

Methodensammlung der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Gentechnik	
Probenahme bei Wasserproben	AM007
Erstellt vom Unterausschuss Methodenentwicklung der LAG, September 2000	
Status: verabschiedet	

1. Grundlagen und Anwendungsbereich

Im Rahmen der Überwachung von gentechnischen Anlagen und Freisetzungsf lächen transgener Pflanzen sind in bestimmten Fällen Stichproben aus Wasserbehältnissen (z. B. Laborwasserbäder) sowie aus Abwasser, natürlichen Gewässern, Talsperren und Kläranlagen zu entnehmen. Zweck der Probenahme ist die Untersuchung des Probenwassers auf unerlaubt oder unbeabsichtigt freigesetzte gentechnisch veränderte Mikroorganismen (GVM). Das hier beschriebene Verfahren wurde auf der Grundlage bereits bestehender Normen erarbeitet:

DIN 38411 - Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung / Mikrobiologische Verfahren (K):
 Teil 1: Vorbereitung zur mikrobiologischen Untersuchung von Wasserproben
 Teil 5: Bestimmung vermehrungsfähiger Keime mittels Membranfilterverfahren

AQS - Merkblätter zu den Rahmenempfehlungen der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) für die Qualitätssicherung bei Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchungen

DVGW- Wasser- Information, Nr. 62, Ausgabe 03/00

DIN EN 25667 - Wasserbeschaffenheit / Probenahme.
 Teil 2: Anleitung zur Probenahmetechnik
 Teil 3: Anleitung zur Konservierung und Handhabung von Proben
 Teil 4: Anleitung zur Probenahme aus Talsperren und Seen
 Teil 6: Anleitung zur Probenahme aus Flüssen und Bächen
 Teil 10: Anleitung zur Probenahme aus Abwasser

DIN 38402 - Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung / Allgemeine Angaben (A); Teil 11: Probenahme von Abwasser

EN 12686 - Veränderte Organismen zum Einsatz in der Umwelt.
 Leitfaden für Probenahmestrategien bei der absichtlichen Freisetzung gentechnisch veränderter Mikroorganismen einschließlich Viren

2. Begriffsbestimmung

Stichprobe

Eine Stichprobe ist eine einmalige Probenahme und kann von Hand oder automatisch genommen werden. Stichproben sind bei Gewässern empfehlenswert, bei denen die Werte der zu untersuchenden Parameter nicht konstant sind und eine Mischprobe Unterschiede zwischen Einzelproben verschleiern würde. Stichproben sollten genommen werden bei Untersuchungen über eine mögliche Verunreinigung oder bei Prüfung ihres Ausmaßes, oder, um mit Hilfe automatischer Entnahme von Einzelproben, den Zeitpunkt des Auftretens der Verunreinigung herauszufinden. Sie können auch vor der Aufstellung eines umfangreicheren Probenahmeprogramms entnommen werden.

3. Geräte

- Dampfsterilisator, Trockensterilisator
- sterilisierbare Probenahme - Gefäße mit dicht schließendem Deckel, z.B. Borsilikatglasflaschen (DURAN®) oder Polypropylene - Zentrifugenröhrchen (50 bzw. 100 ml Volumen)
- sterilisierbare Probenahmebecher, Glaspipetten o. ä. Vorrichtungen, z.B. Flüssigprobenehmer (50- oder 100 ml, ROTH, Best.-Nr. L139.1)
- Kühltasche oder andere isolierte, ggf. kühlbare Transportbehälter
- Membranfilter, steril, Porenweite 0,2 µm; passend zum Filtrationsgerät
- Membranfiltrationsgerät, hitzesterilisierbar

4. Planung der Probenahme

Folgende Aspekte müssen bei der Planung der Probenahme berücksichtigt werden:

- Werden die Proben für qualitative oder quantitative Untersuchungen verwendet?
- Sollen phänotypische oder genotypische Merkmale von GVM nachgewiesen werden?
- Welche Probenmenge ist angemessen im Hinblick auf die Nachweisgrenze der nachfolgend angewandten Untersuchungsmethoden?
- Können durch bestimmte Entnahme, Transport oder Lagerung der Probe GVM zerstört oder beeinträchtigt werden?
- Wie können geeignete Kontrollen in die Probenahme einbezogen werden (Negativkontrollen sowie qualitative und/oder quantitative Positivkontrollen)?

5. Durchführung

5.1. Vorbereitung der Probenahme

Die Probenahmegefäße und -vorrichtungen werden nach kurzer mechanischer Reinigung (z.B. in Leitungswasser) mit destilliertem oder deionisiertem Wasser gespült und anschließend getrocknet. Geräte, die vollständig aus Glas oder Metall bestehen, werden mit Aluminiumfolie abgedeckt oder

umwickelt und 2 - 4 Stunden bei 180°C im Trockensterilisator sterilisiert. Autoklavierbare Plastikgefäße und DURAN®-Flaschen mit Plastik-Deckel werden mit nur leicht angezogenem Deckel, welcher mit Alufolie umwickelt wird, 20 Minuten bei 121°C autoklaviert.

5.2. Probenahme

Aus Oberflächenwässern und Wasserbehältern werden Wasserproben zweckmäßig ca. 30 cm unter der Wasseroberfläche entnommen.

Proben aus Wasserleitungen werden in Abhängigkeit von der Fragestellung entweder direkt bei Aufdrehen des Wasserhahnes entnommen, oder die Wasseraustrittsöffnung wird abgeflammt und vom Perlator befreit, um das Wasser *vor der Probenahme* bis zur Temperaturkonstanz ablaufen zu lassen.

Die sterilen Probengefäße werden nur zu etwa 5/6 mit dem Probenwasser gefüllt und sofort fest verschlossen. Ein zusätzlicher Eintrag von Mikroorganismen ist zu vermeiden.

Handhabungen (wie z.B. Umfüllen, Schütteln) der Proben sind auf ein Minimum zu beschränken. Die Proben sind sofort geeignet zu kennzeichnen und die zugehörigen Daten im Probenahmeprotokoll (siehe 5.) zu vermerken. Die Proben sollen so lange verschlossen bleiben, bis sie im Labor geöffnet werden.

Für chemische, mikrobiologische und biologische Analysen sollen getrennte Proben genommen werden.

5.3. Probentransport und Aufbewahrung

Um eine Veränderung des Keimgehaltes der Probe nach der Entnahme möglichst zu vermeiden, müssen die Proben in lichtundurchlässigen Isolierbehältern transportiert werden. Bei einem länger als 3 Stunden dauernden Transport ist für ausreichende Kühlung (4°C) unmittelbar nach der Entnahme bis zur Untersuchung zu sorgen. Nach Eintreffen im Labor sollen die Proben möglichst sofort untersucht werden. Ist das nicht möglich, sind sie im Kühlschrank bei 4°C aufzubewahren. Wasserproben zur mikrobiologischen / genetischen Analyse sollen nicht tiefgefroren werden. Zwischen der Entnahme der Proben und der Untersuchung sollten auch bei sorgfältiger Kühlung auf keinen Fall mehr als 24 Stunden vergehen. Wird die Untersuchung nicht innerhalb von 6 Stunden nach Entnahme durchgeführt, ist dies im Untersuchungsergebnis unter Angabe der verstrichenen Zeit und der angewandten Aufbewahrungstemperatur anzugeben.

6. Probenahmeprotokoll

Das Probenahmeprotokoll sollte mindestens folgende Informationen enthalten:

- Probenkennzeichnung
- Ort (und Name) der Probenahmestelle, mit Koordinaten und alle anderen wichtigen ortsbezogenen Informationen
- Einzelheiten über die Probenahmestelle
- Entnahmedatum, Entnahmezeit
- Probenahmetechnik
- Witterungsbedingungen (bei Entnahmen im Freien)

- Angaben zu Transportdauer und -temperatur
- Art und Dauer der Konservierungsmaßnahmen
- Beobachtung nachträglicher Veränderungen der Probe
- Anzahl und Art der Kontrollen
- Name des Probenehmers

7. Weiterführende Literatur

ATV - Arbeitsblatt M 709: Abwasser aus gentechnischen Produktionsanlagen. Sept.1996, Abwassertechnische Vereinigung (ISBN 3-927729-31-0)

Wasserhaushaltsgesetz (WHG), in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.11.96

Abwasserverordnung (AbwV), Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer; vom 21. 03. 97