

Inhaltsverzeichnis

1	Umweltprobenbank des Bundes	2
2	Zielsetzung dieser Richtlinie	2
3	Begriffe	2
	3.1 Cryobedingungen.....	2
	3.2 Übergabeprotokoll.....	2
4	Durchführung des Transports.....	3
	4.1 Sicherheitshinweise für den Umgang mit Flüssigstickstoff.....	3
	4.2 Vorbereitungen.....	3
	4.3 Material und Gerätschaften.....	3
	4.4 Reinigungsvorschrift.....	4
	4.5 Einlagerung am Zielort.....	4
5	Dokumentation.....	4
6	Literatur	4
	Anhang A: Beispiel für ein Übergabeprotokoll	5
	Anhang B: Betriebsanweisung Flüssigstickstoff	6
	Anhang C: Gefahrgut-Transport von mit Flüssigstickstoff gekühlten Proben.....	7
	Anhang D: Unfallmerkblatt für den Straßentransport von Stickstoff	8

**Verfahrensrichtlinien für Probenahme, Transport, Lagerung und chemische Charakterisierung von
Umwelt- und Humanproben**

Februar 2009, V 2.0.0

1 Umweltprobenbank des Bundes

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) ist ein Instrument der Umweltbeobachtung des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) unter fachlicher und administrativer Koordination des Umweltbundesamtes (UBA). Die UPB sammelt ökologisch repräsentative Umweltproben sowie Humanproben, lagert sie ein und untersucht sie auf umweltrelevante Stoffe.

Die Langzeitlagerung erfolgt unter Bedingungen, die eine Zustandsveränderung oder einen Verlust chemischer Eigenschaften über einen Zeitraum von mehreren Jahrzehnten weitestgehend ausschließen. Damit stellt das Archiv Proben für die retrospektive Untersuchung solcher Stoffe bereit, deren Gefährdungspotential für die Umwelt oder die menschliche Gesundheit heute noch nicht bekannt ist.

Umfassende Informationen zur UPB sind unter www.umweltprobenbank.de verfügbar.

2 Zielsetzung dieser Richtlinie

Diese Vorschrift gilt für biologische Umweltproben wie z.B. Blasenfang, Brassenmuskulatur, Regenwurm, Fichtentriebe sowie abiotische Proben wie Boden und Schwebstoff.

Für die Lagerung in der UPB werden sämtliche Proben zum Zeitpunkt der Probenahme eingefroren, wobei anschließend die Kühlkette nicht mehr unterbrochen wird. Transport, Lagerung sowie Zerkleinerung und Homogenisierung des Probenmaterials findet deshalb unter Cryobedingungen (Temperatur unterhalb von ca. -130°C) unter Beachtung spezieller Sicherheitsbestimmungen statt.

Der besonders hohe Anspruch an Qualitätssicherung ergibt sich aus der außergewöhnlichen Bedeutung der Proben als Archivmaterial. Repräsentativität und Reproduzierbarkeit der Proben sind Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse in Zeit und Raum.

Ziel dieser Richtlinie ist die Bereitstellung von Informationen zum sicheren Transport von tem-

peraturempfindlichen Proben unter Cryobedingungen unter Beachtung der Arbeitssicherheitsvorschriften und ohne Minderung der Probenqualität.

Die Richtlinie umfasst nur den Straßentransport, nicht aber den Versand von Probenmaterial mit Paketdiensten bzw. Speditionen.

3 Begriffe

3.1 Cryobedingungen

Cryobedingungen herrschen bei Temperaturen von unter ca. -130°C (ca. $< 140\text{ K}$). Die Temperatur liegt damit unter der Glasumwandlungstemperatur des Wassers. Es erfolgt keine Rekristallisation von Eis mehr und damit kein weiteres Wachstum von Eiskristallen (BURDEN 1999). So ist sichergestellt, dass in den Proben chemische Prozesse minimiert sind und morphologische Veränderungen z.B. durch weiteres Eiskristallwachstum verhindert werden. Bei Lagerung in der Gasphase über Flüssigstickstoff wird außerdem durch den verdampfenden Stickstoff im Probenlagerbehälter eine Inertgasatmosphäre erzeugt, die auch Veränderungen der Proben durch Sauerstoff aus der Umgebungsluft (Oxidationsprozesse) weitgehend verhindert.

3.2 Übergabeprotokoll

Für den Transport zwischen verschiedenen Stationen ist das Mitführen eines Übergabeprotokolls notwendig. Das Dokument muss mindestens folgende Angaben enthalten:

- Abgebende Institution (Adresse, Kontaktperson, Telefon und e-mail-Adresse),
- Empfänger der Proben (Adresse, Kontaktperson, Telefon und e-mail-Adresse),
- Probenliste und -beschreibung einschließlich UPB-Codes,
- Datum und Ort der Übergabe,
- Unterschriften von Empfänger und Vertreter der abgebenden Institution.

4 Durchführung des Transports

4.1 Sicherheitshinweise für den Umgang mit Flüssigstickstoff

Achtung: Flüssigstickstoff ist tiefkalt (Gefahr der Haut- und Gewebeschädigung bei Kontakt) und wirkt bei Verdampfung erstickend. Wenn in geschlossenen Räumen mit Flüssigstickstoff umgegangen wird, ist eine ausreichende Belüftung sicherzustellen. Der Sauerstoffgehalt der Raumluft muss mit einem tragbaren Sauerstoffsensoren bzw. mit einer fest installierten Sauerstoffmangelmeldeanlage überwacht werden (Einstellungen: z.B. Voralarm bei Sauerstoffgehalten $\leq 19\%$, Hauptalarm bei $\leq 17\%$).

4.2 Vorbereitungen

Der oder die Transportbehälter (vakuumisolierte Edelstahlbehälter mit Deckel aus Isolationsmaterial) sind rechtzeitig vor dem Transport herunterzukühlen (mindestens zwei Tage vorher).

Die Proben sind auf einer Plattform im vorgekühlten Transportbehälter so zu lagern, dass sie nicht direkt mit dem Flüssigstickstoff in Berührung kommen (in geeigneten Behältern oder Gestellen, die gegen Umfallen gesichert sind).

Die Probengefäße sollten nicht fest verschlossen sein, da evtl. eingedrungener Flüssigstickstoff beim Erwärmen zu einer Explosion des Probengefäßes führen kann.

Vor Durchführung des Transports sind die Mitarbeiter hinsichtlich der Auflagen der Gefahrgutverordnung Straße zu unterweisen.

4.3 Material und Gerätschaften

Für den Straßentransport in Kraftfahrzeugen sind die Regelungen der Gefahrgutverordnung Straße zu beachten (Kennzeichnung der Cryobehälter, Mitführen von Feuerlöscher und Taschenlampe). Auf die Ausstellung eines Beförderungspapiers kann verzichtet werden, wenn der Transport innerhalb von Deutschland für eigene Zwecke erfolgt und die Flüssigstickstoffmenge unter 1000 kg liegt.

Für den Transport unter Cryobedingungen werden nachfolgend aufgeführte Geräte benötigt:

4.3.1 Für die Kühlung mit Flüssigstickstoff geeigneter, isolierter Transportbehälter mit

geeigneten Lagergestellen für die Proben. Kennzeichnung: UN 1977 Stickstoff, tiefgekühlt, flüssig; Gefahrzettel Nr. 2.2 (Gasflasche auf grünem Grund)

4.3.2 Flüssigstickstoff zur Kühlung, bei längeren Transporten auch in einem separaten Vorratsbehälter (falls dieser Behälter im geschlossenen Zustand transportiert werden soll, muss er als Druckbehälter für den Straßentransport zugelassen sein: Typkennzeichnung π). Gefahrgut-Kennzeichnung: UN 1977 Stickstoff, tiefgekühlt, flüssig; Gefahrzettel Nr. 2.2 (Gasflasche auf grünem Grund)

4.3.3 Peilstab zum Messen des Levels an Flüssigstickstoff

4.3.4 Geeignetes Thermometer/Thermoelement zur Temperaturüberprüfung

4.3.5 Taschenlampe ohne metallische Oberfläche

4.3.6 Feuerlöscher (2 kg, Pulverlöscher; Brandklassen A, B, C; der Norm EN 3 entsprechend; mit gültiger Prüfplakette).

Für den Transport wird folgende Ausrüstung verwendet:

- Cryotransportbehälter Fassungsvermögen 400 L, Cryotherm GmbH, Euteneuen bzw. Cryotransportbehälter, Fassungsvermögen 100 L, Typ CS100B, Cryo Anlagenbau GmbH, Wilnsdorf
- Transportabler Flüssigstickstoff-Vorratsbehälter, Fassungsvermögen 210 L, Typ ABC-200-VTB (π), Achenbach Cryotechnik, Kreuztal (zugelassen für den Straßentransport nach Gefahrgutverordnung Straße)
- Transportabler Flüssigstickstoff-Vorratsbehälter, Fassungsvermögen 50 L, Typ Apollo 50, Cryotherm, Euteneuen (nur druckloser Transport erlaubt).

Folgende Probengefäße werden verwendet:

- Glasfläschchen (z.B. 20 mL-Szintillations-Vials der Fa. PerkinElmer, Rodgau-Jügesheim); gefertigt aus hochwertigem Glas mit folgenden Standardmaßen: Höhe ca. 60 mm, Durchmesser ca. 25 mm; die Schraubdeckel bestehen aus Kunststoff

und sind an der Innenseite mit einer Metallfolie beschichtet.

- Glasflaschen, 100 mL-Volumen, aus Borosilikatglas, mit Kunststoffschraubdeckeln.
- Edelstahlbehälter (Bain-Marie-Einsätze nach Gastronorm) für den Transport noch nicht homogenisierter Proben; fest, aber nicht gasdicht verschlossen mit Edelstahldeckeln und Edelstahlsparren, Größen: 1,5 L, 3,5 L und 5 L.

4.4 Reinigungsvorschrift

Nach dem Transport werden die Cryotransportbehälter auf Raumtemperatur erwärmt. Dann werden die Oberflächen mit einem milden Reinigungsmittel abgewaschen. Der Behälter wird gründlich getrocknet. Erst nach dem Trocknen wird der Deckel wieder aufgesetzt. Durch die Reinigung soll eine Gesundheitsgefährdung durch mikrobiellen Befall verhindert werden.

4.5 Einlagerung am Zielort

Am Zielort werden die Proben in einen dort bereitgestellten, rechtzeitig vorgekühlten Cryolagerbehälter umgeladen.

5 Dokumentation

Für jeden Transport ist ein Probenbegleitschein sowie gegebenenfalls ein Übergabeprotokoll anzufertigen. Die genaue Form und der Inhalt können im Einzelfall variieren (ein Beispiel ist in Anhang A aufgeführt).

6 Literatur

BMU (Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, Hrsg.) (2008): Umweltprobenbank des Bundes – Konzeption (Stand: Oktober 2008); www.umweltprobenbank.de

Burden, D. W. (1999): Issues in Contamination and Temperature Variation in the Cryopreservation of Animal Cells and Tissues. Revco Technologies, Asheville, NC 28806 (USA), Application Note 99-08.

Umweltbundesamt (1996): Umweltprobenbank des Bundes - Verfahrensrichtlinien. Herausgeber: Umweltbundesamt, Berlin. Erich Schmidt Verlag, Berlin.

Anhang A: Beispiel für ein Übergabeprotokoll

Umweltprobenbank des Bundes

- Begleitschein zum Transport und zur Probenübergabe -

Abgabe durch: Umweltprobenbank des Bundes – Teilbank Umweltproben
c/o Fraunhofer-Institut für
Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (Fraunhofer IME)
Auf dem Aberg 1, 57392 Schmallenberg
Telefon 02972 3020, Fax 02972 302 319

Ansprechpartner: NN
Telefon / E-mail:

Lieferung an:

Ansprechpartner: NN
Telefon / E-mail:

Proben in UPB-Standardfläschchen (Szintillationsvials):

Probenart		PNG / PNF	Jahr	UPB-Code / Bemerkungen
Brassenmuskulatur	6 EP	Saar/Güdingen	2000	3111/0/0900/02101/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Saar/Röhlingen	2000	3111/0/0700/02111/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Elbe/Prossen	2000	3111/0/0800/10110/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Elbe/Zehren	2000	3111/0/0800/10505/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Elbe/Barby	2000	3111/0/0800/10205/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Elbe/Blankenese	2000	3111/0/0900/10405/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Mulde	2000	3111/0/0800/11002/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Saale	2000	3111/0/0800/11001/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Rhein/Bimmen	2000	3111/0/0700/04501/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Rhein/Weil	2000	3111/0/0700/04201/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Rhein/Iffezheim	2000	3111/0/0700/04301/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Elbe/Cumlosen	2000	3111/0/0800/10305/0
Brassenmuskulatur	6 EP	Rhein/Koblenz	2000	3111/0/0700/04401/0

Protokoll der Übergabe:

Ort und Datum der Übergabe:, den.....

Abgabe (Name, Unterschrift)

Annahme (Name, Unterschrift)

Kopie Empfänger / Kopie Versender (nicht zutreffendes bitte streichen)

Seite 1 von 1

Anhang B: Betriebsanweisung Flüssigstickstoff

GEFAHREN FÜR MENSCH UND UMWELT

Flüssiger, tiefkalter Stickstoff verursacht bei Kontakt mit Augen oder Haut schwerste Erfrierungen mit verbrennungsartigen Schäden (Rötung, Schwellung, Blasenbildung), bis hin zu tiefen Gewebeerstörungen. Das kalte Gas ist schwerer als Luft, kriecht am Boden entlang und kann den Sauerstoff in tieferen Räumen verdrängen. 1 Liter flüssiger Stickstoff entwickelt ca. 650 Liter Gas! Bei Konzentrationen über 85 % in der Atemluft tritt Sauerstoffmangel ein (Symptome: Schläfrigkeit, Unwohlsein, Blutdruckanstieg, Atemnot), ab 88% sofortige Bewusstlosigkeit und Erstickungsgefahr!

SCHUTZMAßNAHMEN UND VERHALTENSREGELN

Der Transport und Umgang mit flüssigem Stickstoff darf nur in geeigneten Cryogefäßen oder kältebeständigen Geräten erfolgen. Niemals große Mengen in kleinen, schlecht belüfteten Räumen handhaben. Kontakt der tiefkalten Flüssigkeit/Gas mit Haut und Augen unbedingt vermeiden. Kältebeständige Schutzkleidung, gegen "Hineinlaufen" geschützte Schuhe, Schutzhandschuhe aus Leder und Vollschutzbrille benutzen. Bei unvermeidbarer oder zu erwartender hoher Gasfreisetzung Isoliergerät verwenden. Bei Arbeiten in engen oder nicht ausreichend belüftbaren Räumen ist eine weitere Person außerhalb des Gefahrenbereiches erforderlich, die ggf. Rettungsalarm auslöst.

VERHALTEN IM GEFAHRFALL

Brand: Stickstoff brennt nicht. Löschmaßnahmen auf die Umgebung abstimmen. Kann ein Umgebungsbrand nicht unmittelbar gelöscht werden, Gefahrenbereich sofort verlassen. Niemals flüssigen Stickstoff zum Löschen in die Flammen gießen! Bei Freisetzung größerer Mengen Stickstoff sofort KollegInnen warnen, Gefahrenbereich verlassen und nur mit Isoliergerät betreten. Falls möglich Leck abdichten. Der Gefahrenbereich darf ohne Isoliergerät erst nach gründlicher Be- und Entlüftung wieder betreten werden (falls erforderlich, Sauerstoff-Konzentration messen).

ERSTE HILFE

Einatmen: Sofort an die frische Luft bringen, falls erforderlich Atemspende mit Maske und AMBU-Beutel. Arzt hinzuziehen! Augenkontakt: Sofort Augenarzt hinzuziehen! Hautkontakt: Steifgefrorene Körperteile nicht reiben oder bewegen, vorsichtig mit (kaltem) Wasser auftauen, Kleidung entfernen und Haut mit sterilem Verbandmaterial lose abdecken. Arzt hinzuziehen!

SACHGERECHTE ENTSORGUNG

Im Freien langsam verdampfen lassen. Dabei Gefäßöffnung lose abdecken, um die Kondensation und Anreicherung von Sauerstoff aus der Luft im Flüssigkeitsrest zu vermeiden.

Anhang C: Gefahrgut-Transport von mit Flüssigstickstoff gekühlten Proben, Stand: Februar 2007

Bis zu einer Maximalmenge von 1000 kg netto Flüssigstickstoff kann der Transport mit einem normalen Fahrzeug durchgeführt werden (bis zu einem zulässigen Gesamtgewicht von Fahrzeug und evtl. Anhänger von 3,5 t). Die Dichte von Flüssigstickstoff beträgt 812 kg/m^3 (zur Umrechnung auf Volumen).

Die Ladung ist gegen Verrutschen zu sichern. Der Transportraum sollte belüftet sein (z.B. Deckenventilator). Ist dies nicht der Fall, ist die Lüftung im Fahrzeug anzustellen und die Fenster sind evtl. zu öffnen.

Für das Transportgefäß ist zu beachten (Bauvorschriften nach ADR):

- der Werkstoff darf nicht durch Flüssigstickstoff angegriffen werden,
- das Transportgefäß muss normalen Transport-Beanspruchungen standhalten,
- die Materialbeschaffenheit muss so sein, dass Gefäß und Verschlüsse sich nicht lockern,
- das Transportgefäß muss für den Gebrauch mit Flüssigstickstoff zugelassen sein,
- das Transportgefäß muss dem Druck standhalten (falls Ventil vorhanden),
- es müssen doppelwandige Gefäße benutzt werden, die das Herausspritzen von Flüssigkeit verhindern, z.B. Gefäße mit luftleerer Doppelwand,
- das Transportgefäß muss für Gefahrgut zugelassen sein.

Die äußere Verpackung ist folgendermaßen zu kennzeichnen:

UN 1977 Stickstoff, tiefgekühlt, flüssig.

Der Gefahrzettel Nr. 2.2 (Gasflasche auf grünem Hintergrund) ist am Gefäß anzubringen. Falls die Orientierung des Innengefäßes nicht ersichtlich ist, ist auf zwei gegenüberliegenden Seiten der äußeren Verpackung der Orientierungs-Doppelpfeil anzubringen.

Sonstige Ausrüstung:

2 kg-Feuerlöscher (Brandklassen A, B, C, der Norm EN 3 entsprechend mit gültiger Prüfplakette; Prüfintervall: 2 Jahre).

Taschenlampe ohne metallische Oberfläche.

Unfallmerkblatt (nicht vorgeschrieben).

Beförderungspapier:

Auf das Beförderungspapier kann verzichtet werden, wenn der Transport innerhalb der BRD und für eigene Zwecke, d.h. nicht mittels Spedition, Kurierdienst o.ä., erfolgt.

Falls ein Beförderungspapier notwendig ist, muss es folgende Angaben enthalten:

Absender (Name und Anschrift);

Empfänger (Name und Anschrift);

"UN 1977 Stickstoff, tiefgekühlt, flüssig, 2.2".

Außerdem sind die Verpackungsart (z.B. Cryobehälter) sowie die Menge anzugeben und der Hinweis "Beförderung ohne Überschreitung der in Unterabschnitt 1.1.3.6 festgesetzten Freigrenzen".

Anhang D: Unfallmerkblatt für den Straßentransport von Stickstoff, tiefgekühlt flüssig

LADUNGSKENNZEICHNUNG

Klasse 2, Kl.-Code 3A, 22, UN 1977

EIGENSCHAFTEN DES LADEGUTES

Farbloses, geruchloses, tiefgekühlt verflüssigtes Gas.

ART DER GEFAHR

Auslaufende Flüssigkeit ist sehr kalt und verdampft rasch; Flüssigkeit verursacht Erfrierungen und schwere Augenschäden; Gase wirken erstickend ohne bemerkbare Anzeichen; Gase sind unsichtbar, schwerer als Luft und breiten sich am Boden aus; bilden aber mit feuchter Luft Nebel; Erhitzen führt zu Drucksteigerung – Berstgefahr bei geschlossenen Behältern; im allgemeinen nicht wassergefährdend (WGK 0).

PERSÖNLICHE SCHUTZAUSRÜSTUNG

Warnweste; Schutzbrille; geeignete Handschuhe aus Kunststoff oder Leder; feste Schuhe; Handlampe.

VOM FAHRZEUGFÜHRER ZU TREFFENDE ALLGEMEINE MASSNAHMEN

Motor abstellen. Keine offenen Flammen, Rauchverbot. Warnzeichen auf der Straße aufstellen und andere Verkehrsteilnehmer und Passanten warnen. Über die Gefahren informieren und darauf hinweisen, sich auf der dem Wind zugewandten Seite aufzuhalten. Polizei (110) und Feuerwehr (112) schnellstmöglich verständigen.

VOM FAHRZEUGFÜHRER ZU TREFFENDE ZUSÄTZLICHE UND/ODER BESONDERE MASSNAHMEN

Wenn möglich, Undichtigkeiten beseitigen. Verdampfen lassen. Eindringen der Flüssigkeit in Kanalisation oder tiefliegende Räume verhindern; Dämpfe verursachen Erstickungsgefahr. Selbstschutz beachten.

FEUER; INFORMATIONEN FÜR DEN FAHRZEUGFÜHRER IM FALLE EINES BRANDES

Nur Entstehungsbrände löschen. Flüssigstickstoff selbst ist nicht brennbar.

ERSTE HILFE

Von kalter Flüssigkeit betroffene Körperteile mit Wasser auftauen, Kleidung vorsichtig entfernen. Ärztliche Hilfe erforderlich bei Symptomen, die offensichtlich auf Einatmen oder Einwirkung auf Haut oder Augen zurückzuführen sind.

GILT NUR FÜR DEN STRASSENVERKEHR!