



GOBIO-GmbH – Scheidertalstr. 69a – 65329 Aarbergen

Institut Dr. Lörcher
Martin Luther Straße 25

71636 Ludwigsburg

Bearbeiter Bernhard Allner
Telefon 06120-926434

Aarbergen, 21.04. 2010

Prüfbericht Nr. 04/0513-95

Prüfung der Hemmwirkung eines Mischgewebes aus PP- und Silberfäden auf Grün- und Blaualgen

Prüfeinrichtung Institut für Gewässeroekologie und angewandte Biologie
GOBIO-GmbH
Scheidertalstraße 69a, 65329 Aarbergen

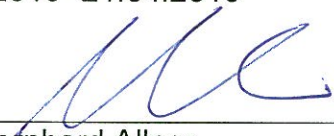
Prüfgegenstand: Probe Nr. 77 554, Mischgewebe aus PP- und Silberfäden

Interne Proben Nr.: 0513-123

Prüfverfahren: Algentest nach DIN 38412 L33 (Stand)
und OECD Guideline 201 (Stand 23.03. 2006)

Prüfzeitraum 22.02.2010- 21.04.2010


Prüfleiter



Dr. Bernhard Allner
Scheidertalstraße 69a, 65329 Aarbergen

Techn. Assistenz Julia Jeckel

Leiter der
Prüfeinrichtung



Dr. Petra Stahlschmidt-Allner
Scheidertalstraße 69a, 65329 Aarbergen



Testorganismen :

Grünalge: *Desmodesmus subspicatus* (Stamm Nr. 8681 SAG)

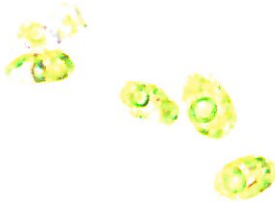


Abb. 1 *Desmodesmus subspicatus*, 2000fache Vergrößerung

Blualgen: (Cyanobakterien) *Anabaena flos-aquae* (Stamm Nr. 3087 SAG)

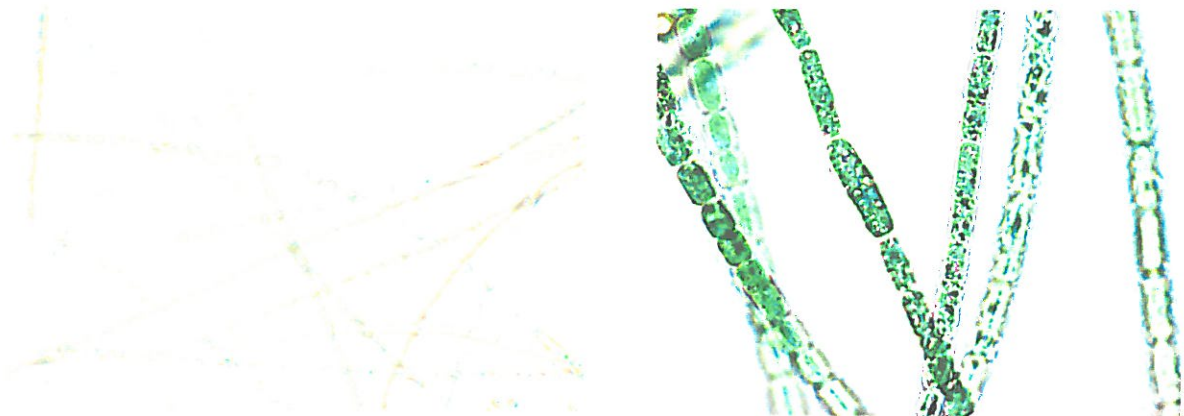


Abb.2 *Anabaena flos-aquae*, links: 800fache Vergrößerung, rechts: 2000fache Vergrößerung

Synechococcus leopoliensis, (Stamm Nr. 1402-01 SAG)



Abb.3
*Synechococcus
leopoliensis*
1000fache
Vergrößerung



Aufgabenstellung:

Getestet werden sollte die hemmende Wirkung eines Mischgewebebands aus PP- und Silberfäden auf das Wachstum von Algen unter standardisierten Bedingungen.

Im ersten Vorversuch einem Algentest nach DIN mit der Grünalge *Desmodesmus subspicatus* (Stamm Nr. 8681 SAG) mit Wasser aus einem 30 Tage Einlagerungsversuch (Tg.Nr. 130 859, Institut Dr. Lörcher) wurde keine Hemmung des Algenwachstums gemessen (Prüfbericht 04/0513-71, GOBIO-GmbH). In diesem Test wurde ein wässriges Eluat des Probenmaterials untersucht.

Nicht nur einzellige Grünalgen wie *D. subspicatus* sondern auch Blaualgen (Cyanophyceae) können sowohl im Aquarium als auch in Teichanlagen so genannte Algenblüten - eine unschöne Grünfärbung des Wassers- verursachen.

In einem weiteren Vorversuch sollte nun ermittelt werden, ob die Gegenwart des Testmaterials im Medium das Wachstum von einzelligen Algen hemmt. Zudem sollte die Art der Einbringung des Feststoffs unter Beibehaltung weitgehend DIN konformer Versuchsbedingungen erprobt werden. Entsprechend einer Vorgabe durch den Auftraggeber sollte das Testgut in einem Mischungsverhältnis von 1cm Gewebe pro 1 L Medium getestet werden. Zusätzlich zu den bislang untersuchten Grünalgen *Desmodesmus subspicatus* sollte auch die Wirkung auf Wasserblüten verursachende Blaualgen getestet werden.

Durchführung:

Das zu prüfende Material bestand aus einem schlauchförmigen Mischgewebeband aus PP- und Silberfäden. Das Testgut wurde als unzerkleinertes Gewebe in die Testgefäße (entsprechend der Vorgabe durch den Auftraggeber) in einem Mischungsverhältnis von 1cm Gewebe pro 1 L Medium getestet.

Als Testorganismen wurden die Grünalge *Desmodesmus subspicatus* (Stamm Nr. 8681 SAG) und die Blaualgen (Cyanobakterien) *Anabaena flos-aquae* (Stamm Nr. 3087 SAG) und *Synechococcus leopoliensis* (Stamm Nr. 1402-01 SAG) gewählt. Die Vermehrung bzw. Hemmung der Vermehrung der Algen wird durch die Messung der Chlorophyll Fluoreszenz (RFU) nach 72h Exposition im Verhältnis zur Kontrolle



ermittelt. Grundlage für die Messung ist die Annahme, dass ein direkter Zusammenhang zwischen der Fluoreszenz der algenhaltigen Probe und der Anzahl intakter Algenzellen besteht.

Testmedium

Als Testmedium wurde sowohl für die Ansätze mit Grünalgen als auch mit Blaualgen die Algennährlösung nach DIN 38412 L33 verwendet.

Testgut

Bei dem Testgut handelt es sich um ein Mischgewebe aus PP- und Silberfäden, das bei uns am 13.02.2010 eingegangen ist und unter Probennr. 0513-123 geführt und archiviert wurde. Eine weitere stoffliche Beschreibung der Probe erfolgt nicht.

Ein Abschnitt des Gewebes von 1 cm Länge wog im Mittel 100 mg. In den nachfolgenden Tests wurden, um ein reproduzierbares Ergebnis zu erhalten, 100 mg Gewebe pro 1L Medium eingewogen.

Vorversuche zur Ermittlung der Hemmwirkung auf *Desmodesmus subspicatus*

Zur Klärung der Frage ob das Gewebe bei direktem Kontakt mit dem Testmedium eine Hemmwirkung auf Algen hat wurden jeweils 100 mg, 50 mg und 10 mg Gewebe in 20 mL Medium eingewogen und im Algentest nach DIN untersucht.

Tab.1: Vorversuch zur Bestimmung der Wachstum hemmenden Wirkung auf *D. subspicatus* (Mittelwert aus Doppelbestimmungen)

Einwaage	100mg/20mL	50mg/20mL	10mg/20mL	Kontrolle
RFU				
t ₀	15,0	19,2	12,3	14,9
t ₇₂	20,2	46,5	43,9	224,0
% Hemmung	91	79,3	80,4	

t₀: Fluoreszenz zum Zeitpunkt t = 0h

t₇₂: Fluoreszenz zum Zeitpunkt t = 72h

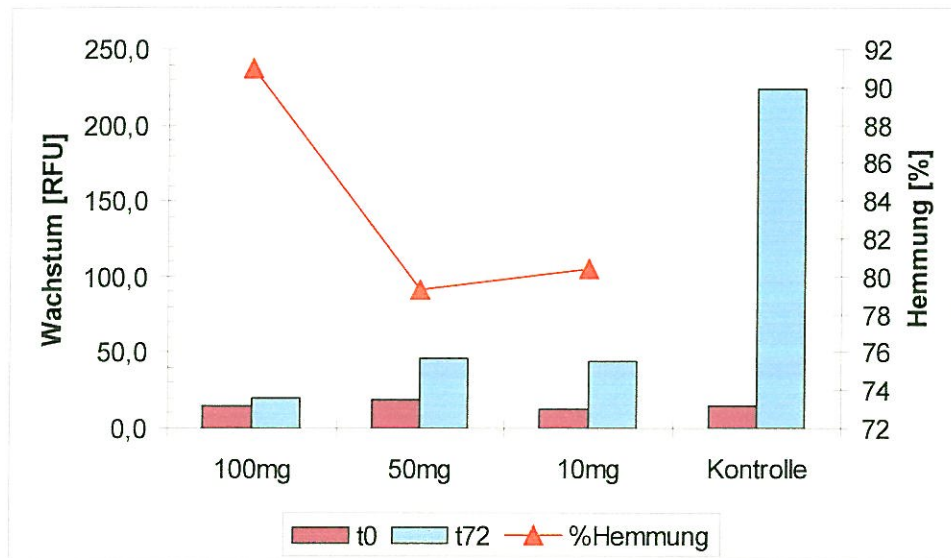


Abb. 4: Hemmung der Vermehrung von *D. subspicatus* im Algentest nach DIN38412 L33

Die eingewogene Menge entsprach einem Materialabschnitt von je 50 cm, 25 cm und 5 cm Gewebe pro 1 L Medium.

Nach 72h Exposition wurde eine deutliche Hemmung der Zellvermehrung von *D. subspicatus* mit 91% (100mg), 79% (50mg) und 80% (10mg) gemessen (Tab. 1 und Abb.4). Die Hemmwerte lassen eine Konzentrationsabhängigkeit vermuten.

Vorversuche zur Einbringung des Testgutes unter DIN konformen

Versuchsbedingungen

In weiteren Vortests wurde die Art der Einbringung des Probenmaterials in das Medium und der Exposition (Einhängen der Probe mittels Nylonfaden, Einwiegen von intakten Abschnitten und Exposition in 1L Testgefäßen, Einwiegen von Abschnitten in 200 mL Medium) untersucht. Hierbei erwies sich das Einwiegen von 1cm/L Äquivalenten in 200 mL Medium (in 250 mL Gefäßen) und homogene Verteilung der Algen sowie Anströmen der Probe mittels interval-geschaltetem Magnetrührer als geeignete Vorgehensweise.



Hauptversuch

In den folgenden Versuchen wurde die vermehrungshemmende Wirkung von 1 cm Testgut pro 1 Liter Medium an den beiden Blaualgen *Synechococcus* und *Anabaena* und der Grünalge *D. subspicatus* untersucht. Die Durchführung der Untersuchung erfolgte in Anlehnung an DIN 38412 L33.

Hierfür wurden jeweils 20 mg Probe in 200 mL Medium eingewogen (entspr. 1 cm/L). Die Algendichte betrug zu Beginn des Tests (t_0) für *D. subspicatus* $2 \cdot 10^3$ Zellen/mL (entspr. RFU = 7) und für die Cyanobakterien 10^4 Zellen/mL (entspr. RFU = 5-7).

Die Kontrollansätze enthielten lediglich das Expositionsmedium und Algen.

Rühren (Intervall 15sec/30sec, Rühren/Pause) mittels Magnetrührer sorgte für eine homogene Verteilung der Algen während der gesamten Testdauer. Abweichend von den Vorgaben der DIN –Norm wurde zusätzlich zur Messung nach 72h (t_{72}) die Hemmung nach 96h (t_{96}) und nach 120h (t_{120}) bestimmt (Tab. 2).

Ergebnis:

Das Gültigkeitskriterium Wachstum (Vermehrung der Zellzahl um mindestens den Faktor 30) wurde für die Grünalge *D. subspicatus* eingehalten (RFU:7 = $1,3 \cdot 10^3$ Zellen, RFU:86 = $2,2 \cdot 10^5$ Zellen). Für das Wachstum von Blaualgen wird in der DIN 38412 L33 kein Wert als Gültigkeitskriterium vorgegeben.

Anhand der Messung der Chlorophyllfluoreszenz konnte für die drei untersuchten Algenarten eine nahezu vollständige Hemmung des Wachstums festgestellt werden (Tab. 2, Abb.5). Die Vermehrung der Blaualgen war nach 72h zu 98% (*Synechococcus*) bzw. zu 99% (*Anabaena*) gehemmt.

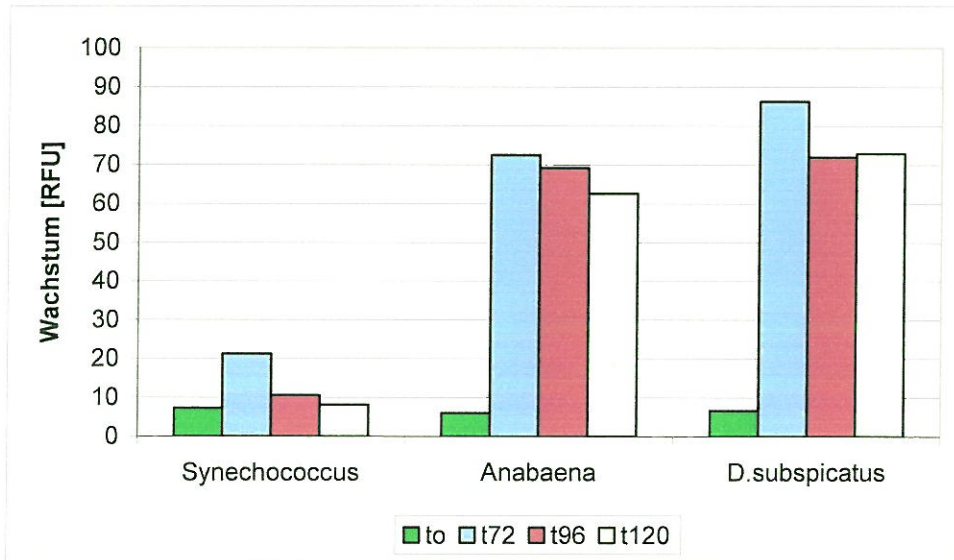


Abb.5: Wachstum der Kontrollansätze mit *Synechococcus leopoliensis*, *Anabaena flos-aquae* und *Desmodesmus subspicatus*

Tab. 2: Bestimmung der Hemmwirkung des Testgutes (1cm/L) auf *Synechococcus leopoliensis*, *Anabaena flos-aquae* und *Desmodesmus subspicatus* (Mittelwert aus 3 Messungen)

	Probe						Kontrolle		
	Synechococcus		Anabaena		Desmodesmus		Synechococcus	Anabaena	Desmodesmus
	RFU	% Hemmung	RFU	% Hemmung	RFU	% Hemmung	RFU	RFU	RFU
t0	7,3		5,3		7,3		7,4	6,1	6,8
t72	0,4	98,3	0,4	99,5	4,2	95,2	21,3	72,5	86,3
t96	0,4	96,3	0,4	99,4	7,7	89,3	10,7	69,2	72,0
t120	0,4	95,1	0,5	99,3	16,9	76,8	8,2	62,6	72,9

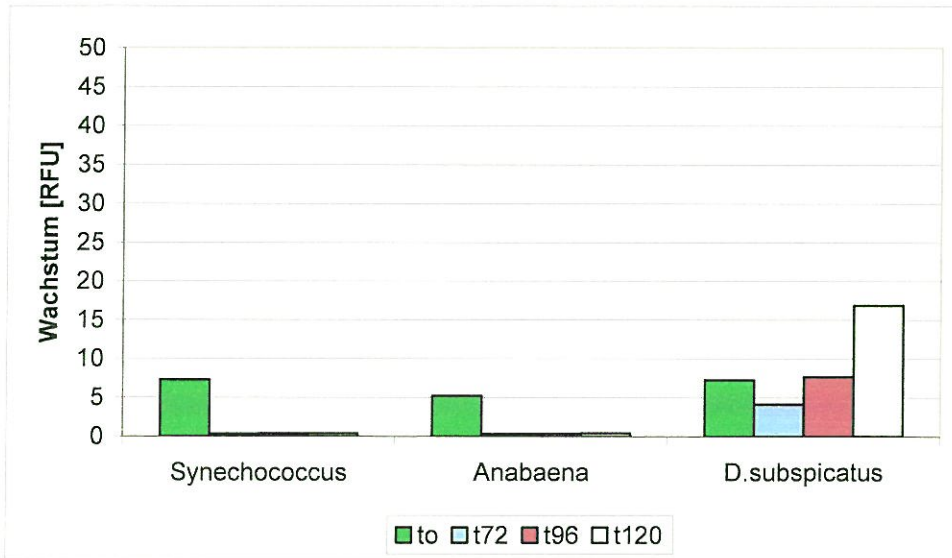


Abb.6: Wachstum der Testansätze mit *Synechococcus leopoliensis*, *Anabaena flos-aquae* und *Desmodesmus subspicatus* im Verlauf von 120h Exposition gegenüber 100mg/L silberbeschichtetem Testmaterial

Die RFU Werte der Messungen zu t₇₂, t₉₆ und t₁₂₀ lagen mit 0,4 nur geringfügig über dem Leer-Wert (0,3) und deutlich unter dem Ausgangswert zu t₀ (7,3 / 5,3; Tab.2). Dies spricht für einen zytotoxischen Effekt auf die Blaualgen (Abb. 6).

Bei der Grünalge *Desmodesmus subspicatus* war der zellschädigende Effekt des Probenmaterials nach 72h ebenfalls zu erkennen (t₀: 7,3; t₇₂: 4,2). Die Vermehrung war im Vergleich zur Kontrolle zu 95% gehemmt (Tab.2, Abb. 7). Im weiteren Verlauf des Tests sank die Hemmwirkung jedoch auf 89% (t₉₆) und 77% (t₁₂₀).

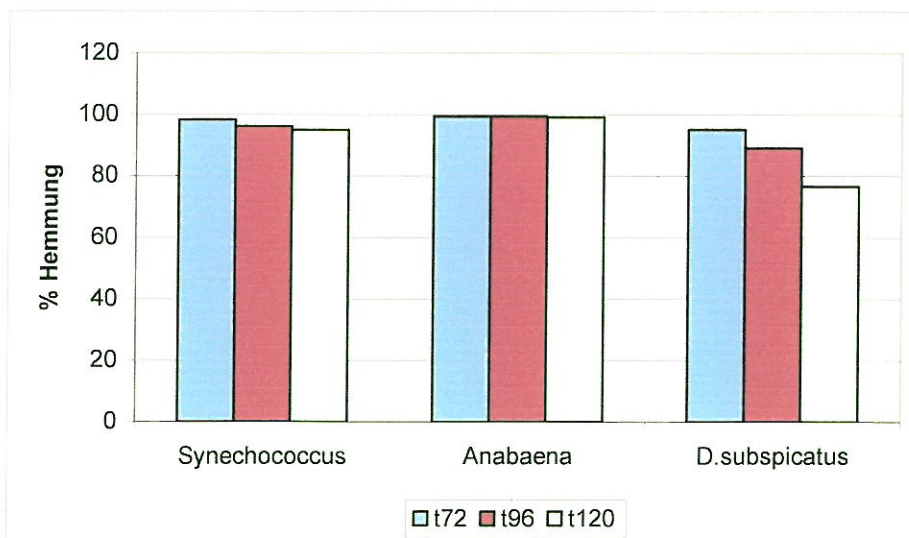


Abb.7: Prozentuale Hemmung der Zellvermehrung von *Synechococcus leopoliensis*, *Anabaena flos-aquae* und *Desmodesmus subspicatus* im Verlauf von 120h Exposition gegenüber 100mg/L silberbeschichtetem Testmaterial



Zusammenfassung

Im Unterschied zu Versuchen mit Eluaten des Testmaterials bewirkt das Probenmaterial gegenüber einzelligen Algen bei direkter (Nährmedium vermittelter) Exposition eine deutliche Wachstumshemmung.

Bei einer Konzentration von 100mg unzerkleinertem Probenmaterial pro 1L Medium wird eine annähernd vollständige Hemmung von Wasserblüten auslösenden Blaualgen erzielt. Gegenüber Grünalgen ist die Hemmwirkung mit 95 % Hemmung im Vergleich zu Kontrollansätzen geringfügig niedriger. Hier zeichnet sich eine leichte Tendenz zur Abnahme der Hemmwirkung bei längerer Versuchsdauer ab.

Aarbergen den 21.04.2010

Prüfleiter:

Dr. Bernhard Allner

Leiter der Prüfeinrichtung:

Dr. Petra Stahlschmidt-Allner