



Institut für Hygiene und Umwelt

Hamburger Landesinstitut für Lebensmittelsicherheit,
Gesundheitsschutz und Umweltuntersuchungen



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

Hamburg University of Applied Sciences

Hochschule für angewandte Wissenschaften Hamburg

Fakultät Life Science

Die Erfassung der akuten Toxizität von Wasser- und Sedimentproben der Bille- und
Ammersbek sowie ausgewählten Arzneimitteln auf Leuchtbakterien

Bachelorarbeit

im Studiengang Umwelttechnik

vorgelegt von

Katrin Stanko

Matrikel-Nr. 1874666

Hamburg am

16.03.2015

Gutachterin: Prof. Dr. Carolin Floeter (HAW Hamburg)

Gutachter: Dr. Udo Rohweder (Institut für Hygiene und Umwelt, Hamburg)

Erklärung zur Bachelorarbeit

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Hamburg, den _____

(Unterschrift)

Katrin Stanko

Zusammenfassung

Arzneimittel werden in hohen Mengen im Human- und Veterinärbereich angewendet. Durch die unzureichende Eliminierung der Humanarzneimittel in der Kläranlage und durch Abschwemmung der mit Gülle ausgebrachten Tierarzneimittel von landwirtschaftlich genutzten Feldern gelangen die Wirkstoffe und deren Metabolite in die aquatische Umwelt. Lipophile Schadstoffe mit einem Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient > 3 adsorbieren bevorzugt an Schwebstoffe, werden im Gewässerbett als Sediment abgelagert und können sich dort anreichern. In dieser Arbeit wird die Hypothese untersucht, dass sich hydrophobe Arzneimittel ebenso in den Sedimenten anreichern. Dafür wurden, in Zusammenarbeit mit dem Institut für Hygiene und Umwelt, Wasser- und Sedimentproben der Bille und Ammersbek genommen und auf 39 Arzneimittel untersucht. Ziel dieser Arbeit war es, zu zeigen dass die Sedimente mit lipophilen Arzneimitteln stärker belastet sind als die Wasserphase. Diese Wasser- und Sedimentproben wurden darüber hinaus mit dem Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) auf ihre Toxizität hin untersucht. Des Weiteren sollte in dieser Arbeit eine Einzelstoffprüfung ausgewählter Arzneimittel mit dem Leuchtbakterientest durchgeführt werden. Es wurden anhand der chemischen Analysedaten der Bille und der Ammersbek Arzneimittel ausgewählt, die in den Gewässern vorkommen und/ oder einen hohen Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient aufweisen und/ oder Antibiotika sind. Der akute Leuchtbakterientest wird für die Erfassung der Toxizität von Abwasser herangezogen. Antibiotika werden gezielt hergestellt, um die Vermehrung von Bakterien zu hemmen und sind aufgrund ihres großen Einsatzes als Humanpharmaka und Veterinärpharmaka in aquatischen Ökosystemen nachzuweisen. In dieser Arbeit wird die Hypothese untersucht, dass die Toxizität von Antibiotika mit dem akuten Leuchtbakterientest unterschätzt wird und chronische Testverfahren mit Prokaryoten erforderlich sind.

Die Untersuchungen der Bille und Ammersbek haben gezeigt, dass Arzneimittel mit einem hohen Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient sowohl in der Wasserphase als auch im Eluat von Sedimenten nachzuweisen sind. Jedoch wurde das lipophile Arzneimittel Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$) in allen Eluaten der Billesedimente aber in keiner Wasserprobe oberhalb der analytischen Bestimmungsgrenze nachgewiesen, was auf ein hohes Adsorptionspotential hindeutet. Für die Wasserproben der Bille und der Ammersbek konnte keine Leuchtbakterientoxizität ermittelt werden. Im Gegensatz dazu waren fast alle Sediment-Eluate kritisch belastet, da sie hohe Leuchthemmungen verursachten.

In der Einzelstoffuntersuchung konnte für Indometacin sowie für die Makrolidantibiotika Erythromycin und Clarithromycin keine signifikante akute Toxizität ermittelt werden.

Aufgrund der stark lipophilen Eigenschaften dieser Arzneimittel ist dies nicht nur auf die kurze Expositionszeit und Wirkweise der Arzneimittel zurückzuführen, sondern auch auf den Verlust der Arzneimittel aus der Wasserphase durch u.a. Adsorption an die Testgefäßwände und Mikroorganismen. Aus anderen Studien ist bekannt, dass die Toxizität von Antibiotika im chronischen Leuchtbakterientest deutlich höher als im akuten Leuchtbakterientest ist, sodass auch für die hier untersuchten Antibiotika und lipophilen Arzneimittel der Einsatz im chronischen Leuchtbakterientest empfohlen wird.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	10
I. Einleitung	12
I. 1 Verkaufsmengen von Arzneimittel in Deutschland.....	15
I. 1.1 Humanpharmaka	15
I. 1.2 Veterinärpharmaka	16
I. 2 Eintragungspfade von Arzneimittel in die aquatische Umwelt.....	17
I. 2.1 Humanpharmaka	18
I. 2.2 Veterinärpharmaka	19
I. 3 Umweltverhalten von Arzneimittel.....	20
I. 3.1 Wasserlöslichkeit	20
I. 3.2 Verteilungskoeffizient 1- Octanol/ Wasser.....	21
I. 4 Sedimente als Bestandteil aquatischer Ökosysteme	23
I. 5 Arzneimittel in der Bille und der Ammersbek	25
I. 6 Antibiotika.....	28
I. 6.1 Antibiotikaresistenz.....	29
II. Material und Methoden.....	31
II. 1 Untersuchungsgebiet und Probenahme der Bille und der Ammersbek	31
II. 2 Probenvorbereitung	34
II. 2.1 Bestimmung des Trockenrückstandes.....	34
II. 2.2 Herstellung des Eluates	34
II. 3. Der Testorganismus <i>Aliivibrio fischeri</i>	35
II. 3.1 Miniaturisierter akuter Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348-2 (2009). 37	

II. 4	Testdurchführung mit Wasser- und Eluatproben	39
II. 5	Auswahl der Arzneimittel	41
II. 5.1	Erythromycin	43
II. 5.1.1	Physikalisch-chemische Eigenschaften und Ökotoxizität	44
II. 5.2	Clarithromycin	44
II. 5.2.1	Physikalisch-chemische Eigenschaften und Ökotoxizität	45
II. 5.3	Indometacin	45
II. 5.3.1	Physikalisch-chemische Eigenschaften und Ökotoxizität	46
II. 6	Testdurchführung mit Arzneimitteln	47
III.	Ergebnisse	49
III. 1	Darstellung der Arzneimittelkonzentration in Wasser- und Sedimentproben der Bille	49
III. 2	Darstellung der Leuchtbakterientoxizität von Wasser- und Sedimentproben der Bille	54
III. 3	Darstellung der Arzneimittelkonzentration in Wasser- und Sedimentproben der Ammersbek	58
III. 4	Darstellung der Leuchtbakterientoxizität von Wasser- und Sedimentproben der Ammersbek	60
III. 5	Darstellung der Ergebnisse der ausgewählten Arzneimittel auf Leuchtbakterien .	62
III. 5.1	Bestimmung der Toxizität von Erythromycin	62
III. 5.2	Bestimmung der Toxizität von Clarithromycin	63
III. 5.3	Bestimmung der Toxizität von Indometacin	64
IV.	Diskussion	65
IV. 1	Bewertung der Ergebnisse der Wasser- und Sedimentproben der Bille und der Ammersbek	65
IV. 1.1	Arzneimittel in der Bille und der Ammersbek	65

IV. 1.2 Vergleich der Leuchtbakterientoxizität der Wasser- und Sedimentproben der Bille	66
IV. 2 Bewertung der Leuchtbakterientoxizität der ausgewählten Arzneimittel.....	68
IV. 2.1 Erythromycin und Clarithromycin	68
IV. 2.2 Indometacin	69
V. Ausblick	70
V. 1 akuter Leuchtbakterientest vs. kinetischer Leuchtbakterientest.....	70
V. 2 Die vierte Reinigungsstufe in der Kläranlage	70
V. 2.1 Eliminierung mittels Ozon.....	71
V. 2.2 Eliminierung mittels Aktivkohle.....	71
V. 2.3 Eliminierung mittels Membranverfahren.....	72
Literaturverzeichnis.....	73
Anhang	79

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Eintragspfade von Human- und Veterinärpharmaka in die Umwelt (ARGE 2003, modifiziert).....	18
Abbildung 2 Mittelwerte >BG der Arzneimittelkonzentrationen in der Bille und Ammersbek für den Zeitraum Januar 2014 bis Juli 2014 (zugrundeliegend: Tabelle 21, Daten: HU 2014).....	27
Abbildung 3 Standort der Messstellen der Ammersbek und Bille (Google Maps 2015, modifiziert).....	32
Abbildung 4 Reaktionsschema der bakteriellen Lumineszenz; E1: Luciferase, E2: FMN-Reductase, E3: Myristinsäure- Reductase (Klein 1991)	36
Abbildung 5 Belegungsschema der 96-Well-Mikrotiterplatte für die Wasser- und Sedimentproben der Bille und der Ammersbek	41
Abbildung 6 Strukturformel Erythromycin (Fahlenkamp et al. 2006).....	43
Abbildung 7 Strukturformel Clarithromycin (Fahlenkamp et al. 2006)	44
Abbildung 8 Strukturformel Indometacin (Römpp online 2014).....	45
Abbildung 9 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung).....	49
Abbildung 10 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung).....	50
Abbildung 11 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung).....	51
Abbildung 12 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung).....	52
Abbildung 13 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung).....	53
Abbildung 14 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung).....	54
Abbildung 15 Vergleich Leuchtbakterientoxizität der ersten Wasser- und Eluatproben der Bille	57
Abbildung 16 Vergleich Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Bille	58
Abbildung 17 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Ammersbek (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)	59

Abbildung 18 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Ammersbek (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)	60
Abbildung 19 Vergleich Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Ammersbek	62
Abbildung 20 Akute Leuchtbakterientoxizität Erythromycin	63
Abbildung 21 Akute Leuchtbakterientoxizität Clarithromycin.....	64
Abbildung 22 Akute Leuchtbakterientoxizität Indometacin	64

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Verkaufsmengen und Differenzen 2002-2009 von Humanpharmaka (Bergmann et al. 2011).....	16
Tabelle 2 Verkaufsmengen und Differenzen von antimikrobiellen Veterinärpharmaka und Differenzen 2011-2013 (BVL 2014).....	17
Tabelle 3 Wasserlöslichkeit und log Kow-Werte der 39 Arzneistoffe.....	22
Tabelle 4 Wirkungsmechanismen Antibiotika (nach Efferth 2006).....	29
Tabelle 5 Koordinaten der Probenahmestellen.....	32
Tabelle 6 chemisch- physikalische Parameter der Ammersbek- und Billewasserproben	33
Tabelle 7 Trockengewicht, Wassergehalt, pH-Wert der Bille- und Ammersbekeluete	35
Tabelle 8 Geräteliste mit Gerätebezeichnung und Herstellerangabe.....	39
Tabelle 9 Pipettierschema für die Eluat- und Wasserproben der Bille und der Ammersbek....	40
Tabelle 10 Verdünnungsreihe der Positiv- Kontrolle mit 3,5- DCP.....	40
Tabelle 11 Prüfsubstanzen.....	42
Tabelle 12 Verbrauchsmengen und Differenz 1996- 2009 von Erythromycin (BLAC 2003, Bergmann et al. 2011).....	44
Tabelle 13 Verbrauchsmengen und Differenz 1996- 2009 von Clarithromycin (BLAC 2003, Bergmann et al. 2011).....	45
Tabelle 14 Verbrauchsmengen und Differenz 1996 - 2001 von Indometacin (BLAC 2003)...	46
Tabelle 15 Pipettierschema Erythromycin	47
Tabelle 16 Pipettierschema Clarithromycin	48
Tabelle 17 Pipettierschema Indometacin.....	48
Tabelle 18 Die Leuchtbakterientoxizität der ersten Wasser- und Eluatproben der Bille in %-Hemmung.....	55
Tabelle 19 Die Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Bille in %-Hemmung.....	56
Tabelle 20 Die Leuchtbakterientoxizität der ersten Wasser- und Eluatproben der Ammersbek in %-Hemmung.....	61
Tabelle 21 Die Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Ammersbek in %-Hemmung.....	61
Tabelle 22 pT-Werte und Handhabungskategorien für die Baggergutverbringung (BfG 2000).....	67

Tabelle 23 Bewertung der Sedimente der Bille und der Ammersbek nach der pT-Wertmethode und der 4- stufigen Bewertung der HABAB-WSV (BfG- Merkblatt 2010).....	68
Tabelle 24 Mittelwerte der Arzneimittelkonzentrationen in der Bille und der Ammersbek für den Zeitraum Januar 2014 bis Juli 2014.....	79
Tabelle 25 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Bille an der Probenahmestelle Be4.....	80
Tabelle 26 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Bille an der Probenahmestelle Be61	82
Tabelle 27 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Bille an der Probenahmestelle Be81	83
Tabelle 28 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Ammersbek an der Probenahmestelle Amj8.....	85
Tabelle 29 Leuchtbakterientoxizität von Erythromycin in %- Hemmung	86
Tabelle 30 Leuchtbakterientoxizität von Clarithromycin in %- Hemmung	86
Tabelle 31 Leuchtbakterientoxizität von Indometacin in %- Hemmung	87

I. Einleitung

Arzneimittel leisten einen wertvollen Beitrag für die menschliche und tierische Gesundheit. In Deutschland sind derzeit ca. 9.450 Arzneimittelpräparate mit über 3.000 verschiedenen Wirkstoffen als Humanpharmaka zugelassen. Ungefähr die Hälfte der Wirkstoffe ist jedoch potentiell umweltrelevant (Walz und Götz 2014). Durch die bestimmungsgemäße Anwendung bei Mensch und Tier gelangen die Wirkstoffe sowie deren Metabolite über das kommunale Abwasser und durch Abschwemmung von landwirtschaftlich genutzten Feldern in die aquatische Umwelt. Erstmals wurde 2000/2001 vom Bund/Länderausschuss Chemikaliensicherheit (BLAC), unter Leitung des Instituts für Hygiene und Umwelt, eine bundesweite Untersuchung zum Vorkommen von Humanpharmaka in der Umwelt durchgeführt. Es wurden 700 Proben von 250 Messstellen auf bis zu 39 Arzneimittel untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass Arzneimittelwirkstoffe in Deutschland nahezu flächendeckend in Kläranlagenabflüssen und Oberflächengewässern vorhanden sind. In den Oberflächengewässern ergaben einige Wirkstoff-Konzentrationen Medianwerte von $> 0,5 \mu\text{g/l}$ (BLAC 2003). Diese übersteigen damit den konzentrationsbezogenen Schwellenwert von $0,01 \mu\text{g/l}$, welcher in dem Leitfaden zur Umweltbewertung von Humanarzneimitteln durch die europäische Arzneimittelagentur EMA festgelegt wurde (Schulte-Oehlmann et al. 2007). Somit stellen diese Arzneimittel ein potenzielles Umweltrisiko dar.

Auch im Grundwasser und vereinzelt im Trinkwasser konnten in der BLAC- Untersuchung Arzneimittelwirkstoffe nachgewiesen werden. Inzwischen existieren weitere Studien, bspw. vom Umweltbundesamt (Bergmann et al. 2011, Hannappel et al. 2014) welche das Vorkommen von Arzneimitteln in der Umwelt nachweisen. Dabei nehmen die gemessenen Konzentrationen generell in der folgenden Reihenfolge ab: Kläranlagenabfluss > Oberflächengewässer > Grundwasser > Trinkwasser (Ebert et al. 2014). Die Konzentrationen liegen zwar in der Regel weit unterhalb der human- oder veterinärtherapeutisch begründeten Wirkungsschwellen, jedoch sind die Auswirkungen einer permanenten Exposition gegenüber Arzneimitteln ökotoxikologisch weitgehend unerforscht (Bergmann et al. 2011).

Arzneimittel sind biologisch hoch aktive und spezifisch wirkende Substanzen, die gezielt in den Regulationsmechanismus von Organismen eingreifen. Sie werden gezielt mit einer hohen Stabilität entwickelt, um eine maximale Wirkung und lange Lagerungsfähigkeit sicherzustellen. Dadurch geht ihre biologische Aktivität oft nicht oder nur teilweise verloren wenn sie in die Umwelt gelangen. Dabei können sie ihre spezifische Wirkung auch auf andere

Lebewesen, sogenannte Nichtzielorganismen entfalten (Ebert et al. 2014) und auf diese toxisch wirken. Das kommunale Abwasser ist mengenmäßig der wichtigste Eintragspfad von Arzneimitteln in die Umwelt. In der Kläranlage werden diese nur unzureichend eliminiert, gelangen deshalb mit dem geklärten Abwasser in die als Vorfluter dienenden Oberflächengewässer und können sich in den Sedimenten anreichern (Bergmann et al. 2011).

Derzeit gibt es kaum rechtlich verbindliche Grenzwerte für den Eintrag von Arzneimittel in die Umwelt. Seit 2009 regelt die EU- Wasserrahmenrichtlinie 2000/60/EG die Rahmenbedingungen für den Schutz der Gewässer in der Europäischen Union (EU). Im Januar 2012 hat die EU-Kommission für die Liste prioritärer Substanzen erstmals drei pharmazeutische Wirkstoffe (17α -Ethinylestradiol (EE2), 17β -Estradiol (E2), Diclofenac) vorgeschlagen. Diese Wirkstoffe stehen nun vorerst auf einer sogenannten Beobachtungsliste und werden zunächst einem standardisierten, europaweiten Monitoring unterzogen, um die europäische Relevanz des Handlungsbedarfs zu belegen (Walz und Götz 2014).

In Hamburg wird inzwischen das gesamte „reduzierte Gewässernetz“ (Gewässer mit Einzugsgebieten $> 10 \text{ km}^2$) hinsichtlich der Arzneimittelbelastung überwacht. Dabei richtet sich die Messhäufigkeit nach der Bedeutung der Messstelle bzw. des Gewässers. Ziel ist es, jeden Oberflächenwasserkörper mindestens einmal im Bewirtschaftungszeitraum von 6 Jahren ein Jahr lang auf Arzneimittel (AM) zu untersuchen (schriftliche Mitteilung: Udo Rohweder, HU). Da Kläranlagen den wichtigsten Eintragspfad von AM in Hamburger Fließgewässer darstellen werden die Oberflächenwasserkörper nur auf Humanpharmaka, jedoch nicht auf Veterinärpharmaka untersucht. Ebenso wenig wird die Arzneimittelbelastung von Sedimenten untersucht. Denn es wird davon ausgegangen, dass die über Kläranlagen emittierten Humanarzneimittel aufgrund der Metabolisierung im Körper überwiegend wasserlöslich und somit in der Wasserphase sind. Darüber hinaus wird angenommen, dass lipophile AM an Klärschlamm adsorbieren und somit bei einer thermischen Verwertung nicht in Oberflächengewässer gelangen würden. Des Weiteren fordert die WRRL keine Analyse von AM in Sedimenten, sodass den Behörden dafür keine finanziellen Ressourcen zur Verfügung stehen.

Im Rahmen dieser Arbeit und in Zusammenarbeit mit dem HU wird die Bille und die Ammersbek beprobt und die Gewässer- und Sedimentproben auf deren Arzneimittelbelastung untersucht. Schadstoffe mit einem $\log K_{OW} > 3$ weisen ein hohes Adsorptionspotential sowie eine Bioakkumulationstendenz auf und reichern sich somit im Sediment sowie in Organismen

in Oberflächengewässern an. In dieser Arbeit wird die Hypothese untersucht, dass sich hydrophobe Arzneimittel ebenso in den Sedimenten anreichern. Dafür werden von den Sedimenten Eluate hergestellt. Die Eluate und Wasserproben werden dann vom HU mittels *high performance liquid chromatography*- Massenspektrometrie/ Massenspektrometrie (HPLC-MS/MS) auf 39 AM untersucht. Durch die Bestimmung der Arzneimittelbelastung in der Bille und der Ammersbek kann jedoch noch keine Aussage über die Wirkung auf Organismen getroffen werden. Deshalb sollen die Sediment- und Wasserproben der Bille und der Ammersbek zusätzlich mit dem akuten Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) auf deren Toxizität untersucht werden.

Des Weiteren soll in dieser Arbeit die akute Toxizität ausgewählter Arzneimittel mit dem Leuchtbakterientest (LBT) erfasst werden und die Ergebnisse mit Literaturdaten vom chronischen Leuchtbakterientest verglichen werden. Anhand der chemischen Analysedaten der Bille und der Ammersbek sollen Arzneimittel ausgewählt werden, die in den Gewässern vorkommen und einen hohen $\log K_{OW}$ haben. Da für Antibiotika eine schlechte biologische Abbaubarkeit festgestellt wurde (Kümmerer 2008a) und diese sich ebenfalls im Sediment anreichern, sollen für die Einzelstoffprüfungen auch Antibiotika mit einem $\log K_{OW} > 3$ ausgewählt werden. Antibiotika sind spezifisch wirkende Substanzen die das Wachstum und die Reproduktion von Bakterien hemmen. Der LBT wird neben anderen Testverfahren in der Abwasserüberwachung eingesetzt (Krebs 1992). Aufgrund der kurzen Kontaktzeit, die weniger als eine Generationszeit beträgt, kann mit dem akuten LBT die Toxizität von Antibiotika unterschätzt werden (Backhaus und Grimme 1999).

Die Belastung von aquatischen Ökosystemen mit AM wird aus den Verkaufsmengen und den Eintrittspfaden von AM abgeleitet. Diese werden im Folgenden dargestellt. Da der Fokus dieser Arbeit auf die Kontamination von AM in Sedimenten liegt und Sedimente einen wichtigen Lebensraum für das Benthos darstellen, wird anschließend die ökologische Bedeutung des Schutzgut Sediment vorgestellt. Für die Anreicherung von AM im Sediment sind vor allem die Wasserlöslichkeit und das Adsorptionspotential von Bedeutung, welche anschließend erläutert werden. Es folgt die Darstellung der Arzneimittelbelastung der Bille und der Ammersbek sowie die Bedeutung des Eintrags von Antibiotika in die Umwelt. Im praktischen Teil werden die Sediment- und Wasserproben sowie die ausgewählten Arzneimittel mit dem LBT untersucht und deren Ökotoxizität bestimmt. Zum Schluss folgt der Ausblick, in dem Verfahren zur Verringerung des Eintrags von AM in die aquatische Umwelt vorgestellt werden.

I. 1 Verkaufsmengen von Arzneimittel in Deutschland

Anhand der Verkaufsmengen von AM wird deutlich, wie hoch die Menge ist die kontinuierlich in die Umwelt gelangt. Daraus lässt sich eine erste Abschätzung über die mögliche Exposition und Umweltrelevanz von AM ableiten. Jedoch können AM welche nur in geringen Mengen verkauft werden ebenfalls umweltrelevant sein (Bergmann et al. 2011).

I. 1.1 Humanpharmaka

Bislang sind Arzneimittelhersteller gesetzlich nicht verpflichtet, Produktionsmengen von Humanpharmaka öffentlich darzulegen. Ebenso wenig gibt es in Deutschland eine zentrale und öffentlich zugängliche Datenerhebung zu Verbrauchs- und Verkaufsmengen von Arzneimitteln (Walz und Götz 2014). Erstmals wurden die Verkaufsmengen der in Deutschland in der Humanmedizin eingesetzten Arzneistoffe umfassend durch das Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft (IWW) zusammengestellt. Diese vom Umweltbundesamt veröffentlichten Mengendaten für den Zeitraum 1996–2009 beruhen auf Erhebungen von der *Intercontinental Marketing Services Health AG (IMS Health AG)* und auf Angaben des Wissenschaftlichen Instituts der AOK zu den Verschreibungen (Bergmann et al. 2011).

In Deutschland sind derzeit ca. 9.450 Arzneimittelpräparate mit über 3.000 verschiedenen Wirkstoffen als Humanpharmaka (HAM) zugelassen (Walz und Götz 2014). Aufgrund der erhobenen Daten von der *IMS Health AG* kann auf die am häufigsten verkauften Wirkstoffgruppen und die Veränderung der Verkaufsmengen geschlossen werden. Dem IWW wurden Verbrauchsmengen der Jahre 2002 sowie für die Jahre 2006 bis 2009 von der *IMS Health AG* zur Verfügung gestellt und ausgewertet. Dabei wurden nur Wirkstoffe berücksichtigt, welche im Jahr 2009 in einer Menge von mehr als 5 t/a verkauft wurden. So verblieben 131 Arzneistoffe, welche mit einer Menge >5 t/a verkauft wurden. Insgesamt wurden in Deutschland im Jahr 2009 7.089.481 kg der eingesetzten 131 Arzneiwirkstoffe verkauft, dagegen betrug im Jahr 2002 die Menge noch 5.532.695 kg. Das ergibt eine Umsatzsteigerung von etwa 28% (Walz und Götz 2014). Die Verkaufsmengen von ausgewählten Wirkstoffgruppen sind in Tabelle 1 dargestellt. Demnach lagen die Zuwachsraten für die verbrauchsstärksten Gruppen in dem Zeitraum 2002 bis 2009 bei 26 % für Analgetika, 120 % für die Antidiabetika und 30 % für Antibiotika (Bergmann et al. 2011).

Tabelle 1 Verkaufsmengen und Differenzen 2002-2009 von Humanpharmaka (Bergmann et al. 2011)

Wirkstoffgruppe	Verbrauchsmenge [kg]		Differenz 2002 - 2009	
	2002	2009	[absolut]	[%]
Analgetika	2.101.787	2.646.851	545.064	26
Antidiabetika	595.269	1.309.534	714.265	120
Antibiotika	438.397	571.000	132.603	30
Röntgenkontrastmittel	335.202	364.677	29.475	9
Antiepileptika	173.011	247.361	74.350	43
Betablocker	210.009	204.088	-5.921	-3
Antiphlogistika	74.624	102.065	27.442	37
Lipidsenker	51.598	68.089	16.491	32
Antidepressiva	27.703	46.498	18.795	68

I. 1.2 Veterinärpharmaka

Die wichtigsten Arzneimittelgruppen in der Veterinärmedizin sind vor allem Antibiotika und Antiparasita. Des Weiteren werden noch Entzündungshemmer und hormonell wirksame Substanzen angewendet (Ebert et al. 2014). Aktuelle, detaillierte Verbrauchsmengen für alle Tierarzneimittel liegen derzeit nicht vor. Da jedoch vermehrt Antibiotikaresistenzen auftreten, müssen pharmazeutische Unternehmer und Großhändler seit dem 1. Januar 2011 die Art und Menge der an Tierärzte abgegebenen Arzneimittel an ein zentrales Register in Deutschland melden. Dies betrifft hauptsächlich Arzneimittel mit antimikrobieller Wirkung. Grundlage dafür ist das Arzneimittelgesetz (§ 47 Abs. 1c AMG und § 67a AMG) und die Arzneimittelverordnung, umgesetzt vom Deutschen Institut für medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) (Hannappel et al. 2014). Eine erste Erfassung der in Deutschland abgegebenen Antibiotikamengen wurde 2012 vom DIMDI durchgeführt. Im Juli 2013 wurden die Zahlen erstmals vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) veröffentlicht. Demnach betrug 2011 die Gesamtabgabemenge von Antibiotika 1706 Tonnen. Im Jahr 2013 betrug diese nur noch 1452 Tonnen, was eine Abgabeverringerung von 15% bedeutet. Dies ist allerdings immer noch eine bedeutend hohe Menge. Ein Ausschnitt der Abgabemengen von ausgewählten Wirkstoffgruppen ist in Tabelle 2 dargestellt. Die Auswertung der Daten zeigt, dass sich die Abgabemengen in dem Zeitraum 2011 bis 2013 für Tetracycline um 20%, für Penicilline um 11%, für Sulfonamide um 18%, für Makrolide um

27% und für Polypeptid-Antibiotika um 2% verringert haben (BVL 2014).

Tabelle 2 Verkaufsmengen und Differenzen von antimikrobiellen Veterinärpharmaka und Differenzen 2011-2013 (BVL 2014)

Wirkstoffgruppe	Verkaufsmenge [t]			Differenz 2011 - 2013	
	2011	2012	2013	[absolut]	[%]
Tetracycline	564	566	454	-110	-20
Penicilline	528	501	473	-55	-11
Sulfonamide	185	162	152	-33	-18
Makrolide	173	145	126	-47	-27
Polypeptid-Antibiotika	127	124	125	-2	-2

I. 2 Eintragspfade von Arzneimittel in die aquatische Umwelt

Human- und Veterinärpharmaka gelangen nach der jeweiligen Anwendung bei Menschen und Tieren auf unterschiedlichen Wegen in die Umwelt. Abbildung 1 gibt einen schematischen Überblick über diese Eintragswege. Industrielle Punktquellen sind bei dem Eintrag von Arzneimitteln in die Umwelt nur von untergeordneter Bedeutung. Aufgrund der rechtlichen Regelungen zur guten Herstellungspraxis, deutlichen Verbesserungen in der Abwasserreinigung und aufgrund des hohen Wertes einzelner Wirkstoffe, bei denen auch der Verlust von geringen Mengen kostspielig ist, sind die Emissionen von Arzneimitteln während der Produktion sehr gering. So kann es nur im Fall von Unfällen zu einer Freisetzung größerer Mengen von Arzneimittelwirkstoffen oder deren Zwischenprodukten kommen (SRU 2007).

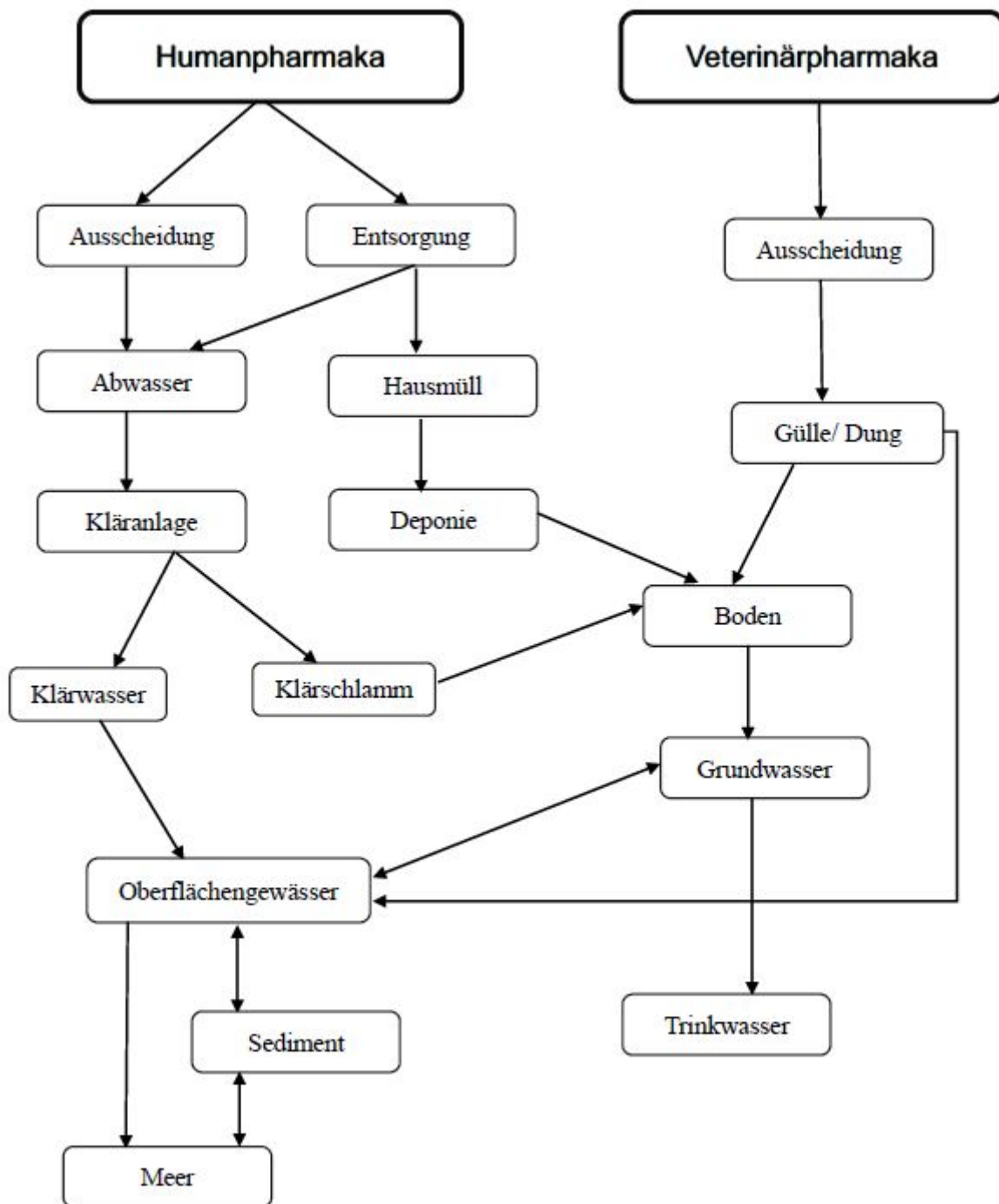


Abbildung 1 Eintragungspfade von Human- und Veterinärpharmaka in die Umwelt (ARGE 2003, modifiziert)

I. 2.1 Humanpharmaka

Humanarzneimittel gelangen nach der bestimmungsgemäßen Anwendung über das Haushalts- und Krankenhausabwasser entweder unverändert oder als Metaboliten mit dem Urin und Faeces in die Kanalisation (Ebert et al. 2014). Dabei liegt der Beitrag von den Krankenhausabwässern, trotz der hohen Konzentration von AM, bei maximal 10 bis 20

Prozent an der jährlich in die Umwelt entlassenen Gesamtmenge an Arzneimittelwirkstoffen (Walz und Götz 2014). Der direkte Eintrag in das Abwasser erfolgt über die unsachgemäße Entsorgung über die Toilette oder den Abfluss vom Spülbecken (Hannappel et al. 2014). Im Verhältnis zu der Menge an Arzneimitteln, die jährlich über die Ausscheidungen in die Umwelt gelangen, beträgt der Anteil unsachgemäß entsorgter Medikamente nur wenige Prozent. Zu berücksichtigen ist aber, dass bei stark metabolisierenden Substanzen der direkte Eintrag in den Wasserpfad deutlich zur Gewässerbelastung beitragen kann (Walz und Götz 2014). Mit der Kanalisation werden die AM durch das Abwasser in die Kläranlagen transportiert. Diese können dann über Leckagen an den Abflussrohren durch Versickerungsvorgänge in das Grundwasser gelangen (SRU 2007). In den Kläranlagen wird ein Teil der AM entweder durch Sorption am Klärschlamm oder durch bakteriellen Abbau aus dem Abwasser entfernt. Nicht eliminierte Stoffe gelangen mit dem Klärwasser in die als Vorfluter dienenden Oberflächengewässer. AM welche in der anaeroben Schlammfäulung nicht oder nur teilweise abgebaut werden, sind biologisch noch aktiv. Bei Austragung von Klärschlamm auf landwirtschaftlich genutzten Flächen, können diese durch Auswaschung ins Oberflächengewässer und/oder Grundwasser gelangen (Fent 2013). Durch den Eintrag von AM in die Oberflächengewässer können Sedimente durch die Adsorption von AM belastet werden. Durch Remobilisierung können die AM jedoch auch wieder in die Wasserphase abgegeben werden (Hirsch et al. 1999).

Mit dem Hausmüll entsorgte Altarzneimittel werden auf Deponien verbracht. Bei Undichtigkeiten im Deponieuntergrund kann eine Infiltration in das Grundwasser bzw. bei Abschwemmung ein Eintrag von AM in Oberflächengewässer erfolgen (SRU 2007). Das kommunale Abwasser stellt allerdings die bedeutendste Eintragsquelle für AM in die aquatische Umwelt dar (BLAC 2003). Findet in den Oberflächengewässern kein weiterer biologischer Abbau oder Sorption statt, können die AM über das Uferfiltrat bis in das Grundwasser und Trinkwasser, sowie über die Oberflächengewässer in die marine Umwelt gelangen (ARGE 2003).

I. 2.2 Veterinärpharmaka

Der Eintragsweg von Veterinärpharmaka unterscheidet sich deutlich von dem der Humanpharmaka (Abbildung 1). Der Hauptanteil der Veterinärpharmaka wird in der landwirtschaftlichen Tiermast eingesetzt (BLAC 2003). Somit verläuft der wesentliche Eintragspfad über die Ausscheidungsprodukte der Tiere, welche wiederum als

Wirtschaftsdünger (Gülle, Dung) auf landwirtschaftlich genutzte Felder aufgebracht werden. Somit gelangen die Veterinärpharmaka vorrangig in den Boden. Dies kann bei einer wiederholten Aufbringung zu einer Anreicherung von Arzneimittelrückständen im Boden führen. Über Abschwemmungen (run off) von Flächen und durch Versickerung können die Veterinärpharmaka von den gedüngten Flächen in Oberflächengewässer und/ oder in das Grundwasser gelangen (ARGE 2003). Daneben gibt es den Eintrag auf Weideflächen und in angrenzende Gewässer über weidende Nutztiere, welche vorher mit AM behandelt wurden (Ebert et al. 2014). Die ausgeschiedenen AM können durch Erosion in die Oberflächengewässer verfrachtet werden oder sie passieren die Böden und gelangen ins Grundwasser (SRU 2007).

I. 3 Umweltverhalten von Arzneimitteln

Um das Umweltrisiko von Arzneimittelwirkstoffen beurteilen zu können, müssen nicht nur ihre Verbrauchsmengen und Eintragswege betrachtet werden. Auch die spezifischen physikalisch-chemischen Eigenschaften der Wirkstoffe wie Wasserlöslichkeit, Verhalten in der Umwelt (Abbau, Adsorptionspotenzial) sowie die Ökotoxizität der Stoffe müssen berücksichtigt werden. Viele der Eigenschaften, die für den Gebrauch der Arzneimittel wichtig sind, können aus Umweltsicht problematisch sein, wie eine hohe Stabilität oder eine gute Wasserlöslichkeit (Ebert et al. 2014). Für die Anreicherung der AM im Sediment sind vor allem die Wasserlöslichkeit und das Adsorptionspotential von Bedeutung, auf die sich hier konzentriert werden.

I. 3.1 Wasserlöslichkeit

Die Wasserlöslichkeit ist definiert als die Sättigungskonzentration einer Substanz, d.h. die maximal gelöste Stoffmenge, in reinem Wasser und bei gegebener Temperatur (Referenztemperatur). So nimmt im Allgemeinen die Wasserlöslichkeit organischer Substanzen mit Erhöhung der Temperatur zu. Allerdings liegt die mittlere Temperatur der meisten Gewässer unter der Referenztemperatur, was eine geringere Löslichkeit zur Folge hat (Mortimer 2006). Polare Substanzen sind in Wasser gut löslich, während unpolare Substanzen eine geringe Löslichkeit besitzen und somit in einem Gewässer an Partikel oder Kolloide adsorbieren und sedimentieren. Gut wasserlösliche Stoffe werden in Gewässern vor allem in gelöster Form transportiert und besitzen eine relativ hohe Mobilität, wodurch sie vom

Oberflächengewässer bis in das Grundwasser übergehen können. Ein Stoff wird als gut wasserlöslich eingeordnet, wenn er sich im Bereich von einigen mg/l bis g/l in Wasser löst (ARGE 2003).

I. 3.2 Verteilungskoeffizient 1- Octanol/ Wasser

Der Verteilungskoeffizient 1- Octanol/ Wasser (K_{OW}) bezeichnet die Verteilung eines Stoffes in einem Zwei- Phasen- System aus 1- Octanol und Wasser und ist eine dimensionslose Zahl.

1-Octanol ist ein Alkohol, welcher ein fettlösliches, unpolar- organisches Lösungsmittel ist (Fent 2003). 1- Octanol wird als Referenz verwendet, da er ähnliche Stoffeigenschaften aufweist wie typische, in der Natur vorkommende organische Substanzen (z. B. Partikel, Huminstoffe) oder Organismen (Lipide der Zellmembran, Fettgewebe) (Fent 2003).

Somit bewertet der Verteilungskoeffizient den lipophilen (fettlöslichen) bzw. hydrophilen (wasserlöslichen) Charakter eines Stoffes als das entscheidende Kriterium für die Speicherung und Anreicherung in biologischen Systemen (ARGE 2003).

Der Verteilungskoeffizient berechnet sich wie folgt:

$$K_{ow} = \frac{c_o}{c_w}$$

Formel 1-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient

c_o = Konzentration der Substanz in der 1-Octanolphase

c_w = Konzentration der Substanz in der Wasserphase

Der K_{OW} -Wert wird meist als dekadischer Logarithmus (= $\log K_{OW}$) angegeben (Fent 2013).

Das Adsorptionspotential von Substanzen kann in folgende Gruppen unterteilt werden (ARGE 2003):

$\log K_{OW} < 2,5$ geringes Adsorptionspotential (hydrophile Substanz)

$\log K_{OW} > 2,5$ und $< 4,0$ mittleres Adsorptionspotential

$\log K_{OW} > 4,0$ hohes Adsorptionspotential (lipophile Substanz)

In der Ökotoxikologie gilt der $\log K_{OW}$ (neben dem Biokonzentrationsfaktor) als Parameter für die Beurteilung des Bioakkumulationspotentials einer Substanz. Substanzen, die einen $\log K_{OW} > 3,0$ haben, gelten nach dem internationalen Übereinkommen zum Schutz des Nord-Ostatlantiks (OSPARCOM) als sogenannte „B“ (PBT), d.h. bioakkumulative, Substanzen.

„PBT und vPvB“ Substanzen, sind besonders gefährliche Substanzen, die persistent, bioakkumulativ und toxisch sind bzw. sehr (very) persistent und sehr bioakkumulativ sind. Mit steigender Lipophilität nimmt die Bioakkumulationstendenz linear zu. Allerdings gilt dies nur für einen $\log K_{OW} \leq 4$. Bei stärker lipophilen Substanzen mit $\log K_{OW} > 4-6$ steigt die Bioakkumulation nicht mehr linear an. Zellmembranen bestehen aus Phospholipiden und Proteinen, welche die selektive Permeabilität dieser Membran ermöglichen. So wurde bei Substanzen mit einem $\log K_{OW} > 4$ eine reduzierte Permeation durch die Doppellipidschicht der Membran beobachtet, da die molekularen Eigenschaften wie Molekülgröße und –struktur der Substanzen an Bedeutung zunehmen. So verursacht die sterische Hinderung einen langsamen Transfer durch die Membran (Fent 2013).

Sowohl für die Überprüfung der Hypothese, dass lipophile AM im Sediment im Vergleich zur Wasserphase angereichert werden als auch für die Auswahl von lipophilen AM im akuten Leuchtbakterientest wurden die $\log K_{OW}$ -Werte sowie die Wasserlöslichkeit der an der HU untersuchten 39 AM in Tabelle 3 zusammengestellt. Von den 39 AM haben 13 AM einen $\log K_{OW} > 3$. Diese sind in der Tabelle grau hinterlegt. Darunter befinden sich Wirkstoffe und Metabolite der folgenden Substanzklassen: Analgetika & Antirheumatika, Antibiotika, Antidepressiva, Betablocker, Lipidsenker sowie Exporant. Dabei ist die Wasserlöslichkeit dieser Arzneimittelwirkstoffe überwiegend gering.

Tabelle 3 Wasserlöslichkeit und $\log Kow$ -Werte der 39 Arzneistoffe

Substanzklasse	Wirkstoffe & Metabolite	Wasserlöslichkeit [mg/L]	bei Temperatur [°C]	$\log Kow$
Analgetika & Antirheumatika	4-Aminoantipyrin	0,056 ²⁾	20 ²⁾	-0,07 ²⁾
	N-Acetyl-4-aminoantipyrin	-	-	-
	N-Formyl-4-aminoantipyrin	-	-	-
	Phenazon	0,0519 ²⁾	25 ²⁾	0,38 ²⁾
	Diclofenac	2,37 ¹⁾	25 ¹⁾	4,51 ¹⁾
	Ibuprofen	21 ¹⁾	25 ¹⁾	3,97 ¹⁾
	Indometacin	0,937 ²⁾	25 ²⁾	4,27 ²⁾
	Ketoprofen	51 ²⁾	22 ²⁾	3,12 ²⁾
	Naproxen	15,9 ¹⁾	25 ¹⁾	3,18 ¹⁾
	Piroxicam	23 ²⁾	22 ²⁾	3,06 ²⁾
Antibiotika	Clarithromycin	0,342 ²⁾	25 ²⁾	3,16 ²⁾
	Erythromycin	4,2 ¹⁾	25 ¹⁾	3,06 ¹⁾
	Roxithromycin	-	-	2,75 ²⁾

	Sulfamethoxazol	610 ¹⁾	37 ¹⁾	0,89 ¹⁾
	Trimethoprim	400 ¹⁾	25 ¹⁾	0,91 ¹⁾
Antidepressiva	Fluoxetin	60,3 ²⁾	25 ²⁾	4,05 ²⁾
Antiepileptika	Carbamazepin	18 ¹⁾	25 ¹⁾	2,45 ¹⁾
	Gabapentin	4500 ¹⁾	25 ¹⁾	-1,10 ¹⁾
	Primidon	500 ¹⁾	25 ¹⁾	0,91 ¹⁾
Betablocker	Atenolol	13300 ¹⁾	25 ¹⁾	0,16 ¹⁾
	Bisoprolol	2240 ²⁾	25 ²⁾	1,87 ²⁾
	Metoprolol	-	-	1,88 ¹⁾
	Propranolol	61,7 ²⁾	25 ²⁾	3,48 ²⁾
	Sotalol	5510 ²⁾	25 ²⁾	0,24 ²⁾
Benzodiazepine	Diazepam	66 ¹⁾	25 ¹⁾	2,82 ¹⁾
	Oxazepam	20 ¹⁾	22 ¹⁾	2,24 ¹⁾
	Temazepam	164 ²⁾	25 ²⁾	2,19 ²⁾
Bronchospasmolytika	Clenbuterol	-	-	2 ²⁾
	Salbutamol	1,43*10 ⁴ ₁₎	-	0,64 ¹⁾
	Terbutalin	2,13*10 ⁵ ²⁾	25 ²⁾	0,9 ²⁾
Expektorant	Bromhexin	4000 ²⁾	-	4,880 ²⁾
Lipidsenker	Bezafibrat	-	-	4,25 ²⁾
	Clofibrinsäure	583 ²⁾	25 ²⁾	2,57 ²⁾
	Gemfibrozil	11 ¹⁾	25 ¹⁾	4,77 ¹⁾
Röntgen- kontrastmittel	Amidotrizoesäure	5*10 ⁵ ¹⁾	25 ¹⁾	1,37 ¹⁾
	Iohexol	107 ²⁾	25 ²⁾	-3,05 ²⁾
	Iomeprol	-	-	-
	Iopamidol	1,20*10 ⁵ ₁₎	20 ¹⁾	-2,42 ¹⁾
	Iopromid	23,8 ²⁾	25 ²⁾	-2,05 ²⁾

¹⁾ HSDB (Hazardous Substances Data Bank)

²⁾ ChemIDplus (Chemical Identification Data Bank)

I. 4 Sedimente als Bestandteil aquatischer Ökosysteme

Im Fokus dieser Arbeit steht die Kontamination von AM in Sedimenten. Hierfür ist es erforderlich, die ökologische Bedeutung des Schutzgut Sediment kurz darzustellen.

Sedimente nehmen eine zentrale Funktion als Habitate für eine artenreiche Biozönose und im Stoffkreislauf aquatischer Ökosysteme darstellen ein (Ahlf 1995). Sedimente sind partikuläre Stoffe welche sich an der Gewässersohle ablagern und somit den Gewässergrund bilden (LfU 2003). Sie lassen sich nach Art ihrer Entstehung in klastische, biogene und chemische Sedimente einteilen. Klastische Sedimente bilden sich durch Ablagerung von Gesteins- und Mineralpartikel und bestehen unter anderem aus Kies, Sand und Ton. Die biogenen Sedimente

bestehen aus Skeletten von Organismen oder Pflanzen während die chemischen Sedimente durch Fällung gelöster Stoffe aus der übersättigten Wassersäule entstehen (Calmano 2001). Die Zusammensetzung ist dabei heterogen und kann sich an verschiedenen Standorten eines Gewässers unterscheiden.

Sedimente stellen einen wichtigen Lebensraum für das Benthos, dies ist die Lebensgemeinschaft der Organismen die in oder auf dem Sediment leben, d.h. sowohl Makrozoobenthos als auch die bakteriellen, pflanzlichen und tierischen Mikroorganismen. Dabei besiedelt der Großteil der Organismen die oberen Zentimeter des Sediments, während die tieferen Schichten nur von wenigen Spezialisten bewohnt werden. Die Oberflächenschicht eines Sediments kann entweder aerob oder anoxisch sein, während die tieferen Sedimentschichten in der Regel anaerob sind. Für die anaeroben bis anoxischen Verhältnisse sind biogene Reduktionsvorgänge, wie der Sauerstoffverbrauch beim Abbau von organischen Stoffen, Denitrifikation oder Schwefelwasserstoffproduktion durch bakterielle Sulfatreduktion, verantwortlich (Calmano 2001). Die Mineralisierung organischen Materials durch Bakterien, ist für den Nährstoffkreislauf und für die Selbstreinigungskraft aquatischer Systeme ein fundamentaler Bestandteil (DVWK 1999). So beeinflusst die Stoffwechselaktivität der Bakterien z. B. durch den Verbrauch von Sauerstoff, Nitrat, Sulfat und durch die Änderung des pH- Wertes und der Redoxverhältnisse die Lebensbedingungen anderer Organismen in den Sedimenten (Calmano 2001).

Mit der Ablagerung der Sedimente geht oft auch die Ablagerung von Schadstoffen einher, da anthropogene Stoffe, wie Schwermetalle aus der Industrie oder Arzneimittel aus dem Klärwasser oder der Landwirtschaft, in die Gewässer eingetragen werden (Jacobs 2003). Kim und Carlson (2007) konnten in einer Untersuchung nachweisen das Flusssedimente eine höhere Konzentration von Antibiotika aufweisen als die darüberstehende Wassersäule (zitiert in Kümmerer 2008a). Auch in Gewässern welche durch Aquakulturen geprägt sind, konnten mehrere Untersuchungen belegen dass die Sedimente mit Antibiotika belastet sind (Kümmerer 2004).

Die Verteilung von Stoffen zwischen dem Sediment, dem darin befindlichen Porenwasser und der überstehenden Wassersäule, ist abhängig von ihrem Sorptionsverhalten (Liß 1997). Stoffe, welche sehr lipophil sind und sich in der Wasserphase nur schwer lösen, adsorbieren an Schwebstoffe und werden im Gewässerbett als Sediment abgelagert und können sich dort anreichern (Calmano 2001). Daher stellen Sedimente nicht nur eine Senke, sondern auch Speicher und Schadstoffquelle, besonders für benthische Organismen, aber auch für das

gesamte aquatische Ökosystem dar (Brack et al. 2009). Die Schadstoffe können jedoch durch bestimmte Faktoren remobilisiert werden und dadurch wieder in die Wasserphase übergehen. Dies kann durch die Bioturbulenz, wie der Nahrungssuche von Fischen am Gewässerboden (Gunkel 1994), höhere Fließraten durch bspw. Windwirkungen sowie der Änderung der Milieubedingungen wie dem pH- Wert, Redoxpotential oder Huminstoffgehalt verursacht werden (LfU 2003). Durch die Remobilisierung werden die Schadstoffe mit der Gewässerströmung weiter transportiert und können sich in unkontaminierte Gewässerbereiche ablagern.

Die Sorption und Verteilung sowie die biologische Verfügbarkeit von Schadstoffen im Sediment wird von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst. So akkumulieren Stoffe verstärkt an Feinsediment, da dieses aufgrund der kleinen Partikelgröße ($< 20 \mu\text{m}$) eine größere Oberfläche besitzt. Auch die mineralische Zusammensetzung und der Gehalt der organischen Substanz der Partikel spielt eine wichtige Rolle. So nehmen im Feinsediment die Ton- und Organikanteile zu, was zur Folge hat, dass sich vor allem lipophile Stoffe anreichern (Ahlf 1995).

Die Toxizität eines Schadstoffes wird nicht nur durch seine absolute Konzentration bestimmt, sondern letztendlich wieweit dieser Stoff dann auch für den jeweiligen Organismus verfügbar ist (Calmano 2001). So werden die in der wässrigen Phase gelösten Stoffe über die Zellwände und Respirationsflächen aufgenommen, während die partikulär gebundenen Stoffe durch die Nahrung (LfU 2003) oder den direkten Körperkontakt (Ahlf 1995) aufgenommen werden. Die im Porenwasser gelösten Schadstoffe sind für benthische Organismen direkt verfügbar und stellen für diese den Hauptexpositionspfad dar (Jacobs 2003). In den Organismen können die Schadstoffe akute wie auch chronische Effekte verursachen und sogar akkumulieren. Da viele benthische Organismen im Nahrungsnetz eine wichtige Rolle spielen, können die Schadstoffe durch das Nahrungsnetz auch auf höhere Trophiestufen übertragen werden (Biomagnifikation) und Top Prädatoren gefährden. Folglich ist der Schutz von Sedimenten auch für die nach der WRRL geforderten Zielerreichung eines guten chemischen und guten ökologischen Zustandes von Gewässern von großer Bedeutung.

I. 5 Arzneimittel in der Bille und der Ammersbek

Das HU untersucht Wasserproben der Hamburger Flüsse monatlich mittels HPLC-MS/MS auf 39 Arzneimittelwirkstoffe. Im Rahmen dieser Arbeit soll die Arzneimittelbelastung von Wasser- und Sedimentproben der Bille und der Ammersbek verglichen werden. Um die dafür

in Frage kommenden Probenahmestellen zu identifizieren, wurde vorerst eine Auswertung der Messwerte für den Zeitraum Januar 2014 bis Juli 2014 durchgeführt. Dafür wurden von den monatlichen Messwerten arithmetische Mittelwerte gebildet. War ein AM zwar nachweisbar, aber unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze, so wurde auf Empfehlung des HU, der Wert mit der Hälfte der Bestimmungsgrenze bei der Berechnung des Mittelwertes berücksichtigt. Mittelwerte welche unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze liegen, wurden als die jeweilige Bestimmungsgrenze ($< BG$) angegeben.

Die Bezeichnungen Be4, Be61, Be81 Un12 sowie Un18 sind die der Bille zugehörigen Probenahmestellen und Amj8 ist die Bezeichnung für die Probenahmestelle der Ammersbek (Abbildung 3).

Insgesamt zeigt die Auswertung der Ergebnisse in Abbildung 2 dass 27 Arzneimittel einen Mittelwert oberhalb der Bestimmungsgrenze ($MW > BG$) in der Bille und der Ammersbek aufweisen. Besonders auffällig ist die Häufigkeit in der Ammersbek, da hier gleich alle 27 Arzneimittel einen $MW > BG$ haben. Die dabei detektierten Arzneimittel sind Vertreter der Substanzklassen der Analgetika & Antirheumatika, Antibiotika, Antiepileptika, Betablocker, Benzodiazepine, Lipidsenker sowie der Röntgenkontrastmittel. Für folgende AM mit einem $\log K_{OW} > 3$ konnten $MW > BG$ ermittelt werden: Diclofenac, Ibuprofen, Indometacin, Naproxen, Bezafibrat, sowie die Antibiotika Erythromycin und Clarithromycin. Die geringste Belastung zeigte sich an den Probenahmestellen Un12 und Un18 der Bille. Bei Un12 konnten für vier Arzneimittel $MW > BG$ und bei Un18 für fünf $MW > BG$ ermittelt werden. Für beide Probenahmestellen Un12 und Un18 konnte für Ibuprofen welches einen $\log K_{OW}$ von 3,97 aufweist $MW > BG$ nachgewiesen werden. An der Probenahmestelle Be4 wiesen 16 AM $MW > BG$ auf. Darunter befinden sich drei AM mit einem $\log K_{OW} > 3$: Diclofenac, Ibuprofen, sowie das Antibiotikum Clarithromycin. An der Probenahmestelle Be61 konnte für 16 AM ein $MW > BG$ ermittelt werden. Darunter befinden sich ebenso die lipophilen AM Diclofenac und Ibuprofen. Bei Be81 konnte für zehn AM ein $MW > BG$ ermittelt werden. Auch hier sind Diclofenac und Ibuprofen als lipophile AM vertreten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich in der Bille und der Ammersbek viele der 39 Arzneimittel nachweisen lassen. Dabei konnten an jeder Probenahmestelle AM mit einem hohen $\log K_{OW}$ nachgewiesen werden. Bei Be4 und Amj8 konnten auch Antibiotika welche einen $\log K_{OW} > 3$ haben, nachgewiesen werden.

In der Abbildung 2 sind die Ergebnisse ($MW > BG$) der einzelnen Probenahmestellen grafisch dargestellt. Die gesamte Auswertung befindet sich im Anhang in Tabelle 24.

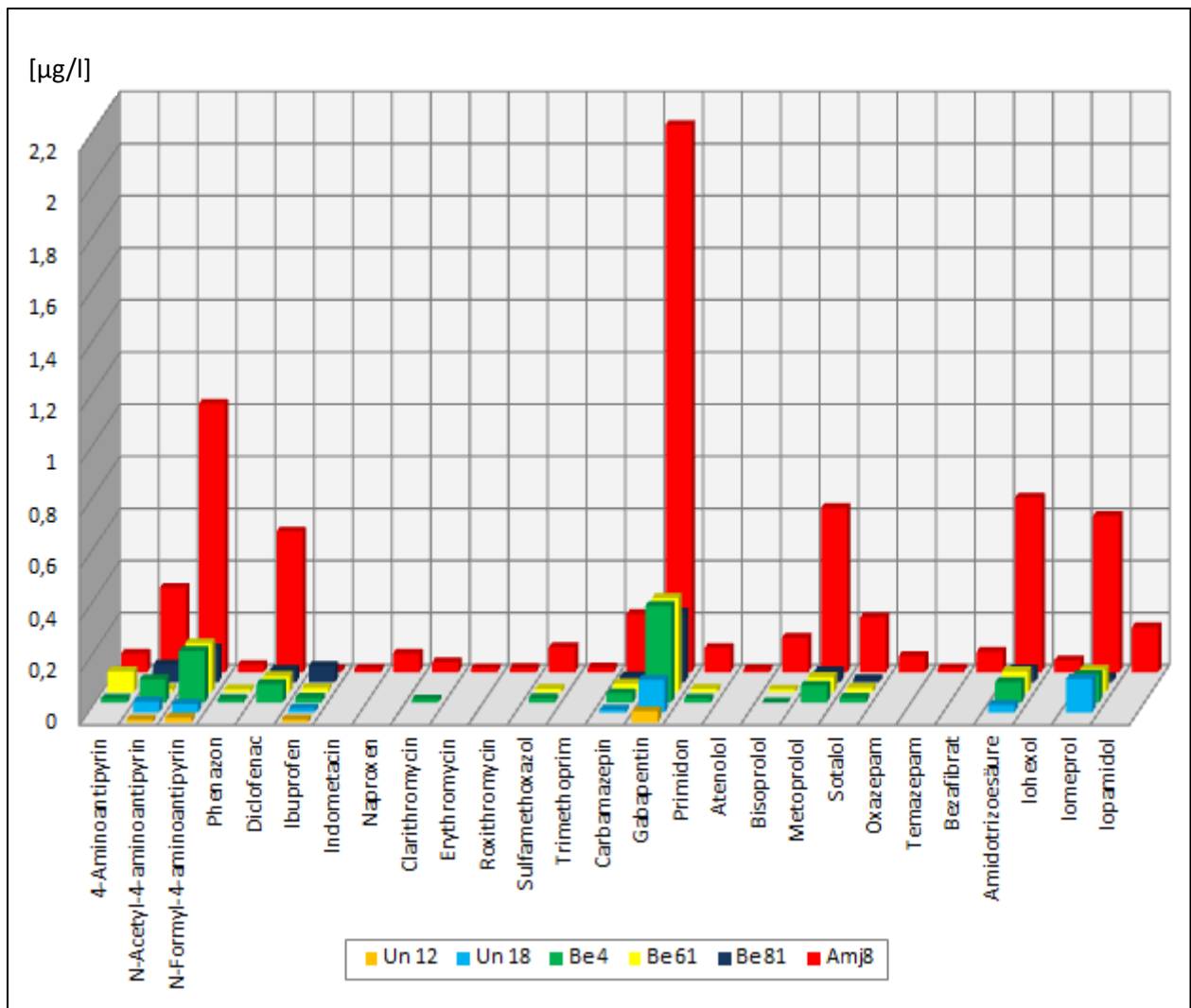


Abbildung 2 Mittelwerte >BG der Arzneimittelkonzentrationen in der Bille und Ammersbek für den Zeitraum Januar 2014 bis Juli 2014 (zugrundeliegend: Tabelle 24, Daten: HU 2014)

Da das kommunale Abwasser als bedeutendste Eintragsquelle für AM in die aquatische Umwelt angegeben werden kann (BLAC 2003), sollen im Folgenden die Kläranlagen, welche ihr Abwasser in die Bille und die Ammersbek direkt einleiten, kurz vorgestellt werden. Der größte Direkteinleiter in die Bille ist die Kläranlage Trittau. Sie verfügt über eine Anschlussgröße von 26250 Einwohnerwerten und leitet täglich ca. 1937 m³ Klärwasser in die Bille ein (Daten: Landesamt Schleswig Holstein). Die Kläranlage Köthel mit einer Anschlussgröße von 600 Einwohnerwerten leitet 82,20 m³ Klärwasser pro Tag in die Bille ein. Daneben leitet noch die Kläranlage Witzhave mit einer Anschlussgröße von 2200 Einwohnerwerten täglich 198 m³ Klärwasser ein (Daten: Landesamt Schleswig Holstein). In ihrem Verlauf wird die Bille durch viele Nebengewässer gespeist. Da an den Messstellen Un12 und Un18 die Arzneimittelkonzentrationen sehr häufig unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze liegen, scheint sich dort eine Verdünnung der AM eingestellt zu haben.

Bei der Auswertung der Messwerte fällt auf, dass vor allem in der Ammersbek viele der 39 Arzneimittel oberhalb der analytischen Bestimmungsgrenze nachzuweisen sind. Dabei weisen die detektierten Arzneimittel im Gegensatz zu der Bille auch die höchsten Konzentrationen auf. Dies lässt sich durch den hohen kommunalen Abwasseranteil, verursacht durch zwei Kläranlagen, begründen. Als Direkteinleiter ist hier die Kläranlage Ahrensburg mit einer Anschlussgröße von 33000 Einwohnerwerten zu nennen. Geht man von einem regelmäßigen Ablauf der Kläranlage aus, so pumpt diese etwa $0,073 \text{ m}^3$ Klärwasser pro Sekunde in die Ammersbek (Daten: Landesamt Schleswig Holstein 2015). An der Messstation Brückkamp lag 2014 der mittlere Abfluss der Ammersbek bei $0,815 \text{ m}^3/\text{s}$ (Daten: HU 2015). Der Abwasseranteil beträgt somit im Mittel 9 %. In Trockenzeiten ist die Ammersbek jedoch extrem abflussschwach. Der niedrigste Wasserstand war im Dezember 2014 mit $0,121 \text{ m}^3/\text{s}$ (Daten: HU 2015). Da der Abwasseranteil der Ammersbek sogar 61 %.

Die Kläranlage Bargtheide leitet ihr Klärwasser nicht direkt in die Ammersbek, sondern in den Bunsbach ein. Da die Anschlussgröße von 28500 Einwohnerwerten und die Klärwassermenge von $3322 \text{ m}^3/\text{d}$ nicht zu vernachlässigen sind und der Bunsbach schon nach 6 km in die Ammersbek mündet, wird die Kläranlage Bargtheide ebenso an der Arzneimittelbelastung der Ammersbek beteiligt sein.

I. 6 Antibiotika

Aufgrund der bedeutend hohen Eintragsmengen von Antibiotika und den damit verbundenen Risiken für die Umwelt, sollen in dieser Arbeit mit dem Leuchtbakterientest die Toxizität ausgewählter Antibiotika untersucht werden. Im Folgenden werden die Wirkungsweisen von Antibiotika erläutert und die Resistenzen in der Umwelt beschrieben.

Antibiotika sind Stoffe, welche von Pilzen oder Bakterien (biosynthetisch) produziert oder halb- und vollsynthetisch hergestellt werden und entweder das Wachstum von Bakterien hemmen (bakteriostatische Wirkung) oder diese abtöten (bakterizide Wirkung) (Suerbaum et al. 2012). Sie werden zur Behandlung von bakteriellen Infektionen eingesetzt und zeichnen sich in ihrer Wirkung durch ihre selektive Toxizität aus, da sie mit bakteriellen Zielstrukturen interagieren (BMG 2013). Kümmerer konnte in Laborversuchen eine schlechte biologische Abbaubarkeit für Antibiotika nachweisen (Kümmerer 2008a). Sie werden somit in Kläranlagen nur unzureichend eliminiert und sind deshalb als Spurenstoffe ubiquitär im Abwasser und im Oberflächenwasser vorhanden (BLAC 2003). Sie wurden in Deutschland außerdem im Dung behandelter Tiere, im Boden, sowie im Grundwasser nachgewiesen.

Vereinzelt gab es auch Nachweise im Trinkwasser (ARGE 2003, Walz und Götz 2014). In der Umwelt können sie die Struktur von mikrobiellen Gemeinschaften verändern, indem sie beispielsweise das Wachstum von Pflanzen und Algen hemmen oder die Häufigkeit des Auftretens von Resistenzgenen in der Umwelt beeinflussen (Ebert et al. 2014).

Die Wirkungsmechanismen von Antibiotika lassen sich in Bezug auf ihren Angriffsort der Bakterienzelle in fünf Gruppen einteilen. Diese sind in der Tabelle 4 mit den wichtigsten Antibiotikagruppen aufgelistet.

Tabelle 4 Wirkungsmechanismen Antibiotika (nach Efferth 2006)

Wirkungsmechanismen	Antibiotika
DNA-Inhibition	Chinolone
Inhibition der DNA-Biosynthese	Sulfonamide, Trimethoprim
Inhibition der RNA-Biosynthese	Rifamycine
Inhibition der Zellwand-Biosynthese	β- Lactam-Antibiotika
Inhibition der Protein-Biosynthese	Tetracycline, Makrolide, Aminoglycoside

I. 6.1 Antibiotikaresistenz

Unter Antibiotikaresistenz versteht man die Widerstandsfähigkeit von Bakterien gegenüber Antibiotika. Es besteht trotz ausreichender Konzentration des Wirkstoffs am Wirkort keine bakterizide oder bakteriostatische Wirkung (Günther et al. 2003). Grundsätzlich wird zwischen der primären (natürlichen) und der sekundären (erworbenen) Antibiotikaresistenz unterschieden (Kümmerer 2008a). Aufgrund des übermäßigen Einsatzes von Antibiotika hat die sekundäre Resistenz sehr stark an Bedeutung zugenommen. Die sekundäre Resistenz zeichnet sich durch den Verlust der Wirksamkeit eines Antibiotikums bei einem primär nicht resistenten Bakterium aus. Sie kann entweder spontan durch Mutation (vertikaler Gentransfer) oder durch Übertragung (horizontaler Gentransfer) entstehen (Feuerpfeil et al. 1999).

In den letzten Jahren wurde häufig über den Anstieg von Antibiotikaresistenzen in der Umwelt (Küster et al. 2013) und vor allem eine starke Zunahme von multiresistenten Bakterien, die gegen bis zu acht Antibiotika gleichzeitig resistent sind, berichtet (Suerbaum et al. 2012). Die Ursache für die Zunahme dieser Resistenzen sind der übermäßige Einsatz von

Antibiotika in der Human- und Tiermedizin. Überall dort, wo Antibiotika eingesetzt oder in die Umwelt gelangen, kann die Entstehung von Resistenzen durch Mutationen induziert, sowie die Ausbreitung von resistenten Bakterienstämmen durch Selektion gefördert werden (Kümmerer 2008a). Inzwischen wurden an verschiedenen Stellen antibiotikaresistente Bakterien nachgewiesen: in landwirtschaftlich genutzten Böden, in Krankenhausabwässern, in Kläranlagen, in Oberflächengewässern sowie im Grundwasser. Die Übertragung von Resistenzgenen tritt vor allem in Bereichen mit hoher Bakteriendichte auf (Kümmerer 2004). So kommt es in Kläranlagen besonders häufig zu einer Übertragung und damit zu einer Ansammlung von antibiotikaresistenten Keimen. Weiterhin wurden unterhalb von Kläranlagen-Abläufen bereits mehrfach multiresistente Bakterien nachgewiesen (Feuerpfeil et al. 1999). Für den Eintrag von multiresistenten Bakterien in Kläranlagen ist vor allem das Abwasser der Krankenhäuser verantwortlich (Kümmerer 2004)

II. Material und Methoden

II. 1 Untersuchungsgebiet und Probenahme der Bille und der Ammersbek

➤ Die Bille

Die Bille entspringt als ein Oberflächensammelgewässer westlich des Dorfes Linau im Kreis Herzogtum Lauenburg in Schleswig-Holstein. Nach einer Fließstrecke von 65 km mündet sie in Hamburg bei der Brandshofer Schleuse in die Elbe.

Aufgrund der Darstellung der AM Belastung in der Bille (Kapitel I.5, Abbildung 2) wurden folgende Probenahmestellen mit einer hohen AM Belastung ausgewählt: Be4, Be61 und Be81. Die Probenahmestelle Be4 befindet sich in Hamburg bei der Messstation Möörkenweg an der linken Uferseite. Die Probenahmestelle Be61 befindet sich an der oberen Bille im Staubereich des Serrahnwehrs in Hamburg- Bergedorf, ebenso an der linken Uferseite. Be81 befindet sich an der mittleren Bille vor der Stadtteilschule Bergedorf. Hier wurden die Proben von einer Brücke aus der Gewässermitte entnommen. Un12 und Un18 wurden nicht beprobt, da die Anzahl Arzneimittelkonzentrationen vom Januar 2014 bis Juli 2014 zu häufig unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze lag und somit eine Überprüfung der in dieser Arbeit gestellten Hypothesen nicht möglich ist.

➤ Die Ammersbek

Die Ammersbek entspringt in der Nähe von Sprenge im Kreis Stormarn in Schleswig-Holstein. Sie wird in ihrem Oberlauf Gölm bach, Aue, dann Hunnau und schließlich Ammersbek genannt. In Hamburg mündet die Ammersbek, nach ca. 30 Kilometern, an der Wohldorfer Schleuse in die Alster. Sie gehört somit zum Alstereinzugsgebiet und ist der größte Nebenbach der Alster.

Aufgrund der in Abbildung 2 (Kapitel I.5) dargestellten hohen AM-Belastung der Ammersbek, für den Zeitraum Januar 2014 bis Juli 2014, wurde die Probenahmestelle Amj8 ausgewählt. Die Probenahmestelle Amj8 befindet sich an der Messstation Brückamp im Duvenstedter Brook in Hamburg. Die Probenahme erfolgte am linken Gewässerufer.

In Tabelle 5 stehen die Gauß- Krüger- Koordinaten der einzelnen Probenahmestellen und in Abbildung 3 sind die Probenahmestellen in einer Karte dargestellt.

Tabelle 5 Koordinaten der Probenahmestellen

Probenahme- stelle	Gauß-Koordinaten	
	Rechtswert [m]	Hochwert [m]
Amj8	3576901	5954057
Be4	3582101	5930130
Be61	3580450	5929317
Be81	3578757	5929656
Un12	3573790	5933870
Un18	3568510	5935047

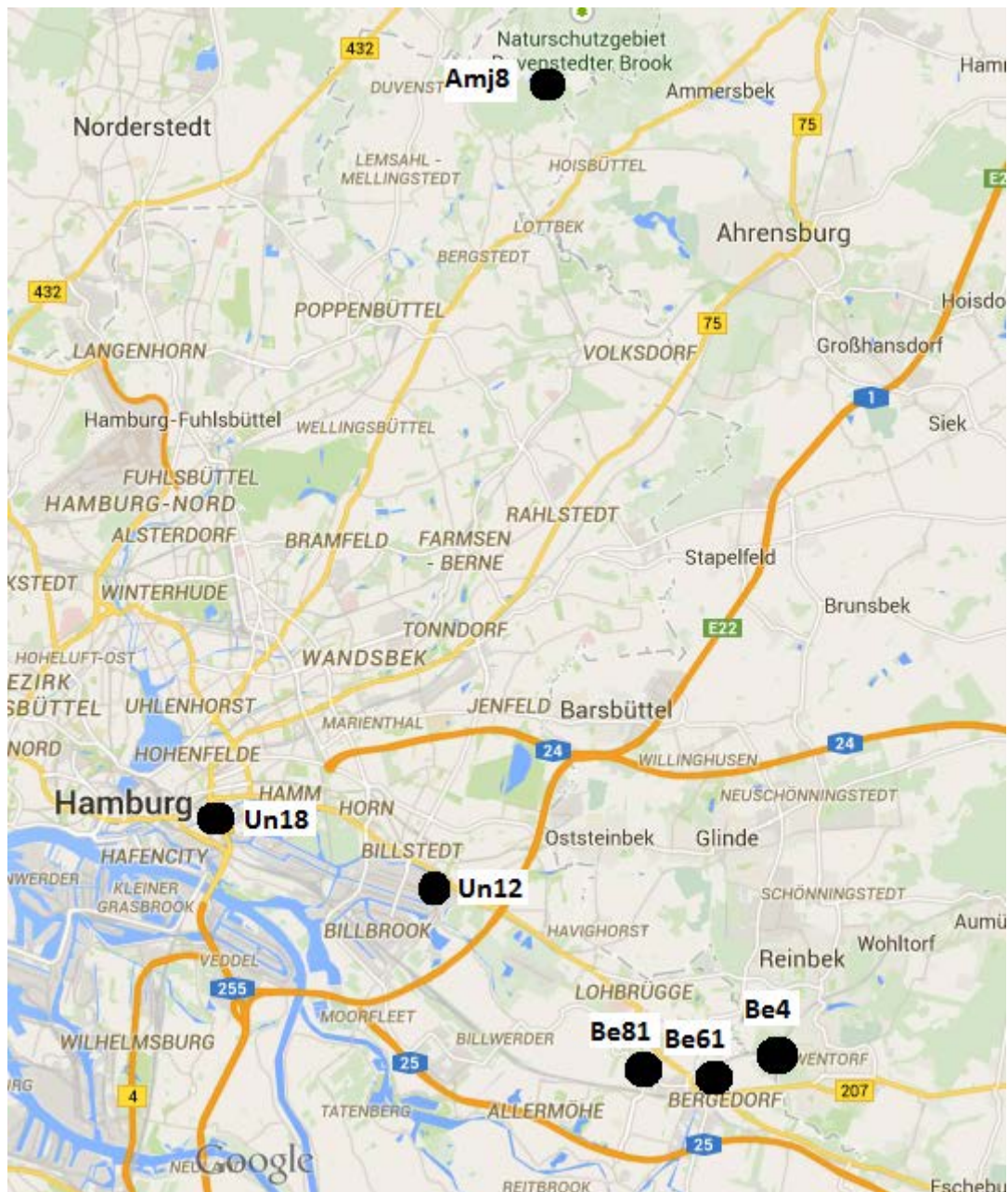


Abbildung 3 Standort der Messstellen der Ammersbek und Bille (Google Maps 2015, modifiziert)

➤ Probenahme

Die Probenahme erfolgte in Zusammenarbeit mit dem HU mit Herrn Jovicic. Die vier Probenahmestellen wurden im Zeitraum von September 2014 bis Dezember 2014 jeweils zweimal monatlich beprobt.

Die Wasserproben wurden mit Hilfe einer Teleskopstange und eines Schöpfbechers genommen. Für die Untersuchung der Arzneimittelkonzentrationen in der Bille und der Ammersbek wurde das jeweilige Probenwasser in ein kleines Glasröhrchen gefüllt und dieses anschließend durch Eis gekühlt gelagert. Das Probenröhrchen wurde bis zur weiteren Untersuchung mittels HPLC im Labor des HU bei 4°C gekühlt und lichtgeschützt für maximal drei Wochen gelagert.

Die Wasserproben für die Untersuchung der Leuchtbakterientoxizität wurden in 500ml Polyethylen-Weithalsdosen gefüllt und anschließend lichtgeschützt in einer Kühlbox gelagert. Vor Ort wurden von den Wasserproben die physikalischen Parameter bestimmt, welche in Tabelle 6 dargestellt sind.

Tabelle 6 chemisch- physikalische Parameter der Ammersbek- und Billewasserproben

Proben- bezeichnung	Be4_ W1	Be4_ W2	Be61_ W1	Be61_ W2	Be81_ W1	Be81_ W2	Amj8_ W1	Amj8_ W2
Probe- nahme- datum	23.09. 2014	16.10. 2014	23.09. 2014	16.10. 2014	23.09. 2014	16.10. 2014	20.10. 2014	09.12. 2014
Wasser- temperatur [°C]	13	12,7	13,5	12,7	12,3	12,9	14,5	6,1
Sauerstoff- gehalt [mg/l]	8,8	9	7,7	7,7	6,9	6,8	7,2	11,3
Sauerstoff- sättigung [%]	86,3	88	76,3	75,2	66,6	66,5	73	93,9
pH-Wert	7,9	7,86	7,8	7,72	7	7,6	7,7	7,8
Leitfähigkeit [µS/cm]	478	495	481	491	504	497	694	651

Nach der Wasserprobenahme erfolgte die Sedimentprobenahme mittels Ekman-Greifer. Dabei wurde eine Mischprobe, aus drei Greifvorgängen, an einer Probenahmestelle gewonnen. Es wurde das frische Oberflächensediment (die oberen 2cm) in eine 500ml Polyethylen-Weithalsdose gefüllt, homogenisiert und lichtgeschützt in einer Kühlbox gelagert.

Anschließend wurden die Proben für maximal eine Woche, bis Testbeginn, in dem Biologielabor der HAW- Bergedorf im Kühlschrank bei $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ gelagert.

II. 2 Probenvorbereitung

II. 2.1 Bestimmung des Trockenrückstandes

Um für die Eluatherstellung nach Floeter (2014), basierend auf BfG (2011) einen Massebezugspunkt zu haben, wurde der Trockenrückstand und der Wassergehalt der einzelnen Proben, nach DIN EN 12880 Teil 2a (2001) bestimmt.

Die Sedimentproben wurden durch Rühren mit einem Spatel homogenisiert, jeweils in eine Aluminiumschale eingewogen und dann für mindestens 24 Stunden, bis zur Massekonstanz, bei 105°C in einem Wärmeschrank getrocknet. Der Trockenrückstand wird anschließend aus der Differenz der Masse vor und nach der Trocknung berechnet.

II. 2.2 Herstellung des Eluates

Für die Sedimentbewertung werden verschiedene Testphasen, wie Porenwasser, Eluate, Extrakte mit Lösungsmitteln oder Gesamtsedimente verwendet (Liß 1997). In dieser Arbeit wurden wässrige Eluate der Sedimente untersucht. Die Herstellung von Eluaten bildet näherungsweise die Vorgänge im Gewässer ab, wie sie bei der Umlagerung bzw. Aufwirbelung von Sedimenten ablaufen. Dabei können die an den Sedimenten adsorbierten Stoffe in die Wasserphase übergehen und sind somit für die Gewässerorganismen verfügbar (LfU 2003).

Da Eluate häufig zur Abschätzung der Qualität umzulagernder Sedimente eingesetzt werden (Liß 1997) wurden die Sedimentproben entsprechend der „Handlungsanweisung zur Bewertung von Baggergut im Binnenland“ (HABAB-WSV) und des „Bundesanstalt für Gewässerkunde“ (BfG) Merkblattes hergestellt (BfG 2011).

Die Sedimentproben wurden im Verhältnis Sediment : Wasser = 1 : 4 eluiert, das heißt ein Teil Trockengewicht des Sediments plus drei Gewichtsteile Verdünnungswasser. Da die Bille- und Ammersbeksedimente limnisch sind, wurde als Elutionsmittel synthetisches Süßwasser (Daphnienverdünnungswasser nach DIN 38 412 Teil 30 (1989)) verwendet. War der Wassergehalt der Probe $\geq 75\%$, so wurde die Sedimentprobe mit ihrem eigenen Wasseranteil, dem Porenwasser, eluiert. Anschließend wurde die Wasserphase vom Feststoff durch Zentrifugation getrennt. Nach 30 Minuten Wartezeit wurden der O_2 -Gehalt, pH- Wert und die Leitfähigkeit gemessen. Der pH- Wert sowie das Trockengewicht und der Wassergehalt der

Eluate sind in Tabelle 7 angegeben. Die Probenahmestellen der Bille sind mit Be und der Ammersbek mit Amj bezeichnet. Mit der Probenbezeichnung E1 ist das Eluat der ersten Sedimentprobenahme und E2 das Eluat der zweiten Sedimentprobenahme gemeint.

Tabelle 7 Trockengewicht, Wassergehalt, pH-Wert der Bille- und Ammersbekeluat

Probenbezeichnung	Be4_ E1	Be4_ E2	Be61_ E1	Be61_ E2	Be81_ E1	Be81_ E2	Amj8_ E1	Amj8_ E2
Trockengewicht [%]	57,43	30,64	42,44	48,30	40,02	49,35	35,66	30,64
Wassergehalt [%]	42,57	69,36	57,56	51,70	59,98	50,65	64,34	69,36
pH- Wert	7,69	7,65	7,47	7,23	7,01	6,93	7,25	7,85

Da der Testorganismus *Aliivibrio fischeri* halophil ist (Krebs 1992), mussten alle Proben und das Verdünnungswasser entsprechend der DIN EN ISO 11348-2 (2009) auf eine Salinität von 2%, durch Aufsalzen mit kristallinem Natriumchlorid (NaCl), gebracht werden. Des Weiteren können Proben mit einem pH-Wert außerhalb des Bereiches von 6,0 und 8,5 die Biolumineszenz der Leuchtbakterien beeinträchtigen (DIN 2009). Eine Einstellung war allerdings nicht nötig, da die pH-Werte aller Proben in diesem Bereich lagen. Unmittelbar nach der Vorbereitung wurden die Eluate in fünf Verdünnungsstufen mit dem Leuchtbakterientest untersucht (siehe Kap. II. 4.1.1).

Die Untersuchung der Eluate auf die Arzneimittelbelastung erfolgte durch das HU. Es wurden die ungesalzenen Eluate am Tag der Herstellung in das Labor gebracht, dort lichtgeschützt und bei 4°C gelagert und innerhalb von drei Wochen mittels HPLC- MS/MS untersucht.

II. 3. Der Testorganismus *Aliivibrio fischeri*

In dem Biotest werden Leuchtbakterien der Gattung *Aliivibrio fischeri* (früher *Vibrio fischeri* und *Photobacterium phosphoreum*) verwendet. *Aliivibrio fischeri* ist ein halophiles, fakultativ anaerobes und gramnegatives Stäbchen mit polarer Begeißelung, welches natürlicherweise im marinen Bereich vorkommt (Gunkel 1994). Sie leben hauptsächlich als Saprophyten oder Parasiten auf Meerestieren und als Symbionten in den Leuchtorganen von Fischen. Des Weiteren können Leuchtbakterien im Meerwasser auch freilebend, durch den Abbau von organischem Material überleben (Schulz 1993).

Leuchtbakterien senden als Produkt ihres Stoffwechsels ein kaltes Leuchten, die sogenannte Biolumineszenz aus (Reineke und Schlömann 2007). Die Lichtemission ist Bestandteil des Kohlenstoffwechsels der Bakterien und dient zur Regeneration eines Teils der reduzierten Nicotinamidadenindinucleotide (NADH) durch die Monooxygenase Luciferase. In Abbildung

4 wird die Beziehung des Luciferasesystems zur Atmungskette dargestellt. Luciferase, welches ATP zu seiner Aktivierung benötigt, reagiert unter Sauerstoffaufnahme mit dem reduzierten Flavinmononucleotid (FMNH₂) und einem weiteren organischen Molekül und gelangt in einen angeregten Zustand (Krebs 1992). Unter Lichtemission wird die Luciferase dann zu Oxyluciferin regeneriert (Reineke und Schlömann 2007). Als Produkt der Reaktion wird blaugrünes Licht im sichtbaren Spektralbereich mit einer Wellenlänge von 490 nm abgegeben (Gunkel 1994).

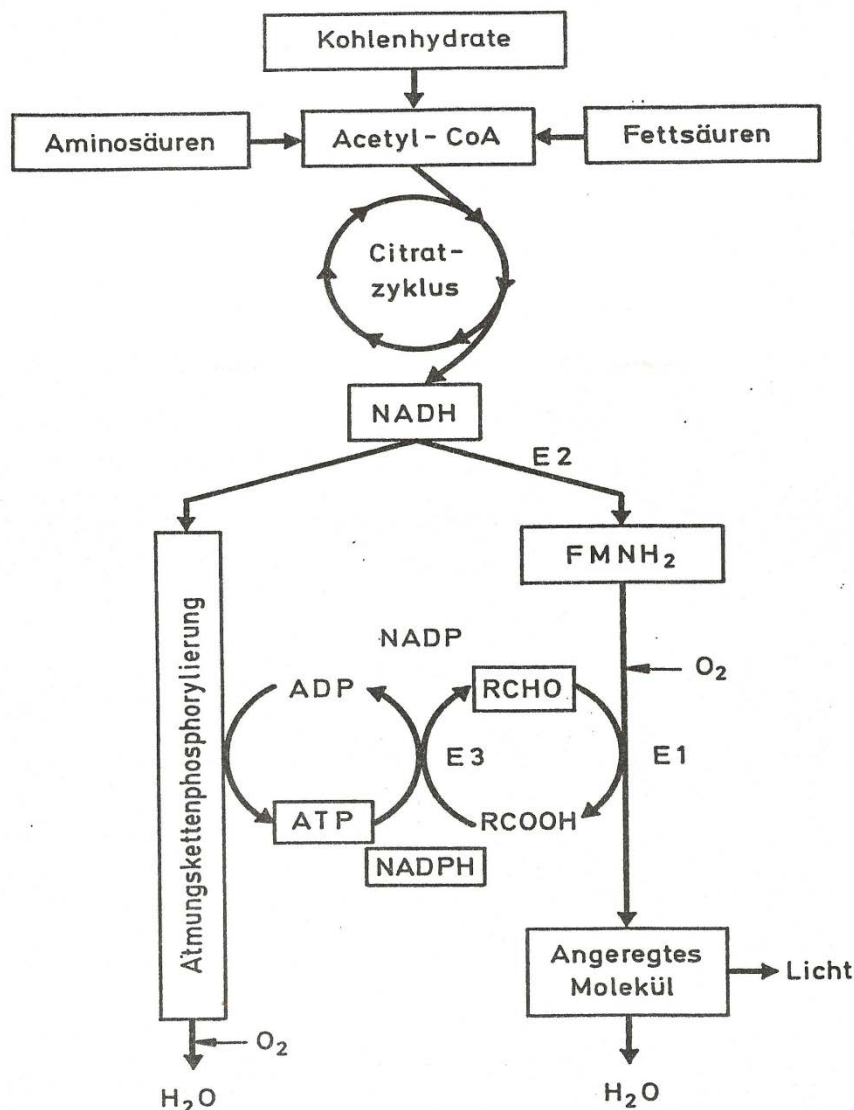


Abbildung 4 Reaktionsschema der bakteriellen Lumineszenz; E1: Luciferase, E2: FMN-Reductase, E3: Myristinsäure- Reductase (Klein 1991)

Störungen im Kohlenhydrat-, Aminosäure- oder Fettsäureabbau führen zu einem reduzierten Stoffumsatz im Citratzyklus. Hierdurch wird die Bildung energiereicher Verbindungen

verringert, was zu einer Abnahme der Lichtproduktion führt. Die Biolumineszenz ist somit ein integraler Bestandteil des bakteriellen Energiestoffwechsels und wird im Biotest zur Bewertung der toxischen Wirkung von Schadstoffen eingesetzt. Leuchtbakterien repräsentieren dabei als Destruenten die niedrigste Trophieebene in der Nahrungskette aquatischer Ökosysteme. Sie reagieren empfindlich auf eine große Zahl von Schwermetallen und unspezifisch wirkenden Chemikalien (Fent 2013). Bei schlecht wasserlöslichen, lipophilen organischen Substanzen und bei Stoffen, die schlecht die Zellwand durchdringen, zeigen Leuchtbakterien allerdings eine geringere Empfindlichkeit (Reineke und Schlömann 2007).

II. 3.1 Miniaturisierter akuter Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348-2 (2009)

Der Leuchtbakterientest (LBT) nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) ist ein international und national standardisierter Biotest mit dem die akute Toxizität von flüssigen Proben wie bspw. Eluat, Oberflächenwasser oder Einzelstoffe in Lösung, ermittelt wird (Reineke und Schlömann 2007). Er wird nach nationalem Recht u.a. für die Untersuchung von Abwasser (AbwV) gefordert. Des Weiteren wird der Test als Bestandteil von Biotestkombinationen zur Bewertung für limnische und marine Sedimente nach der „Handlungsanweisung zur Bewertung von Baggergut im Binnenland“ (HABAB-WSV) und der „Gemeinsamen Übergangsbestimmungen zum Umgang mit Baggergut im Küstenbereich“ (GÜBAK) angewendet (BfG 2011).

Das Messprinzip des LBT ist die prozentuale Hemmung der Biolumineszenz von *Aliivibrio fischeri* nach 30 minütiger Exposition gegenüber einer flüssigen Probe im Vergleich zu einer Negativkontrolle.

Anders als in der DIN EN ISO 11348-2 (2009) vorgeschrieben, wird der Test miniaturisiert in flachen, weißen 96-Well-Mikrotiterplatten des Herstellers *Corning Incorporated* durchgeführt. Die Verwendung der Mikrotiterplatten wird schon seit Jahren erfolgreich von der Arbeitsgruppe von Dr. Ahlf an der TUHH durchgeführt und ist durch Ringtests validiert. Der miniaturisierte LBT wurde im Biologie-Labor an der HAW zunächst unter Brackwasserbedingungen nach der internen Testvorschrift für marine Biotests (Floeter 2002) aufgebaut und anschließend auch für limnische Gewässer- und Sedimentproben validiert (Floeter 2014). Durch die Verwendung von Mikrotiterplatten verringert sich das Volumen pro Test von 1000 µL auf 250 µL und es können acht Proben parallel pro Mikrotiterplatte untersucht werden. Dadurch verringert sich die Menge der eingesetzten Leuchtbakterien und es können Zeit und Kosten gespart werden.

Zur Qualitätssicherung des Testsystems wird bei jedem Test 3,5-Dichlorphenol (3,5- DCP) als Positiv-Kontrolle nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) mitgeführt. Dies dient der Überprüfung der Funktionsfähigkeit des Testsystems und der Erfassung von Veränderungen der Sensitivität des Testorganismus.

Da die Biolumineszenz der Leuchtakterien auch ohne Schadstoffeinfluss mit der Zeit abnimmt (Klein 1991) werden bei dem Test immer Negativ-Kontrollen mitgeführt. So wird bei der Berechnung der prozentualen Hemmwirkung der Proben auch die Abnahme der Biolumineszenz der Negativ-Kontrollansätze, durch einen Korrekturfaktor, berücksichtigt.

Die Toxizität auf Leuchtakterien ist von der Versuchszeit und der Versuchstemperatur abhängig (Krebs 1992). Deshalb wird der Test gemäß der DIN bei einer Temperatur von (15 ± 1) °C mittels Klimaschrank durchgeführt. Die Abweichung von der Solltemperatur darf maximal $\pm 0,3$ °C betragen.

Proben mit einem pH-Wert außerhalb des Bereiches von 6,0 und 8,5 können die Biolumineszenz der Leuchtakterien beeinträchtigen. Deshalb müssen diese mit Natriumhydroxid-Lösung oder Salzsäure auf einen pH- Wert von $7,0 \pm 0,2$ eingestellt werden (DIN 2009).

Laut DIN EN ISO 11348-2 (2009) ist der Test gültig wenn folgende Kriterien eingehalten werden:

- der Korrekturfaktor (f_{kr} – Wert) für 30 min Kontaktzeit muss zwischen 0,6 und 1,3 liegen
- die Abweichung der Parallelbestimmungen von ihrem Mittelwert, sowohl bei den Kontrollen als auch bei den Testansätzen, darf nicht mehr als 3 %-Punkte betragen
- die Referenzsubstanz 3,5-DCP muss mit der Konzentration ($c = 4,5$ mg/l), nach einer Kontaktzeit von 30 Minuten, eine Hemmwirkung von 20- 80% verursachen
- das Ausgangsleuchten muss >500 sein.

Die prozentuale Hemmung der Biolumineszenz der Verdünnungsstufen kann anschließend auf verschiedene Weise ausgewertet werden. So wird bei einer Umweltprobe der Verdünnungsfaktor, bezeichnet als G_L -Wert (Giftigkeit im Leuchtbakterientest) ermittelt, bei dem die Hemmung der Biolumineszenz nach 30 min Kontaktzeit (H30) unter 20 % liegt. Bei der Untersuchung von Einzelstoffen wird für die Auswertung häufig der EC_{50} -Wert (Effect-

Concentration) herangezogen. Der EC₅₀ stellt diejenige Effektkonzentration dar, bei der die Hemmung der Biolumineszenz 50 % beträgt (Fent 2013).

Die in dem Leuchtbakterientest verwendeten Geräte sind der Tabelle 8 zu entnehmen.

Tabelle 8 Geräteliste mit Gerätebezeichnung und Herstellerangabe

Gerätetyp	Gerätebezeichnung	Hersteller
Autoklav	Systec DE- 65	Systec Labor- Systemtechnik GmbH
Luminometer	TECAN Infinite F200 Pro-Plattenreader	Tecan Group
Mehrkanalpipette 30 - 300 µl	Finnpipette™ F1	Thermo SCIENTIFIC
Pipette 0,5 - 5 ml	Finnpipette™ F1	Thermo SCIENTIFIC
Pipette 100 - 1000 µl	Finnpipette™ F2	Thermo SCIENTIFIC
Handrefraktometer	DIGIT-028 ATC	VWR International
Trockenschrank	ED 53	Binder GmbH
Thermoschrank	WTW TS 606- G/2	WTW GmbH
Mikrotiterplatte 96 Well	costar 3912	Corning Incorporated
Mikrotiterplatte 96 Well	costar 3590	Corning Incorporated
Analysenwaage	Precisa 90M-300 C	Precisa Gravimetrics AG
Magnetrührer	VMS- C7	VWR International
Überkopfschüttler	Reax 2	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG
Zentrifuge	ROTINA 420R	Andreas Hettich GmbH & Co.KG
pH- /Salinität-/ O2-Messgerät	WTW Universal - Taschenmessgerät Multiline P4	WTW GmbH

II. 4 Testdurchführung mit Wasser- und Eluatproben

Von den aufgesalzene Wasser- und Eluatproben der Bille und der Ammersbek wurden verschiedene Verdünnungsstufen (G-Stufen) hergestellt. Da es limnische Proben sind, wurde entsprechend der DIN EN ISO 11348-2 (2009), als Verdünnungswasser 2%ige Natriumchlorid (NaCl) -Lösung verwendet, welche ebenso als Negativ- Kontrolle diente. Das Pipettierschema der Verdünnungen und der Negativ- Kontrolle ist in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9 Pipettierschema für die Eluat- und Wasserproben der Bille und der Ammersbek

Verdünnung	Verdünnungsstufe (G- Wert)	Inokulum+ Nährmedium [μl]	Probe [μl]	Verdünnungswasser NaCl [μl]	Probe im Testansatz Vol%	Endvolumen [μl]
1 in 1	1	50	200	0	80	250
1 in 2	2	50	100	100	40	250
1 in 4	4	50	50	150	20	250
1 in 8	8	50	25	175	10	250
1 in 16	16	50	12,5	187,5	5	250
Negativkontrolle	0	50	0	200	0	250

Entsprechend der DIN wurde als Positiv- Kontrolle die Referenzsubstanz 3,5- DCP mitgeführt, welche bei der Konzentration von 4,5mg/l eine Hemmung von 20-80% verursachen muss. Darüber hinaus wurde eine 3,5-DCP- Verdünnungsreihe (fünf Verdünnungsstufen mit je zwei Replikaten) parallel getestet. Es wurde zunächst eine Stammlösung mit einer Konzentration von 334 mg/L hergestellt, welche die Ausgangslösung für die Verdünnungsreihe darstellte. Als Verdünnungswasser wurde ebenso 2%ige NaCl- Lösung verwendet. In Tabelle 10 ist die Konzentration der jeweiligen Verdünnungsstufen dargestellt.

Tabelle 10 Verdünnungsreihe der Positiv- Kontrolle mit 3,5- DCP

Verdünnungsreihe β (3,5-DCP)	V1	V2	V3	V4	V5
β im Testansatz [mg/L]	13,36	8,02	4,81	2,89	1,73

Zuerst erfolgte die Belegung einer 96-Well-Mikrotiterplatte (costar 3590) nach dem Belegungsschema der Abbildung 5 mit den Proben. Es wird von allen Testansätzen und Kontrollen eine Parallelbestimmung gemacht. Die Mikrotiterplatte wird bis zum Testbeginn im Klimaschrank auf eine Temperatur von $(15 \pm 1)^\circ\text{C}$ temperiert.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	G0	G0	G4	G4	G1	G1	G4	G4	G1	G1	V3	V3
B	G1	G1	G8	G8	G2	G2	G8	G8	G2	G2	V4	V4
C	G2	G2	G16	G16	G4	G4	G16	G16	G0	G0	V5	V5
D	G4	G4	G1	G1	G8	G8	G1	G1	G4	G4	Ref1	Ref1
E	G8	G8	G2	G2	G0	G0	G2	G2	G8	G8	Ref2	Ref2
F	G16	G16	G4	G4	G16	G16	G4	G4	G16	G16	G0	G0
G	G1	G1	G8	G8	G1	G1	G8	G8	V1	V1	G0	G0
H	G2	G2	G16	G16	G2	G2	G16	G16	V2	V2	G0	G0

Abbildung 5 Belegungsschema der 96-Well-Mikrotiterplatte für die Wasser- und Sedimentproben der Bille und der Ammersbek

Die flüssiggetrockneten Leuchtakterien wurden bei der HACH Lange GmbH bezogen (LCK 480) und kurz vor dem Test rekonstituiert. Dabei wurden von der Leuchtbakteriensuspension mit einer Mehrkanalpipette 50 µl in jedes Well einer vorgekühlten 96- Well- Mikrotiterplatte (costar 3912) pipettiert. Nach 15 minütiger Inkubation dieser Mikrotiterplatte wurde die Intensität der Ausgangsbiolumineszenz (t_0) der Leuchtakterien mit dem Plattenluminometer TECAN Infinite F200®PRO mit der Software i-control TM gemessen. Sofort nach der Ausgangsmessung wurden 200µl der Testansätze und Kontrollen aus der 96-Well-Mikrotiterplatte (costar 3590) mit einer Mehrkanalpipette zu den Leuchtakterien gegeben und nach einer Kontaktzeit von exakt 30min wurde erneut die Intensität der Biolumineszenz (t_{30}) gemessen.

II. 5 Auswahl der Arzneimittel

In dieser Arbeit soll die Leuchtbakterientoxizität von Arzneimitteln untersucht werden. Zur Auswahl stehen die 39 AM, auf die das HU im Rahmen des Arzneimittelmonitoring Gewässerproben hin untersucht. In erster Linie soll die akute Toxizität von Antibiotika welche einen $\log K_{OW} > 3$ aufweisen und in der Bille oder Ammersbek nachgewiesen wurden, mit dem LBT untersucht werden. Gemäß Tabelle 3 erfüllen die Antibiotika Clarithromycin ($\log K_{OW} = 3,16$) und Erythromycin ($\log K_{OW} = 3,06$) diese Kriterien. Des Weiteren soll ein AM ausgewählt werden welches sich aufgrund des $\log K_{OW} > 3$ im Sediment anreichert und somit eine höhere Konzentration in den Eluaten der Sedimente aufweist als in der dazugehörigen Wasserprobe. Dieses Kriterium erfüllten die Analgetika und Antirheumatika Ketoprofen und Indometacin (siehe Kapitel III. 1 und III. 3). Da Indometacin jedoch sehr viel häufiger nur in den Eluaten nachzuweisen war und ein höheres Adsorptionspotential aufweist ($\log K_{OW} = 4,27$) als Ketoprofen ($\log K_{OW} = 3,12$), wurde dieser Wirkstoff für die

Einzelstoffprüfung ausgewählt.

In einer Literaturstudie von Bergmann et al. (2011) wurden die MEC/PNEC-Verhältnisse von Arzneimittelwirkstoffe berechnet. Dabei wurden die in deutschen Oberflächengewässern höchsten gemessenen Umweltkonzentrationen MEC_{max} (maximum Measured Environmental Concentration) den niedrigsten PNEC (Predicted No Effect Concentration) des empfindlichsten Organismus gegenübergestellt. Ist das Verhältnis $MEC_{max}/PNEC \geq 1$ stellt der Arzneimittelwirkstoff ein Umweltrisiko dar und es werden Maßnahmen zur Risikovermeidung und Risikominderung erforderlich. Die MEC/PNEC-Verhältnisse werden bei der Vorstellung der ausgewählten Arzneimittel angegeben.

Aufgrund der ubiquitär vorkommenden Arzneimittelrückstände in der Umwelt wurde durch mehrere Autoren in Ländern wie Österreich, Italien und Deutschland sogenannte Priorisierungslisten für Arzneimittelwirkstoffe mit potentieller Umweltrelevanz erstellt (Schulte-Oehlmann et al. 2007 m.w.N). Als Kriterien für die Priorisierung galten unter anderem die Verbrauchsmengen, der Anwendungsbereich, die Häufigkeit des Auftretens im Trinkwasser sowie die Lipophilie und ökotoxikologische Kenndaten der Wirkstoffe. Diese Priorisierungslisten wurden bei Schulte-Oehlmann et al. (2007) zusammenfassend diskutiert. Das Antibiotikum Clarithromycin findet sich auf jeder der vier Priorisierungslisten wieder. Das Antibiotikum Erythromycin und das Analgetikum und Antirheumatikum Indometacin befinden sich auf drei von vier Prioritätslisten.

In Tabelle 11 sind die CAS- Nummer, die Reinheitsgrade und die Bezugsquelle der ausgewählten AM angegeben.

Tabelle 11 Prüfsubstanzen

Wirkstoff	CAS-Nummer	Reinheitsgrad	Bezugsquelle
Erythromycin	114-07-8	≥98%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Clarithromycin	81103-11-9	≥98%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Indometacin	53-86-1	≥99%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

II. 5.1 Erythromycin

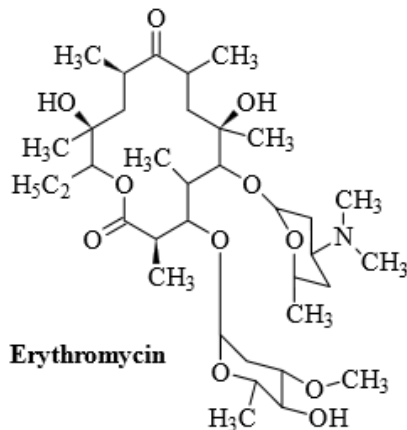


Abbildung 6 Strukturformel Erythromycin (Fahlenkamp et al. 2006)

Erythromycin ist der älteste zugelassene Vertreter der Makrolidgruppe und besitzt einen 14-gliedrigen Lactonring, eine Ketogruppe und zwei glykosidisch gebundene Zucker: einen Neutralzucker (Cladinose) und einen Aminozucker (Desosamin) (Aktories et al. 2013). Makrolidantibiotika wirken bakteriostatisch an der 50S- Untereinheit der Bakterienribosomen. Sie behindern den Proteinbiosyntheseprozess während der Elongationsphase der Polypeptidkette am Ribosom. Durch ihre Bindung blockieren sie die Translokation der Peptidyl-t-RNA von der Akzeptorstelle zur Donorstelle wodurch es zum Abbruch der Proteinbiosynthese kommt (Aktories et al. 2013). Bakterien bilden gegen Makrolid-Antibiotika schnell Resistenzen, da die Modifikation des ribosomalen Enzymsystems ausreicht (Küster et al. 2013). So wird die Bindungsstelle des Antibiotikums an der 50S Untereinheit des Ribosoms durch Methylierung der 23S rRNA modifiziert (Günther et al. 2003). Dadurch können alle Antibiotika der Makrolide nicht mehr an die Zielstruktur in der Bakterienzelle binden und ihre hemmende Wirkung ausüben (Suerbaum et al. 2012).

Etwa 5 % der oral verabreichten Dosis werden mit dem Harn unverändert ausgeschieden. Bei der Metabolisierung entsteht der Hauptmetabolit Desmethyl-Erythromycin, welcher ebenso eine antibakterielle Wirkung besitzt (LANUV 2007). Erythromycin wirkt gegen die meisten aerob und anaerob wachsenden grampositiven Bakterien wie Strepto-, Staphylokokken, Diphtheriebakterien, aber auch gegen einzelne gramnegative Bakterien wie Legionellen und Bakterien ohne Zellwand (Suerbaum et al. 2012).

In Tabelle 12 sind die von der *IMS Health AG* erhobenen Verbrauchsmengen von Erythromycin dargestellt. Diese sind für den Zeitraum 1996 bis 2009 um 16236,7 kg gesunken, welcher einer prozentualen Differenz von 63% entspricht.

Tabelle 12 Verbrauchsmengen und Differenz 1996- 2009 von Erythromycin (BLAC 2003, Bergmann et al. 2011)

Wirkstoff	Wirkstoffgruppe	Verbrauchsmenge [kg]		Differenz 1996 - 2009	
		1996	2009	[absolut]	[%]
Erythromycin	Antibiotika	25671,8	9435,1	-16236,7	-63

II. 5.1.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften und Ökotoxizität

Erythromycin besitzt ein Stabilitätsoptimum bei einem pH-Wert von 6,0-9,5 (Hannappel et al. 2014). Mit einer Wasserlöslichkeit von 4,2 mg/l ist der Stoff als mäßig wasserlöslich einzustufen. Der Stoff hat einen log Kow von 3,06 und damit ein mittleres Adsorptionspotential, jedoch weist er ein deutliches Bioakkumulationspotential auf. Verschiedene Untersuchungen konnten zeigen, dass Erythromycin während der Abwasserbehandlung im Klärwerk biologisch kaum (<10%) abgebaut wird. Dementsprechend wird das Antibiotikum auch regelmäßig in Oberflächengewässern nachgewiesen (LANUV 2007). Das MEC/PNEC-Verhältnis von Erythromycin ist 8,3 (Bergmann et al. 2011). Somit besitzt das Antibiotikum ein ökotoxikologisches Risikopotenzial.

II. 5.2 Clarithromycin

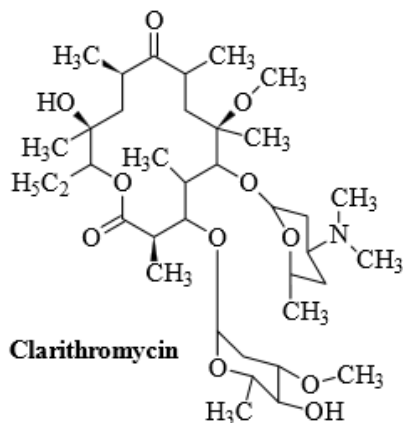


Abbildung 7 Strukturformel Clarithromycin (Fahlenkamp et al. 2006)

Clarithromycin ist ein Makrolid und wird halbsynthetisch aus Erythromycin hergestellt. Das Antibiotikum besitzt ebenfalls einen 14-gliedrigen Lactonring, eine Ketogruppe, zwei glykosidisch gebundene Zucker Cladinose und einen Aminozucker Desosamin. Es unterscheidet sich zu Erythromycin nur um eine Methoxygruppe, was dem Antibiotikum eine größere Säurestabilität verleiht (Aktories et al. 2013).

Die Hauptmetabolite sind 14-Hydroxy-Clarithromycin, welches ebenfalls antibakteriell

wirksam ist und N-Demethyl-Clarithromycin welches inaktiv ist. Etwa 20 %-40 % des Clarithromycin werden unverändert mit dem Urin ausgeschieden und 4% mit dem Fäzes. Der Hauptmetabolit 14-Hydroxy-Clarithromycin wird 10 %-15 % mit dem Urin und 36% mit dem Fäzes ausgeschieden (LANUV 2007). Das Wirkspektrum von Clarithromycin umfasst wie das von Erythromycin die meisten grampositiven Bakterien, ist jedoch gegen eine größere Zahl gramnegativer Bakterien wirksam (Suerbaum et al. 2012).

Der Verbrauch von Clarithromycin hat in dem Zeitraum von 1996 bis 2009 um 6964,1 kg zugenommen. Dies entspricht einer Steigerung von 88%. In Tabelle 13 sind die von der *IMS Health AG* erhobenen Verbrauchsmengen dargestellt.

Tabelle 13 Verbrauchsmengen und Differenz 1996- 2009 von Clarithromycin (BLAC 2003, Bergmann et al. 2011)

Wirkstoff	Wirkstoffgruppe	Verbrauchsmenge [kg]		Differenz 1996 - 2009	
		1996	2009	[absolut]	[%]
Clarithromycin	Antibiotika	7953,5	14917,6	6964,1	88

II. 5.2.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften und Ökotoxizität

Das Stabilitätsoptimum von Clarithromycin liegt bei einem pH-Wert von 8 vor. Bei einem pH-Wert unter sechs findet eine signifikante Reduktion der Wirksamkeit statt (LANUV 2007). Mit einer Wasserlöslichkeit von 1,693 mg/l ist der Stoff nur gering wasserlöslich. Der Wirkstoff ist als mäßig lipophil zu betrachten, weist mit einem log K_{OW} von 3,16 auf ein mittleres Adsorptionspotential, jedoch auf ein hohes Bioakkumulationspotential hin. Das MEC/PNEC-Verhältnis von Clarithromycin ist 4,9 (Bergmann et al. 2011) und stellt demnach ein Umweltrisiko dar.

II. 5.3 Indometacin

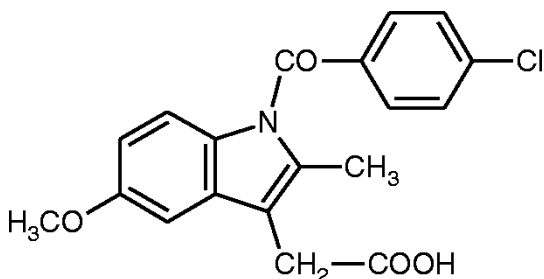


Abbildung 8 Strukturformel Indometacin (Römpp online 2014)

Indometacin ist ein Indolessigsäurederivat und gehört zu den stärksten nichtsteroidalen

Antiphlogistika und zu den nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAID: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs). Der Wirkstoff wird zur Behandlung von Schmerz- und Entzündungsbekämpfung beispielsweise gegen Rheuma, Magen-Darm-Störungen, Kopfschmerzen oder Schwindel eingesetzt (LANUV 2007). Der Wirkungsmechanismus beruht auf einer reversiblen Hemmung der Cyclooxygenasen, wodurch die Bildung von Prostaglandinen und Thromboxan, welche Schmerz und Entzündungsprozesse übermitteln, vermindert wird (Schwabe und Paffrath 2014). Die gebildeten Metabolite p-Chlorbenzoesäure, 1-(p-Chlorbenzoyl)-5-Hydroxy-2-Methylindol-3-essigsäure, 1-(p-Chlorbenzoyl-5-Methoxy-2-Methylindol-3-acetyl-β-D-glucuronsäure, 5-Methoxy-2-Methylindol-3-essigsäure sind biologisch inaktiv (LANUV 2007). Indometacin wird mit einem Anteil von 10 bis 30 % unverändert vom menschlichen Körper ausgeschieden (SRU 2007).

In Tabelle 14 sind die, von der *IMS Health AG* erhobenen Verbrauchsmengen für Indometacin für die Jahre 1996 und 2001 dargestellt. Demnach hat die Verbrauchsmenge um 30% abgenommen. Die Anwendung von Indometacin verursacht viele Nebenwirkungen (Schwabe und Paffrath 2014) und kann als Grund für den abnehmenden Verbrauch angesehen werden.

Tabelle 14 Verbrauchsmengen und Differenz 1996 - 2001 von Indometacin (BLAC 2003)

Wirkstoff	Wirkstoffgruppe	Verbrauchsmenge [kg]		Differenz 1996 - 2001	
		1996	2001	[absolut]	[%]
Indometacin	Analgetika & Antirheumatika	5340,1	3720,6	-1619,5	-30

II. 5.3.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften und Ökotoxizität

Der Wirkstoff ist im neutralen und leicht sauren Medium stabil, jedoch wird er auch als lichtempfindlich beschrieben. Aufgrund der sehr geringen Wasserlöslichkeit von 0,937mg/l und einem $\log K_{OW}$ von 4,27 weist Indometacin auf ein bedeutendes Bioakkumulationspotenzial hin und gilt als biologisch schwer (<10%) abbaubar. Zur ökotoxikologischen Wirkung von Indometacin liegt derzeit nur ein Wert vor. Die nach der Könemann-Gleichung ermittelte Mindestfischtoxizität (LC_{50}) ist mit 5,8 mg/l als relativ hoch anzusehen. Mit einem MEC/PNEC-Verhältnis von 1,1 stellt dieser Arzneimittelwirkstoff ebenso ein Umweltrisiko dar (Bergmann et al. 2011).

II. 6 Testdurchführung mit Arzneimitteln

Die Arzneimittelwirkstoffe Erythromycin, Clarithromycin und Indometacin wurden in fünf Verdünnungsstufen mit dem LBT untersucht. Zum Ansetzen der Verdünnungsreihen wurde von den AM Stammlösungen mit 2%iger NaCl- Lösung hergestellt. Erythromycin wurde bei Sigma Aldrich in gelöster Form, mit einer Konzentration von 1g/l in H₂O, erworben. Daraus wurde eine Stammlösung mit einer Konzentration von 500mg/l hergestellt. Clarithromycin und Indometacin lagen in fester Form vor. Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit der beiden Substanzen wurden diese mit dem Lösungsmittel Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. Anschließend wurden daraus die Stammlösungen mit einer Konzentration von jeweils 20mg/l hergestellt. Um Lösungsmittelleffekte zu vermeiden (Aguirre-Martínez et al. 2014) betrug die DMSO- Endkonzentration im Testansatz maximal 1% v/v. Die Stammlösungen wurden durch Zugabe von kristallinem NaCl auf eine Salinität von 20 gebracht und der pH- Wert wurde mit Natriumhydroxid-Lösung und Salzsäure auf einen pH- Wert von $7,0 \pm 0,2$ eingestellt. Alle Stammlösungen und Verdünnungsreihen wurden entsprechend der DIN EN ISO 11348-2 (2009) mit einer NaCl- Lösung (2%) hergestellt. Die NaCl- Lösung wurde ebenso als Negativ- Kontrolle eingesetzt. Um mögliche toxische Effekte des Lösungsmittels DMSO zu erfassen, wurde eine DMSO- Kontrolle mitgeführt. Außerdem wurde parallel ein Referenztest mit 3,5-DCP durchgeführt. Die Konzentration der 3,5-DCP- Verdünnungsstufen ist der Tabelle 14 zu entnehmen.

In Tabelle 15, Tabelle 16 und Tabelle 17 ist das Pipettierschema der Verdünnungsstufen der Arzneimittel und der Negativ- Kontrollen dargestellt. Alle Konzentrationsangaben sind auf die Arzneimittelkonzentration im Testansatz bezogen.

Tabelle 15 Pipettierschema Erythromycin

Verdünnungsstufe	Verdünnungswasser NaCl [μl]	Erythromycin [μl]	Inokulum+ Nährmedium [μl]	Endvolumen [μl]	Konzentration Erythromycin im Testansatz [mg/l]
V1	100	100	50	250	400
V2	150	50	50	250	200
V3	175	25	50	250	100
V4	187,5	12,5	50	250	50
V5	193,75	6,25	50	250	25
Kontrolle	200	0	50	250	0

Tabelle 16 Pipettierschema Clarithromycin

Verdünnungsstufe	Verdünnungswasser NaCl [μl]	Clarithromycin [μl]	Inokulum+ Nährmedium [μl]	Endvolumen [μl]	Konzentration Clarithromycin im Testansatz [mg/l]
V1	0	200	50	250	8
V2	100	100	50	250	4
V3	150	50	50	250	2
V4	175	25	50	250	1
V5	187,5	12,5	50	250	0,5
Kontrolle	200	0	50	250	0

Tabelle 17 Pipettierschema Indometacin

Verdünnungsstufe	Verdünnungswasser NaCl [μl]	Indometacin [μl]	Inokulum+ Nährmedium [μl]	Endvolumen [μl]	Konzentration Indometacin im Testansatz [mg/l]
V1	0	200	50	250	8
V2	100	100	50	250	4
V3	150	50	50	250	2
V4	175	25	50	250	1
V5	187,5	12,5	50	250	0,5
Kontrolle	200	0	50	250	0

III. Ergebnisse

III.1 Darstellung der Arzneimittelkonzentration in Wasser- und Sedimentproben der Bille

Im Folgenden werden die Arzneimittelgehalte > BG der einzelnen Wasser- und Eluatproben der drei Probenahmestellen Be4, Be61 und Be81 der Bille grafisch gegenübergestellt. Alle Messwerte stehen im Anhang in Tabelle 25, Tabelle 26, Tabelle 27 und Tabelle 28. Werte welche unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze liegen werden als die jeweilige Bestimmungsgrenze angegeben.

An der Probenahmestelle Be4 konnten in der ersten Wasserprobe 13 AM größer der jeweiligen analytischen Bestimmungsgrenze (AM > BG) und in der Eluatprobe 9 AM > BG detektiert werden (Abbildung 9). In der Wasserprobe war die Konzentration von Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$) höher als in der Eluatprobe. Die übrigen AM, welche in der Wasserprobe höhere Konzentrationen als in der Eluatprobe aufzeigten, haben einen $\log K_{OW} < 3$. In der Eluatprobe waren die AM Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$), Metoprolol ($\log K_{OW} = 1,88$) und Sotalol ($\log K_{OW} = 0,24$) höher konzentriert als in der Wasserphase.

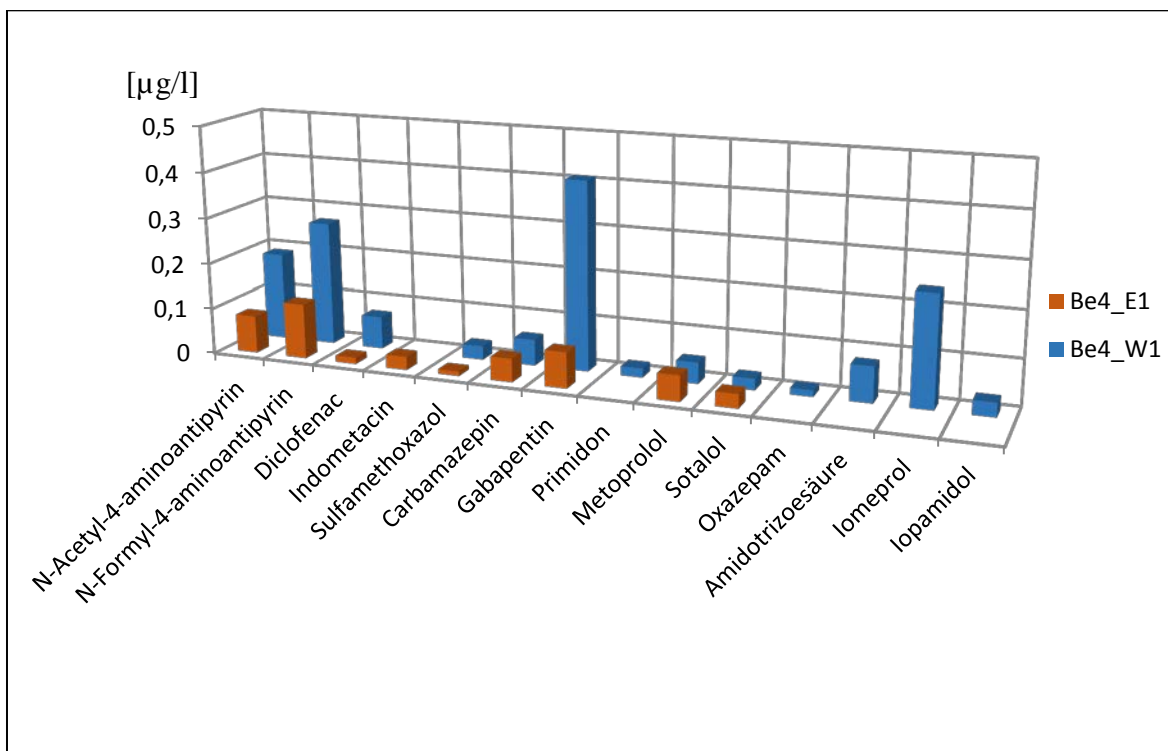


Abbildung 9 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

In der zweiten Wasserprobe von der Probenahmestelle Be4 wurden 12 AM > BG detektiert und in der Eluatprobe 14 AM > BG (Abbildung 10). In der Wasserprobe war die Konzentration von Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$) höher als in der Eluatprobe. Die übrigen AM, welche in der Wasserprobe höhere Konzentrationen als in der Eluatprobe aufzeigten, haben einen $\log K_{OW} < 3$. Folgende sieben AM waren in der Eluatprobe höher konzentriert als in der Wasserprobe: N-Acetyl-4-aminoantipyrin, Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$), Ketoprofen ($\log K_{OW} = 3,12$), Primidon ($\log K_{OW} = 0,91$), Amidotrizoesäure ($\log K_{OW} = 1,37$), Iomeprol, Iopamidol ($\log K_{OW} = -2,42$).

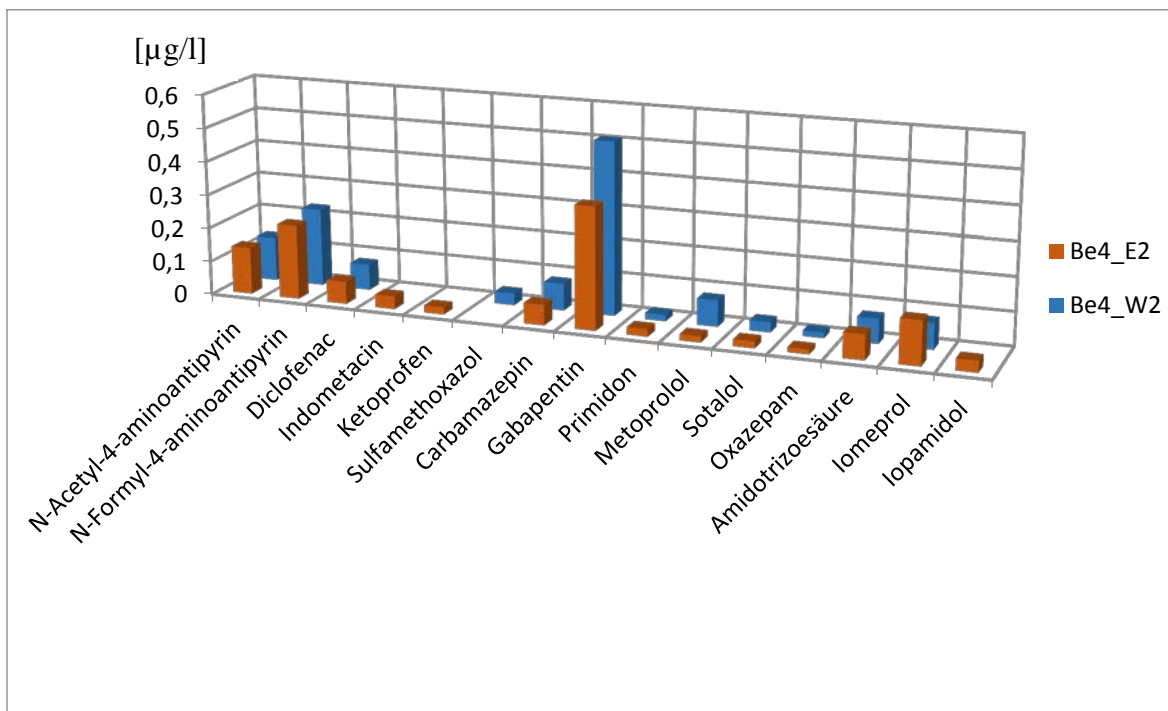


Abbildung 10 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

In der ersten Wasserprobe von der Probenahmestelle Be61 wurden 13 AM > BG detektiert und in der Eluatprobe 11 AM > BG (Abbildung 11). In der Wasserprobe war die Konzentration von Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$) höher als in der Eluatprobe. Die übrigen AM, welche in der Wasserprobe höhere Konzentrationen als in der Eluatprobe aufzeigten, haben einen $\log K_{OW} < 3$. In der Eluatprobe waren Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$) und Carbamazepin ($\log K_{OW} = 2,45$) höher konzentriert.

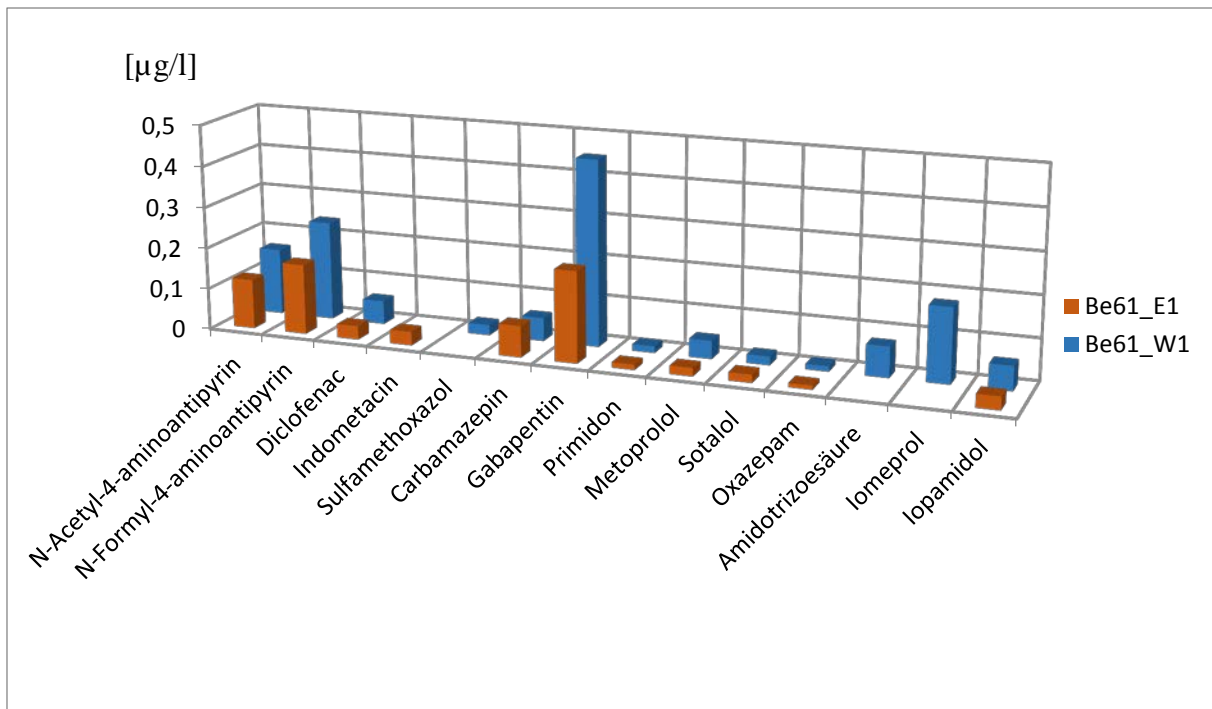


Abbildung 11 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

In der zweiten Wasser- und Eluatprobe Be61 konnten jeweils 15 AM > BG nachgewiesen werden (Abbildung 12). Dabei waren Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$) und Clarithromycin ($\log K_{OW} = 3,16$) in der Wasserprobe höher konzentriert. Folgende AM waren dagegen in der Eluatprobe höher konzentriert: Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$), Ketoprofen ($\log K_{OW} = 3,12$), Iohexol ($\log K_{OW} = -3,05$), Iopamidol ($\log K_{OW} = -2,42$).

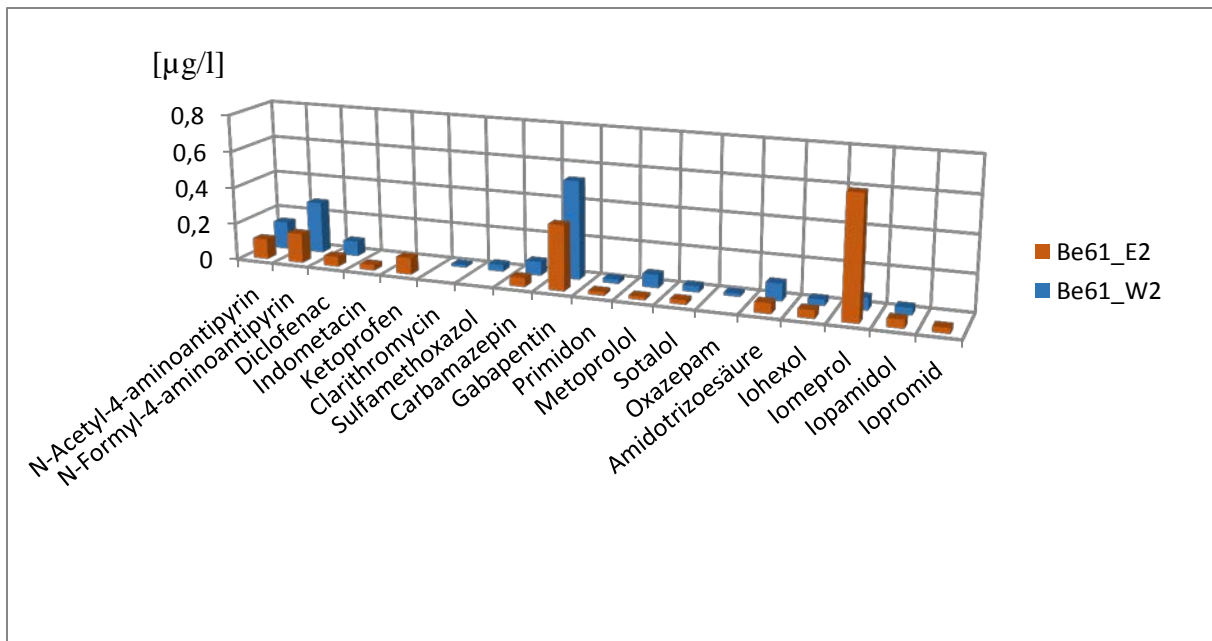


Abbildung 12 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

In den ersten Proben der Probenahmestelle Be81 konnten im Billewasser 12 AM > BG und in dem Eluat 13 AM > BG nachgewiesen werden (Abbildung 13). In der Wasserprobe waren die lipophilen Arzneimittel Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$) und Ibuprofen ($\log K_{OW} = 3,97$) höher konzentriert als in der Eluatprobe. Alle anderen AM welcher in der Wasserprobe höher konzentriert waren haben einen $\log K_{OW} < 3$. Die vier AM 4-Aminoantipyrin ($\log K_{OW} = 3,97$), Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$), Ketoprofen ($\log K_{OW} = 3,97$) und Carbamazepin ($\log K_{OW} = 3,97$) waren jedoch in dem Eluat höher konzentriert.

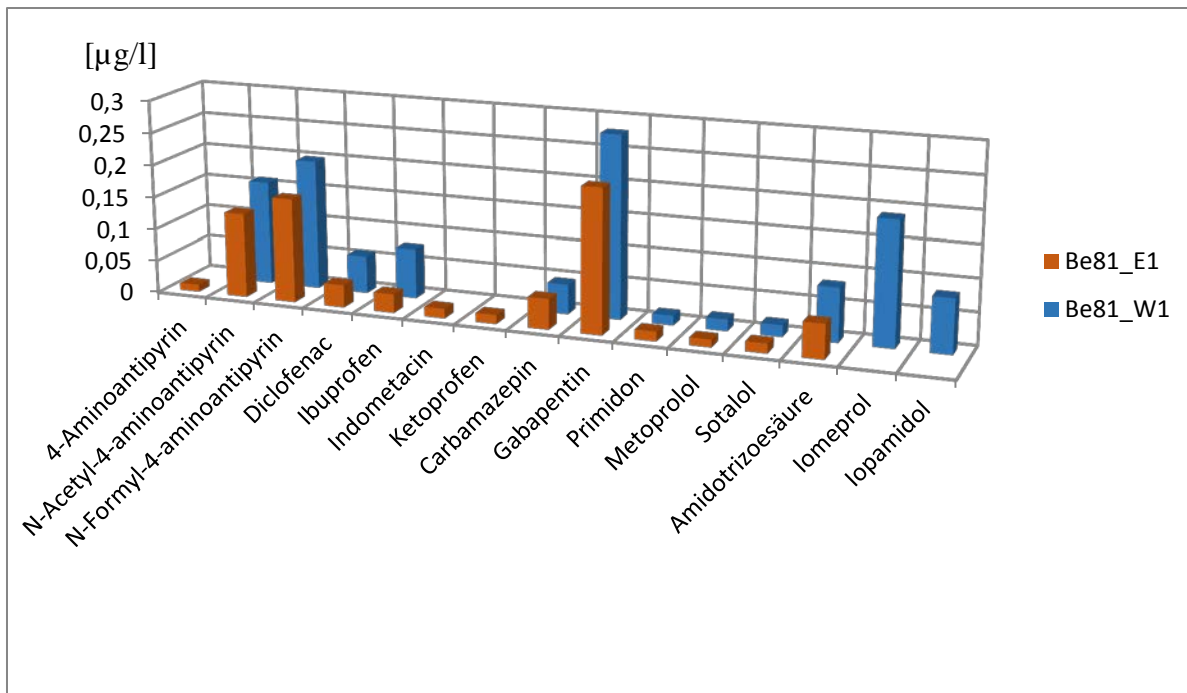


Abbildung 13 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

In der zweiten Wasserprobe konnten 13 AM > BG und in der zweiten Eluatprobe 17 AM > BG nachgewiesen werden (Abbildung 14). Bis auf Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$) haben alle AM welche in der Wasserphase höher konzentriert sind einen $\log K_{OW} < 3$. Folgende 11 AM waren dagegen in der Eluatprobe höher konzentriert: 4-Aminoantipyrin ($\log K_{OW} = -0,07$), Phenazon ($\log K_{OW} = 0,38$), Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$), Gabapentin ($\log K_{OW} = -1,10$), Bisoprolol ($\log K_{OW} = 1,87$), Metoprolol ($\log K_{OW} = 1,88$), Oxazepam ($\log K_{OW} = 2,24$), Amidotrizoesäure ($\log K_{OW} = 1,37$), Iohexol ($\log K_{OW} = -3,05$) Iomeprol, Iopamidol ($\log K_{OW} = -2,42$).

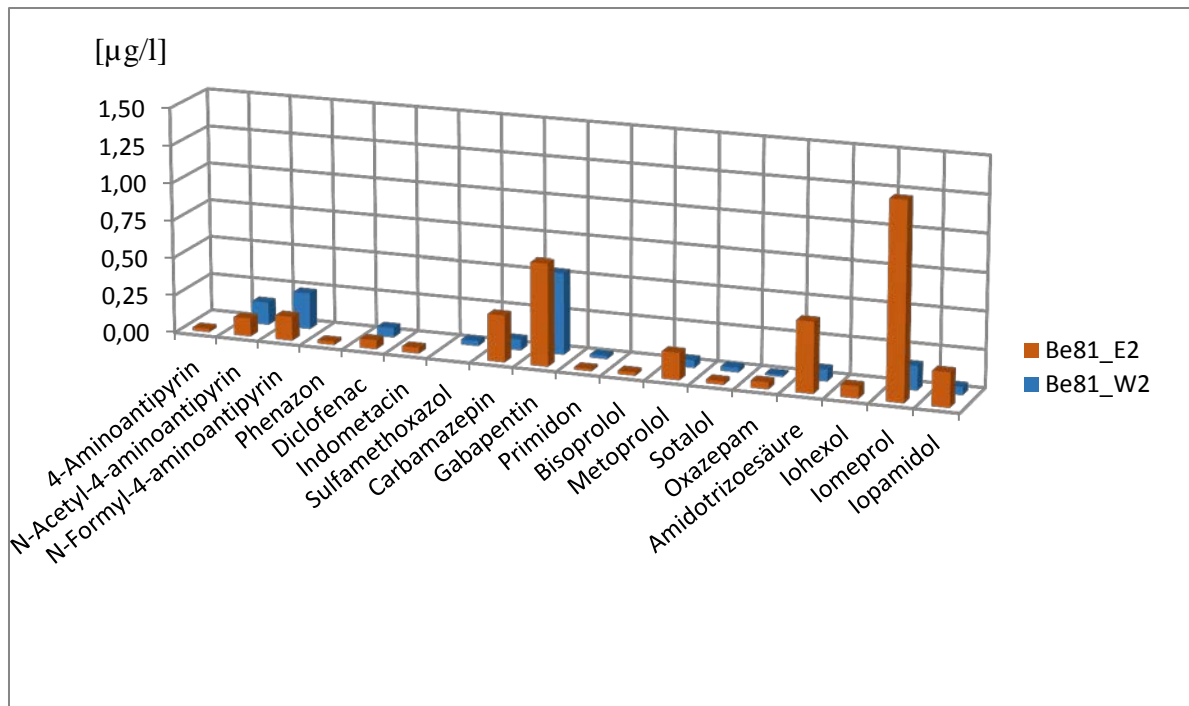


Abbildung 14 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Bille (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass 21 der 39 AM > BG in den Wasser- und Eluatproben der Bille nachgewiesen wurden. Dabei konnten in allen Wasser- und Eluatproben die Analgetika und Antirheumatika N-Acetyl-4-aminoantipyrin, N-Formyl-4-aminoantipyrin, Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$) und Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$), die Antiepileptika Carbamazepin ($\log K_{OW} = 2,45$) und Gabapentin ($\log K_{OW} = -1,10$) sowie die Betablocker Metoprolol ($\log K_{OW} = 1,88$) und Sotalol ($\log K_{OW} = 0,24$) oberhalb der analytischen Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. Die Arzneimittel verteilten sich sehr unterschiedlich zwischen den Wasser- und Eluatproben. Auffällig ist jedoch, dass die Analgetika und Antirheumatika Ketoprofen ($\log K_{OW} = 3,12$) und Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$) in allen Eluatproben, jedoch in keiner Wasserprobe > BG gemessen wurde.

III. 2 Darstellung der Leuchtbakterientoxizität von Wasser- und Sedimentproben der Bille

Mit dem LBT wurden Wasser- und Sedimentproben der Bille und der Ammersbek auf deren Toxizität untersucht. Bei einigen Tests wurde das von der DIN geforderte Gültigkeitskriterium „Abweichung der Parallelbestimmungen von ihrem Mittelwert > 3 %“ nicht erfüllt. Sind

in diesen Tests die G_L - Wert bestimmenden Verdünnungsstufen davon nicht betroffen, so werden diese trotzdem ausgewertet und als gültig betrachtet.

Die Wasser- und Eluatproben der Bille zeigten im Vergleich eine unterschiedliche Leuchtbakterientoxizität auf. Alle Wasserproben verursachten negative Hemmwerte, d.h. sie zeigten Fördereffekte im Vergleich zur Negativ-Kontrolle. Der G_L - Wert wurde mit der 1. Verdünnungsstufe erreicht. Somit wiesen die Wasserproben keine signifikante Toxizität auf. Bis auf das Eluat Be4_E1, verminderten alle Eluate die Lumineszenz der Leuchtbakterien signifikant, d.h. erreichten Hemmungen von mindestens 20%. Das Eluat von der ersten Sedimentprobe Be4_E1 verursachte negative Hemmwerte. Alle anderen Eluate wirkten auf die Leuchtbakterien toxisch. Die größten Hemmungen der ersten Sedimentproben wurden von dem Eluat Be81_E1, mit einem Hemmwert von 70,68 %, verursacht. Das Sediment Be81 der zweiten Probenahme ebenso toxischer als das Sediment der anderen Probenahmestellen. Mit dem Eluat wurden in der niedrigsten Verdünnungsstufe maximale Hemmwerte von 82,41 % erreicht. Bei allen toxisch wirkenden Eluatproben, verringert sich mit jeder größeren Verdünnung die Hemmung. Allgemein kann gesagt werden, dass die Sedimente der zweiten Probenahme toxischer sind.

In Tabelle 18 und Tabelle 19 werden die einzelnen Hemmwerte der jeweiligen Verdünnungsstufe der Wasser- und Sedimentproben angegeben. Die rot markierten Felder sollen die Testansätze darstellen, bei denen die Abweichungen der Parallelbestimmungen $> 3\%$ und somit das Gültigkeitskriterium nicht erfüllen kennzeichnen. Die gelben Felder stellen die Verdünnungsstufen welche den G_L - Wert bestimmen dar.

Tabelle 18 Die Leuchtbakterientoxizität der ersten Wasser- und Eluatproben der Bille in %-Hemmung

Verdünnungsstufe	G1	G2	G4	G8	G16
Probe					
Be4_W1	-4,09	-3,32	-6,45	-3,17	-2,52
Be4_W1	-3,91	-6,09	-2,11	2,01	-2,94
Be61_W1	-9,13	-4,32	-2,65	-2,14	2,47
Be61_W1	-6,80	-6,16	-6,33	-7,40	-3,70
Be81_W1	-6,52	-10,55	-0,08	-2,40	-2,96
Be81_W1	-8,32	-5,22	-5,73	-3,72	-0,10
Be4_E1	-13,02	-21,02	-19,32	-20,97	-18,46
Be4_E1	-8,39	-8,10	-11,81	-15,61	-15,05
Be61_E1	52,87	34,81	17,41	9,14	1,36
Be61_E1	53,13	34,31	18,96	12,11	2,95

Be81_E1	70,68	46,36	23,94	8,56	6,37
Be81_E1	69,92	48,65	29,66	10,29	8,98

Tabelle 19 Die Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Bille in %-Hemmung

Verdünnungsstufe	G1	G2	G4	G8	G16
Probe					
Be4_W2	-15,90	-11,56	-14,51	-14,07	-13,75
Be61_W2	-23,73	-10,29	-17,16	-14,97	-12,24
Be61_W2	-21,50	-16,26	-12,78	-8,80	-5,96
Be81_W2	-17,10	-11,61	-9,21	-13,89	-13,97
Be81_W2	-15,83	-10,66	-9,49	-14,70	-9,32
Be4_E2	53,48	35,18	26,41	11,26	10,53
Be61_E2	72,61	56,76	39,76	29,05	21,18
Be61_E2	74,68	56,34	39,50	33,95	27,27
Be81_E2	82,41	65,73	37,91	24,24	15,73
Be81_E2	81,97	59,65	39,07	23,64	15,94

In Abbildung 15 und Abbildung 16 werden die Ergebnisse der Leuchtbakterientoxizität einiger Wasser- und Eluatproben der Bille gegenübergestellt.

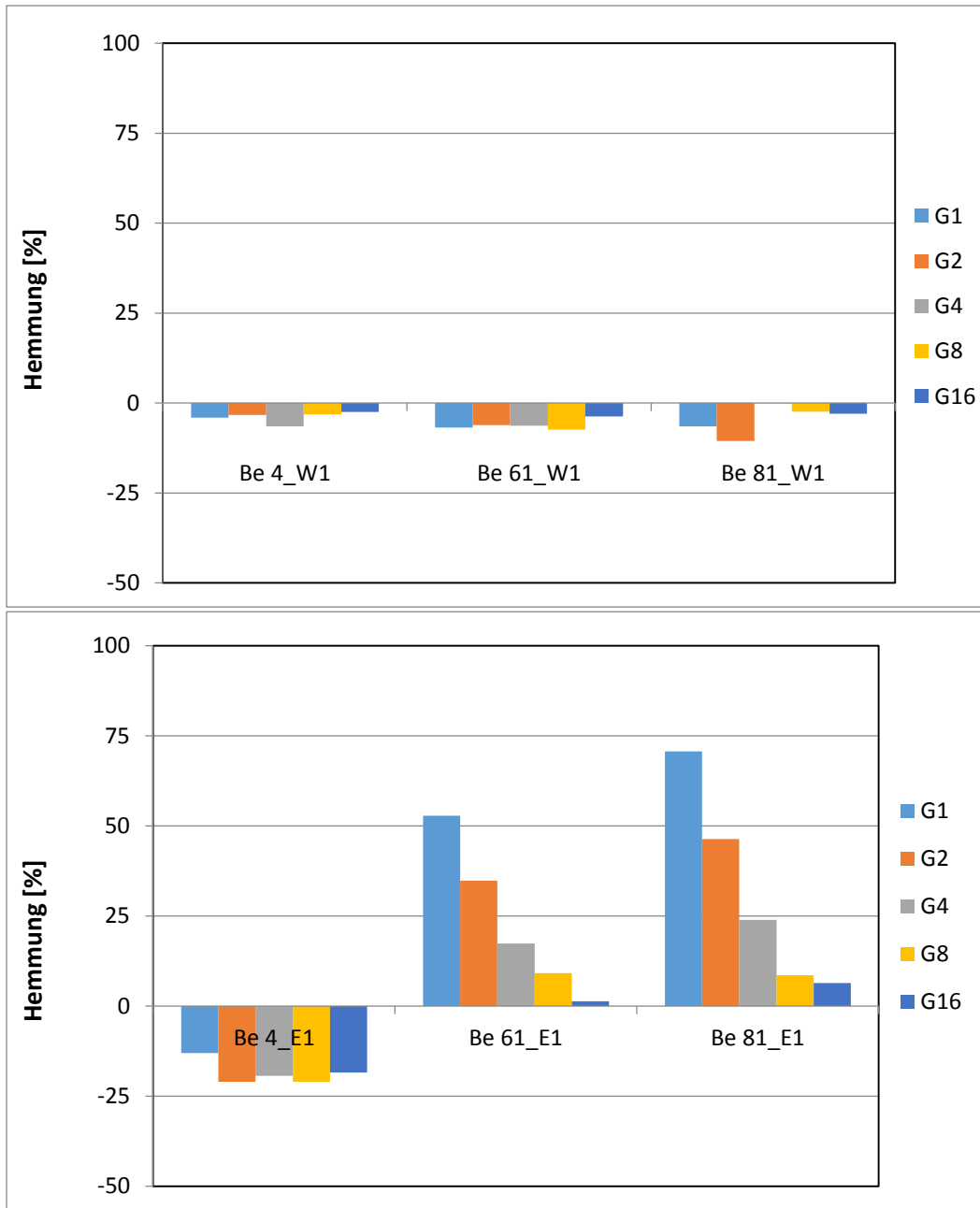


Abbildung 15 Vergleich Leuchtbakterientoxizität der ersten Wasser- und Eluatproben der Bille

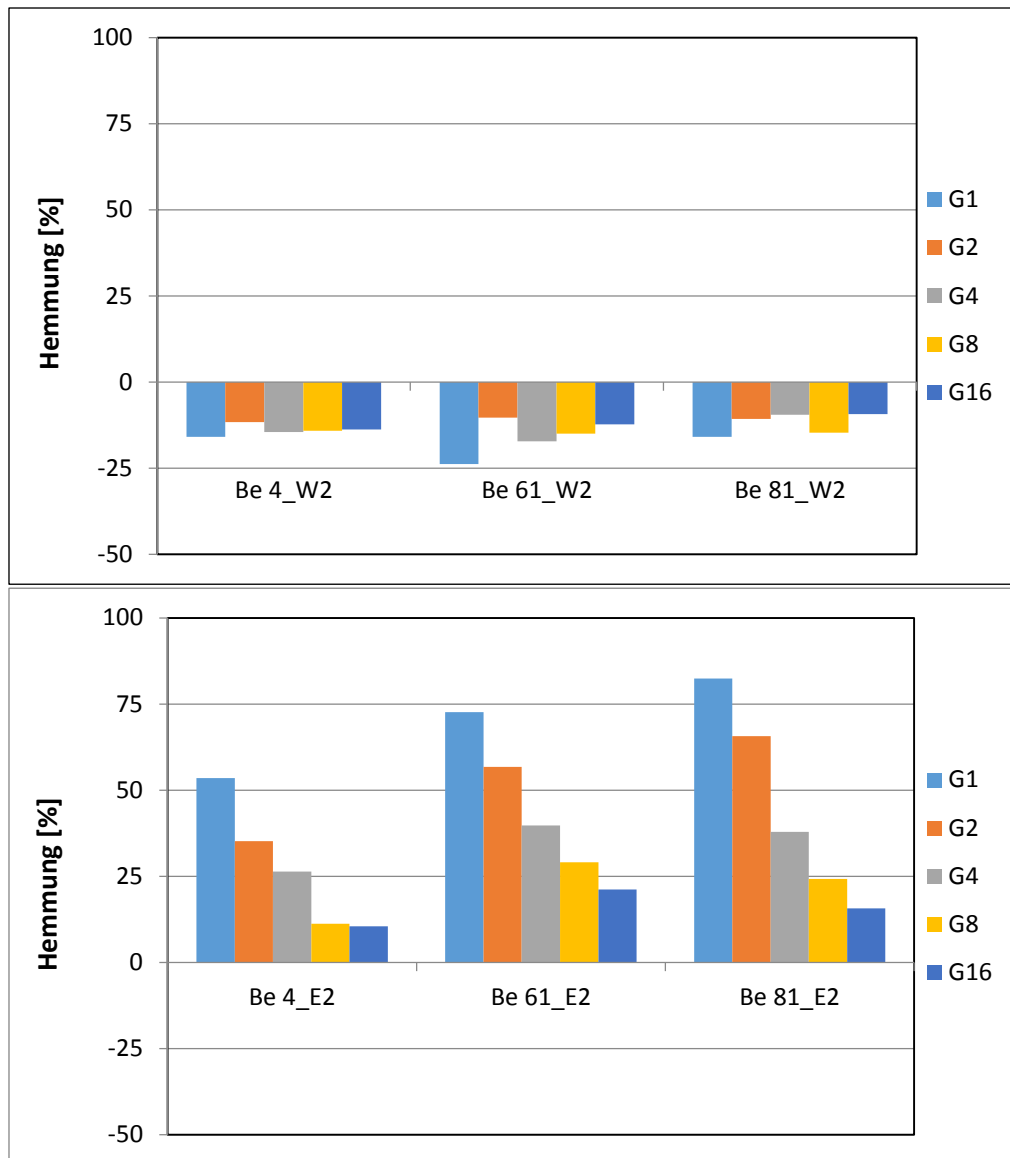


Abbildung 16 Vergleich Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Bille

III. 3 Darstellung der Arzneimittelkonzentration in Wasser- und Sedimentproben der Ammersbek

In der ersten Probe der Ammersbek konnten im Wasser 27 und im Eluat 15 AM oberhalb der analytischen Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden (Abbildung 17). Folgende AM mit einem $\log K_{OW} > 3$ waren in der Wasserphase höher konzentriert: Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$), Ketoprofen ($\log K_{OW} = 3,12$), Naproxen ($\log K_{OW} = 3,18$), Clarithromycin ($\log K_{OW} = 3,16$), Erythromycin ($\log K_{OW} = 3,06$), Propranolol ($\log K_{OW} = 3,48$), Bezafibrat ($\log K_{OW} = 4,25$). Die übrigen AM, welche in der Wasserprobe höhere Konzentrationen als in der Eluatprobe aufzeigten, haben einen $\log K_{OW} < 3$. In der Eluatprobe waren die AM N-Acetyl-4-aminoantipyrin und Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$) höher konzentriert als in der Wasserphase.

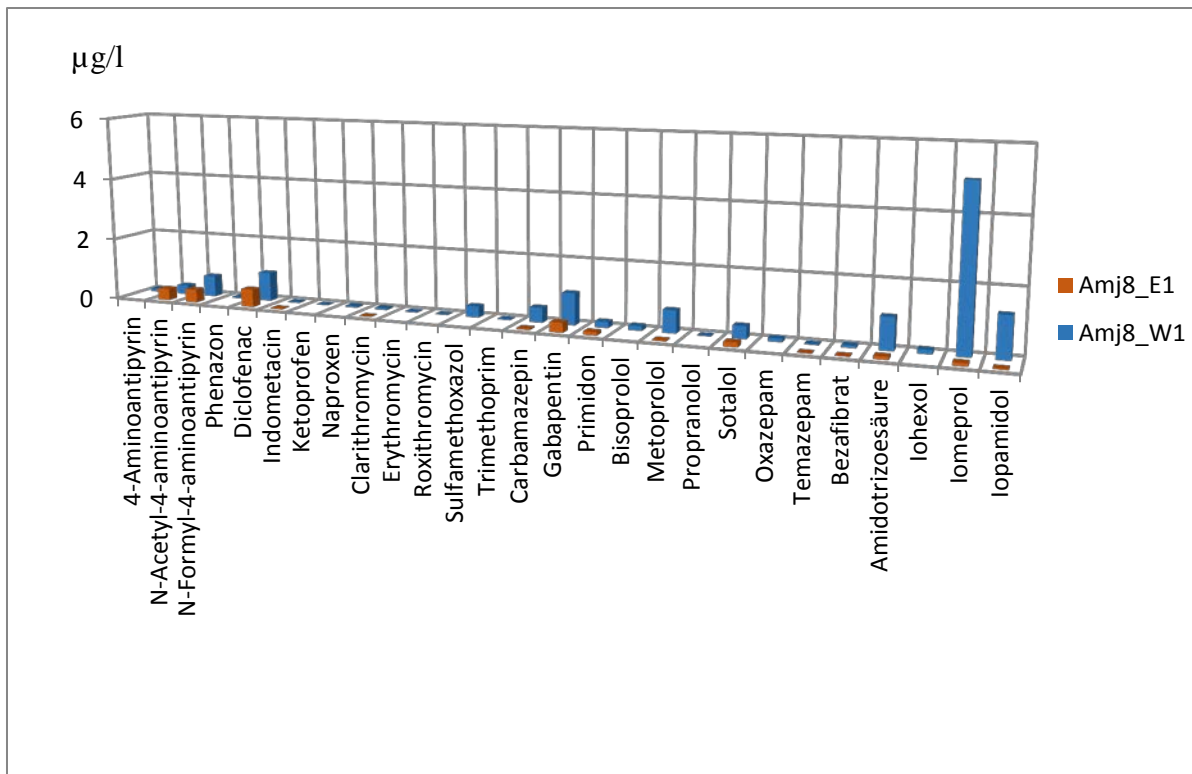


Abbildung 17 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Ammersbek (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

In der zweiten Probe der Ammersbek konnten im Wasser 29 und im Eluat 19 AM >BG bestimmt werden (Abbildung 18). Folgende AM mit einem $\log K_{OW} > 3$ waren in der Wasserphase höher konzentriert: Diclofenac ($\log K_{OW} = 4,51$), Ibuprofen ($\log K_{OW} = 3,97$), Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$), Naproxen ($\log K_{OW} = 3,18$), Clarithromycin ($\log K_{OW} = 3,16$), Erythromycin ($\log K_{OW} = 3,06$), Propranolol ($\log K_{OW} = 3,48$), Bezafibrat ($\log K_{OW} = 4,25$). Dagegen wiesen N-Acetyl-4-aminoantipyrin, Temazepam ($\log K_{OW} = 2,19$), Iopamidol ($\log K_{OW} = -2,42$) und Iopromid ($\log K_{OW} = -2,05$) in dem Eluat höhere Konzentrationen auf.

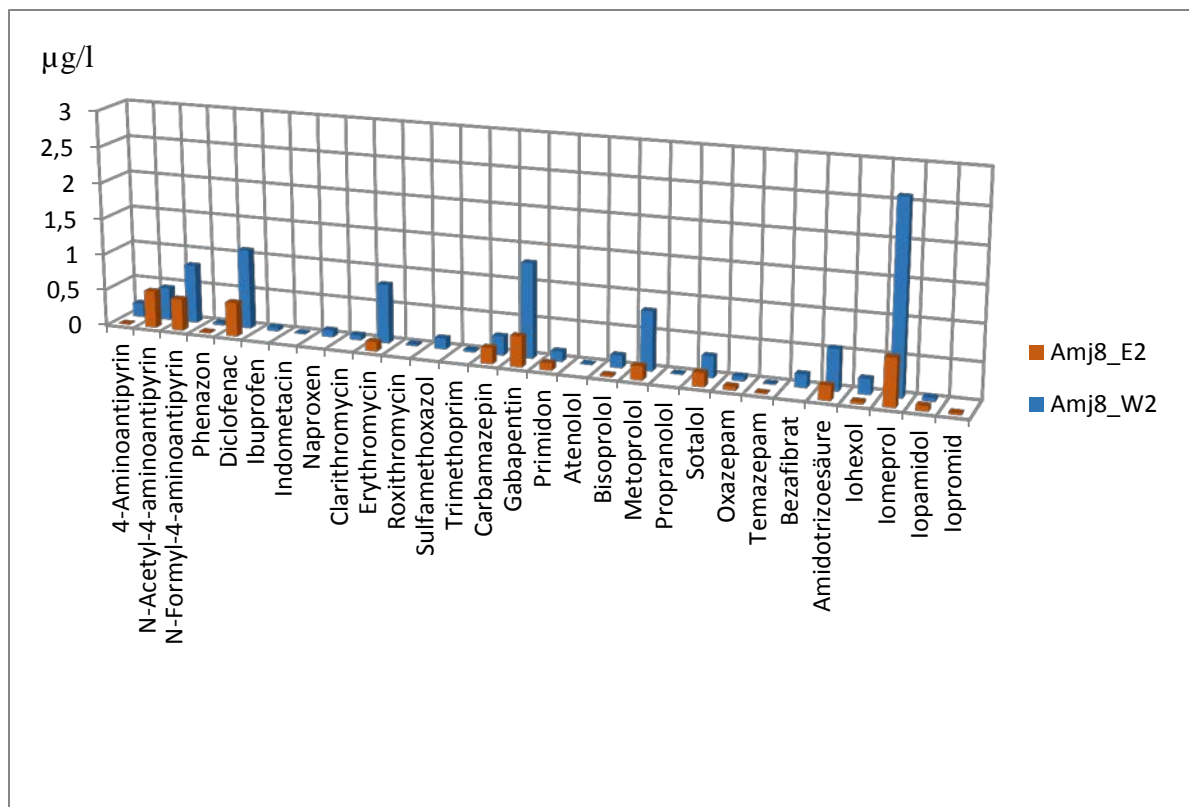


Abbildung 18 Gegenüberstellung Arzneimittelkonzentration (> BG) im Sediment und Wasser der Ammersbek (Daten: HU 2014, eigene Darstellung)

In den Wasser- und Eluatproben der Ammersbek wurden zusammenfassend 30 AM > BG detektiert. In allen Proben konnten die Analgetika und Antirheumatika N-Acetyl-4-aminoantipyrin, N-Formyl-4-aminoantipyrin und Diclofenac, die Antiepileptika Carbamazepin, Gabapentin und Primidon, die Betablocker Metoprolol und Sotalol, das Benzodiazepin Temazepam sowie die Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure, Iomeprol und Iopamidol > BG bestimmt werden. Auffällig ist, dass bestimmte AM nur in den Wasserproben eine Konzentration > BG aufweisen. Dies sind die Analgetika und Antirheumatika Ibuprofen, Ketoprofen und Naproxen, die Antibiotika Roxithromycin, Sulfamethoxazol und Trimethoprim sowie die Betablocker Atenolol und Propranolol.

III. 4 Darstellung der Leuchtbakterientoxizität von Wasser- und Sedimentproben der Ammersbek

Auch für die Ammersbek ergibt sich eine unterschiedliche Leuchtbakterientoxizität zwischen den Wasser- und Eluatproben. Während alle Wasserproben negative Hemmwerte, sogenannte Fördereffekte aufweisen, verursachen alle Eluate eine positive Hemmung der Biolumineszenz. Die maximalen Hemmwerte des Eluates Amj8_E2 (70,67% - 72,14%) sind größer als die maximalen Hemmwerte des Eluates Amj8_E1 (40,78% - 45,78%). Somit sind

die Sedimente der zweiten Probenahme toxischer. Die Hemmwerte der einzelnen Verdünnungsstufen sind in den Tabellen 20 und Tabelle 21 dargestellt. In Abbildung 19 sind beispielhaft die Hemmungen von der zweiten Wasser- und Eluatprobe grafisch gegenübergestellt.

Tabelle 20 Die Leuchtbakterientoxizität der ersten Wasser- und Eluatproben der Ammersbek in %-Hemmung

Verdünnungsstufe	G1	G2	G4	G8	G16
Probe					
Amj8_W1	-19,26	-9,95	-12,07	-7,62	-3,51
Amj8_W1	-13,88	-11,52	-7,91	-5,58	-5,02
Amj8_E1	40,78	30,04	20,73	16,41	10,28
Amj8_E1	45,78	33,25	22,94	13,93	10,25

Tabelle 21 Die Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Ammersbek in %-Hemmung

Verdünnungsstufe	G1	G2	G4	G8	G16
Probe					
Amj8_W2	-13,61	-10,53	-5,28	-3,74	-6,69
Amj8_W2	-15,13	-11,62	-11,19	-7,56	-6,19
Amj8_W2	-13,12	-10,70	-10,63	-6,74	-3,11
Amj8_E2	71,52	47,69	22,11	6,11	5,55
Amj8_E2	70,67	48,53	20,09	5,54	3,32
Amj8_E2	72,14	47,05	16,74	3,32	4,28

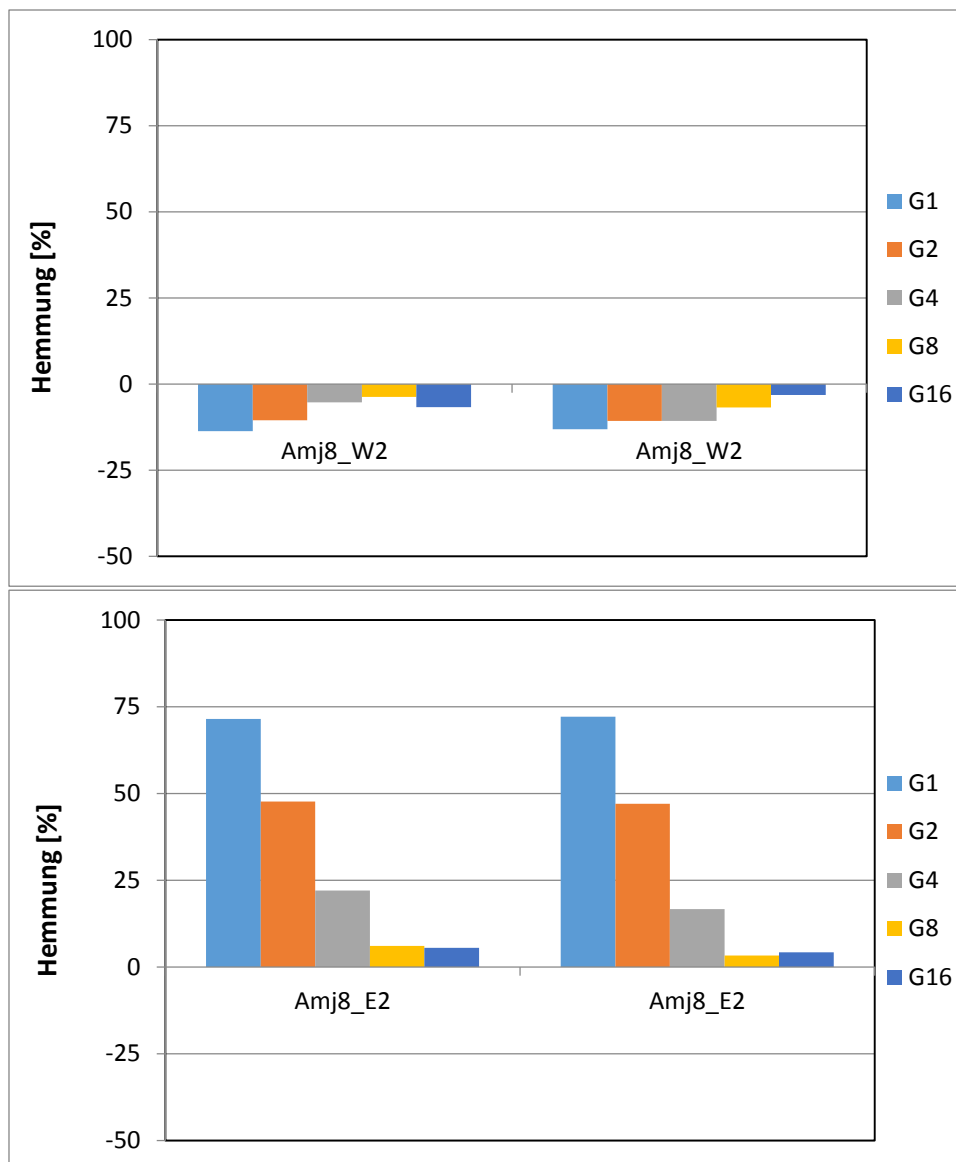


Abbildung 19 Vergleich Leuchtbakterientoxizität der zweiten Wasser- und Eluatproben der Ammersbek

III. 5 Darstellung der Ergebnisse der ausgewählten Arzneimittel auf Leuchtakterien

In dieser Arbeit wurde mit dem Leuchtbakterientest die akute Toxizität von den Arzneimitteln Erythromycin, Clarithromycin und Indometacin untersucht. Bei den Tests wurden alle von der DIN EN ISO 11348-2 (2009) geforderten Gültigkeitskriterien eingehalten. Die DMSO-Kontrolle zeigte keine negative Wirkung auf die bakterielle Biolumineszenz. Im Folgenden wird die Leuchtbakterientoxizität der AM- Versuche durch Abbildungen dargestellt. Die einzelnen Hemmwerte stehen im Anhang in Tabelle 29, Tabelle 30 und Tabelle 31.

III. 5.1 Bestimmung der Toxizität von Erythromycin

Mit dem LBT wurden vier Proben des Erythromycin in fünf Verdünnungsstufen (mit je zwei

Replikaten) untersucht (Tabelle 15). Das Makrolid -Antibiotikum zeigte selbst bei der höchsten eingesetzten Konzentration (400 mg/l) keine signifikante akute Toxizität, d.h. die Hemmungen waren < 20 % (Abbildung 20). Die höchste Konzentration der vier Proben verursachte lediglich eine geringfügige Hemmwirkung von 9,55% bis 13,42%.

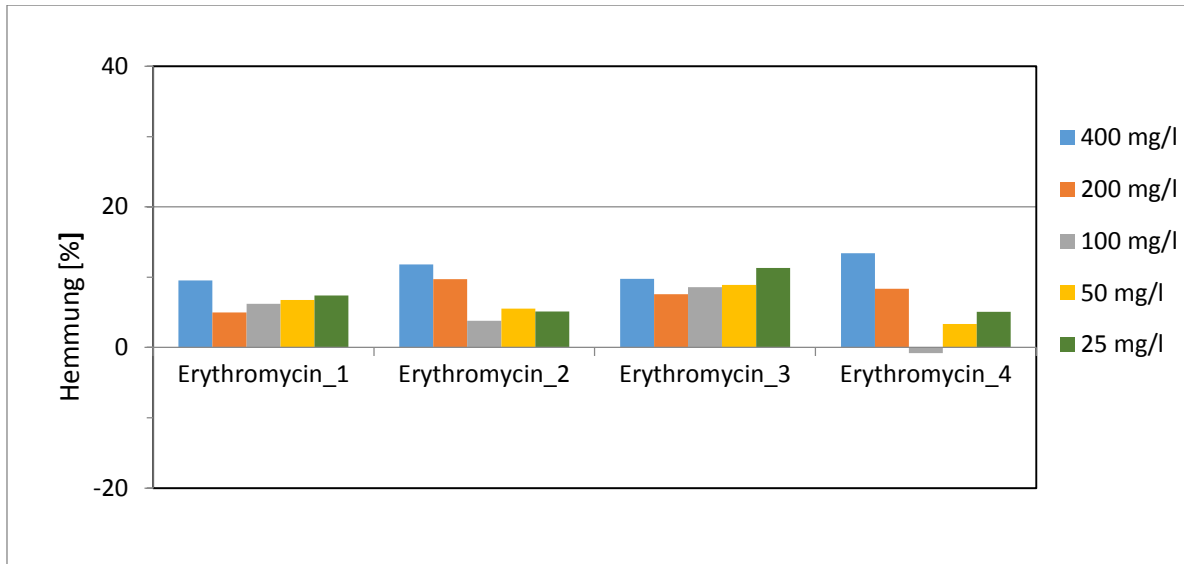


Abbildung 20 Akute Leuchtbakterientoxizität Erythromycin

III. 5.2 Bestimmung der Toxizität von Clarithromycin

Clarithromycin wurde mit dem LBT ebenso in fünf Verdünnungsstufen (Tabelle 16) untersucht. Auch für dieses Makrolid- Antibiotikum konnte bei der höchsten eingesetzten Konzentration (8 mg/l) keine signifikante akute Leuchtbakterientoxizität festgestellt werden (Abbildung 21). Die höchste Konzentration (8mg/l) verursachte in den vier Proben maximale Hemmwirkungen von 9,57% bis 13,30%.

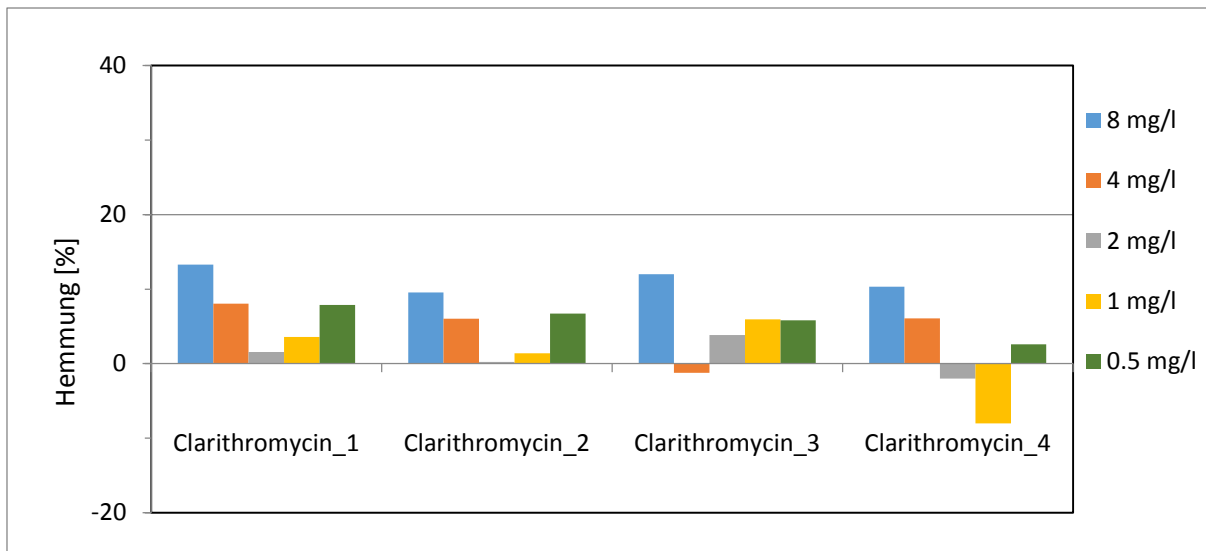


Abbildung 21 Akute Leuchtbakterientoxizität Clarithromycin

III. 5.3 Bestimmung der Toxizität von Indometacin

Indometacin wurde auch in fünf Verdünnungsstufen (Tabelle 17) und vier Proben mit dem LBT untersucht. Die höchste Konzentration der ersten Probe (Indometacin_1) weist mit einer Hemmwirkung von 19,94% nahezu eine signifikante Hemmung auf. Die Hemmwerte der anderen Proben verursachen in der höchsten Konzentration eine Hemmung von 15,35% bis 17,74% (Abbildung 22). Da mit Indometacin nur geringe Hemmungen im LBT erreicht wurden, kann für diesen Wirkstoff keine EC_{50} - Wert-Bestimmung durchgeführt werden.

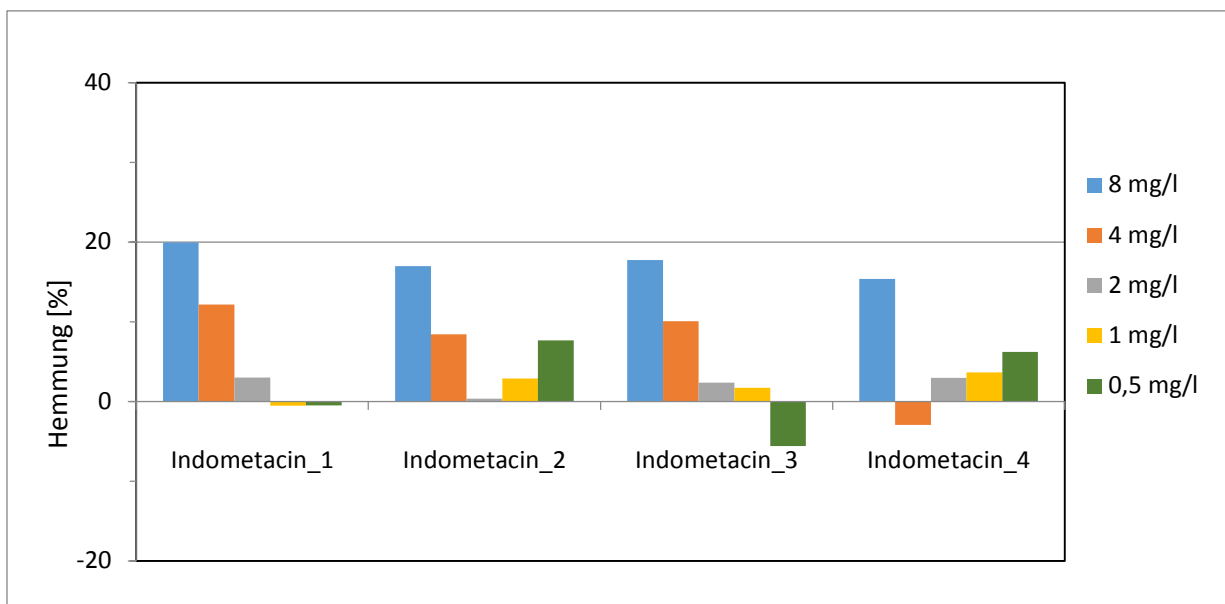


Abbildung 22 Akute Leuchtbakterientoxizität Indometacin

IV. Diskussion

IV.1 Bewertung der Ergebnisse der Wasser- und Sedimentproben der Bille und der Ammersbek

IV.1.1 Arzneimittel in der Bille und der Ammersbek

Durch die chemische Analytik konnte nachgewiesen werden, dass sich in den Wasser- und Sedimentproben der Bille und Ammersbek viele Arzneimittelwirkstoffe befinden. Die Mehrheit der detektierten AM > BG übersteigt den Schwellenwert von 0,01 µg/l welcher in dem Leitfaden zur Umweltbewertung von Humanarzneimitteln durch die EMEA festgelegt wurde und stellen somit ein potenzielles Umweltrisiko für die Ammersbek und Bille dar.

In allen Proben konnten Wirkstoffe der Substanzgruppen der Analgetika und Antirheumatika, Betablocker sowie sehr häufig Röntgenkontrastmittel oberhalb der analytischen Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. Dabei wurden die höchsten Werte in den Wasserproben der Ammersbek für das Röntgenkontrastmittel Iomeprol mit 5 µg/l und 2,6 µg /l gemessen. Die Metabolite 4-Aminoantipyrin, N-Acetyl-4-aminoantipyrin, N-Formyl-4-aminoantipyrin des Wirkstoffes Metamizol konnten ebenfalls sehr häufig in den Eluat- und Wasserproben > BG nachgewiesen werden. Jedoch gelten N-Acetyl-4-aminoantipyrin und N-Formyl-4-aminoantipyrin pharmakologisch als inaktiv (ARGE 2003).

Im Rahmen dieser Arbeit sollte gezeigt werden das sich lipophile AM mit einem $\log K_{OW} > 3$ im Sediment anreichern und deshalb in den Eluaten der Sedimentproben in höheren Konzentrationen nachzuweisen sind. Diese Hypothese wird vor allem durch die Analgetika und Antirheumatika Indometacin ($\log K_{OW} = 4,27$) sowie Ketoprofen ($\log K_{OW} = 3,12$) bestätigt. Indometacin konnte in allen Eluatproben der Bille, dafür aber nicht in den Wasserproben >BG detektiert werden. Der Wirkstoff verfügt somit über ein hohes Adsorptionpotential. Ketoprofen wurde zweimal >BG detektiert, wobei auch hier die Konzentration im Eluat größer als in der Wasserphase war. Für die Antibiotika Erythromycin und Clarithromycin konnte die Hypothese nicht bestätigt werden da beide Wirkstoffe in der Wasserphase höher konzentriert sind. Hierbei ist zu bedenken, dass es sich um Fließgewässer handelt, sodass die AM der Wasserphase flussabwärts transportiert werden und Strömungsverhältnisse die Sedimentation beeinflussen.

Es wurde angenommen, dass hydrophile Wirkstoffe ($\log K_{OW} < 3$) in der Wasserphase höher konzentriert sind als im Sediment. Dies konnte für das Antiepileptikum Gabapentin ($\log K_{OW} = -1,10$) bestätigt werden. Bis auf eine Probe war der Wirkstoff in allen Wasserproben sehr

viel höher konzentriert.

Für die anderen detektierten AM >BG kann keine direkte Aussage getroffen werden, da die meisten Arzneimittel nicht entsprechend ihres $\log K_{OW}$ in den Wasser- und Eluatproben verteilt sind. Einige AM weisen Konzentrationen unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze auf. Für diese AM kann ebenfalls keine Aussage getroffen werden.

IV. 1.2 Vergleich der Leuchtbakterientoxizität der Wasser- und Sedimentproben der Bille

Für die Bewertung der Wasserproben wird entsprechend der DIN EN ISO 11348-2 (2009) der jeweilige G_L -Wert ermittelt. Er stellt den kleinsten Verdünnungsfaktor G dar, bei dem die Leuchthemmung nicht mehr signifikant ist, also unter 20% liegt.

Im Leuchtbakterientest ergab sich für alle Wasserproben der Bille und der Ammersbek ein G_L -Wert von 1, was der kleinsten Verdünnungsstufe entspricht. Außerdem verursachten alle Wasserproben negative Hemmwerte. Negative Werte der Hemmung werden als Stimulation bezeichnet. Dies kann bedeuten, dass mögliche toxische Effekte durch Fördereffekte überdeckt sind (Klein 1991). Bei Fördereffekten handelt es sich um Nährstoffe, welche Schadstoffe maskieren. Somit wird der toxische Effekt nicht mehr wirklich messbar und zu niedrigen Werten hin verschoben (Krebs 1992).

Erst wenn ab einer bestimmten Verdünnungsstufe die Fördereffekte wegfallen, können die durch toxische Inhaltsstoffe verursachten Hemmeffekte zum Vorschein kommen. Ein weiterer Aspekt ist außerdem, dass viele Schadstoffe wie z.B. Kupfer auch Spurenelemente sind. In geringen Konzentrationen können sie den Stoffwechsel einer Zelle durchaus steigern, in höheren wirken sie toxisch (Nohava 1997).

Die Bewertung der Sedimente erfolgt entsprechend des BfG- Merkblattes (2011) mit der pT-Wert-Methode. Der pT-Wert (*potentia Toxicologiae* = toxikologischer Exponent) ist der negative binäre Logarithmus des ersten nicht mehr toxischen Verdünnungsfaktors in einer Verdünnungsreihe mit dem Verdünnungsfaktor 2. Für die Baggergut-Untersuchung werden neben dem Leuchtbakterientest noch weitere Biotestverfahren angewendet und es wird für die Bewertung jeweils der sensitivste Test herangezogen. Daraus leiten sich nach der HABAB-WSV vier Handhabungskategorien für die Verbringung von Baggergut ab (BfG 2000).

Tabelle 22 pT-Werte und Handhabungskategorien für die Baggergutverbringung (BfG 2000)

höchste Verdünnungsstufe ohne Effekt	Verdünnungsfaktor	pT-Wert	Toxizitätsklassen	Handhabungskategorien	
			7stufiges System	4-stufige Bewertung	Bezeichnung
Originalprobe	2 ⁰	0	0	0	nicht belastet
1:2	2 ⁻¹	1	I	I	unbedenklich belastet
1:4	2 ⁻²	2	II	II	unbedenklich belastet
1:8	2 ⁻³	3	III	III	kritisch belastet
1:16	2 ⁻⁴	4	IV	IV	kritisch belastet
1:32	2 ⁻⁵	5	V	V	gefährlich belastet
≤(1:64)	≤2 ⁻⁶	≥6	VI	VI	gefährlich belastet

Im Vergleich zu den Wasserproben weisen die meisten Sedimente eine hohe Leuchtbakterientoxizität auf. „Nicht belastet“ sowie „unbedenklich belastet“ sind die Sedimente der ersten Probenahme von den Probenahmestellen Be4 und Be61 der Bille. Nach der HABAB-WSV (2000) dürften diese Sedimente uneingeschränkt verlagert werden.

Für das Sediment der Ammersbek von der zweiten Probenahme (Amj8_E2) führten die drei Parallel-Untersuchungen desselben Eluates (mit jeweils 2 Replikaten) zu unterschiedlichen G_L-bzw. pT-Werten: 2 x G8 (pT-Wert 3) und 1 x G4 (pT-Wert 2) (siehe Tabelle 20). Aufgrund des Vorsorgegrundsatzes wird hier der höhere pT-Wert (3) herangezogen werden und somit liegt eine „kritische Belastung“ vor. „Kritisch belastet“ sind auch die Proben Be4_E2, Be81_E1 und Be81_E2 sowie Amj8_E1. Für die zweite Sedimentprobe Be61 der Bille war die Hemmung in der höchsten Verdünnungsstufe (G16) mit 21,18 % größer als 20 %, sodass weitere Verdünnungsstufen notwendig gewesen wären, die Probe jedoch als „gefährlich belastet“ eingeordnet werden kann (siehe Tabelle 23).

Die Sedimente der ersten und zweiten Probenahme an der Stelle Be4 der Bille weisen große Differenzen in der Leuchtbakterientoxizität auf. So ist das Sediment der ersten Probenahme mit einem pT-Wert von 0 nicht belastet, während das Sediment der zweiten Probenahme mit einem pT-Wert von 3 kritisch belastet ist. Dies lässt sich dadurch begründen, dass die Sedimente zum Teil inhomogen belastet sind. Betrachtet man außerdem die Trockenrückstände der Sedimente so weisen diese eine große Differenz auf (siehe Tabelle 7). Das Trockengewicht der ersten Sedimentprobe ist 57,43% und das der zweiten Sedimentprobe 30,64%. Der Wassergehalt der zweiten Sedimentprobe ist deutlich höher, d.h. es wurde kaum Verdünnungswasser dazugegeben und das Eluat entspricht nahezu dem Porenwasser. Da diese

Eluatprobe auf die Leuchtbakterien wesentlich toxischer wirkte, könnten sich die Schadstoffe vermehrt im Porenwasser befinden. Für eine weitere Bewertung fehlen jedoch wichtige Parameter wie die Korngröße und der TOC -Gehalt (*Total Organic Carbon*) der Sedimente.

In Tabelle 23 sind die pT-Werte und die daraus resultierenden Handhabungskategorien für die Bille- und Ammersbeksedimente entsprechend der HABAB-WSV dargestellt.

Tabelle 23 Bewertung der Sedimente der Bille und der Ammersbek nach der pT- Wertmethode und der 4-stufigen Bewertung der HABAB-WSV (BfG- Merkblatt 2010)

Sedimentprobenbezeichnung	pT- Wert	Handhabungskategorien	
		4- stufige Bewertung	Bezeichnung
Be4_E1	0	0	nicht belastet
Be61_E1	2	II	unbedenklich belastet
Be81_E1	3	III	kritisch belastet
Be4_E2	3	III	kritisch belastet
Be81_E2	4	IV	kritisch belastet
Amj8_E1	3	III	kritisch belastet
Amj8_E2	3	III	kritisch belastet
Amj8_E2	2	II	unbedenklich belastet

Zusammenfassend lässt sich sagen dass die Wasserproben der Bille und der Ammersbek keine Leuchtbakterientoxizität verursachten, während die Mehrheit der Sedimente auf die Leuchtbakterien toxisch wirkten. Dies zeigt, dass nur anhand der chemischen Analytik von Schadstoffen wie den Arzneimitteln, noch keine Aussage über die Toxizität der Wasser- und Sedimentproben gemacht werden kann. Die chemische Analytik gibt zwar Aufschluss über das Auftreten von Umweltschadstoffen, sie liefert jedoch keine Information über die Bioverfügbarkeit sowie die Wirkung bzw. Wechselwirkungen der vorgefundenen Schadstoffe für Organismen. Durch diese Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Mehrheit der Bille- und Ammersbeksedimente toxisch sind. Da Sedimente die Gewässerqualität beeinflussen sind Sedimentuntersuchungen mit Biotests für eine umfassende Bewertung der Gewässerbelastung unverzichtbar. Welche Schadstoffe oder welches Schadstoffgemisch für die Sedimenttoxizität verantwortlich sind, kann anhand der vorliegenden Daten nicht identifiziert werden.

IV. 2 Bewertung der Leuchtbakterientoxizität der ausgewählten Arzneimittel

IV. 2.1 Erythromycin und Clarithromycin

Für die Makrolid-Antibiotika Erythromycin und Clarithromycin konnte keine akute Leuchtbakterientoxizität ermittelt werden. Hernando et al. (2007) konnten ebenso keine akute Toxi-

zität von Erythromycin auf Leuchtakterien feststellen. In der Vergangenheit wurde mehrfach die Eignung des akuten LBT für die ökotoxikologische Risikobewertung für Antibiotika aufgrund der kurzen Expositionszeit und der Nichterfassung der Zellvermehrung (chronischer Test) in Frage gestellt (Backhaus und Grimme 1999, Froehner et al. 2000, Kümmerer 2008b, Menz et al. 2013). Auch ist der akute LBT ungeeignet für Substanzen, die eine spezifische Wirkung in eukaryotischen Organismen haben.

Es gibt einen nach DIN standardisierten chronischen Leuchtbakterientest (DIN 38412-37 (1999)) sowie eine miniaturisierte Weiterentwicklung (Menz et al. 2013). Für die in dieser Arbeit untersuchten Antibiotika konnten in der Literatur keine Vergleichsdaten zum chronischen Leuchtbakterientest gefunden werden. Dafür wurde die akute und chronische Toxizität von anderen Antibiotika mit dem Leuchtbakterientest mehrfach untersucht. So wurde beispielsweise für Chloramphenicol und Streptomycin, welche ebenso wie die untersuchten Makrolide die Proteinbiosynthese hemmen, keine akute Leuchtbakterientoxizität festgestellt. Durch Verlängerung des akuten LBT auf 24 h konnte jedoch eine chronische Toxizität der beiden Antibiotika über die Leuchthemmung bestimmt werden. Für Chloramphenicol ergab sich im chronischen LBT ein EC_{50} -Wert von 0,064 mg / l und für Streptomycin ein EC_{50} -Wert von 8,2 mg / l (Backhaus und Grimme 1999). Dies zeigt dass der herkömmliche Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) aufgrund der kurzen Expositionszeit die Toxizität von Antibiotika unterschätzt.

IV. 2.2 Indometacin

In dieser Arbeit konnte für Indometacin keine signifikante akute Leuchtbakterientoxizität ermittelt werden. Jedoch sei angemerkt, dass durch das Aufsalzen der Proben die Bioverfügbarkeit von Indometacin für Leuchtakterien beeinflusst wird. Da unter Salzwasserbedingungen getestet wurde soll hier keine Aussage bezüglich der Toxizität für den limnischen Bereich abgeleitet werden. Darüber hinaus handelt es sich um eine schwerlösliche Substanz die, in einem Wasserphase-Test Verluste durch Adsorption an die Testgefäßwandung sowie an die Oberfläche der Testorganismen, die verfügbare Schadstoffkonzentration herabsetzt. Hier wäre der Einsatz von *passive Dosing* in einem chronischem Testverfahren ein vielversprechender Forschungsansatz. Ein Vergleich mit Literaturdaten war für diesen Wirkstoff nicht möglich. Die ökotoxikologische Datenbasis zu Indometacin ist mangelhaft (LANUV 2007). Derzeit existiert nur ein LC_{50} -Wert für Fische weshalb auch der Unsicherheitsfaktor für die Ableitung eines chronischen PNEC- Wertes mit 25000 entsprechend hoch ist (Bergmann et al. 2011). Für eine umfassende ökotoxikologische Bewertung von Indometacin müssen Biotests mit

Organismen verschiedener trophischer Ebenen durchgeführt werden. Hier besteht derzeit noch Forschungsbedarf.

V. Ausblick

V.1 akuter Leuchtbakterientest vs. kinetischer Leuchtbakterientest

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden dass die Toxizität von Antibiotika mit dem akuten Leuchtbakterientest nicht erfasst wird. Kümmerer und seine Mitarbeiter von der Leuphana Universität Lüneburg haben zur Erfassung der chronischen Toxizität einen „kinetischen Leuchtbakterientest“ entwickelt. Der „kinetische Leuchtbakterientest“ besteht aus einer Kombination des herkömmlichen akuten LBT nach DIN EN ISO 11348-2 (2009), des *Photobacterium phosphoreum* - Zellvermehrungshemmtest nach DIN 38412-37 (1999) und dem chronischen Leuchtbakterientest nach Zieseniss et al. (1995) (Menz et al. 2013). Bei dem Zellvermehrungshemmtest wird nach mindestens 3 Verdopplungsschritten die Wachstumshemmung von Leuchtbakterien, durch Messung der optischen Dichte, bestimmt. Aufgrund der längeren Kontaktzeit von (7 ± 1) h können chronische Effekte, welche sich auf die Zellvermehrung auswirken, erfasst werden (DIN 1999). Bei diesem Test wird jedoch keine Lumineszenz gemessen. In dem chronischen Leuchtbakterientest nach Zieseniss et al. wird die Expositionszeit des akuten LBT auf 24 h verlängert. Dabei ist die Zusammensetzung des Nährmediums so modifiziert das dieses ein stabiles Leuchten der Zellsuspension über 24 h ermöglicht. Mit dem „kinetischen Leuchtbakterientest“ werden diese drei Verfahren kombiniert und optimiert, wodurch eine gleichzeitige Analyse von drei toxikologischen Endpunkten (akute Lumineszenzhemmung nach 30 min, chronische Lumineszenzhemmung nach 24 h und der Wachstumshemmung nach 14 h) ermöglicht wird. Der „kinetische Leuchtbakterientest“ wird erfolgreich angewendet und konnte die chronischen Effekte von Antibiotika wie bspw. Chloramphenicol und Streptomycin-Sulfat auf Leuchtbakterien nachweisen (Menz et al. 2013).

V.2 Die vierte Reinigungsstufe in der Kläranlage

Die kommunalen Kläranlagen stellen die wichtigste Eintragsquelle von AM in die aquatische Umwelt dar (BLAC 2003). In den konventionellen drei Reinigungsstufen (mechanisch, biologisch und chemisch) der Abwasserreinigung werden nur ein Teil der AM eliminiert. Durch eine Verbesserungen der Reinigungsleistung der Kläranlagen kann der Eintrag von AM deut-

lich reduziert werden. Einige dieser Verfahren mit den jeweiligen Eliminierungsraten gewisser AM werden im Folgenden vorgestellt.

V. 2.1 Eliminierung mittels Ozon

Durch die Behandlung des biologisch gereinigten Abwassers mit Ozon lässt sich ein großes Spektrum von AM entfernen. Ozon ist ein starkes Oxidationsmittel, welches selektiv Doppelbindungen und bestimmte funktionelle Gruppen in Molekülen angreift (Abegglen und Siegrist 2012). Dabei hat die Dosiermenge des Ozons einen signifikanten Einfluss auf den Eliminationsgrad. So können für Carbamazepin und Diclofenac schon bei Zugabe von 2 mg O₃/l Abbauraten von rund 90 % erzielt werden (LANUV 2011). Die Antibiotika Clarithromycin, Erythromycin, Sulfamethoxazol und Trimethoprim lassen sich ebenso sehr gut durch Ozon eliminieren. Die Eliminationsgrade für die Antibiotika liegen zwischen > 76 % und > 92 %, wobei in der Regel 5 mg/l Ozon für eine nahezu vollständige Elimination ausreichen. Für Indometacin liegt der Eliminationsgrad > 50% bei einer eingesetzten Ozonmenge von 2 mg/l und > 90% bei 5 mg O₃/l (LANUV 2007). Auch viele Arzneimittelwirkstoffe der Lipidsenker, Betablocker, Antiepileptika, sowie Antirheumatika und Analgetika waren bei 5-10 mg/l Ozon nicht mehr nachweisbar (Ternes et al. 2006). Die Röntgenkontrastmittel Iopamidol, Iopromid und Iomeprol werden in der Regel schlecht und nur bei hohen Ozondosen gut eliminiert. Die Elimination lag zwischen 84 und 91 % bei einer Ozonkonzentration von 15 mg/l (LANUV 2007).

Eine Vielzahl von Untersuchungen prüfte, ob bei der Anwendung mit Ozon Nebenprodukte entstehen, welche die Toxizität des Abwassers erhöhen. Dies war mehrheitlich nicht der Fall, (Ternes et al. 2006, SRU 2007, Pinnekamp und Merkel 2008) vereinzelt wurde aber eine leichte Toxizitätserhöhung direkt nach der Ozonung festgestellt (Abegglen und Siegrist 2012). Schumacher (2006) gibt allerdings an, dass viele Oxidationsnebenprodukte nicht stabil sind und sehr schnell biologisch abgebaut werden (zitiert in Pinnekamp und Merkel 2008).

V. 2.2 Eliminierung mittels Aktivkohle

Ein weiteres Verfahren zur Elimination von AM aus dem Abwasser stellt die Sorption an pulverförmiger oder granulierter Aktivkohle dar. Aktivkohle hat eine sehr poröse Struktur und damit eine sehr hohe spezifische Oberfläche (> 1000 m²/g). An der unpolaren Aktivkohleoberfläche werden vor allem hydrophobe Stoffe adsorbiert, während ionische oder polare gut wasserlösliche Verbindungen kaum adsorbiert werden (Abegglen und Siegrist 2012). Eine gute Reinigungsleistung konnte beispielsweise für die nicht-ionischen

Röntgenkontrastmittel erzielt werden. Bei einer Dosierung von 20mg/l Pulveraktivkohle in das Abwasser konnte Iomeprol mit 94%, Iopamidol mit 91% und Iopromid mit 87% durch Sorption eliminiert werden (LANUV 2007)

V. 2.3 Eliminierung mittels Membranverfahren

Mit Membranverfahren wie der Nanofiltration und der Umkehrosmose können AM ebenfalls aus dem Abwasser entfernt werden. Diese funktionieren nach dem Prinzip, dass Wasser unter hohem Druck (> 2 bar) durch eine Membran gepresst wird und ungelöste sowie auch gelöste Stoffe durch Größenausschluss oder Ladungseffekte zurückgehalten werden (Heberer 2006). Durch diese Verfahren kann ein breites Stoffspektrum nahezu vollständig zurückgehalten werden. Da es sich bei beiden Techniken um Hochdruckverfahren handelt entsteht allerdings ein sehr hoher Energieverbrauch (Abegglen und Siegrist 2012).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass keines der vorgestellten Verfahren alle Arzneimittelwirkstoffe gleichermaßen erfolgreich eliminiert. Jedoch kann bei einer Kombination mehrerer Verfahren ein großes Spektrum von AM in den Abwässern deutlich reduziert werden. In der Schweiz sollen bis 2031 etwa 50 % der kommunalen Kläranlagen mit einer sogenannten vierten Reinigungsstufe, mit Ozon- und Aktivkohle ausgerüstet werden (Walz und Götz 2014). Würde Deutschland diese zusätzlichen Verfahren in den Kläranlagen ebenfalls anwenden, könnte der Eintrag von AM in die aquatische Umwelt in Deutschland deutlich reduziert werden.

Literaturverzeichnis

Abegglen C., Siegrist H., 2012. Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser. Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen. Bundesamt für Umwelt, Bern, Umwelt-Wissen Nr.1214: 210.

Aguirre-Martinez, G.V., Owuor, M.A., Garrido-Perez, C., Salamanca, M.J., Del Valls, T.A., Martin-Diaz, M.L., 2014. Are standard tests sensitive enough to evaluate effects of human pharmaceuticals in aquatic biota? Facing changes in research approaches when performing risk assessment of drugs. *Chemosphere*, 120: 75–85.

Ahlf, W., 1995. Ökotoxikologische Sedimentbewertung- Sedimenttoxizität, Biotest, Testkombination. in *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung. Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie*, 7.Springer-Verlag, S. 84-91.

Aktories, K., Förstermann, U., Hofmann, F., Starke, K., 2013. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 11., überarbeitete Auflage. Urban & Fischer Verlag.

Alexy, R., 2003. Antibiotika in der aquatischen Umwelt: Eintrag, Elimination und Wirkung auf Bakterien (Antibiotics in the aquatic environment: input, elimination and effects against bacteria). Dissertation. Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg.

Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe (ARGE), 2003. Sonderbericht. Arzneistoffe in Elbe und Saale.

Backhaus, T., Grimme, L.H., 1999. The toxicity of antibiotic agents to the luminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Chemosphere*, 35, S. 2925–2938.

Bergmann, A., Fohrmann, R., Weber, F.A., 2011. IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH. Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen von Arzneimitteln. Hrsg. Umweltbundesamt.

Brack, W., Bandow, N., Schwab, K., Schulze, T., & Streck, G., 2009. Identifizierung toxischer Verbindungen in Sedimenten: Ansätze zur Integration von Wirkung und Bioverfügbarkeit. in

Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung. Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie, 21, S. 240-244.

Budelmaier, W., 2012. Biologie für Mediziner. 12. neubearbeitete und erweiterte Auflage. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit (BLAC). 2003 .Arzneimittel in der Umwelt. Auswertung der Untersuchungsergebnisse. Hrsg. Freie und Hansestadt Hamburg.

Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG), 2000. Handlungsanweisung für den Umgang mit Baggergut im Binnenland (HABAB-WSV). Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz, Deutschland.

Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG), 2011: BfG-Merkblatt „Ökotoxikologische Baggergutuntersuchung“, Ökotoxikologische Untersuchung von Sedimenten, Eluaten und Porenwasser, Koblenz, September 2011.

Bundesministerium für Gesundheit (BMG), 2013. DART, Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie. Entwurf. Zugriff am 06.01.2015 unter http://www.bmg.bund.de/fileadmin/dateien/Downloads/A/Antibiotikaresistenzstrategie/111113_DART_Entwurf_Druck.pdf.

Calmano, W., 2001. Untersuchung und Bewertung von Sedimenten. ökotoxikologische und chemische Testmethoden, Springer-Verlag.

Cunningham, V. L., 2004. Special characteristics of pharmaceuticals related to environmental fate. S. 23-34. In K. Kümmerer (ed.) Pharmaceuticals in the environment; Sources, fate, effects and risks. Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg.

DIN EN ISO 11348-2, 2009. Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri*. Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN. Berlin, Beuth Verlag.

DIN 38412-37, 1999. Bestimmung der Hemmwirkung von Wasser auf das Wachstum von Bakterien (*Photobacterium phosphoreum* –Zellvermehrungshemmtest). Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im DIN. Berlin, Beuth Verlag.

Ebert, I., Conradi, S., Hein, A., Amato, R., 2014. Arzneimittel in der Umwelt- vermeiden, reduzieren, überwachen. Hrsg. Umweltbundesamt.

Efferth, T., 2006. Molekulare Pharmakologie und Toxikologie. Biologische Grundlagen von Arzneimitteln und Giften. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York.

Fahlenkamp, H., Nöthe, T., Hannich, C. B., von Sonntag, C., 2006. Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben: Einsatz und Wirkungsweise oxidativer Verfahren zur Nachbehandlung von Abwasser aus kommunalen Kläranlagen Teil 2b und 3. Zugriff am 28.01.2015 unter http://www.lanuv.nrw.de/wasser/abwasser/forschung/pdf/Abschlussbericht_oxidativerTeil2bu3.pdf.

Fent, K., 2013. Ökotoxikologie. Umweltchemie- Toxikologie- Ökologie, 4. vollständig überarbeitete Auflage. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, New York.

Feuerpfeil, I., López-Pila, J., Schmidt, R., Schneider, E., Szewzyk, R., 1999. Antibiotikaresistente Bakterien und Antibiotika in der Umwelt. Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung- Gesundheitsschutz. 1999-42. Springer Verlag, S. 37-50.

Floeter, C., 2014. Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Aliivibrio fischeri* (vormals *Vibrio fischeri*) im miniaturisierten Leuchtbakterientest für limnische, marine und Brackwasser Proben. Arbeitsanweisung, Biologielabor, HAW Hamburg.

Froehner K., Backhaus, T., Grimme, L.-H., 2000. Bioassays with *Vibrio fischeri* for the assessment of delayed toxicity. *Chemosphere*, 40, S. 821–828.

G., Gunkel, 1994. Bioindikation in aquatischen Ökosystemen. Gustav Fischer Verlag. Jena, Stuttgart.

Günther, J., Kern, W., Nink, K., Schröder, H., de With, K., 2003. Solange sie noch wirken ...

Analysen und Kommentare zum Antibiotikaverbrauch in Deutschland. WIdO Bonn, Universität Freiburg.

Hannappel, S., Groeneweg, J., Zühlke, S., 2014. Antibiotika und Antiparasitika im Grundwasser unter Standorten mit hoher Viehbesatzdichte. UBA Texte 27.2014. Hrsg. Umweltbundesamt.

Heberer, T., 2006. Verhalten von Arzneimittelrückständen bei der Abwasserreinigung. In Heil-Lasten - Arzneimittelrückstände in Gewässern. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Hernando, M.D., De Vettori, S., Martí'nez Bueno, M. J., Ferná'ndez-Alba, A.R., 2007. Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. *Chemosphere*, 68, S. 724–730.

Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., Kratz, K.-L., 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science Total Environment*, 225, S. 109–118.

Klein, B., 1991. Erfahrungen mit Leuchtbakterientests. Niedersächsisches Landesamt für Ökologie, Hildesheim.

Krebs, F., 1992. Der Leuchtbakterientest für die Wassergesetzgebung. In: Steinhäuser, K. G. & Hansen, P.D. Biologische Testverfahren. Gustav Fischer Verlag, Schr.-Reihe Verein WaBoLu 89, S. 591- 624.

Kümmerer, K., 2004. Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Zugriff am 12.02.2015 unter: http://www.congrex-switzerland.com/2006/escmidschool2006/pdf/edu_mat_2006_15.pdf.

Kümmerer, K., 2008. Antibiotics in the aquatic environment –A review – Part I. *Chemosphere*, 75, S. 417–434.

Kümmerer, K., 2008. Effects of Antibiotics and Virustatics in the Environment. In K. Kümmerer (Ed.), *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

Küster, A., Lehmann, S., Hein, A., & Schönfeld, J., 2013. Antibiotika in der Umwelt - Wirkung mit Nebenwirkung. Antibiotics in the environment - effects and side-effects. Umwelt und Mensch. Informationsdienst. 1/2013. ISSN 2190-1120.

Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV), 2006. Antibiotika, Resistenzen und Bakterien in Kläranlagen. Materialien 72. ISSN: 0947-5206 LANUV-Fachberichte.

Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV), 2007. Eintrag von Arzneimitteln und deren Verhalten und Verbleib in der Umwelt - Literaturstudie. Fachbericht 2. ISSN: 1864-3930 LANUV-Fachberichte.

Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV), 2011. Untersuchungs- und Entwicklungsvorhaben im Bereich Abwasser zum Themenschwerpunkt Elimination von Arzneimitteln und organischen Spurenstoffen: Entwicklung von Konzeptionen und innovativen, kostengünstigen Reinigungsverfahren. Schlussbericht Phase 1- „Elimination von Arzneimittelrückständen in kommunalen Kläranlagen“. Zugriff am 01.03.2015 unter http://www.lanuv.nrw.de/wasser/abwasser/forschung/pdf/Arzneimittelr_Abschlussbericht.pdf.

Liß, W., 1997. Vergleich mikrobieller Biotests zur ökotoxikologischen Bewertung kontaminierter Sedimente unter Berücksichtigung der Wirkpfade von Schadstoffen. Düsseldorf : Fortschritt-Berichte, Reihe 15: Umwelttechnik, Nr. 176, VDI-Verlag.

Nohava, M., 1994. Der Leuchtbakterientest in der Umweltkontrolle. Reports UBA-94-090. Umweltbundesamt, Wien.

Menz, J., Schneider, M., Kümmerer, K., 2013. Toxicity testing with luminescent bacteria – Characterization of an automated method for the combined assessment of acute and chronic effects. Chemosphere, 93, S. 990–996.

Pinnekamp, W., Merkel, W., 2008. Abschlussbericht zu den Forschungsvorhaben: Senkung des Anteils organischer Spurenstoffe in der Ruhr durch zusätzliche Behandlungsstufen auf kommunalen Kläranlagen – Güte- und Kostenbetrachtungen – Studie, ISA, RWTH Aachen

IWW.

Reineke, W., Schlömann, M., 2007. Umweltmikrobiologie. Spektrum Akademischer Verlag/ Elsevier. Heidelberg.

Sachverständigenrat für Umweltfragen (SRU), 2007. Arzneimittel in der Umwelt. Stellungnahme. ISSN 1612-2968.

Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., Püttmann, W., 2007. Humanpharmakawirkstoffe in der Umwelt: Einträge, Vorkommen und der Versuch einer Bestandsaufnahme. UWSF – Z Umweltchem Ökotox 19 (3), S. 168-179.

Schwabe, U., Paffrath, D., 2014. Arzneiverordnungs-Report 2014. Springer Verlag Heidelberg.

Schweer, C., Haffmans, S., 2013. Berücksichtigung von Gewässerbelastungen durch Human- und Tierarzneimittel bei der Revision der EU- Grundwasserrichtlinie. Hintergrundpapier. Pestizid Aktions-Netzwerk e.V.

Suerbaum, S., Hahn, H., Burchard, G., Kaufmann, S., Schulz, T., 2012. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 7. überarbeitete Auflage. Springer Verlag, Berlin.

Ternes, T., Siegrist, H., Joss, A., 2006. Vorkommen und Herkunft von Arzneistoffen in Fließgewässern. In Heil-Lasten. Arzneimittelrückstände in Gewässern. Springer- Verlag, Berlin Heidelberg New York.

Umweltbundesamt (UBA), 2005. Arzneimittel in der Umwelt – Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt. UBA Texte 29/05. ISSN 0722-186X.

Walz, A., Götz, K., 2014. Arzneimittelwirkstoffe im Wasserkreislauf. ISOE-Materialien Soziale Ökologie. Nr. 36. Frankfurt am Main

Anhang

Tabelle 24 Mittelwerte der Arzneimittelkonzentrationen in der Bille und der Ammersbek für den Zeitraum Januar 2014 bis Juli 2014

Substanz- klasse	Arzneistoff	Be4 [µg/l]	Be61 [µg/l]	Be81 [µg/l]	Un12 [µg/l]	Un18 [µg/l]	Amj8 [µg/l]
Analgetika & Anti- rheumatika	4-Aminoantipyrin	0,014	0,081	<0,010	<0,01	<0,01	0,071
	N-Acetyl-4-aminoantipyrin	0,089	0,014	0,067	0,011	0,042	0,324
	N-Formyl-4-aminoantipyrin	0,197	0,189	0,129	0,019	0,033	1,03
	Phenazon	0,012	0,012	<0,010	<0,01	<0,01	0,028
	Diclofenac	0,07	0,062	0,048	<0,01	<0,01	0,54
	Ibuprofen	0,018	0,016	0,063	0,012	0,014	0,011
	Indometacin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,013
	Ketoprofen	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010
	Naproxen	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,071
Piroxicam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010	
Antibiotika	Clarithromycin	0,011	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,038
	Erythromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,015
	Roxithromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,016
	Sulfamethoxazol	0,016	0,014	<0,010	<0,01	<0,01	0,096
	Trimethoprim	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,018
Anti- depressi- vum	Fluoxetin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010
Anti- epileptika	Carbamazepin	0,035	0,033	0,023	<0,005	0,011	0,223
	Gabapentin	0,37	0,362	0,268	0,043	0,125	2,1
	Primidon	0,015	0,014	<0,010	<0,01	<0,01	0,093
Betablocker	Atenolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,01
	Bisoprolol	0,011	0,011	<0,010	<0,01	<0,01	0,132
	Metoprolol	0,064	0,059	0,042	<0,01	<0,01	0,63
	Propranolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010
	Sotalol	0,018	0,017	0,012	<0,01	<0,01	0,21
Benzo- diazepine	Diazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010
	Oxazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,061
	Temazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,005	<0,01	0,015
Broncho- spasmolyti- ka	Clenbuterol	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,005	<0,005	<0,0050
	Salbutamol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010
	Terbutalin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010
Expektorant	Bromhexin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	<0,010
Lipidsenker	Bezafibrat	<0,010	<0,010	<0,010	<0,01	<0,01	0,078
	Clofibrinsäure	<0,010	<0,010	<0,010	<0,005	<0,01	<0,010
	Gemfibrozil	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,025	<0,005	<0,0050

Röntgen- kontrast- mittel	Amidotrizoesäure	0,077	0,081	0,049	<0,025	0,029	0,67
	Iohexol	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	0,045
	Iomeprol	0,106	0,087	0,019	<0,025	0,129	0,6
	Iopamidol	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	0,172
	Iopromid	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	0,025	<0,025

Tabelle 25 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Bille an der Probenahmestelle Be4

Substanzklasse	Wirkstoff	Probenahmedatum			
		23.09.2014	23.09.2014	16.10.2014	16.10.2014
		Probenbezeichnung (W= Wasserprobe; E= Eluatprobe)			
		Be4_W1 [µg/l]	Be4_E1 [µg/l]	Be4_W2 [µg/l]	Be4_E2 [µg/l]
Analgetika	4-Aminoantipyrin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	N-Acetyl-4-aminoantipyrin	0,19	0,082	0,13	0,14
	N-Formyl-4-aminoantipyrin	0,27	0,12	0,23	0,22
	Phenazon	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Anti- rheumatika	Diclofenac	0,071	0,014	0,077	0,067
	Ibuprofen	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Indometacin	<0,010	0,029	<0,010	0,038
	Ketoprofen	<0,010	<0,010	<0,010	0,021
	Naproxen	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Piroxicam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Antibiotika	Clarithromycin	<0,010	<0,010	0,015	<0,010
	Erythromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010

	Roxithromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Sulfamethoxazol	0,03	0,01	0,035	<0,010
	Trimethoprim	NG	NG	<0,010	<0,010
Antidepressiva	Fluoxetin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Antiepileptika	Carbamazepin	0,057	0,051	0,08	0,061
	Gabapentin	0,41	0,078	0,51	0,36
	Primidon	0,02	<0,010	0,019	0,022
Betablocker	Atenolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Bisoprolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Metoprolol	0,046	0,056	0,078	0,018
	Propranolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Sotalol	0,025	0,031	0,03	0,02
Benzo-diazepine	Diazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Oxazepam	0,014	<0,010	0,016	0,014
	Temazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Broncho-spasmolytika	Clenbuterol	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
	Salbutamol	<0,010	0,016	<0,010	<0,010
	Terbutalin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Expektorant	Bromhexin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Lipidsenker	Bezafibrat	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Clofibrinsäure	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010

	Gemfibrozil	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
Röntgen- kontrastmittel	Amidotrizoesäure	0,078	<0,025	0,073	0,074
	Iohexol	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025
	Iomeprol	0,24	<0,025	0,077	0,13
	Iopamidol	0,031	<0,025	<0,025	0,034
	Iopromid	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025

NG= Nachweisgrenze

Tabelle 26 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Bille an der Probenahmestelle Be61

Substanzklasse	Wirkstoff	Probenahmedatum			
		23.09.2014	23.09.2014	16.10.2014	16.10.2014
		Probenbezeichnung (W= Wasserprobe; E= Eluatprobe)			
		Be61_W1 [µg/l]	Be61_E1 [µg/l]	Be61_W2 [µg/l]	Be61_E2 [µg/l]
Analgetika & Anti- rheumatika	4-Aminoantipyrin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	N-Acetyl-4-aminoantipyrin	0,16	0,12	0,15	0,11
	N-Formyl-4-aminoantipyrin	0,24	0,17	0,28	0,16
	Phenazon	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Diclofenac	0,057	0,033	0,081	0,053
	Ibuprofen	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Indometacin	<0,010	0,033	<0,010	0,03
	Ketoprofen	<0,010	<0,010	<0,010	0,09
	Naproxen	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Piroxicam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Antibiotika	Clarithromycin	<0,010	<0,010	0,013	<0,010
	Erythromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Roxithromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Sulfamethoxazol	0,025	<0,010	0,036	<0,010

	Trimethoprim	NG	NG	<0,010	<0,010
Antidepressiva	Fluoxetin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Antiepileptika	Carbamazepin	0,056	0,076	0,074	0,049
	Gabapentin	0,45	0,22	0,53	0,35
	Primidon	0,016	0,013	0,023	0,019
Betablocker	Atenolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Bisoprolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Metoprolol	0,044	0,02	0,071	0,017
	Propranolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Sotalol	0,021	0,02	0,032	0,023
Benzo-diazepine	Diazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Oxazepam	0,013	0,01	0,016	<0,010
	Temazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Broncho-spasmolytika	Clenbuterol	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
	Salbutamol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Terbutalin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Expektorant	Bromhexin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Lipidsenker	Bezafibrat	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Clofibrinsäure	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Gemfibrozil	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
Röntgen-kontrastmittel	Amidotrizoesäure	0,074	<0,025	0,093	0,055
	Iohexol	<0,025	<0,025	0,032	0,044
	Iomeprol	0,18	<0,025	0,066	0,65
	Iopamidol	0,059	0,032	0,038	0,045
	Iopromid	<0,025	<0,025	<0,025	0,029

NG= Nachweisgrenze

Tabelle 27 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Bille an der Probenahmestelle Be81

Substanzklasse	Wirkstoff	Probenahmedatum			
		23.09.2014	23.09.2014	16.10.2014	16.10.2014

		Probenbezeichnung (W= Wasserprobe; E= Eluatprobe)			
		Be81_W1 [µg/l]	Be81_E1 [µg/l]	Be81_W2 [µg/l]	Be81_E2 [µg/l]
Analgetika & Anti- rheumatika	4-Aminoantipyrin	<0,010	0,011	<0,010	0,022
	N-Acetyl-4- aminoantipyrin	0,16	0,13	0,15	0,12
	N-Formyl-4- aminoantipyrin	0,2	0,16	0,24	0,16
	Phenazon	<0,010	<0,010	<0,010	0,022
	Diclofenac	0,058	0,035	0,063	0,06
	Ibuprofen	0,077	0,029	<0,010	<0,010
	Indometacin	<0,010	0,015	<0,010	0,038
	Ketoprofen	<0,010	0,014	<0,010	<0,010
	Naproxen	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Piroxicam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Antibiotika	Clarithromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Erythromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Roxithromycin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Sulfamethoxazol	0,018	<0,010	0,034	<0,010
	Trimethoprim	NG	NG	<0,010	<0,010
Antidepressiva	Fluoxetin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Antiepileptika	Carbamazepin	0,046	0,047	0,071	0,31
	Gabapentin	0,28	0,22	0,54	0,68
	Primidon	0,015	0,015	0,021	0,016
Betablocker	Atenolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Bisoprolol	<0,010	<0,010	<0,010	0,023
	Metoprolol	0,018	0,012	0,05	0,18
	Propranolol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Sotalol	0,018	0,015	0,03	0,024
Benzo- diazepine	Diazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Oxazepam	<0,010	<0,010	0,013	0,047
	Temazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Broncho- spasmolytika	Clenbuterol	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
	Salbutamol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Terbutalin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Expektorant	Bromhexin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Lipidsenker	Bezafibrat	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Clofibrinsäure	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Gemfibrozil	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
Röntgen- kontrastmittel	Amidotrizoesäure	0,083	0,053	0,077	0,47
	Iohexol	<0,025	<0,025	<0,025	0,08
	Iomeprol	0,19	<0,025	0,16	1,3
	Iopamidol	0,084	<0,025	0,053	0,23
	Iopromid	<0,025	<0,025	<0,025	0,067

NG= Nachweisgrenze

Tabelle 28 Arzneimittelkonzentrationen der Wasser- und Eluatproben der Ammersbek an der Probenahmestelle Amj8

Substanzklasse	Wirkstoff	Probenahmedatum			
		16.10.2014	16.10.2014	09.12.2014	09.12.2014
		Probenbezeichnung (W= Wasserprobe; E= Eluatprobe)			
		Amj8_W1 [µg/l]	Amj8_E1 [µg/l]	Amj8_W2 [µg/l]	Amj8_E2 [µg/l]
Analgetika & Antirheumatika	4-Aminoantipyrin	0,1	<0,010	0,19	0,013
	N-Acetyl-4-aminoantipyrin	0,29	0,38	0,45	0,51
	N-Formyl-4-aminoantipyrin	0,68	0,42	0,81	0,44
	Phenazon	0,03	<0,010	0,029	0,017
	Diclofenac	0,93	0,58	1,1	0,47
	Ibuprofen	<0,010	<0,010	0,052	<0,010
	Indometacin	0,024	0,03	0,013	<0,010
	Ketoprofen	0,015	<0,010	<0,010	<0,010
	Naproxen	0,045	<0,010	0,093	<0,010
Piroxicam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	
Antibiotika	Clarithromycin	0,057	0,013	0,067	<0,010
	Erythromycin	0,019	<0,010	0,81	0,13
	Roxithromycin	0,016	<0,010	0,023	<0,010
	Sulfamethoxazol	0,36	<0,010	0,15	<0,010
	Trimethoprim	0,023	<0,010	0,026	<0,010
Antidepressiva	Fluoxetin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Antiepileptika	Carbamazepin	0,47	0,044	0,26	0,22
	Gabapentin	1	0,31	1,3	0,42
	Primidon	0,19	0,11	0,14	0,1
Betablocker	Atenolol	<0,010	<0,010	0,011	<0,010
	Bisoprolol	0,14	<0,010	0,17	0,024
	Metoprolol	0,71	0,029	0,81	0,19
	Propranolol	0,012	<0,010	0,011	<0,010
	Sotalol	0,4	0,15	0,29	0,19
Benzo- diazepine	Diazepam	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Oxazepam	0,11	<0,010	0,063	0,053
	Temazepam	0,024	0,015	0,01	0,011
Broncho- spasmolytika	Clenbuterol	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
	Salbutamol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
	Terbutalin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Expektorant	Bromhexin	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Lipidsenker	Bezafibrat	0,07	0,023	0,18	0,018
	Clofibrinsäure	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010

	Gemfibrozil	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
Röntgen- kontrastmittel	Amidotrizoesäure	1	0,1	0,56	0,2
	Iohexol	0,13	<0,025	0,21	0,033
	Iomeprol	5	0,099	2,6	0,65
	Iopamidol	1,3	0,034	0,055	0,072
	Iopromid	<0,025	<0,025	<0,025	0,025

Tabelle 29 Leuchtbakterientoxizität von Erythromycin in %- Hemmung

Konzentration Erythromycin im Testansatz [mg/l]	Ery- thromycin_1	Ery- thromycin_2	Ery- thromycin_3	Ery- thromycin_4	Mittel- wert	SD
	H [%]	H [%]	H [%]	H [%]	H [%]	H [%]
400	9,55	11,81	9,78	13,42	11,14	1,58
200	4,97	9,74	7,58	8,37	7,67	1,74
100	6,21	3,8	8,6	-0,78	4,46	3,47
50	6,77	5,53	8,89	3,32	6,13	2,02
25	7,4	5,12	11,33	5,09	7,24	2,54

H= Hemmung

SD= Standardabweichung

Tabelle 30 Leuchtbakterientoxizität von Clarithromycin in %- Hemmung

Konzentration Clarithromycin im Testansatz [mg/l]	Clari- thromycin_1	Clari- thromycin_2	Clari- thromycin_3	Clari- thromycin_4	Mittel- wert	SD
	H [%]	H [%]	H [%]	H [%]	H [%]	H [%]
8	13,3	9,57	11,99	10,33	11,30	1,45
4	8,05	6,05	-1,23	6,07	4,74	3,54
2	1,58	0,24	3,86	-2	0,92	2,13
1	3,59	1,41	5,96	-8,02	0,74	5,30
0,5	7,89	6,72	5,81	2,57	5,75	1,98

H= Hemmung

SD= Standardabweichung

Tabelle 31 Leuchtbakterientoxizität von Indometacin in %- Hemmung

Konzentration Indometacin im Testansatz [mg/l]	Indo- metacin_1 H [%]	Indo- metacin_1 H [%]	Indo- metacin_1 H [%]	Indo- metacin_1 H [%]	Mittel- wert H [%]	SD H [%]
8	19,94	16,99	17,74	15,35	17,51	1,65
4	12,17	8,44	10,07	-2,93	6,94	5,85
2	3	0,35	2,37	2,95	2,17	1,08
1	-0,54	2,86	1,72	3,64	1,92	1,58
0,5	-0,48	7,65	-5,6	6,21	1,95	5,33

H= Hemmung

SD= Standardabweichung