natriumazid)

Flasche 7 (Toxizitätskontrolle): Probenlösung, Referenzsubstanz und Belebtschlamm

In jede Braunglasflasche gibt man einen Magnetrührstab und hängt einen Köcher, in den zuvor festes Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid-Lösung gegeben wird, ein. Wenn die Temperatur der Proben im Bereich von 22 °C +/- 2 °C liegt, werden die Braunglasflaschen mit den Schraubverschlüssen der Apparatur verschlossen.

Anschließend wird mit Hilfe des Scanners des Sensomaten die Anwendungsmenge je Versuchsansatz in das Auswerteprogramm eingegeben und der Messmodus gestartet. Die Messwertaufzeichnung erfolgt an den 28 Versuchstagen automatisch und wird von dem Sensomaten registriert und gespeichert. Die Auswertung des Abbaubversuches erfolgt mittels des BSB-Bestimmungsgerätes (s. Handbuch z.B. Sensomat).

5. Auswertung

Die Messergebnisse abzüglich des Wertes einer Blindprobe werden graphisch als "BSB-Abbaurrate in %" gegen die Zeit in Tagen aufgetragen.

Interpretation der Ergebnisse

Zum Zwecke des Vergleichs mit den Bezugssubstanzen wird die biologische Abbaubarkeit der zu testenden Verbindung auf der Grundlage des relativen Grades der Abbaubarkeit im Vergleich zu demjenigen der Referenzsubstanz eingestuft.

Testauswertung, Verfahren : OECD - Richtlinie 301 F

hier: **1. Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d**

Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 2 bis 4), Säule B

Probe: Originalprobe (CSB: 660 mg O₂/l ≈ 100 % Abbau)

Inokulum: Belebtschlamm der kommunalen Kläranlage Wersen der Gemeinde Lotte

Datum	Tag	Messwert (Mittelwert, N=2) abzüglich Inokulum-Blindwert (mg O ₂ /l)	%-Abbau
11.10.2011	0	0	0
12.10.2011	1	73	11
13.10.2011	2	316	48
14.10.2011	3	380	58
15.10.2011	4	416	63
16.10.2011	5	460	70
17.10.2011	6	479	73
18.10.2011	7	495	75
19.10.2011	8	515	78
20.10.2011	9	527	80
21.10.2011	10	544	82
22.10.2011	11	544	82
23.10.2011	12	553	84
24.10.2011	13	560	85
25.10.2011	14	563	86
26.10.2011	15	565	86
27.10.2011	16	567	86
28.10.2011	17	574	87
29.10.2011	18	574	87
30.10.2011	19	576	87
31.10.2011	20	583	88
01.11.2011	21	583	88
02.11.2011	22	583	88
03.11.2011	23	583	88
04.11.2011	24	583	88
05.11.2011	25	585	89
06.11.2011	26	585	89
07.11.2011	27	585	89
08.11.2011	28	585	89

pH-Wert-Anfang (Prüfgegenstand): 7,3

pH-Wert-Ende (Prüfgegenstand): 8,2

Testauswertung, Verfahren : OECD - Richtlinie 301 F

hier: **2. Formulierung Go-GL-ALG-11-II-c**

Mischfraktion des TOC-Maximums (Fraktion 4 bis 6), Säule A

Probe: Originalprobe (CSB: 586 mg O₂/l ≈ 100 % Abbau)

Inokulum: Belebtschlamm der kommunalen Kläranlage Wersen der Gemeinde Lotte

Datum	Tag	Messwert (Mittelwert, N=2) abzüglich Inokulum-Blindwert (mg O ₂ /l)	%-Abbau
11.10.2011	0	0	0
12.10.2011	1	88	15
13.10.2011	2	193	33
14.10.2011	3	237	40
15.10.2011	4	311	53
16.10.2011	5	366	62
17.10.2011	6	395	67
18.10.2011	7	421	72
19.10.2011	8	442	75
20.10.2011	9	457	78
21.10.2011	10	468	80
22.10.2011	11	477	81
23.10.2011	12	486	83
24.10.2011	13	492	84
25.10.2011	14	494	84
26.10.2011	15	498	85
27.10.2011	16	498	85
28.10.2011	17	506	86
29.10.2011	18	513	88
30.10.2011	19	513	88
31.10.2011	20	513	88
01.11.2011	21	515	88
02.11.2011	22	515	88
03.11.2011	23	515	88
04.11.2011	24	515	88
05.11.2011	25	515	88
06.11.2011	26	518	88
07.11.2011	27	518	88
08.11.2011	28	518	88

pH-Wert-Anfang (Prüfgegenstand): 7,3

pH-Wert-Ende (Prüfgegenstand): 7,9

Testauswertung, Verfahren : OECD - Richtlinie 301 F

hier: Referenzsubstanz Natriumbenzoat

Probe: Originalprobe (CSB: 251 mg O₂/l ≈ 100 % Abbau)

Inokulum: Belebtschlamm der kommunalen Kläranlage Wersen der Gemeinde Lotte

Datum	Tag	Messwert (Mittelwert, N=2) abzüglich Inokulum-Blindwert (mg O ₂ /l)	%-Abbau
11.10.2011	0	0	0
12.10.2011	1	18	7
13.10.2011	2	35	14
14.10.2011	3	169	67
15.10.2011	4	188	75
16.10.2011	5	199	79
17.10.2011	6	199	79
18.10.2011	7	211	84
19.10.2011	8	211	84
20.10.2011	9	211	84
21.10.2011	10	211	84
22.10.2011	11	216	86
23.10.2011	12	216	86
24.10.2011	13	217	86
25.10.2011	14	217	86
26.10.2011	15	217	86
27.10.2011	16	217	86
28.10.2011	17	222	88
29.10.2011	18	222	88
30.10.2011	19	223	89
31.10.2011	20	223	89
01.11.2011	21	223	89
02.11.2011	22	223	89
03.11.2011	23	228	91
04.11.2011	24	228	91
05.11.2011	25	234	93
06.11.2011	26	234	93
07.11.2011	27	234	93
08.11.2011	28	234	93

pH-Wert-Anfang (Prüfgegenstand): 7,4

pH-Wert-Ende (Prüfgegenstand): 7,5

Testauswertung, Verfahren : OECD - Richtlinie 301 F

hier: Referenzsubstanz Natriumbenzoat

Probe: Originalprobe (ThSB: 334 mg O₂/l ≈ 100 % Abbau)

Inokulum: Belebtschlamm der kommunalen Kläranlage Gemeinde Heiden

Datum	Tag	Messwert (Mittelwert, N=2) abzüglich Inokulum-Blindwert (mg O ₂ /l)	%-Abbau
19.09.2012	0	0	0
20.09.2012	1	27	8
21.09.2012	2	82	25
22.09.2012	3	128	38
23.09.2012	4	198	59
24.09.2012	5	225	67
25.09.2012	6	235	70
26.09.2012	7	242	72
27.09.2012	8	246	74
28.09.2012	9	247	74
29.09.2012	10	250	75
30.09.2012	11	255	76
01.10.2012	12	255	76
02.10.2012	13	263	79
03.10.2012	14	263	79
04.10.2012	15	264	79
05.10.2012	16	264	79
06.10.2012	17	264	79
07.10.2012	18	264	79
08.10.2012	19	264	79
09.10.2012	20	264	79
10.10.2012	21	264	79
11.10.2012	22	264	79
12.10.2012	23	264	79
13.10.2012	24	264	79
14.10.2012	25	264	79
15.10.2012	26	264	79
16.10.2012	27	266	80
17.10.2012	28	273	82

pH-Wert-Anfang (Prüfgegenstand): 7,4

pH-Wert-Ende (Prüfgegenstand): 8,2

Testauswertung, Verfahren : OECD - Richtlinie 301 F

hier: Referenzsubstanz Natriumbenzoat

Probe: Originalprobe (ThSB: 668 mg O₂/l ≈ 100 % Abbau)

Inokulum: Belebtschlamm der kommunalen Kläranlage Gemeinde Heiden

Datum	Tag	Messwert (Mittelwert, N=2) abzüglich Inokulum-Blindwert (mg O ₂ /l)	%-Abbau
19.09.2012	0	0	0
20.09.2012	1	29	4
21.09.2012	2	94	14
22.09.2012	3	164	25
23.09.2012	4	420	63
24.09.2012	5	459	69
25.09.2012	6	470	70
26.09.2012	7	482	72
27.09.2012	8	496	74
28.09.2012	9	506	76
29.09.2012	10	516	77
30.09.2012	11	523	78
01.10.2012	12	526	79
02.10.2012	13	530	79
03.10.2012	14	536	80
04.10.2012	15	542	81
05.10.2012	16	547	82
06.10.2012	17	552	83
07.10.2012	18	553	83
08.10.2012	19	558	84
09.10.2012	20	558	84
10.10.2012	21	558	84
11.10.2012	22	558	84
12.10.2012	23	567	85
13.10.2012	24	567	85
14.10.2012	25	567	85
15.10.2012	26	567	85
16.10.2012	27	573	86
17.10.2012	28	578	87

pH-Wert-Anfang (Prüfgegenstand): 7,4

pH-Wert-Ende (Prüfgegenstand): 7,8

**Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser
gegenüber Grünalgen über Verdünnungsstufen
DIN 38412 L 33**

1. Anwendungsbereich

Mit diesem Test soll die Wirkung von Abwässern auf das Wachstum einer einzelligen Grünalgenart (*Desmodesmus subspicatus* CHODAT) bestimmt werden. Dieses Verfahren wird für die Bestimmung von Verdünnungsstufen eingesetzt, bei denen innerhalb von 72 h keine giftigen Wirkungen des Abwassers gegenüber Grünalgen auftreten.

2. Definitionen und Einheiten

Algenbiomasse:	Biomasse, die durch Messung der in vivo-Chlorophyll-Fluoreszenz bestimmt wird;
Testansatz:	Mischung aus Abwasser, Verdünnungswasser, Nährmedium und Inokulum;
Kontrollansatz:	Mischung aus Verdünnungswasser, Nährmedium und Inokulum (ohne Abwasser);
Verdünnungsstufe G:	Kehrwert des Volumenanteils an Abwasser im Testansatz;
G _A -Wert:	Kleinster Wert von G des Testansatzes, in dem unter den Bedingungen dieses Verfahrens eine Hemmung der Biomassenproduktion < 20 % gemessen wird, sofern bei höheren Verdünnungsstufen keine Hemmung > 20 % festgestellt wird;
Stammkultur:	Kultur einer Algenart zur Bewahrung des ursprünglichen Teststammes im Laboratorium und zur Herstellungstellung des Impfmateri als für die Vorkultur;
Vorkultur:	Algenkultur zur Adaption der Testalgen an die Testbedingungen und zur Anzucht für den Testansatz;
Testkultur:	Algenkultur im Testansatz;
Einsaat,	
Inokulum (Impfmateri al):	Zum Animpfen einer Algenkultur verwendete Algensuspension.
Nährmedium:	Wässrige Lösung von Nährstoffen und Spurenelementen, die für das Algenwachstum notwendig sind.
Testmedium:	Mischung aus Nährmedium und Abwasser
In-vivo-Chlorophyll-Fluoreszenz:	Fluoreszenzstrahlung, die das Chlorophyll lebender Zellen nach Anregung durch Licht aussendet.

3. Grundlagen

Nach einer 72stündigen Exposition der Testalgen in den Mischungen wird die Verdünnungsstufe bestimmt, die keine toxischen Effekte zeigt; hierbei wird die Algenbiomassenproduktion der Testalgen unter Einwirkung des Abwassers mit der Produktion in einer Mischung, die kein Abwasser enthält, verglichen.

Als Maß für die Algenbiomasse gilt in der Regel die in-vivo bei Licht mit einer Wellenlänge von 685 nm gemessene Chlorophyll-Fluoreszenz nach Anregung mit Licht im Wellenlängenbereich von 400 bis 500 nm (Maxima bei 435 nm und 485 nm).

4. Störungen

Nicht gelöste Stoffanteile oder Stoffe, die mit der Nährlösung reagieren oder während des Tests ihren Zustand ändern, können das Testergebnis verfälschen und die Reproduzierbarkeit beeinträchtigen. Ungelöste Stoffe können in der neutralen Originalprobe durch ca. zweistündiges Sedimentieren abgetrennt werden; wobei nur der Überstand für die Untersuchung eingesetzt wird. Sind Störungen der Fluoreszenz- durch Färbung oder Trübung zu erwarten, so wird der Testansatz zur Prüfung der linearen Abhängigkeit der Chlorophyll-Fluoreszenz von der Algenbiomasse mit Verdünnungswasser verdünnt. Durch Wahl der Küvette und der geeigneten Anregungswellenlänge ist sicherzustellen, dass die Fluoreszenz im linearen Bereich gemessen wird. Ist die Eigenfluoreszenz der Probe größer als die Fluoreszenz einer Algensuspension von 5×10^4 Zellen je ml, so ist dies bei der Auswertung zu berücksichtigen.

5. Material und Chemikalien

Für den Test wird die Süßwasseralge *Desmodesmus subspicatus* CHODAT (86.81.SAG) verwendet. Zu beziehen ist der Algenstamm unter folgender Adresse:

Institut für Pflanzenphysiologie
Universität Göttingen
Nikolausberger Weg 18
37073 Göttingen

Als Chemikalien werden nur solche mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse“, als Wasser wird deionisiertes Wasser verwendet.

Salzsäure, HCl = 1 mol/l

Natriumhydroxid-Lösung, NaOH = 1 mol/l

Nährsalzlösung zur Anzucht der Algen:

siehe DIN EN 38412 L 33; Kapitel 8, Punkt 8.3

6. Geräte

- Diverse Glasgeräte, z.B. Glaspipetten (100 ml, 50 ml, 10 ml, 1 ml), 250 ml-Erlenmeyerkolben
- Prüfgefäße aus Glas mit geeignetem Volumen (z.B. konische Flaschen bzw. Erlenmeyerkolben mit 250 ml Volumen). Alle Prüfgefäße sollten nach Material und Größe identisch sein und während der Testdurchführung z. B. mit Glasstopfen oder Aluminiumfolie verschlossen werden.
- Alle Glasgeräte sind vor dem Gebrauch mind. 2 Std. bei 180°C auszuheizen.
- Heizschrank (z.B. Fa. Haereus)
- Autoklav
- Kulturinkubator: Schrank oder Kammer, in denen eine Temperatur zwischen 21 und 25°C ± 2°C gehalten und eine ständige gleichförmige Beleuchtung im Spektralbereich zwischen 400 nm und 700 nm gesichert werden kann. Wenn die Algen in den Kontrollkulturen die empfohlenen Wachstumsraten erreicht haben, kann angenommen werden, dass die Wachstumsbedingungen, einschließlich der Lichtintensität geeignet waren.
- Messungen der Zelldichte sind mit Hilfe eines direkten Zählverfahrens für lebende Zellen (z.B. Mikroskop mit Zählkammern) durchzuführen. Andere Verfahren (Photometrie, Trübungsmessung usw.) können verwendet werden, wenn diese eine ausreichende Empfindlichkeit und eine erwiesenermaßen ausreichende Korrelation zur Zelldichte haben.
- Mikroskop: z.B. Fa. Zeiss
Vergrößerung: z.B. 160 – 400fach

- Mikroskop: z.B. Fa. Zeiss, Modell „Axiovert 35“
Inversmikroskop Vergrößerung: z.B. 400fach
Objektiv: Z.B. 40fach, phasenkontrastfähig (Ph: Phasenblende Z),
Zählkammer
- Photometer
- Fluorimeter

Arbeitstäglich erfolgt die Kontrolle und Dokumentierung der Temperatur im Anzuchttraum.

7. Versuchsdurchführung

Die Stammkultur kann in flüssigem Nährmedium gehalten werden; es wird empfohlen, stärker konzentrierte Nährlösungen zu verwenden. So kann das in der DIN 38412 L33, Abschnitt 8.3 aufgeführte Nährmedium verwendet werden, wobei die Nährsalze und der Eisen-Komplex gegenüber der Endkonzentration 10fach konzentrierter vorliegen soll. Die Konzentration der Spurenelemente-Lösung und von NaHCO_3 (300 mg/l) ist soweit anzupassen, dass sie den Konzentrationen in der Vorkultur bzw. in den Testansätzen entsprechen.

Vorkultur

Drei Tage vor Beginn eines Tests mit der Anzucht des Impfmateri als beginnen. Es wird empfohlen, dass die anfängliche Zelldichte bei *Desmodesmus subspicatus* in der Vorkultur bei etwa 10^4 Zellen/ml liegt. Die Vorkultur unter gleiche Licht- und Temperaturbedingungen wie bei der Untersuchung etwa 2 bis 3 Tage unter Schütteln bzw. Rühren inkubieren. Das Impfmateri al für die Testkultur während der exponentiellen Wachstumsrate der Algen entnehmen. Mit Nährmedium wird die Zellzahl z.B. auf 10^5 Zellen je ml eingestellt.

Probenvorbereitung

In der Regel ist das Abwasser zeitlich so kurz wie möglich nach der Probenahme zu untersuchen. Ist dies nicht möglich, kann das Wasser kühl ($2 - 4^\circ\text{C}$) und dunkel bis zu drei Tage gelagert werden; tiefgefroren (-18°C) ist das Probenmater i al zwei Wochen lagerfähig.

Die Probe ist vor dem Testbeginn durch Schütteln zu homogenisieren. Anschließend ist von der Originalprobe der pH-Wert zu ermitteln. Durch Zusatz von Salzsäure bzw. Natriumhydroxid-Lösung wird das Abwasser auf $\text{pH } 7,0 \pm 0,2$ eingestellt. Die Eigenfluoreszenz des Abwassers ist zu prüfen.

Testansatz

Das Impfmateriel so bemessen, das die Ausgangskonzentration im Testansatz etwa 10^4 Zellen je ml beträgt. Der Testansatz ist durch Zugabe von Abwasser, Nährlösung, Inokulum und Wasser gem. dem in Tabelle 4 der DIN 38412 L33 Abschnitt 11 aufgeführten Schema herzustellen; hierbei sind so viele Testansätze in unterschiedlichen Konzentrationen anzufertigen, bis die geringste Verdünnungsstufe eine Hemmwirkung von $< 20\%$ bewirkt. In gleicher Weise sind Kontrollansätze anzusetzen, wobei jedoch anstelle des Abwassers ein entsprechendes Volumen an Verdünnungswassers hinzugegeben wird. Für jede Verdünnungsstufe und den Kontrollansatz sind in der Regel zwei Parallelansätze zu untersuchen.

Die Kulturflaschen bzw. Kolben werden unter Dauerbeleuchtung geschüttelt und inkubiert. Die Algenzellen werden durch Schütteln bzw. Rühren in Suspension gehalten, um den Gasaustausch zu verbessern und um Schwankung des pH-Wertes in den Prüflösungen auszugleichen. Die Kulturen sind bei einer Temperatur zwischen 21 und 25°C (innerhalb einer Toleranz von $\pm 2^\circ\text{C}$) zu halten.

Es ist darauf zu achten, dass während der Versuchszeit die vorgegebene Lichtintensität für jeden Testansatz gewährleistet ist.

Die Chlorophyll-Fluoreszenz wird zu Beginn des Tests bei einer Wellenlänge von 685 nm gemessen, hierbei wird jeder Ansatz unmittelbar vor der Messung gründlich geschüttelt. Sobald sich ein stabiles Messsignal eingestellt hat, wird dieser Wert protokolliert. Nach 72 h wird von allen Test- und Kontrollansätzen die Fluoreszenz erneut bei einer Wellenlänge von 685 nm bestimmt.

Der Test wird als gültig angesehen, wenn sich die Chlorophyll-Fluoreszenz im Kontrollansatz innerhalb der 72 Stunden um mindestens das 30fache erhöht hat.

Auswertung

Die Hemmwirkung der Biomassenproduktion H_F (entspricht der Minderung der Chlorophyll-Fluoreszenz) wird für jede Verdünnungsstufe G durch Vergleich der Chlorophyll-Fluoreszenz des Testansatzes F_G mit der eines Kontrollansatzes F_K nach folgender Gleichung berechnet:

$$H_F = \frac{F_K - F_G}{F_K} \times 100$$

Liegt eine Eigenfluoreszenz des Abwassers vor, so ist bei der Berechnung der Biomassenproduktion der Eigenfluoreszenzwert F_E von dem Chlorophyll-Fluoreszenzwert des Testansatzes F_G zu subtrahieren.

Die für die einzelnen Verdünnungsstufen ermittelten Werte der Hemmwirkung der Biomassenproduktion werden entsprechend der Tabelle 5 der DIN 38412 L33, Kapitel 13 aufgetragen. Die Förderung der Biomassenproduktion erhält ein negatives Vorzeichen.

Als Ergebnis gilt der kleinste Wert der Verdünnungsstufe G (G_A -Wert) bei dem unter den Bedingungen des Testverfahrens eine Hemmung der Biomassenproduktion von $< 20\%$ gemessen wird.

Der sog. G_A -Wert wird als ganze Zahl angegeben.

z.B.: $G_A = 3$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule B, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 2 bis 4

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	383	384	38
1	383	384	41
1	511	512	25
1	511	512	23
1	767	768	9
1	767	768	6

$G_A = 768$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule B, Abklingphase, Fraktion 20

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	5
1	0	1	3

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule C, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 3 bis 5

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	383	384	46
1	383	384	48
1	511	512	27
1	511	512	23
1	767	768	- 1
1	767	768	1

$G_A = 768$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule C, Abklingphase, Fraktion 20

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	8
1	0	1	6

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule D, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 3 bis 5

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	383	384	43
1	383	384	40
1	511	512	24
1	511	512	26
1	767	768	6
1	767	768	5

$G_A = 768$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule D, Abklingphase, Fraktion 20

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	6
1	0	1	4

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 4 bis 6

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	511	512	25
1	511	512	27
1	767	768	14
1	767	768	11
1	1023	1024	2
1	1023	1024	2

$G_A = 768$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A, Abklingphase, Fraktion 20

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	3
1	0	1	3

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule C, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 4 bis 6

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	511	512	25
1	511	512	27
1	767	768	9
1	767	768	12
1	1023	1024	5
1	1023	1024	3

$G_A = 768$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule C, Abklingphase, Fraktion 20

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	1
1	0	1	3

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule D, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 4 bis 6

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	511	512	27
1	511	512	30
1	767	768	6
1	767	768	9
1	1023	1024	- 2
1	1023	1024	1

$G_A = 768$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule D, Abklingphase, Fraktion 20

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	- 1
1	0	1	- 2

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule B, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 2 bis 4,
 nach Abbautest

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	2
1	0	1	3

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 4 bis 6,
 nach Abbautest

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	0	1	3
1	0	1	4

$G_A = 1$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule B, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 2 bis 4, zweifache Nährmediumkonzentration

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	127	128	21
1	127	128	23
1	191	192	14
1	191	192	16
1	255	256	12
1	255	256	11

$G_A = 192$

Formulierung Go-GL-ALG-11-I-d, Säule B, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 2 bis 4, dreifache Nährmediumkonzentration

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	127	128	26
1	127	128	24
1	191	192	17
1	191	192	16
1	255	256	12
1	255	256	9

$G_A = 192$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 4 bis 6, zweifache Nährmediumkonzentration

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	95	96	25
1	95	96	22
1	127	128	19
1	127	128	13
1	191	192	10
1	191	192	3

$G_A = 128$

Formulierung Go-GL-ALG-12-II-c, Säule A, Mischfraktion des TOC-Maximums, Fraktion 4 bis 6, dreifache Nährmediumkonzentration

Anteil Eluat	Anteil Verdünnungswasser einschließlich Nährlösung und Inokulum	Verdünnungsstufe G	Hemmwirkung %
1	95	96	25
1	95	96	33
1	127	128	16
1	127	128	13
1	191	192	11
1	191	192	0

$G_A = 128$

Bestimmung der Algentoxizität von Acrylsäure*

hier: Nominalkonzentration der Acrylsäure = 2,5 mg/l, bezogen auf 100 ml Gesamtlösung
 (Acrylsäurelösung + Nährmedium + Algensuspension)

Verdünnungsstufe G	Probe 1 (Algentest gem. DIN 38412 L33, mit einfacher Nährmedium- konzentration) Hemmwirkung (%)	Probe 2 (Algentest gem. DIN 38412 L33, mit einfacher Nährmedium- konzentration) Hemmwirkung (%)	Probe 3 (Algentest gem. DIN 38412 L33, mit einfacher Nährmedium- konzentration) Hemmwirkung (%)	Probe 3 (Algentest gem. DIN 38412 L33, mit doppelter Nährmedium- konzentration**) Hemmwirkung (%)
1	99	99	99	98
2	98	99	98	98
3	95	98	97	98
4	89	95	94	93
6	70	89	83	89
8	76	88	82	74
12	66	74	47	77
16	55	63	42	70
24	50	42	50	54
32	50	43	51	52
48	40	41	41	49
64	23	23	37	44
96	7	16	27	32
128			11	22

* Anmerkung: Fremdanalytik eines akkreditierten Labors

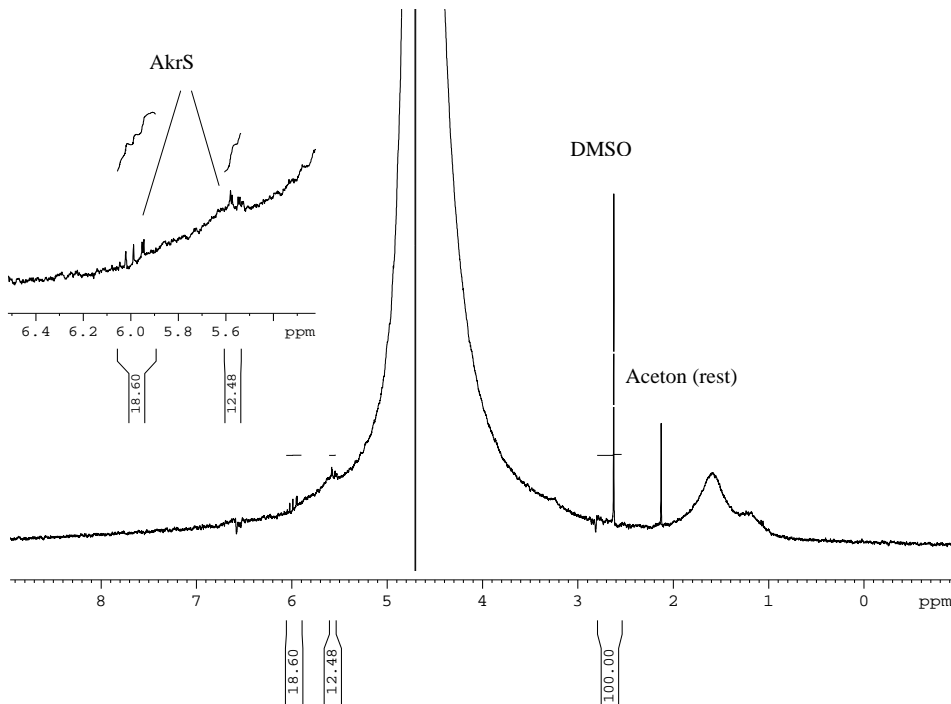
**Anmerkung: Die NaHCO₃-Konzentration entspricht der einfachen Nährmediumkonzentration.

Spektrenbeilage

A 1H-NMR-Spektren

A.1 NMR-Spektren der Kalibration von Acrylsäure /Acrylat in wässriger Lösung

AkrS (0.5 mg/l) + DMSO (1 mg/l)
 E: 1.0 ml
 zgpr; d1=6 s



```
Current Data Parameters
NAME                P26537
EXPNO                30
PROCNO               1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                20120522
Time                 16.39
INSTRUM              spect
PROBHD               5 mm Multinucl
PULPROG              zgpr
TD                   16384
SOLVENT              D2O
NS                   8192
DS                   0
SWH                  6172.839 Hz
FIDRES               0.376760 Hz
AQ                   1.3271540 sec
RG                   70
DW                   81.000 usec
DE                   6.00 usec
TE                   298.2 K
D1                   6.00000000 sec
d12                  0.00002000 sec
MCREST               0.00000000 sec
MCWRK                0.01500000 sec

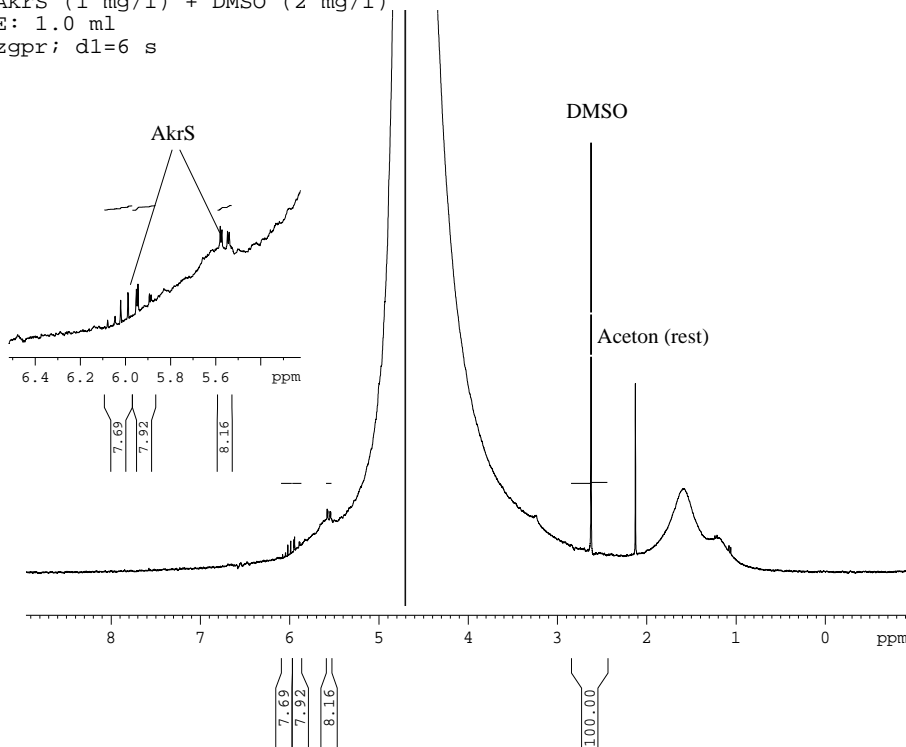
===== CHANNEL f1 =====
NUC1                  1H
P1                    16.60 usec
PL1                   6.50 dB
PL9                   56.08 dB
SFO1                  300.1314106 MHz

F2 - Processing parameters
SI                    32768
SF                    300.1300000 MHz
WDW                   EM
SSB                   0
LB                    0.30 Hz
GB                    0
PC                    1.00
```

Spektrum 1

Acrylsäure/Acrylat in Wasser (c = 0,5 mg/l; wässrige Lösung mit NaOH auf pH 9 eingestellt), mit DMSO (Dimethylsulfoxid) als interner Standard. NMR-Signale für Acrylat/Acrylsäure (AKS) - Offset links oben.

AkrS (1 mg/l) + DMSO (2 mg/l)
 E: 1.0 ml
 zgpr; d1=6 s



Current Data Parameters
 NAME P26537
 EXPNO 30
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20120522
 Time 16.39
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinucl
 PULPROG zgpr
 TD 16384
 SOLVENT D2O
 NS 6144
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.376760 Hz
 AQ 1.3271540 sec
 RG 70
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.2 K
 D1 6.00000000 sec
 d12 0.00002000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

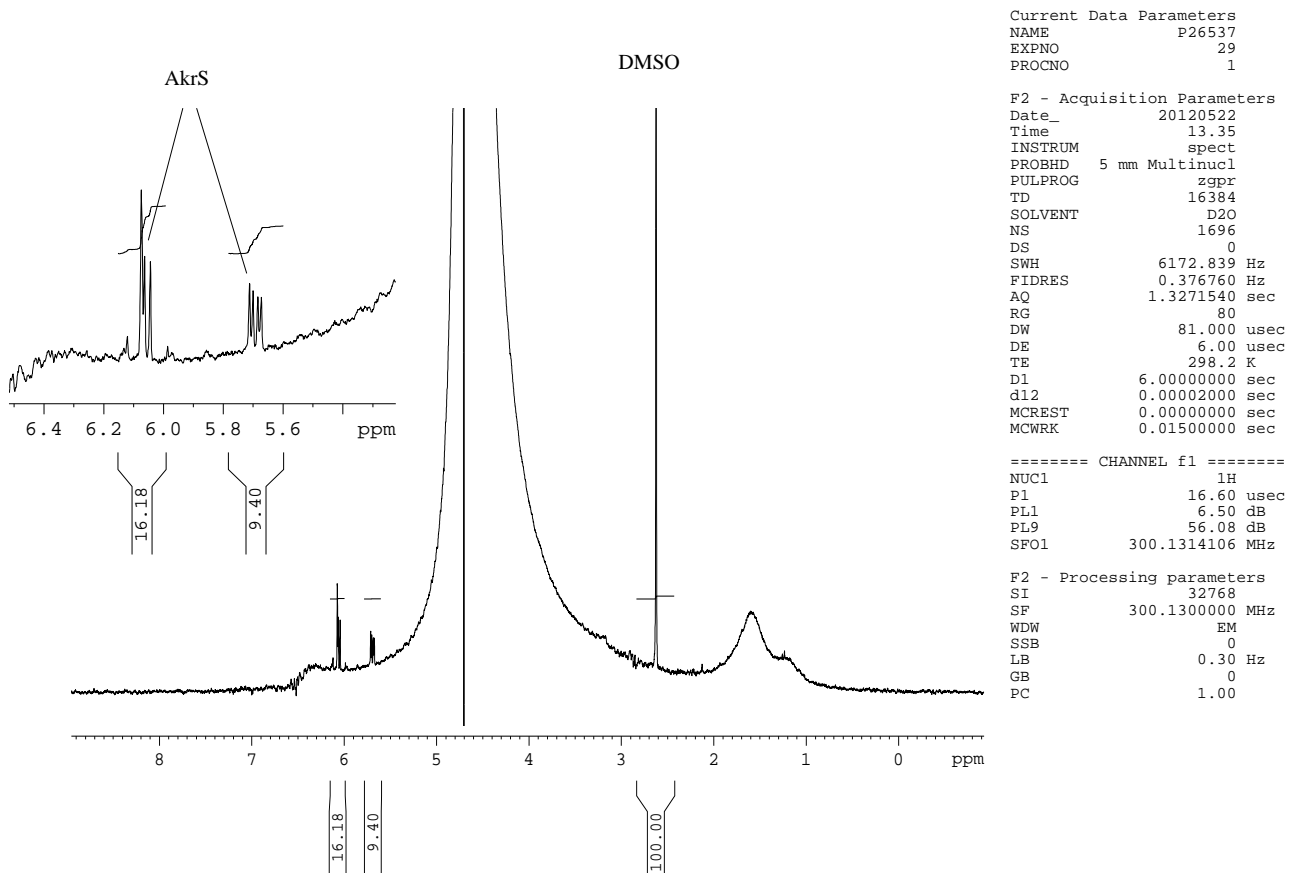
==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 16.60 usec
 PL1 6.50 dB
 PL9 56.08 dB
 SFO1 300.1314106 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Spektrum 2

Acrylsäure/Acrylat in Wasser (c = 1 mg/l; wässrige Lösung mit NaOH auf pH 9 eingestellt), mit DMSO (Dimethylsulfoxid) als interner Standard. NMR-Signale für Acrylat/Acrylsäure (Aks) - Offset links oben.

AkrS (5 mg/l) + DMSO (10 mg/l)
 E: 1.0 ml
 zgpr; d1=6 s

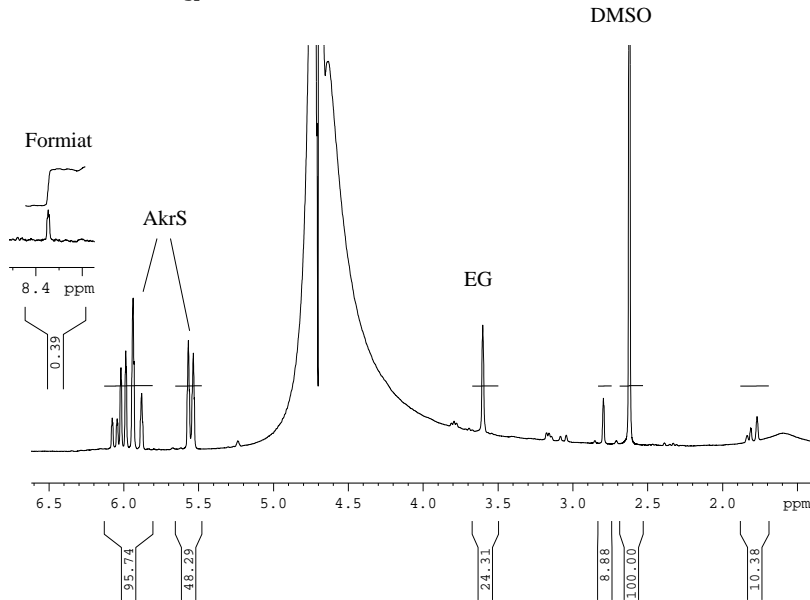


Spektrum 3

Acrylsäure/Acrylat in Wasser ($c = 5 \text{ mg/l}$; wässrige Lösung mit NaOH auf pH 9 eingestellt), mit DMSO (Dimethylsulfoxid) als interner Standard. NMR-Signale für Acrylat/Acrylsäure (AkrS) - Offset links oben.

A.2 NMR-Spektren der verschiedenen Eluatproben

P26537/1 Go-GL-ALG-11-I-d vor Abbaustest
 filtriert;
 E: 2.0 g + DMSO: 0.250 mg
 H2O/D2O (10%); zgpr



Current Data Parameters
 NAME P26537
 EXPNO 7
 PROCNO 1

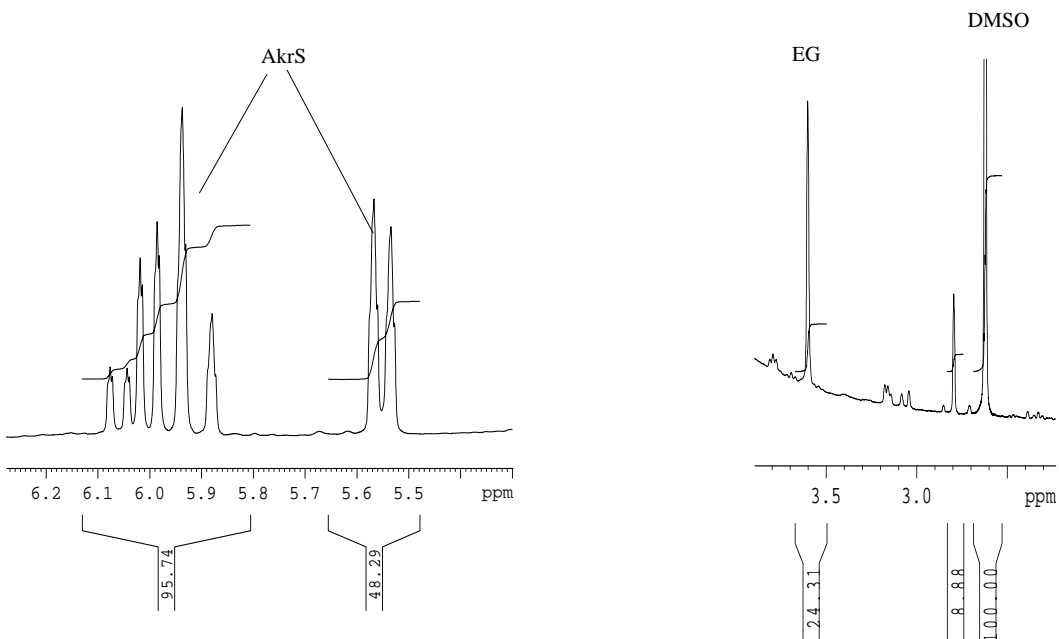
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20120126
 Time 9.44
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinucl
 PULPROG zgpr
 TD 16384
 SOLVENT D2O
 NS 8192
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.376760 Hz
 AQ 1.3271540 sec
 RG 160
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.2 K
 D1 6.0000000 sec
 d12 0.00002000 sec
 MCREST 0.0000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 16.60 usec
 PL1 6.50 dB
 PL9 56.08 dB
 SFO1 300.1314106 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

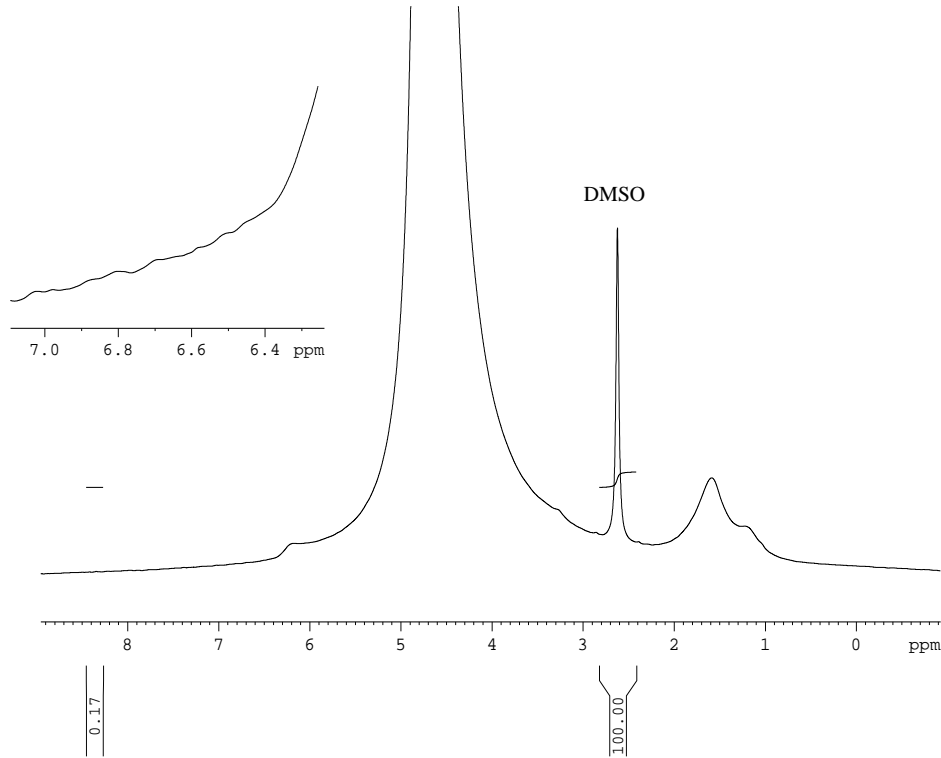
Spektrum 4

Probe Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max - Übersicht



Ausschnitte (Offset) Spektrum 4
 Acrylsäure/Acrylat (AkS) Ethylenglykol (EG) DMSO (interner Standard)

P26538/1 GO-GL-ALG-11-I-d nach Abbaute
 E: 1.0 g + DMSO: 0.05 mg
 H2O/D2O (10%); zgpr



```

Current Data Parameters
NAME          P26538
EXPNO         1
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20120202
Time          8.56
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm Multinucl
PULPROG       zgpr
TD            16384
SOLVENT       D2O
NS            8192
DS            0
SWH           6172.839 Hz
FIDRES        0.376760 Hz
AQ            1.3271540 sec
RG            256
DW            81.000 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            6.00000000 sec
d12           0.00002000 sec
MCREST        0.00000000 sec
MCWRK         0.01500000 sec

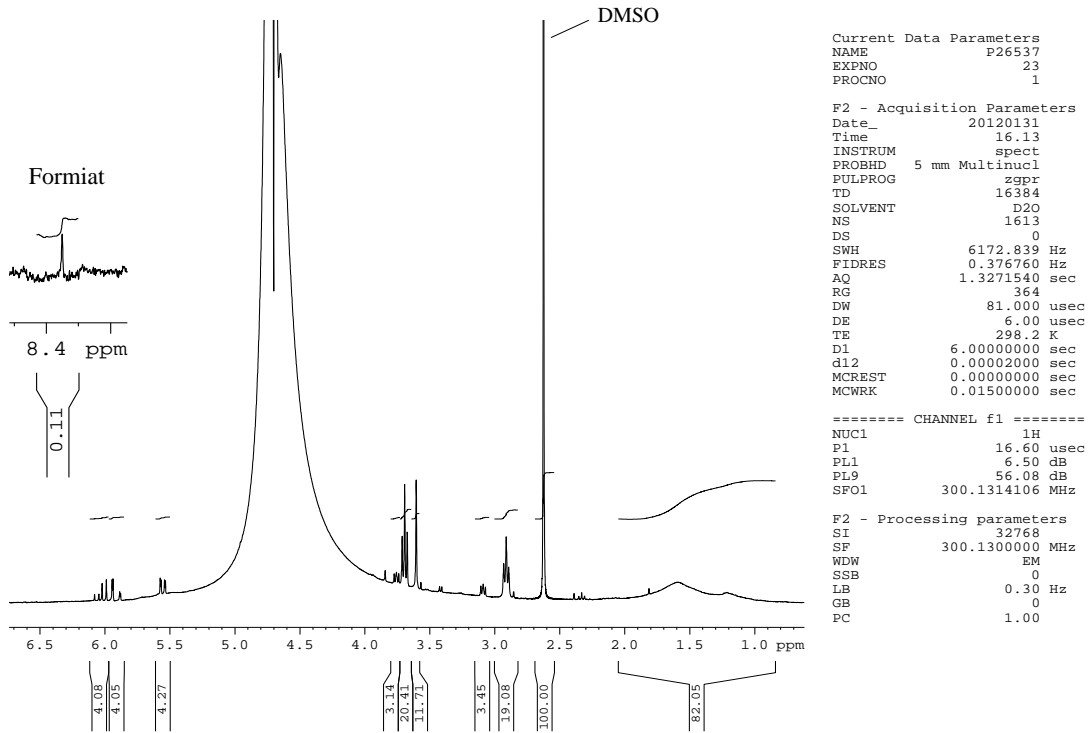
===== CHANNEL f1 =====
NUC1          1H
P1            16.60 usec
PL1           6.50 dB
PL9           56.08 dB
SFO1          300.1314106 MHz

F2 - Processing parameters
SI            32768
SF            300.1300000 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            10.00 Hz
GB            0
PC            1.00
  
```

Spektrum 5

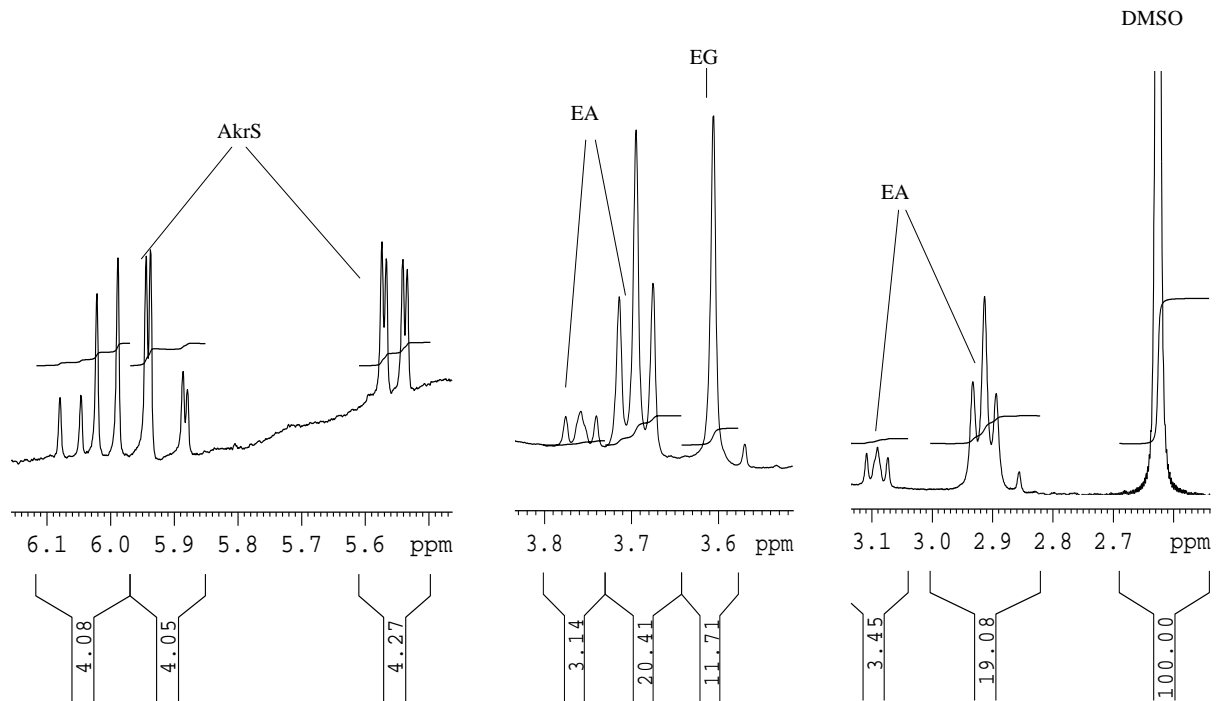
Probe Go-GL-ALG-11-I-d; Säule B max. nach Abbaute – Übersicht und Offset links oben

P26539/1A Go-GL-ALG-12-II-c "4+5+6" vor Abbautest
 filtriert;
 E: 2.0 g + DMSO: 0.250 mg
 H2O/D2O (10%); zgpr



Spektrum 6

Probe Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max., „4+5+6“ - Übersicht

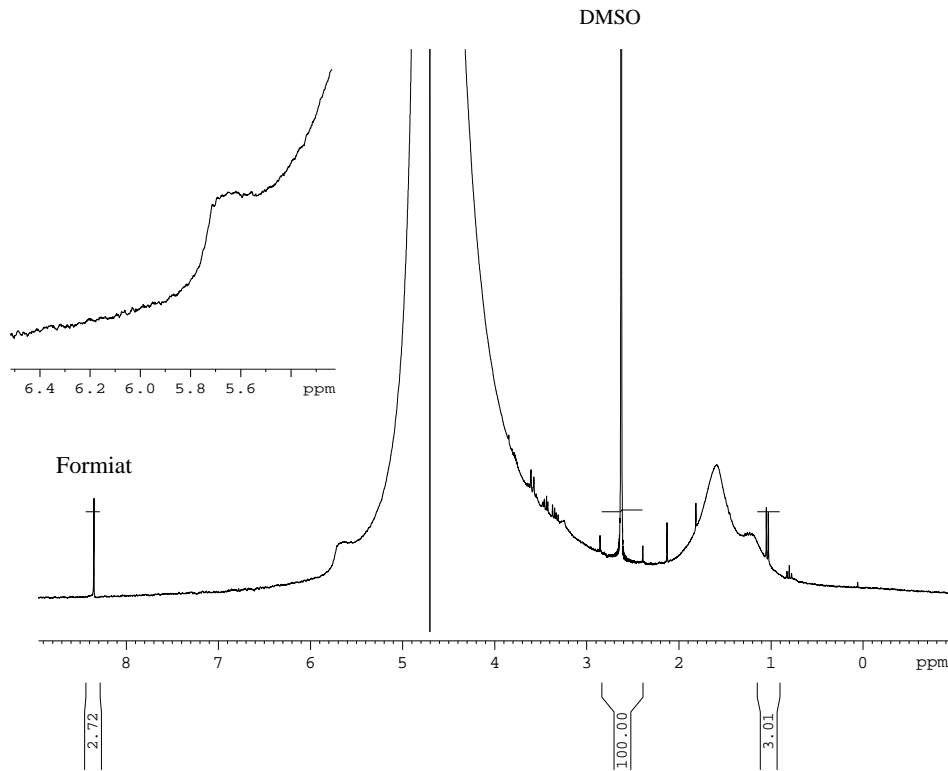


Ausschnitte (Offset) Spektrum 6
 Acrylsäure/Acrylat (AkS)

Ethylenglykol (EG)
 Ethylenamin – Derivat (EA)

Ethylenamin – Derivat (EA)
 DMSO (interner Standard)

P26540/1 GO-GL-ALG-12-II-c nach Abbaute
 E: 1.0 g + DMSO: 0.05 mg
 H2O/D2O (10%); zgpr



Current Data Parameters
 NAME P26537
 EXPNO 25
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20120201
 Time 12.03
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinucl
 PULPROG zgpr
 TD 16384
 SOLVENT D2O
 NS 8192
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.376760 Hz
 AQ 1.3271540 sec
 RG 256
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.2 K
 D1 6.00000000 sec
 d12 0.00002000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

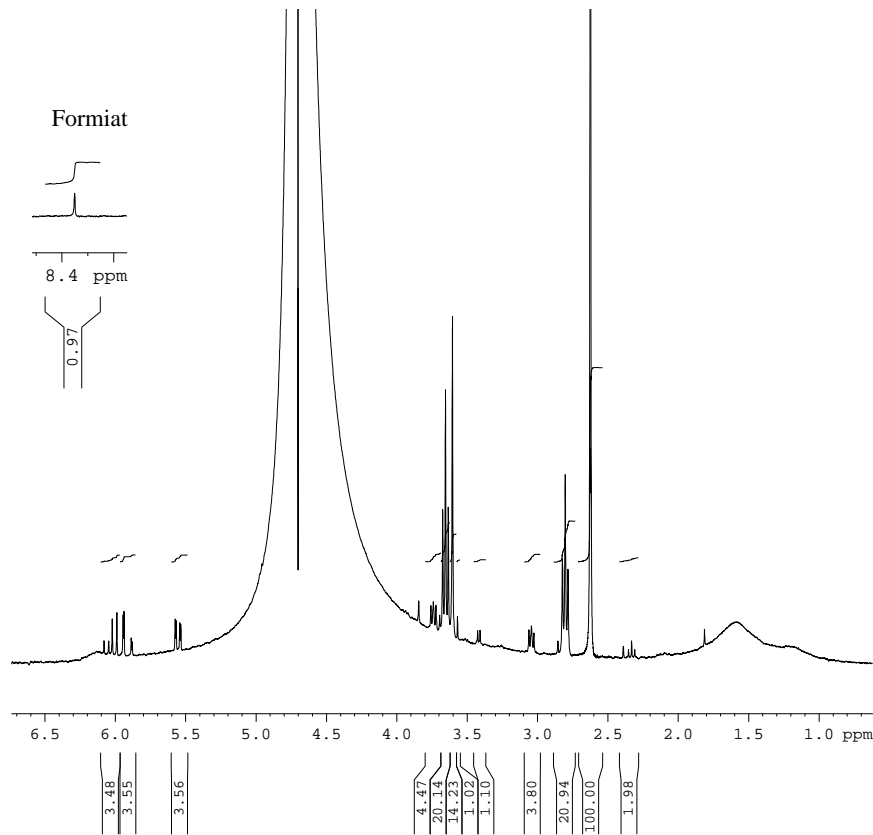
==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 16.60 usec
 PL1 6.50 dB
 PL9 56.08 dB
 SF01 300.1314106 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Spektrum 7

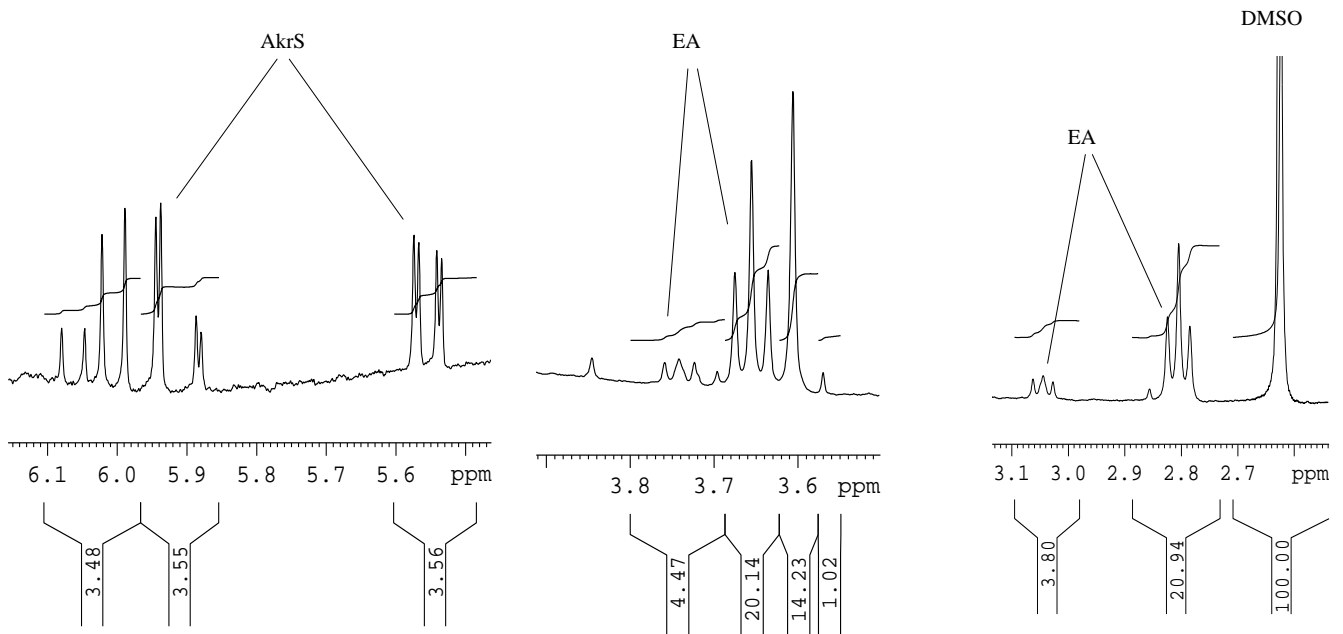
Probe Go-GL-ALG-12-II-c; Säule A max nach Abbaute – Übersicht und Offset links oben

P26539/1B Go-GL-ALG-12-II-c "7+8+9" vor Abbaute
 filtriert;
 E: 2.0 g + DMSO: 0.250 mg
 H2O/D2O (10%); zgpr



Spektrum 8

Probe Go-GL-ALG-12-c; Säule A max. „7 + 8 + 9“ – Übersicht



Ausschnitte (Offset) Spektrum 6

Acrylsäure/Acrylat (AkS)

Ethylenamin – Derivat (EA)

Ethylenamin – Derivat (EA)
 DMSO (interner Standard)

B Infra-Rotspektren (ATR) der unlöslichen Ausflockungen in den Eluaten

