



Comparison between the algae grow inhibition test (DIN 38412) and the toxicity determination with a bbe Cuvette-Fluorometer

**Presented by:
Dipl.-Ing. Michael Lechelt**



Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen

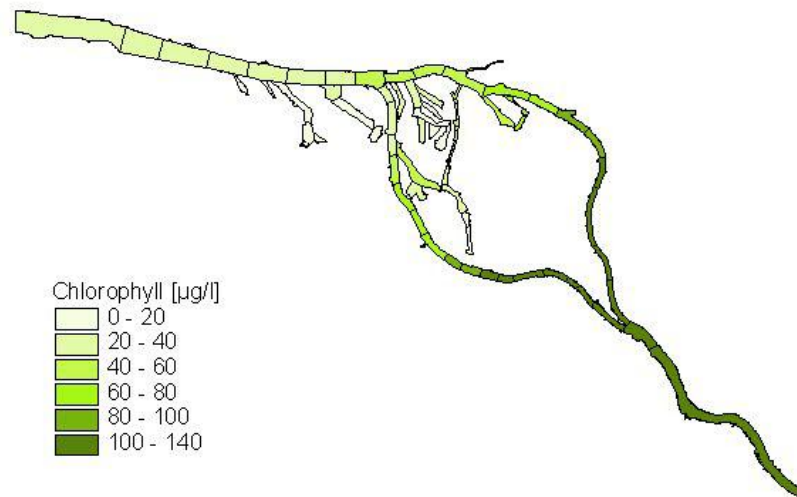


Chlorophyll Measurement with the bbe Cuvette Fluorometer in Hamburg

2



Gesamtchlorophyll in der Elbe und im Hamburger Hafen
Fahrt mit dem Messschiff Reinhard Woltman am 04./05.07.2000



Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittel-sicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen

Scope of works:

- **Measurement of the concentration of several algae classes**
- **Measurement of the total algae concentration**
- **Measurement of algae activity (Genty)**



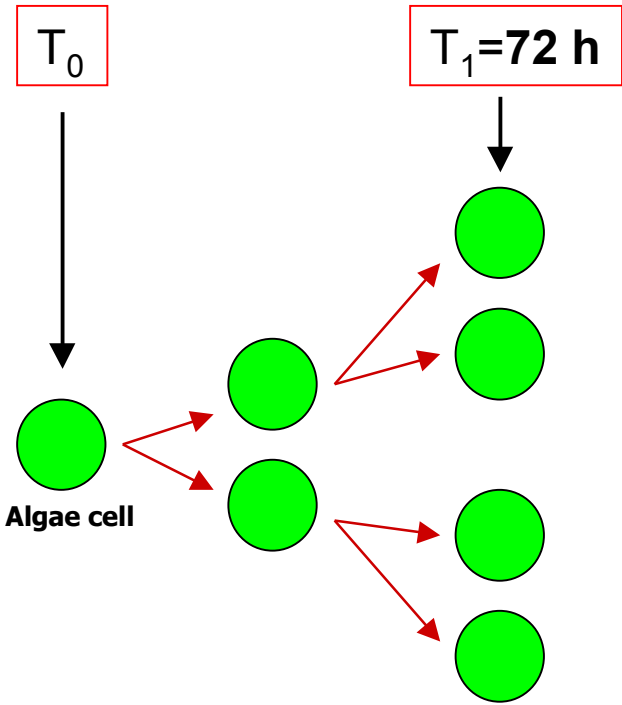
Questions:

- Is it possible to carry out toxicity tests with the bbe Cuvette Fluorometer reliably?
- How comparable are the test results with findings from the growth inhibition test (DIN 38412)?
- Is the use of the bbe test as a fast and mobile test possible and an addition to the algae growth inhibition test?

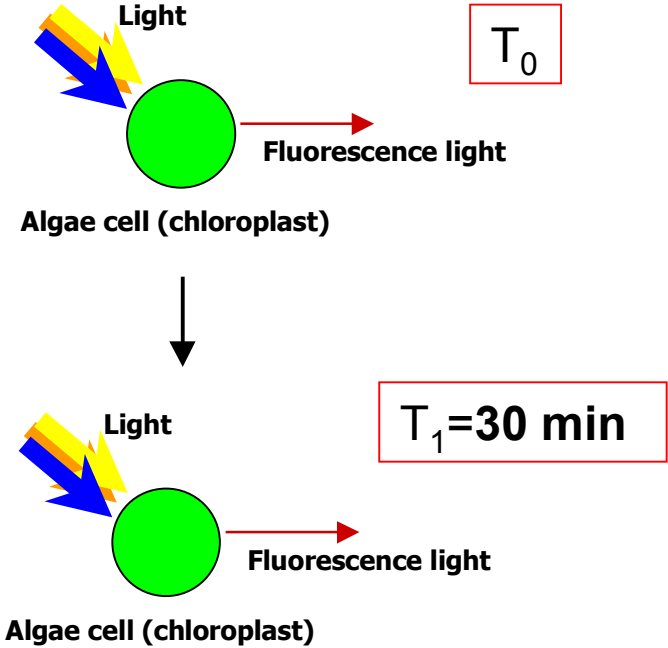


Comparsion Between the Toxicity Tests

proliferation determination with the growth inhibition test (DIN 38 412)

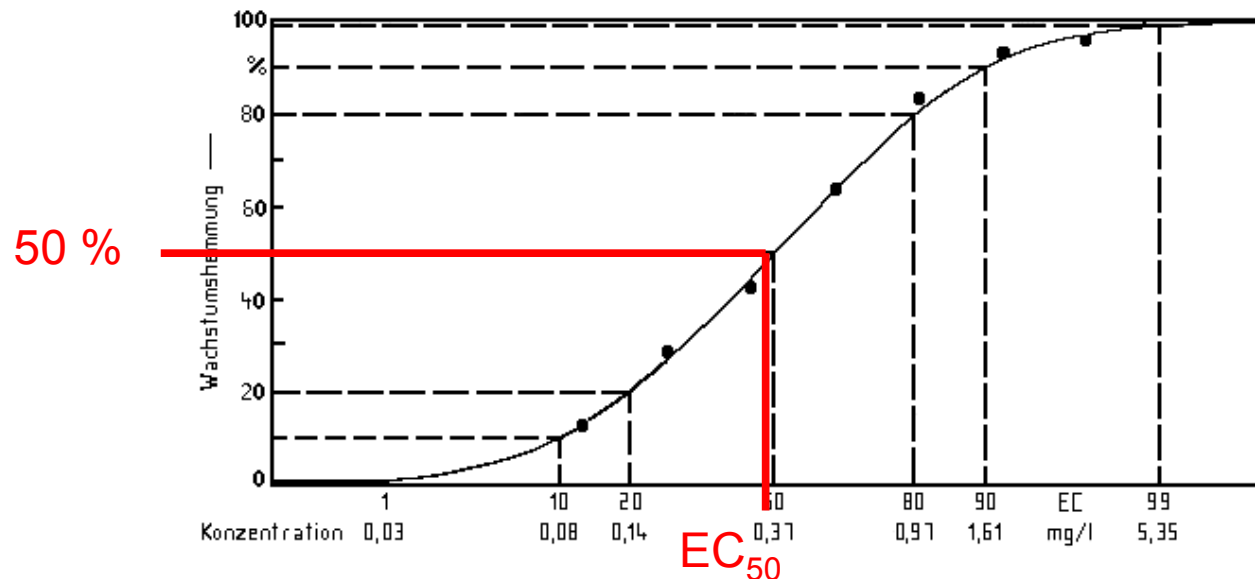


activity determination with the bbe flourometer



Relationship Between Effect and Concentration

6




Beispiel für eine Konzentrations-Wirkungsbeziehung, angepaßt an eine Normalverteilung für die Wachstumshemmung

EC₅₀: Statistically derived concentration of a substance in an environmental medium expected to produce a certain effect in 50% of test organisms in a given population under a defined set of conditions.

EC₅₀- Values from Safety Data Sheets

7

Bayer CropScience SICHERHEITSDATENBLATT nach EG-Richtlinie 2001/58/EG		
AZUR Version 3 / D 102000005790		1/9 Überarbeitet am: 28.01.2005 Druckdatum: 28.01.2005
1. STOFF-/ZUBEREITUNGS- UND FIRMENBEZEICHNUNG		
Produktinformation		
Handelsname	AZUR	
Produktcode (UVP)	06328210	
Produktcode	AE F016410 43 SC45 A7	
Spezifikation	34081	
Verwendung	Herbizid	
Firma	Bayer CropScience AG Alfred-Nobel-Straße 50 40789 Monheim Deutschland	
Telefon		
Telefax		
Auskunftsgebender Bereich		
Notrufnummer		
Vertrieb		

algae growth inhibition test (DIN 38 412)

Ökotoxische Wirkungen	
Fischtoxizität	LC50 (Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)) 17 mg/l Expositionszeit: 96 h Test wurde mit einer ähnlichen Formulierung durchgeführt.
Daphnientoxizität	EC50 (Wasserfloh (<i>Daphnia magna</i>)) 23 mg/l Expositionszeit: 48 h Test wurde mit einer ähnlichen Formulierung durchgeführt.
Algtoxizität	EC50 (<u>Scenedesmus subspicatus</u>) 49 µg/l Expositionszeit: 72 h Test wurde mit einer ähnlichen Formulierung durchgeführt.



Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittel-sicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen



Hamburg

Test Organism: Chlorella Vulgaris (green algae)

8



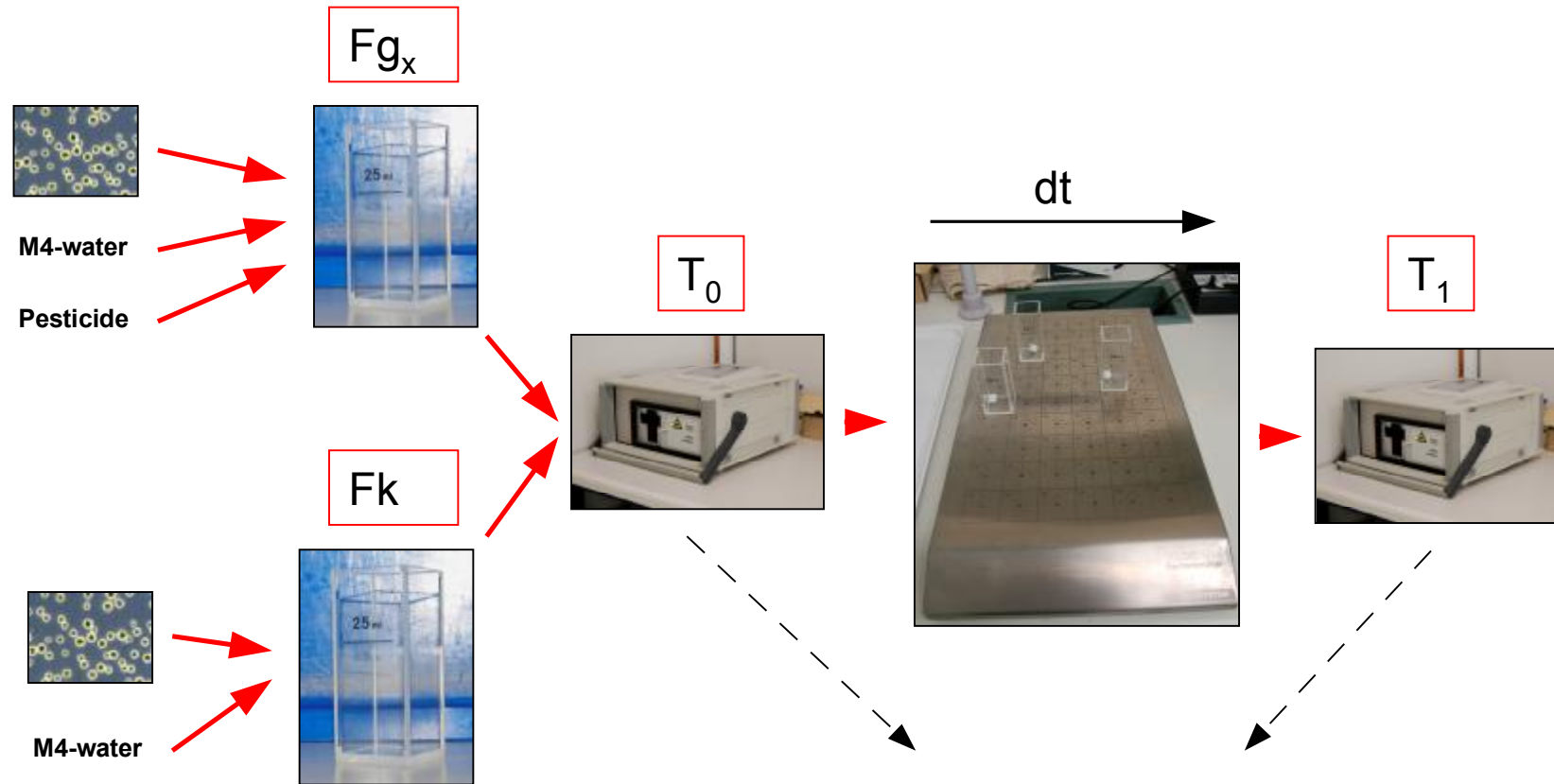
Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen

Test organism:	Chlorrella vulgaris
Herbicides:	Isoproturon Atrazin Diuron Terbuthylazin
Test water:	M4
Incubation time:	3 min and 30 min
Test repetition:	not less than 3 times

Execution of the Test

10



$$H_f = \frac{Genty_{F_k} - Genty_{F_g}}{Genty_{F_k}} * 100$$

Measurement Results (Terbuthylazin)

11

Probe	Konzentration Isoproturon [$\mu\text{g/l}$]	Algenkonzentration vor Zugabe von Isoproturon [$\mu\text{g/l}$]	T0 genty (dt=3 min)	T1genty (dt=30 min)
Fg1	1	100,7	56,78%	53,32%
Fg2	10	108,6	45,71%	38,91%
Fg3	50	107,4	16,17%	14,86%
Fg4	100	108,0	10,19%	10,01%
Fk	0	101,6	56,36%	55,86%

$$Hf = \frac{Genty_{Fk} - Genty_{Fg}}{Genty_{Fk}} * 100$$



Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen



Hamburg

Measurement Results (Terbuthylazin)

12

T ₀		
Probe	Konzentration Isoproturon in µg/l	Hf in %
Fg1	1	-0,75
Fg2	10	18,9
Fg3	50	71,31
Fg4	100	81,92

Hf= Hemmwirkung auf die Photosynthesetätigkeit in %, ausgedrückt als Minderung der Chlorophyllfluoreszenz

T ₁		
Probe	Konzentration Isoproturon in µg/l	Hf in %
Fg1	1	4,55
Fg2	10	30,34
Fg3	50	73,4
Fg4	100	82,08

Hf= Hemmwirkung auf die Photosynthesetätigkeit in %, ausgedrückt als Minderung der Chlorophyllfluoreszenz

T₀ = 3 min

T₁ = 30 min

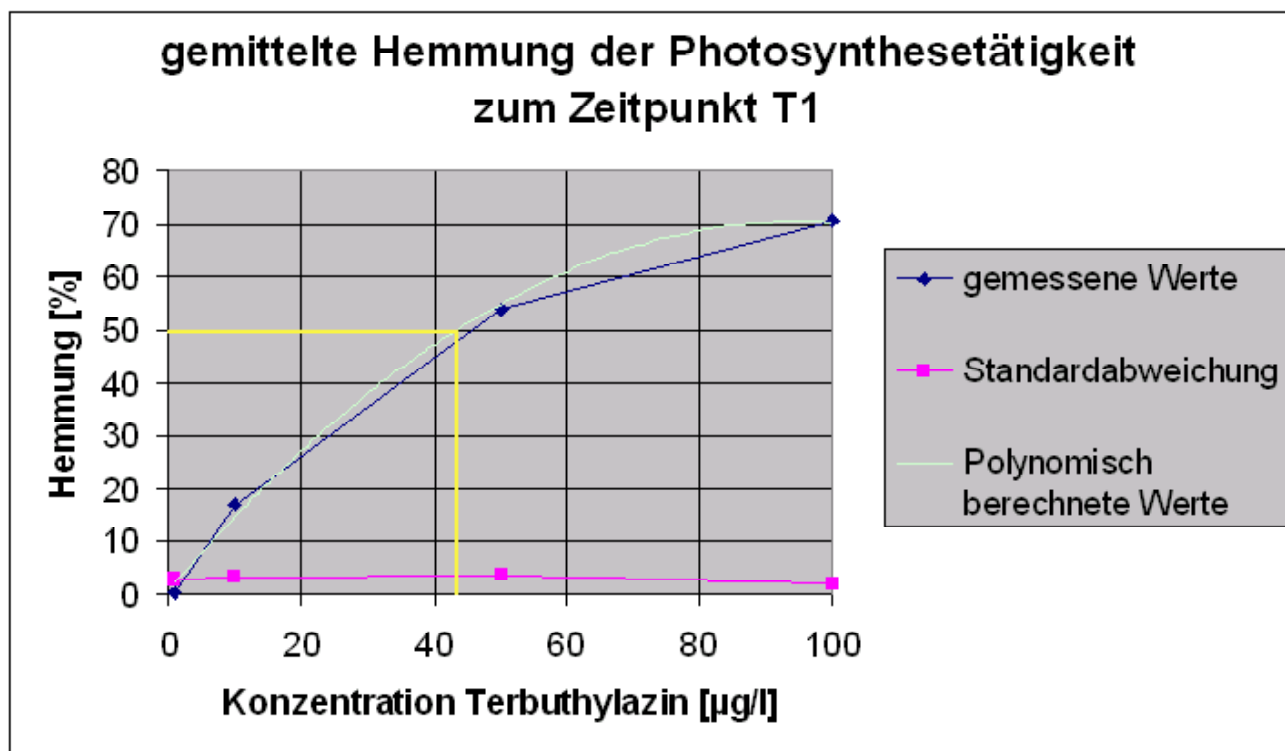


Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen



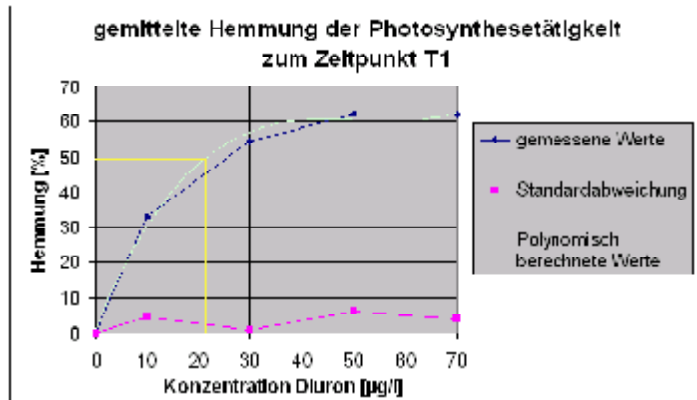
Hamburg



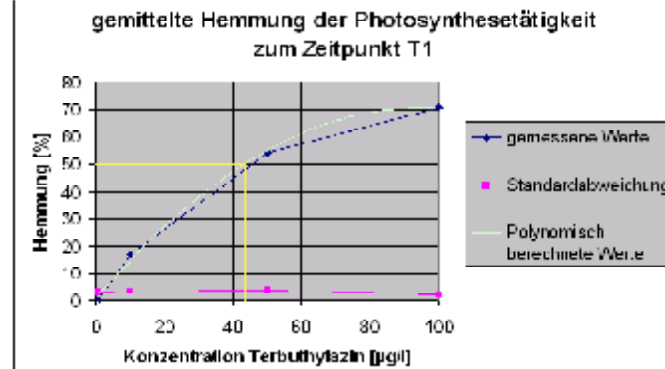
EC₅₀ = 43 µg/l

Measurement Results

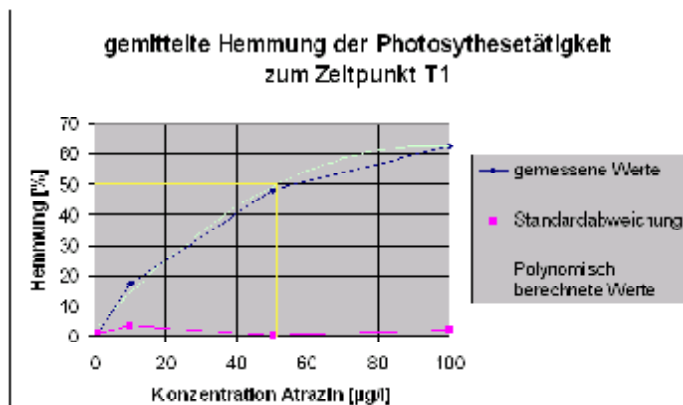
14



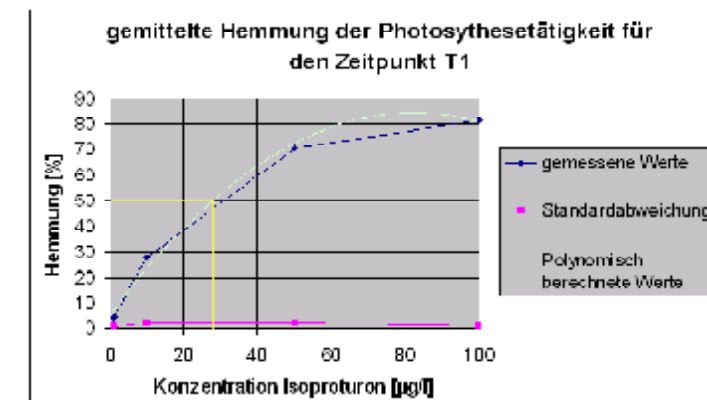
$EC_{50} = 22 \mu\text{g/l}$



$EC_{50} = 43 \mu\text{g/l}$



$EC_{50} = 51 \mu\text{g/l}$



$EC_{50} = 28 \mu\text{g/l}$



Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen

Herbizid	gemessener EC ₅₀ -Wert	Sicherheitsdatenblätter	
		EC ₅₀ -Wert	Zeitspanne der Testdurchführung
Isoproturon	0,028 mg/l	0,0227 mg/l ^[1]	72 Stunden
Atrazin	0,051 mg/l	0,0290 mg/l ^[2]	72 Stunden
Terbuthylazin	0,043 mg/l	0,0160 mg/l ^[3]	72 Stunden
Diuron	0,030 mg/l	0,0220 mg/l ^[4]	48 Stunden

[1] <http://www.raiffeisen.com/SDB>

[2] <http://www.syngenta-agro.ch>

[3] <http://www.raiffeisen.com/SDB>

[4] <http://prod-images.raiffeisen.com/Raiffeisen/SDB>

- The results from our tests are in the same dimension as the EC_{50} values from the algae growth inhibition test researched from the safety data sheets.
- Thus the first functional test was positive
- The test results were always well reproducible
- At first glance, the fluorescence method seems to be a bit more insensitive than the growth inhibition method.

One reason could be the use of two different algae species. It is known that the *Scenedesmus subspicatus* reacts more sensitively to toxic substances than *Chlorella vulgaris*.

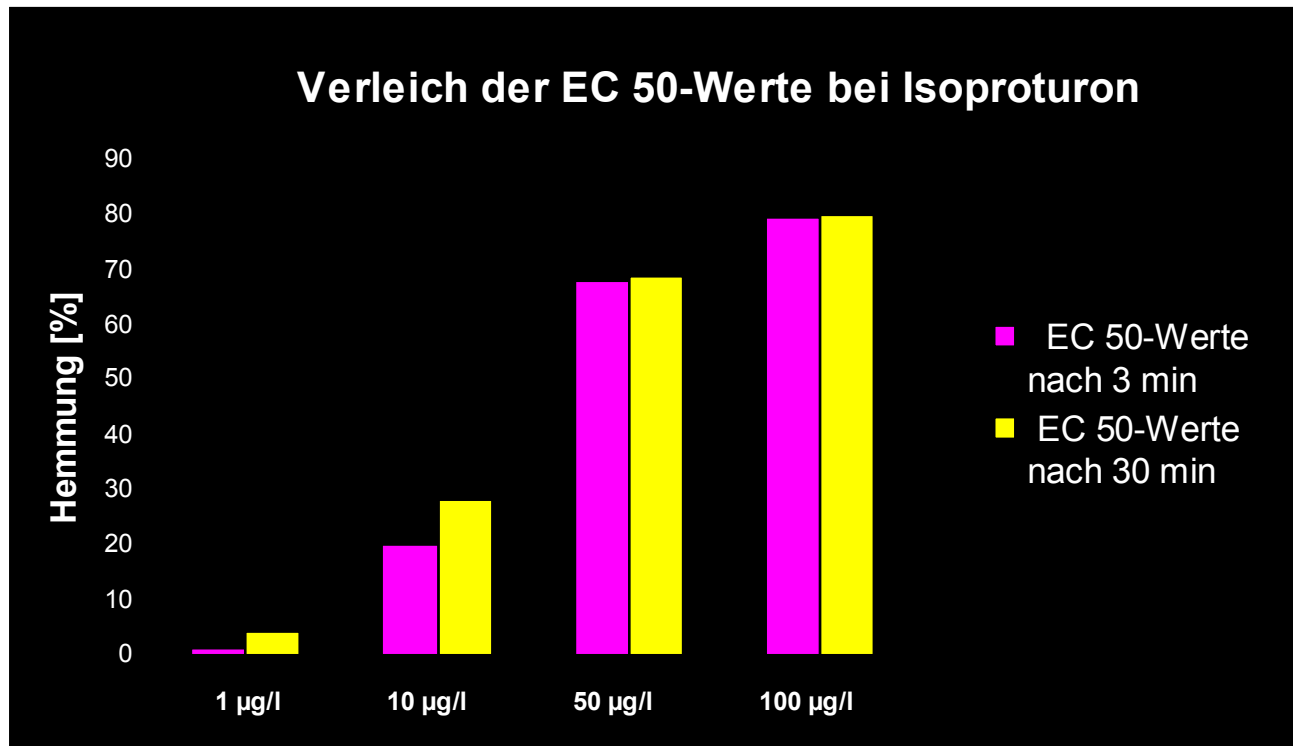


- **More herbicides will be tested**
- **The influence of the inhibition time should be analysed. Up to now only 30 minutes is used →**
- **A growth inhibition test will be checked in parallel to the bbe test**
- **The next tests will be carried out by using *Scenedesmus subspicatus***
- **The influence of the temperature on the measurement has to be analysed**
- **What is the influence of the light emission during the exposure to the measurement results?**



What is the Optimal Incubation Time?

18





Thank you for your attention!



Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen

