

Bestimmung von Antibiotika und ihr Verbleib zwischen der Wasser- und Sedimentphase

Zur Erlangung des akademischen Grades einer
DOKTORIN DER NATURWISSENSCHAFTEN

von der KIT-Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)
genehmigte

DISSERTATION

von

M.Sc. Amélie Chabilan
aus Seeheim-Jugenheim

Tag der mündlichen Prüfung: 07.12.2023

Erstgutachter: Prof. Dr. Harald Horn

Zweitgutachter: Prof. Dr. Stefan Stolte

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	v
Tabellenverzeichnis	ix
Abkürzungsverzeichnis	xiii
Verzeichnis der Formelzeichen	xvii
Zusammenfassung	xix
Abstract	xxi
Danksagung	xxiii
1 Einleitung und theoretische Grundlagen	1
1.1 Einteilung, Eigenschaften und Verbrauch von Antibiotika	1
1.1.1 Definition von Antibiotika	1
1.1.2 K_{OW} -Wert und K_d -Wert	2
1.1.3 Antibiotikaklassen und ihre Eigenschaften	3
1.1.4 Verbrauch der ABs-Klassen in der Human- und Veterinärmedizin	10
1.2 Antibiotika und Antibiotikaresistenzgene in der aquatischen Umwelt	12
1.2.1 Eintrag und Vorkommen der Antibiotika in die aquatische Umwelt	12
1.2.2 Problematik der Antibiotikaresistenzen und die Rolle der aquatischen Umwelt	14
1.3 Analytische Methoden zur Bestimmung von ABs in Umweltproben	16
1.3.1 Probenvorbereitung für flüssige Proben	16
1.3.2 Probenvorbereitung für Feststoffproben	17
1.3.3 Quantifizierung der Antibiotika	20
1.4 Forschungsvorhaben und Ziele der Arbeit	21

2	Material und Methoden	23
2.1	Chemikalien	23
2.2	Probennahmen	23
2.2.1	Sedimentproben	24
2.2.2	Wasserproben	24
2.3	Probenvorbereitung	25
2.3.1	Festphasenextraktion	25
2.3.2	Beschleunigte Lösungsmittlextraktion	26
2.4	Quantifizierung der Antibiotika mittels LC-MS/MS	31
2.4.1	Qualitätssicherung der LC-MS/MS Methode	31
2.5	Auswertung der Methodenentwicklung und Methodvalidierung für die Bestimmung der ABs	32
2.6	Mesokosmos-Studie	34
2.6.1	Aufbau	34
2.6.2	Beprobung und Vorbereitung der Wasserproben	37
2.6.3	Beprobung und Vorbereitung der Sedimentproben	37
2.6.4	Datenauswertung: Modellierung und Massenbilanz	38
2.7	Feldstudie	40
2.7.1	Probennahme	40
2.7.2	Probenvorbereitung für die Quantifizierung der Antibiotika	42
2.7.3	Charakterisierung Wasser- und Sedimentproben	43
2.7.4	Auswertung und Berechnungen zur Feldstudie	45
3	Ergebnisse und Diskussion	47
3.1	Methodenentwicklung für die Festphasenextraktion	47
3.1.1	Einleitung	47
3.1.2	Gruppe 1 – starke Säuren	49
3.1.3	Gruppe 2 – schwache Säuren	51
3.1.4	Einfluss der EDTA Konzentration auf die Wiederfindungsraten	53
3.1.5	Schlussfolgerung für die Methodenentwicklung der SPE	54
3.2	Methodenentwicklung zur Extraktion von Antibiotika aus Flusssediment	56
3.2.1	Einleitung	56
3.2.2	Einführung einer neuen Einteilung der ABs nach ihrem $\log(K_{OW})$ -Wert	58

3.2.3	Der Einfluss des $\log(K_{OW})$ -, pK_S -, K_d - und pH-Werts auf die Extraktionseffizienz	60
3.2.4	Extraktionsprotokolle mit zwei aufeinanderfolgenden Extraktionsschritten	64
3.2.5	Anpassung des SPE-Protokolls für die Sedimentproben	67
3.2.6	Methodenvalidierung	67
3.2.7	Schlussfolgerung für Methodenentwicklung SPE-PLE	69
3.3	Mesokosmos-Studie: Verhalten von ABs	70
3.3.1	Einleitung	70
3.3.2	Hydrolyse und Nährstoffverbrauch	72
3.3.3	Fluorchinolone	72
3.3.4	Makrolide	77
3.3.5	Sulfonamide	79
3.3.6	Tetracycline	87
3.3.7	Andere	93
3.3.8	Schlussfolgerung des Kapitels	96
3.4	Vorkommen und Verbreitung von ABs in der Alb	98
3.4.1	Einleitung	98
3.4.2	Antibiotika in der Wasserphase der Alb	99
3.4.3	Antibiotika in der Sedimentphase der Alb	103
3.4.4	Vergleich der Ergebnisse der Feldstudie und der Mesokosmos-Studie . .	109
3.4.5	Schlussfolgerung Feldstudie	109
4	Schlussfolgerung und Ausblick	113
4.1	Gesamtschlussfolgerung	113
4.2	Ausblick	116
5	Verzeichnis der Publikationen und Konferenzbeiträge	119
6	Literaturverzeichnis	121
A	Abbildungen	141
A.1	Strukturformel der Antibiotika	141
A.2	Abgabemenge für die ABs in der Veterinärmedizin	145
A.3	Methodenentwicklung für die PLE	146
A.4	Mesokosmos-Versuch	146

A.4.1	Fluorchinolone	147
A.4.2	Sulfonamide	149
A.4.3	Tetracycline	151
A.4.4	Andere	153
A.5	Feldstudie	154
B	Tabellen	165
B.1	Einleitung	165
B.2	Material und Methoden	168
B.3	Methodenentwicklung	178
B.4	Mesokosmos-Versuch	188
B.5	Feldstudie	194
C	Text	201
C.1	Material und Methoden	201
C.1.1	Interne Standards und Surrogate	201
C.1.2	Chemikalien	201
C.1.3	DNA-Extraktion für die Bestimmung der Antibiotikaresistenzgene	202
C.1.4	Quantifizierung der Antibiotikaresistenzgene	202
C.1.5	Berechnung der Konzentration an ABs in der Wasserphase	205
C.1.6	Risikoquotient	206
C.1.7	Berechnung des Massenanteils des ABs in der Sedimentprobe	206
C.1.8	Berechnung des theoretischen Massenanteils des ABs im Sediment nach der Dotierung	206
C.1.9	Bestimmung der Dichte des Sediments	207
C.2	Ergebnisse	208
C.2.1	Antibiotika in der Wasserphase der Alb	208
C.2.2	Antibiotikaresistenzen in der Wasser- und Sedimentphase der Alb	214

Abbildungsverzeichnis

1.1	Chemische Grundstruktur der Fluorchinolone. Zahlen dienen zur Nummerierung der Atome. R1 bis R3 bezeichnen unterschiedliche funktionelle Gruppen. Ausführliche Strukturformeln sind im Anhang in Abbildung A.1 bis A.4 dargestellt.	6
1.2	Grundgerüst der Makrolide. R1 und R2 beziehen sich auf unterschiedliche funktionelle Gruppen und variieren abhängig vom Makrolid. Detaillierte Strukturformeln sind in Abbildungen A.5 bis A.7 im Anhang.	7
1.3	Grundgerüst der Sulfonamide. R1 bezieht sich auf unterschiedliche funktionelle Gruppen und variiert abhängig vom Sulfonamid. R1 ist für die untersuchten Sulfonamide in den Abbildungen A.8 bis A.12 im Anhang dargestellt.	8
1.4	Chemische Grundstruktur der Tetracycline. R1 bis R4 bezeichnet funktionelle Gruppen. Für die detaillierte Struktur der Tetracycline siehe Abbildungen A.13 bis A.16 im Anhang.	9
1.5	Verbrauch an ABs in Deutschland (a) und der Europäischen Union (b)	11
1.6	Schematische Darstellung der möglichen Eintragspfade von ABs, die in der Human- und Veterinärmedizin verschrieben werden, in die aquatische Umwelt.	13
1.7	Die vier Schritte der Festphasenextraktion (SPE) zur Anreicherung von Analyten am Sorbens und Abtrennung von Interferenzen aus der Matrix.	17
1.8	Schematischer Aufbau des Accelerated Solvent Extractor (ASE [®]), Abbildung entnommen aus (Thermo Scientific 2020) und modifiziert.	19
2.1	Aufbau für die Beladung und Elution in der Tandem-SPE Konfiguration.	28
2.2	Aufbau des Mesokosmos und ablaufende Prozesse.	35
2.3	Aufbau der Mesokosmos-Studie, Versuchsbedingungen, die im Mesokosmos herrschen und Prozesse, die in R1 bis R4 untersucht wurden.	36
2.4	Schematische Darstellung der Probenahmestellen an der Alb: vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3), Kläranlagenablauf (E1 bis E3) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11).	41
2.5	Fließschema zur analytische Methode für die Feldstudie.	42

3.1	WFR für SPE-Protokolle TCs und SAs	50
3.2	WFR für SPE-Protokolle FCs, ML und SAs	52
3.3	Wiederfindungsraten für das Tandem-SPE-Protokoll für EDTA Konzentrationen von 50, 100 und 1000 mg L ⁻¹	55
3.4	WFR für PLE-Protokolle A bis D.	59
3.5	Einteilung der ABs nach ihren log(K _{OW})-Werten in vier Gruppen 1 bis 4 (y-Achse).	60
3.6	Boxplot für die Wiederfindungsraten der Protokolle A bis D (siehe Tabelle 2.3). ABs wurden nach ihren log(K _{OW})-Werten in vier Gruppen (1 bis 4) aufgeteilt. Graphiken adaptiert nach (Chabilan u. a. 2022).	61
3.7	WFR für die Protokolle E und F.	65
3.8	Ergebnisse Mesokosmos-Studie für die Fluorchinolone.	73
3.9	Ergebnisse der Sedimentphase für die Mesokosmos-Studie für die Fluorchinolone.	76
3.10	Ergebnisse für die Makrolide der Mesokosmos-Studie.	78
3.11	Ergebnisse der Mesokosmos-Studie für die Sulfonamide.	80
3.12	Ergebnisse der Sulfonamide für die Sedimentphase der Mesokosmos-Studie.	85
3.13	Ergebnisse der Mesokosmos-Studie für die Tetracycline.	89
3.14	Ergebnisse der Tetracycline für die Sedimentphase der Mesokosmos-Studie.	92
3.15	Quantifizierte (gemessene, weiß) und berechnete (grau) Massenanteile für Clinda- mycin und Trimethoprim in der Sedimentphase von R1 bis R3 nach 35 d.	95
3.16	ABs Konzentrationen in der Wasserphase der Feldstudie (1).	104
3.17	ABs Konzentrationen in der Wasserphase der Feldstudie (2).	104
3.18	Massenanteile in der Sedimentphase der Feldstudie.	107
3.19	Massenanteil (Mittelwerte aus der Doppel- bis Dreifachbestimmung) für die ABs im Flusssediment (bezogen auf die Trockenmasse). Einteilung nach der Bodenart: sandiger Lehm (rot) und schluffiger Lehm (braun).	108
3.20	Gegenüberstellung der Ergebnisse aus der Mesokosmos-Studie und Feldstudie.	110
A.1	Strukturformel Ciprofloxacin (CFC).	141
A.2	Strukturformel Enrofloxacin (EFC).	141
A.3	Strukturformel Norfloxacin (NFC).	141
A.4	Strukturformel Ofloxacin (OFC).	142
A.5	Strukturformel Clarithromycin (CTM).	142
A.6	Strukturformel Erythromycin (ETM).	142
A.7	Strukturformel Roxithromycin (RTM).	142

A.8	Strukturformel Sulfadiazin (SDZ).	143
A.9	Strukturformel Sulfadimethoxin (SDM).	143
A.10	Strukturformel Sulfamethazin (SMZ).	143
A.11	Strukturformel Sulfamethoxazol (SMX).	143
A.12	Strukturformel Sulfapyridin (SPD).	143
A.13	Strukturformel Chlortetracyclin (CTC).	143
A.14	Strukturformel Doxycyclin (DXC).	143
A.15	Strukturformel Oxytetracyclin (OTC).	144
A.16	Strukturformel Tetracyclin (TCT).	144
A.17	Keto-Enol-Tautomerie der Tetracycline.	144
A.18	Strukturformel Clindamycin (CDC).	144
A.19	Strukturformel Trimethoprim (TMP).	144
A.20	Abgabemenge für ABs-Klassen in der Veterinärmedizin in Deutschland.	145
A.21	Wiederfindungsraten für die Protokolle A bis D von Trimethoprim und Clindamycin. PLE-Protokolle wurden nach Golet u. a. (A), Salvia u. a. (B), Kerrigan u. a. (C) und Senta u. a. (D) modifiziert. Graphik adaptiert nach (Chabilan u. a. 2021).	146
A.22	Ciprofloxacin.	147
A.23	Enrofloxacin.	147
A.24	Norfloxacin.	148
A.25	Ofloxacin.	148
A.26	Sulfadiazin.	149
A.27	Sulfadimethoxin.	149
A.28	Sulfamethoxazol.	150
A.29	Sulfamethazin.	150
A.30	Sulfapyridin.	151
A.31	Chlorotetracyclin.	151
A.32	Doxytetracyclin.	152
A.33	Oxytetracyclin.	152
A.34	Tetracyclin.	153
A.35	Clindamycin.	153
A.36	Trimethoprim.	154
A.37	Konzentration an Ciprofloxacin.	155
A.38	Konzentration an Oxofloxacin.	155

A.39	Konzentration an Clarithromycin.	156
A.40	Konzentration an Erythromycin.	156
A.41	Konzentration an Erythromycin-dehydrato.	157
A.42	Konzentration an Roxithromycin.	157
A.43	Konzentration an Sulfamethoxazol.	158
A.44	Konzentration an Sulfapyridin.	158
A.45	Konzentration an Clindamycin.	159
A.46	Konzentration an Trimethoprim.	159
A.47	Massenanteil AB in der Sedimentphase flussabwärts nach Einleitung des Kläranlagenablaufs, ABs sortiert nach $\log(K_{OW})$ -Gruppen.	160
A.48	ARGs der Fluorchinolone und Makrolide in der Wasserphase.	160
A.49	ARGs der Fluorchinolone und Makrolide in der Sedimentphase.	161
A.50	ARGs der Sulfonamide, Trimethoprim und Tetracycline in der Wasserphase.	161
A.51	ARGs der Sulfonamide, Trimethoprim und Tetracycline in der Sedimentphase.	162
A.52	16S rRNA in der Wasserphase der Alb.	162
A.53	16S rRNA in der Sedimentphase.	163
C.1	Schema zu den Verdünnungs- und Konzentrationsfaktoren für die Probenvorbereitung der ARGs in Form der DNA-Extraktion adaptiert nach (Thaqi 14.01.23).	204
C.2	Schema mit den Verdünnungs- und Konzentrationsfaktoren zur Berechnung des Massenanteils des AB in der Sedimentprobe für die Methodenentwicklung und Umweltprouben angepasst nach N. Landwehr, 2021 (Landwehr 2021).	207
C.3	Verbrauch an AB im ambulanten Bereich in Tagesdosen (DDD) (linke y-Achse) und Mittelwert der Konzentration im Kläranlagenablauf (E1 – E3) sowie Standardabweichung (rechte y-Achse) für Ciprofloxacin (CFC), Ofloxacin (OFC), Clarithromycin (CTM), Erythromycin und Dehydrato-Erythromycin (ETM), Roxithromycin (RTM), Sulfamethoxazol und Trimethoprim (SMX+TMP) und Clindamycin (CDC).	209
C.4	Gegenüberstellung von Mittelwert des ABs-Verbrauchs und des Mittelwerts und Standardabweichung des Kläranlagenablaufs.	210
C.5	ARGs der Fluorchinolone und Makrolide in der Wasserphase und Sedimentphase.	217
C.6	ARGs der Sulfonamide und Tetracycline für die Wasser- und Sedimentphase.	218
C.7	Prüfung einer Korrelation der Konzentration an Sulfamethoxazol (SMX) und sul1.	219
C.8	Prüfung einer Korrelation der Konzentration an Sulfapyridin (SPD) und sul1.	220

Tabellenverzeichnis

1.1	Chemisch-physikalische Eigenschaften der ABs, Verteilungskoeffizient zwischen der Wasser- und Sedimentphase als Indikator für die Adsorptionsaffinität (K_d -Wert), Absorptionsmaximum (λ_{max}). Tabelle adaptiert nach (Chabilan u. a. 2023).	4
1.2	Zusammenstellung von Umweltkonzentrationen der ABs-Klassen Makrolide, Fluorchinolone, Sulfonamide, Tetracycline und Trimethoprim sowie Clindamycin für Oberflächenwasser, Sediment-, Boden- und Klärschlammproben.	14
2.1	Getestete SPE Kartuschen während der Methodenentwicklung.	26
2.2	SPE-Protokolle	27
2.3	Übersicht über die getesteten PLE-Protokolle und deren Parameter.	30
2.4	Zuordnung der Surrogate zu den ABs-Klassen für die Sedimentproben.	32
3.1	Übersicht über die Spannweite der WFRn für unterschiedliche Methoden zur Extraktion von ABs aus Sedimenten aus der Literatur.	57
3.2	Übersicht der Validierungsparameter für das Protokoll G sortiert nach $\log(K_{OW})$ -Gruppen. Angepasst nach (Chabilan u. a. 2022).	68
3.3	Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Fluorchinolone in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.	75
3.4	Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Sulfonamide in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.	83
3.5	Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Tetracycline in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.	88
3.6	Geschwindigkeitskonstante und Halbwertszeiten für Clindamycin und Trimethoprim in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.	94

3.7	ABs Konzentrationen in der Wasserphase der Feldstudie.	101
3.8	Massenanteile in der Sedimentphase der Feldstudie.	105
B.1	Weitere Informationen zur Herkunft, Wirkung, Anwendung der ABs.	166
B.2	Angaben zur Reinheit und Hersteller der verwendeten Antibiotika.	168
B.3	Angaben zur Herstellung der Stammlösung der Antibiotika. Zielkonzentration 1 g L^{-1} in 10 mL (Maßkolben).	169
B.4	Chromatographische Bedingungen zur Quantifizierung der ausgewählten Antibiotika.	170
B.5	Quellenparameter für die Quantifikation der ABs mittels LC-MS/MS.	170
B.6	Surrogate und interne Standards für die Methodenentwicklung von SPE und PLE (1).	171
B.7	Surrogate und interne Standards für die Methodenentwicklung von SPE und PLE (2).	172
B.8	Parameter des Triple-Quadrupolmassenspektrometers für die Quantifikation der ABs.	173
B.9	Fortsetzung der Parameter des Triple-Quadrupolmassenspektrometers für die Quan- tifizierung der ABs.	174
B.10	Fortsetzung der Parameter des Triple-Quadrupolmassenspektrometers für die Quan- tifizierung der ABs.	175
B.11	Surrogate und interne Standards für die Quantifizierung der AB in Oberflächenwasser (1).	176
B.12	Surrogate und interne Standards für die Quantifizierung der AB in Oberflächenwas- ser(2).	177
B.13	ARGs Primer für Hochdurchsatz PCR.	178
B.14	Zusammenstellung der WFR in % für die verschiedenen SPE-Kartuschen.	179
B.15	Berechnete Matrixfaktoren für das MCX-Protokoll (1).	180
B.16	Berechnete Matrixfaktoren für das MCX-Protokoll (1).	181
B.17	WFRn für die getesteten EDTA Konzentrationen von 1000, 100 und 50 mg L^{-1} sortiert nach ABs-Klassen. Probenahmeort bezieht sich auf vor oder nach Einleitung des Kläranlagenablaufs.	182
B.18	Fortsetzung der WFRn für die getesteten EDTA Konzentrationen von 1000, 100 und 50 mg L^{-1} sortiert nach ABs-Klassen. Probenahmeort bezieht sich auf vor oder nach Einleitung des Kläranlagenablaufs.	183
B.19	ABs gruppiert nach den vier definierten $\log(K_{ow})$ -Gruppen.	184
B.20	WFR für das Tandem-SPE-Protokoll.	185
B.21	Berechnete Parameter der Methodvalidierung für das PLE-Protokoll G. Es wurden jeweils fünf Sedimentproben mit 50 und $100 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ dotiert.	186

B.22	Berechnete Parameter der Methodvalidierung für das PLE-Protokoll G. Es wurden jeweils fünf Sedimentproben mit 50 und 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dotiert.	187
B.23	Ergebnisse für die Fluorchinolone bei der Wiederholung der Mesokosmos-Studie. . .	188
B.24	Ergebnisse für die Sulfonamide bei der Wiederholung der Mesokosmos-Studie. . . .	189
B.25	Ergebnisse für Trimethoprim und Clindamycin bei der Wiederholung der Mesokosmos-Studie.	190
B.26	Massenanteile der ABs in der Sedimentphase der Mesokosmen R1 bis R3 nach 35 d.	192
B.27	Korrelationskoeffizienten für die Mesokosmos-Studie I.	193
B.28	Chemisch-physikalische Charakterisierung der Wasserprobe der Feldstudie.	195
B.29	AB Verbrauch in der Humanmedizin aufgeteilt in Verbrauch im stationären und ambulanten Bereich.	196
B.30	ABs Verbrauch in der Humanmedizin aufgeteilt in Verbrauch im stationären und ambulanten Bereich. Fortsetzung der vorherigeren Tabelle.	197
B.31	Verteilung Korngröße des Flusssediments nach den drei Kategorien Sand, Schluff und Ton.	198
B.32	Physikalisch-chemische Eigenschaften der Sedimentproben gesamter anorganischer Kohlenstoff (TIC), gesamter Kohlenstoff (TC), gesamter organischer Kohlenstoff (TOC), gesamter Stickstoff (TN), effektive Kationenaustauschkapazität (KAK). . .	199
B.33	Massenanteile und Massenkonzentrationen in der Sediment- und Wasserphase der Alb sowie der Mesokosmos-Studie.	200
C.1	AB-Klasse und ausgewählte ARGs für die Quantifizierung in der Wasser- und Sedimentphase der Alb.	203
C.2	Vergleich der Konzentration in der Alb nach Einleitung des Kläranlagenablaufs mit den Predict-non-effect-concentration für Resistenzselektion (PNEC-R) sowie den Umweltqualitätsstandards (UQS). Risikoquotienten wurden berechnet nach Formel C.4 und C.5.	212
C.3	Einteilung der ARGs der Wasser- und Sedimentphase in drei Gruppen	215

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung	Einheit
AB	Antibiotikum	
ABs	Antibiotika	
ACE	Aceton	
ACN	Acetonitril	
AR	Antibiotikaresistenzen	
ARGs	Antibiotikaresistenzgene	
ARB	Antibiotikaresistente Bakterien	
ASE [©]	Accelerated Solvent Extraction [©]	
ATC	Anatomisch-Therapeutisch-Chemische Klassifikation, engl. Anatomical Therapeutic Chemical	
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit	
CDC	Clindamycin	
CFC	Ciprofloxacin	
CSB	chemischer Sauerstoffbedarf	mg L ⁻¹
CTC	Chlortetracyclin	
CTM	Clarithromycin	
DDD	definierte Tagesdosen, Einheit des Verbrauchs von Medikamenten, engl. Defined Daily Doses	
DDD 1000 EW ⁻¹ d ⁻¹	Einheit für die Angabe des Verbrauchs an AB durch die ECDC	
DNA	Desoxyribonukleinsäure	

Abkürzung	Bedeutung	Einheit
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff, engl. Dissolved Organic Carbon	mg L ⁻¹
DXC	Doxycyclin	
ECDC	Europäisches Zentrum für Prävention und Kontrolle von Krankheiten, engl. European Center for Disease prevention and Control	
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	
EFC	Enrofloxacin	
EMA	Europäische Arzneimittel-Agentur, engl. European Medicines Agency	
ETM	Erythromycin	
EtOAc	Ethylacetat	
EW	Einwohner	
FQ	Fluorchinolone	
HCl	Salzsäure	
HLB	Umkehrphasen-Adsorbens mit hydrophilen-lipophilen Anteilen, engl. Hydrophilic-Lipophilic Balanced sorbent	
HT-qPCR	Hochdurchsatz-quantitative- Polymerasenkettenreaktion, engl. High-Throughput Quantitative real-time Polymerase Chain Reaction	
ICP-OES	induktiv gekoppeltes Plasma Emissionsspektrometer, engl. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer	
ICP-MS	induktiv gekoppeltes Plasma Massenspektrometrie, engl. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry	
KAK	Kationenaustauschkapazität, c in der Einheit steht für Kationen	mmolc kg ⁻¹

Abkürzung	Bedeutung	Einheit
LC	Flüssigkeitschromatographie, engl. Liquid Chromtography	
MAX	Anionenaustauscher Adsorbens, engl. Mixed-mode Anion eXchange	
MC	Makrolide	
MCX	Kationenaustauscher Adsorbens engl. Mixed-mode Cation eXChange	
MeOH	Methanol	
MIC	minimale Hemmkonzentration, engl. Minimal Inhibitory Concentration	$\mu\text{g kg}^{-1}$
MS	Massenspektrometer	
MS/MS	Tandem-Massenspektrometer	
MSC	minimale Konzentration zur Selektion, engl. Minimal Selective Concentration	$\mu\text{g kg}^{-1}$
NFC	Norfloxacin	
NH ₄ OH	Ammoniumhydroxid	
NO ₃ ⁻ – N	Nitrat-Stickstoff	mg L^{-1}
OCT	Oxytetracyclin	
OFC	Ofloxacin	
PLE	beschleunigte Lösungsmittlextraktion, engl. Pressurized Liquid Extraction	
PNEC	vorausgesagte Konzentration eines Stoffes in der Umwelt ohne beobachtete Wirkung, engl. Predicted Non-Effect Concentration	$\mu\text{g L}^{-1}$
PNEC-R	PNEC-Wert zur Selektion von Antibiotikaresistenzen	$\mu\text{g L}^{-1}$
PO ₄ ³⁻ – P	Phosphat-Phosphor	mg L^{-1}
QuEChERS	schnell, einfach, kostengünstig, effektiv, robust und sicher dispersive Festphasenextraktion, engl. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe extraction	
RQ	Risikoquotient	

Abkürzung	Bedeutung	Einheit
RR	relatives Signalverhältnis/Signalantwort, engl. Relative Response	
RTM	Roxythromycin	
SA	Sulfonamide	
SDZ	Sulfadiazin	
SDM	Sulfadimethoxin	
SMZ	Sulfamethazin	
SMX	Sulfamethoxazol	
SPE	Festphasenextraktion, engl. Solid Phase Extraction	
SPD	Sulfapyridin	
TC	gesamter Kohlenstoff, engl. Total Carbon	mg L ⁻¹
TCT	Tetracyclin	
TIC	gesamt anorganischer Kohlenstoff, engl. Total Inorganic Carbon	mg L ⁻¹
TMP	Trimethoprim	
TN	gesamt Stickstoff, engl. Total Nitrogen	mg L ⁻¹
TOC	gesamter organischer Kohlenstoff, engl. Total Organic Carbon	mg L ⁻¹
TSS	abfiltrierbare Feststoffe, engl. Total Suspendend Solids	mg L ⁻¹
UQN	Umweltqualitätsnormen	µg L ⁻¹
UQS	Umweltqualitätsstandards	µg L ⁻¹
WIÖ	Wissenschaftliches Institut der AOK	
WHO	Weltgesundheitsorganisation, engl. World Health Organisation	
λ _{max}	Absorptionsmaximum	nm

Verzeichnis der Formelzeichen

Formelzeichen	Bedeutung	Einheit
β	Massenkonzentration	ng L^{-1} , $\mu\text{g L}^{-1}$
CV	Variationskoeffizient	%
F(W)	Faktor für die Probenvorbereitung der Wasserproben	
F(Sed)	Faktor für die Probenvorbereitung der Sedimentproben	
F(Sur)	Korrekturfaktor berechnet durch die Surrogate	
k	Geschwindigkeitskonstante	d^{-1}
K_{id}	Verteilungskoeffizient zwischen der Fest- und Flüssigphase	L kg^{-1}
K_{ow}	Verteilungskoeffizient zwischen n-Octanol und Wasser	
LOD	Nachweisgrenze, engl. Limit Of Detection	ng L^{-1} , $\mu\text{g kg}^{-1}$
LOQ	Bestimmungsgrenze, engl. Limit Of Quantification	ng L^{-1} , $\mu\text{g kg}^{-1}$
m	Masse	g
M	Molare Masse	g mol^{-1}
MLOD	Nachweisgrenze der Methode, engl. Method Limit Of Detection	ng L^{-1} , $\mu\text{g kg}^{-1}$
MLOQ	Bestimmungsgrenze der Methode, engl. Method Limit Of Quantification	ng L^{-1} , $\mu\text{g kg}^{-1}$
s	Standardabweichung für k	d^{-1}
t	Zeit	Min, s
$t_{1/2}$	Halbwertszeit	d

Formelzeichen	Bedeutung	Einheit
V	Volumen	L
w	Massenanteil	$\mu\text{g kg}^{-1}$
WFR(n)	Wiederfindungsrate, Wiederfindungsraten	%

Zusammenfassung

Antibiotika (ABs) werden in der Human- und Veterinärmedizin zur Behandlung von bakterieller Infektionen eingesetzt. Eines der drängendsten Probleme, das derzeit im Zusammenhang mit ABs diskutiert wird, sind Antibiotikaresistenzen (ARs). In den letzten Jahren ist die Verbreitung von ARs insbesondere durch die aquatische Umwelt zunehmend in den Fokus der Forschung gerückt. Unter anderem gelangen ABs durch behandeltes Abwasser in die aquatische Umwelt (Flüsse oder Seen). Ziel der Dissertation war die Untersuchung des Umweltverhaltens und des Verbleibs von 19 ABs, die den Klassen der Fluorchinolone, Makrolide, Sulfonamide und Tetracyclinen angehören. Ein Schwerpunkt lag dabei auf der Sedimentphase von Flüssen, die als Senke für anthropogene Spurenstoffe fungieren.

Im ersten Teil der Dissertation wurde eine analytische Methode zur präzisen und simultanen Bestimmung von 19 ABs in der Sediment- und Wasserphase entwickelt. Zur Extraktion der ABs aus dem Sediment wurde die beschleunigte Lösungsmittlextraktion verwendet. Anschließend erfolgte eine Aufreinigung mittels Festphasenextraktion. Zur Bestimmung der ABs wurde die Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit der Massenspektrometrie eingesetzt. Dieses ermöglichte, auch sehr geringe Konzentrationen an ABs zu bestimmen (im ng L^{-1} -Bereich). Verschiedene wässrige und organische Lösungsmittel wurden während der Methodenentwicklung getestet. Dabei wurde das Extraktionsverhalten der ABs durch ihre chemisch-physikalischen Eigenschaften, z. B. den $\log(K_{\text{OW}})$ -Wert, beeinflusst. Dieser Wert gibt an, wie hydrophil (wasserliebend) oder hydrophob (wasserabweisend) ein Stoff ist. Die untersuchten ABs weisen $\log(K_{\text{OW}})$ -Werte im Bereich von -1,37 bis 3,16 auf. Die hydrophilen ABs ($\log(K_{\text{OW}})$ -Wert kleiner als Null) waren im Allgemeinen schwieriger zu extrahieren als hydrophobe ABs ($\log(K_{\text{OW}})$ -Wert größer als Null).

Um das Verhalten der ABs in der aquatischen Umwelt zu untersuchen, wurde im zweiten Teil der Arbeit eine Mesokosmos-Studie durchgeführt. Dabei wurden die Bedingungen im Fluss im Labor mit Säulenversuchen (Sediment und Wasser) nachgestellt. Folgende Prozesse wurden be-

trachtet: Adsorption am Flusssediment, biologischer Abbau durch Mikroorganismen, Reaktion mit Wasser (Hydrolyse) und Zersetzung durch Sonnenlicht (Photoabbau). Mit dem gewählten Aufbau konnte unter kontrollierbaren Laborbedingungen, aber gleichzeitig umweltnahen Gegebenheiten, das Verhalten der ABs bestimmt werden. ABs derselben Klasse wiesen ein ähnliches Verhalten auf. Ihr Verhalten konnte auf ihre chemisch-physikalischen Eigenschaften zurück geführt werden (K_d -Werte für die Adsorptionsaffinität, $\log(K_{OW})$ -Wert für die Löslichkeit und Absorptionsmaximum für den Photoabbau). Der Verbleib der Fluorchinolone und Tetracycline (hohe K_d -Werte) wurde maßgeblich durch die Adsorption bestimmt (46 bis 80 %). Die Konzentration der Fluorchinolone und Tetracycline nahm in der Wasserphase schnell ab und sie persistierten nicht. Der Hauptprozess für die Sulfonamide (geringe K_d -Werte) war der biologische Abbau (50 bis 65 %), der jedoch sehr langsam ablief. Die Makrolide wurden von keinem der vier Prozesse abgebaut und persistierten, wie die Sulfonamide, in der Wasserphase.

Im letzten Teil der Arbeit wurde am lokalen Fluss Alb in Karlsruhe die Konzentration an ABs in der Wasser- und Sedimentphase vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs in den Fluss bestimmt. Durch die Anwendung der im ersten Teil entwickelten analytischen Methode wurden neun ABs von 19 möglichen im Konzentrationsbereich von 1,6 bis 396,3 ng L^{-1} im Kläranlagenablauf quantifiziert. Für das Oberflächenwasser nach Einleitung des Kläranlagenablaufs lagen die Konzentration bei 0,5 bis 134,9 ng L^{-1} . In den Sedimentproben wurden sechs der neun ABs aus der Wasserphase im unteren Mikrogramm je Kilogramm Bereich quantifiziert (0,07 bis 21,92 $\mu\text{g kg}^{-1}$ bezogen auf die Trockenmasse des Sediments). Durch die Feldstudie konnte der anthropogene Eintrag von ABs und Antibiotikaresistenzgenen in die aquatische Umwelt (Wasser- und Sedimentphase) verdeutlicht werden.

Die Kombination der Ergebnisse aus der Mesokosmosstudie und der Feldstudie zeigten, dass die chemisch-physikalischen Eigenschaften sowie die Struktur der ABs ihr Verhalten und Verbleib in der aquatischen Umwelt bestimmten. Mit dem $\log(K_{OW})$ -Wert, $\text{p}K_S$ -Wert, K_d -Wert und dem Absorptionsmaxima konnte das Verhalten der ABs begründet werden.

Abstract

Antibiotics (ABs) are antibacterial agents applied in human and veterinary medicine. At the moment, one of the most urgent problem discussed in the context of ABs is antibiotic resistance (AR). Effluents of waste water treatment plants has been recognized as the main anthropogenic source for ABs and antibiotic resistance genes (ARGs) in the aquatic environment (river and sediment phase). Despite years of studies, the role of the environment in the context of dissemination of AR is still not fully understood.

The objective of this thesis was the investigation of the behaviour and fate of 19 ABs between the water sediment interface belonging to the fluoroquinolones, macrolides, sulfonamides and tetracyclines. One focus was the sediment phase of the river because sediments can act as a sink for anthropogenic micropollutants.

In the first part of the thesis, an analytical method for the precise and simultaneous determination of 19 ABs in river sediment and surface water was developed. ABs were extracted by pressurized liquid extraction and further enriched and cleaned-up by solid phase extraction. The ABs were quantified with liquid chromatography coupled to mass spectrometer. With this method, it was possible to determine also very low concentration of ABs (low ng L⁻¹-range). Different solvents were tested to extract the ABs from the river sediment. Thereby a strong influence of the chemical-physical properties e.g. log(K_{OW}) value of the ABs on the extraction recovery was shown. This value defines how hydrophilic (water-miscible) or hydrophobic (water repellent) a compound is. The log(K_{OW}) value of the studied ABs ranged from -1,37 to 3,16. Hydrophilic ABs, with log(K_{OW}) values below zero, yielded lower recoveries than hydrophobic ABs, with log(K_{OW}) larger than zero. The extraction of the hydrophilic ABs was in general more difficult compared to the hydrophobic ABs.

In the second part of the thesis, a laboratory scale mesocosm experiment was conducted. The goal was to evaluate the contribution of adsorption to river sediment, biodegradation, reaction with water (hydrolysis) and degradation through sunlight (photodegradation) to the overall

attenuation of the ABs. The condition in the river were simulated in the laboratory with a column experiment (containing river sediment and water). With the set-up, it was possible to study the behavior of the ABs in a reproducible and environmentally plausible way. The results underline that ABs from the same class behaved similar. Furthermore, the behavior of the ABs was related to their physical-chemical properties (K_d values, $\log(K_{OW})$ values, absorption maxima). For ABs with high K_d values (fluoroquinolones and tetracyclines) adsorption was the main attenuation process (44,4 to 80,0 %). Their concentration declined fast in the water phase and therefore they were classified as non-persistent. For ABs with lower K_d values (sulfonamides) biodegradation had a higher contribution. But the process was slow and the ABs persisted in the water phase. The macrolides were not affected by studied processes and persisted in the water phase.

In the last part of the thesis the concentration of ABs in surface water and river sediments were quantified in the local river Alb (Karlsruhe) before and after the effluent of the waste water treatment plant was discharged into the river. For this field study the analytical method developed in the first part was applied. From 19 ABs nine were quantified in the river water after the release of the effluent. The ABs concentration in the effluent ranged from 1,6 to 396,3 ng L^{-1} . After the discharge of the treated waste water the concentration in the surface water was in the range of 0,5 to 134,9 ng L^{-1} . In the sediment phase six from the nine ABs, quantified in the water phase, were also determined. The concentration was in the lower $\mu\text{g kg}^{-1}$ range (0,07 to 21,92 $\mu\text{g kg}^{-1}$, related to the dried mass of the sediment).

The results from the mesocosm study and the field study showed that behaviour and fate of the ABs depend on their chemical-physical properties and chemical structures. With the help of the $\log(K_{OW})$ value, pK_A value, K_d value and absorption maxima the behaviour of the ABs were established.

Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank Prof. Dr. Harald Horn für die Möglichkeit am Engler-Bunte-Institut, Wasserchemie und Wassertechnologie meine Dissertation anzufertigen. An der Zusammenarbeit schätze ich seine stets kompetente und umgehende Rückmeldung bei Anfragen oder Anliegen.

Ein weiterer Dank geht an Prof. Dr. Stefan Stolte von der Technischen Universität Dresden für die Bereiterklärung, das Zweitgutachten zu übernehmen.

Ein großer Dank gebührt Dr. Ewa Borowska für die intensive Betreuung und Begleitung meines Promotionsthema und ihre stets konstruktiven Anregungen und Korrekturvorschläge dazu.

Bei Dr. Gudrun Abbt-Braun möchte ich mich für die Hilfe bei allen finanziellen und verwaltungstechnischen Anliegen rund um das Forschungsprojekt bedanken.

Desweiteren geht mein Dank an Rafael Peschke für die Unterstützung bei gerätetechnischen Probleme mit dem LC-MS/MS und an Ulrich Reichert für die tatkräftige Mithilfe bei den Probenahmen an der Alb.

Ich danke Blerta Thaqi, Daniel Barajas und Nicolette Landwehr für ihre sehr guten praktischen Arbeiten im Labor und schriftlichen Abschlussarbeiten, die zum Guten gelingen des Forschungsprojekts besonders beigetragen haben.

Für den fachlich-konstruktiven Austausch und die gemeinsame Zeit am Engler-Bunte-Institut gilt mein Dank den anderen Doktorandinnen und Doktoranden, mit denen ich zusammenarbeiten durfte. Ich danke allen weiteren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Engler-Bunte-Institut, Wasserchemie und Wassertechnologie für die angenehme Arbeitsatmosphäre und Hilfsbereitschaft. Ein besonderer Dank geht hierbei an Giorgio Pratofiorito für die gemeinsame Zeit im Büro und an Stephan Zimmermann für die Unterstützung bei allen Problemen und Tätigkeiten rund um die Spurenstoffanalytik mit dem LC-MS/MS.

Dem Werkstatt-Team des Engler-Bunte-Institut danke ich für die schnelle Anfertigung von Bauteilen und unkomplizierte Hilfe bei Problemen mit den Versuchsständen. Dr. Andre Velescu und der Arbeitsgruppe Geomorphologie und Bodenkunde des Instituts für Geographie und Geoökologie danke ich für die Bereitstellung des Zugangs zur ASE. Sylvia Heck und Ursula Schäfer danke ich für die Hilfe bei Anliegen rund um Bestellungen und der Verwaltung des KITs.

Für die finanzielle Förderung des Forschungsprojekts im Rahmen des Eliteprogramms für Postdoktorand/innen danke ich der Baden-Württemberg Stiftung.

Letztlich gilt mein Dank meinen Eltern und Schwestern für die mentale Unterstützung während der Promotion und der schriftlichen Ausarbeitung der Dissertation. Besonders danke ich meiner Mutter für das Korrekturlesen der Dissertation.

1. Einleitung und theoretische Grundlagen

1.1 Einteilung, Eigenschaften und Verbrauch von Antibiotika

1.1.1 Definition von Antibiotika

Antibiotika (ABs) werden zur Behandlung von bakteriellen Infektionen in der Human- und Veterinärmedizin verschrieben. Ihre Entdeckung im 20. Jahrhundert revolutionierte die Medizin, da dadurch bakterielle Krankheiten wie z. B. Tuberkulose, Syphilis oder Wundinfektionen behandelt werden konnten (Lewis 2013; Wright 2010). Außerdem wurden durch den Einsatz von ABs chirurgische Eingriffe, Chemotherapien und Organ-Plantationen erst möglich (Brown u. a. 2016; Lewis 2020; Wright 2010). Somit stellen ABs durch ihren großen Nutzen für die Human- und Veterinärmedizin eine der wichtigsten Gruppen innerhalb der Pharmazeutika dar.

Antibiotika sind Naturstoffe, die durch Bakterien, Pilze, Flechten oder Moose synthetisiert werden und toxisch gegenüber Bakterien wirken (Etebu u. a. 2016; Küster u. a. 2013). Die halb- bzw. vollsynthetisch hergestellten Moleküle mit gleicher Wirkung werden hingegen als Antiinfektiva oder antibakterielle Chemotherapeutika bezeichnet (Küster u. a. 2013). Diese Unterscheidung wird in dieser Arbeit aber nicht verwendet und der Begriff ABs umfasst sowohl die Naturstoffe als auch die synthetischen ABs. Die Wirkung der ABs richtet sich nur gegen Bakterien und nicht gegen Viren (Küster u. a. 2013). Dabei werden die Wirkungsmechanismen bakterizid und bakteriostatisch unterschieden. Bakterizide ABs töten die Bakterien vollstän-

dig ab, in dem essentielle Strukturen im Bakterium, z. B. die Zellwand, geschädigt werden. Bakteriostatische ABs hemmen hingegen das Wachstum der Bakterien. Die Elimination der Bakterien geschieht dann durch das körpereigene Abwehrsystem (Grenni u. a. 2018; Küster u. a. 2013).

1.1.2 K_{OW} -Wert und K_d -Wert

Zur Bewertung und Abschätzung des Umweltverhaltens von organischen Spurenstoffen in der aquatischen Umwelt wurde und wird der K_{OW} -Wert bzw. $\log(K_{OW})$ -Wert verwendet. Er ist der Verteilungskoeffizient eines Stoffes zwischen den Phasen n-Octanol (o) und Wasser (w). Nach Formel 1.1 wird der K_{OW} -Wert als Quotient aus der Konzentration des Stoffes in n-Octanol ($c_{Octanol}$) und Wasser (c_{Wasser}) berechnet (Schwarzenbach u. a. 2003). In der Literatur wird im allgemeinen der logarithmierte Wert als $\log(K_{OW})$ -Wert angegeben.

$$K_{OW} = \frac{c_{Octanol}}{c_{Wasser}} \quad (1.1)$$

Ein negativer $\log(K_{OW})$ -Wert deutet auf ein lipophobes, hydrophiles und polares Verhalten des Moleküls hin. Ein positiver $\log(K_{OW})$ -Wert beschreibt ein Molekül als lipophil, hydrophob und unpolar. Das Verhalten von neutralen organischen Molekülen in der aquatischen Umwelt z. B. zwischen der wässrigen Phase und dem Sediment/den Schwebstoffen, ist vergleichbar mit der Verteilung des Moleküls zwischen der n-Octanol- und Wasserphase. Aber auch in der analytischen Chemie, z. B. bei der Auftrennung von Stoffgemischen mittels Flüssigkeitschromatographie oder bei der Probenvorbereitung, dient der $\log(K_{OW})$ -Wert zum Abschätzen des Verhaltens der Analyten (Schwarzenbach u. a. 2003).

Streng genommen bezieht sich der $\log(K_{OW})$ -Wert nur auf neutral geladene Moleküle. Liegt das Molekül hingegen als Ion vor, wird der D-Wert verwendet. Der D-Wert bezieht bei der Berechnung den pK_S -Wert des Moleküls mit ein (Wegst-Uhrich u. a. 2014). Die Unterscheidung zwischen K_{OW} - und D-Wert ist in der Literatur nicht konsequent, wie van Doorslaer u. a. für die Fluorchinolone betonten (Van Doorslaer u. a. 2014).

Die meisten ABs weisen pK_S -Werte im Bereich des pH-Werts von Böden oder Sedimenten auf (siehe Tabelle 1.1). Folglich können diese Moleküle deprotoniert oder protoniert vorliegen (Tolls 2001). Beim K_{OW} -Wert werden jedoch nur hydrophobe Wechselwirkungen beachtet. Geladene organische Moleküle können aber über weitere Wechselwirkungen mit der Oberfläche von Böden und Sedimenten interagieren, z. B. über elektrostatische Anziehungskräfte.

te, Oberflächenkomplexierung, Wasserstoffbrückenbindungen ect. Diese Interaktionen hängen entsprechend von der Zusammensetzung und Eigenschaften des Bodens bzw. des Sediments ab. Folglich ist das Abschätzen des Adsorptionsverhaltens von geladenen Molekülen mit dem $\log(K_{OW})$ -Wert alleine nicht möglich (Tolls 2001; Wegst-Uhrich u. a. 2014). Da die ABs mehrere pK_S -Werte aufweisen, ist ihr Umweltverhalten (Mobilität und Verbleib) nur begrenzt mit dem $\log(K_{OW})$ -Wert zu erklären. Als weiterer Parameter bietet sich der K_d -Wert an.

Der K_d -Wert ist der Verteilungskoeffizient eines Stoffes zwischen der Feststoffphase (Boden, Sediment, Schlamm) und der flüssigen/wässrigen Phase. Er beschreibt damit das Adsorptionspotenzial dieses Stoffes gegenüber der entsprechenden Matrix (Schwarzenbach u. a. 2003; Wegst-Uhrich u. a. 2014). Formel 1.2 definiert den K_d -Wert als Verhältnis der Konzentrationen des Stoffes i in der festen (c_{is}) und flüssigen Phase (c_{iw}) (Einheit $L\ kg^{-1}$) (Schwarzenbach u. a. 2003; Tolls 2001).

$$K_{id} = \frac{c_{is}}{c_{iw}} \left[\frac{L}{kg} \right] \quad (1.2)$$

Voraussetzungen für die Bestimmung des K_d -Werts ist eine Gleichgewichtseinstellung zwischen beiden Phasen, die reversibel ablaufende Adsorption des Stoffes und eine präzise und genaue Bestimmung der Konzentration des Stoffes in beiden Phasen (fest und flüssig). Nur so kann die Massenbilanz gewährleistet werden. Bei der experimentellen Bestimmung des K_d -Werts werden häufig hohe Konzentrationen verwendet, die nicht vergleichbar sind mit den erwarteten Umweltkonzentrationen. Somit ist zwar keine aufwendige Probenvorbereitung notwendig, aber Anomalien können auftreten (Wegst-Uhrich u. a. 2014).

1.1.3 Antibiotikaklassen und ihre Eigenschaften

Die ABs werden nach ihrer chemischen Struktur in Klassen unterteilt. Im Folgenden werden die für diese Arbeit relevanten sechs ABs-Klassen und ihre Eigenschaften vorgestellt. Die Strukturformeln der untersuchten ABs befinden sich im Anhang (siehe Abbildungen A.1 bis A.19). Tabelle 1.1 gibt einen Überblick über die chemisch-physikalischen Eigenschaften der ABs.

Tabelle 1.1: Chemisch-physikalische Eigenschaften der ABs, Verteilungskoeffizient zwischen der Wasser- und Sedimentphase als Indikator für die Adsorptionsaffinität (K_d -Wert), Absorptionsmaximum (λ_{\max}). Tabelle adaptiert nach (Chabilan u. a. 2023).

ABs-Klasse	ABs	Abk.	M [g mol ⁻¹]	pK _S - Werte	Log(K _{OW})	K _d [L kg ⁻¹]	λ_{\max} [nm]
FQ	Ciprofloxacin	CFC	331,3	6,09; 8,74 ^[b]	0,28 ^[b]	427 ^[g] ; 794 – 18620 ^[h]	277; 316; 331 ^[l]
	Enrofloxacin	EFC	359,4	6,27; 8,30 ^[a]	0,70 ^[a]	260 – 5612 ^[g]	270; 314 ^[m]
	Norfloxacin	NFC	319,3	6,23; 8,55 ^[a]	-1,03 ^[b]	30 – 75 ^[h] ; 293 – 12821 ^[f]	276; 315 ^[r]
	Ofloxacin	OFC	347,3	5,97; 8,28 ^[a]	-0,39 ^[b]	309 ^[g] ; 2982 ^[h] ; 128 – 4412 ^[f]	293; 326 ^[r]
MC	Erythromycin	ETM	734,0	8,88 ^[b]	3,06 ^[d]	211 – 1049 ^[f]	280 ^[j]
	Roxythromycin	RTM	837,0	9,17 ^[d]	1,70 ^[b]	211 – 1557 ^[f]	199 ^[p]
	Clarithromycin	CTM	748,0	8,99 ^[b]	3,16 ^[b]		
SA	Sulfadiazin	SDZ	250,3	6,36 ^[b]	-0,09 ^[b]	1,4 – 2,8 ^[e,g]	215; 260 ^[j]
	Sulfadimethoxin	SDM	310,3	2,50 ^[c] ; 5,94 ^[c]	1,63 ^[b]	2,3 – 4,6 ^[e]	265 ^[o]
	Sulfamethazin	SMZ	278,3	2,65; 7,24 ^[c]	0,89 ^[b]	0,6 – 3,2 ^[e,g] 46 – 97 ^[f]	241 ^[k]
	Sulfamethoxazol	SMX	252,2	1,60; 5,70 ^[b]	0,89 ^[b]	22 – 105 ^[f]	267 ^[n]

ABs-Klasse	ABs	Abk.	M [g mol ⁻¹]	pK _S - Werte	Log(K _{OW})	K _d [L kg ⁻¹]	λ _{max} [nm]				
	Sulfapyridin	SPD	249,3	8,43 ^[b]	0,35 ^[b]	1,6 – 7,4 ^[e,g]	246; 266 ^[j]				
TC	Oxytetracyclin	OCT	460,4	3,27; 7,32; 9,11 ^[a]	-0,90 ^[a]	417 – 1026 ^[g] 306 – 2610 ^[f]	269; 354 ^[q]				
				Chlortetracyclin		CTC	478,9	3,30; 7,44; 9,27 ^[a]	-0,62 ^[a]	1280 – 2386 ^[g]	275; 367 ^[q]
								Tetracyclin		TCT	444,4
	Doxycyclin	DXC	444,4	3,50; 7,70; 9,70 ^[a]	-0,02 ^[a]	1044 – 2056 ^[f]	274; 345 ^[q]				
Andere	Trimethoprim	TMP	290,3	7,12 ^[c]	0,91 ^[b]	15 – 286 ^[i]	245; 270 ^[s]				
	Clindamycin	CDC	425,0	7,79 ^[b]	2,16 ^[b]						

[a] (Salvia u. a. 2015), [b] (PubChem 2022), [c] (*ChemicalBook—Chemical Search Engine* 2022), [d] (MacLeod u. a. 2007), [e] (Bavumiragira u. a. 2022), [f] (Harrower u. a. 2021) Werte aus dieser Quelle sind pseudo-Sedimente-Wasser-Koeffizient, [g] (Zhou u. a. 2011) K_d beziehen sich auf verschiedene Bodenfraktionen wie Ton oder Sand, [h] (Van Doorslaer u. a. 2014), [i] (Massey u. a. 2010), [j] (PubChem 2022), [k] (Nassar u. a. 2017), [l] (Tozar u. a. 2021), [m] (Lizondo u. a. 1997), [n] (Almandoz u. a. 2014), [o] (Liang u. a. 2017), [p] (Li u. a. 2009), [q] (Carlotti u. a. 2010), [r] (Sun u. a. 2011), [s] (Goodarzi u. a. 2009)

Fluorchinolone

Das chemische Grundgerüst besteht aus 4-Hydroxychinolin mit einer Carbonsäuregruppe an C 3 und mindestens ein Fluor-Atom an C 7. Durch die Einführung unterschiedlicher funktioneller Gruppen an den Positionen R1, R2 sowie am sekundären Amin (N 1) (R3) wurden neue Fluorchinolone entwickelt (siehe Abbildung 1.1). Dadurch konnte das Wirkungsspektrum erweitert werden (Van Doorslaer u. a. 2014). Da die Fluorchinolone unterschiedliche funktionelle Gruppen aufweisen (Carbonsäure und sekundäres Amin), besitzen sie mindestens zwei pK_S -Werte im Bereich von 5,97 bis 8,74 (siehe Tabelle 1.1). Die Zuordnung der pK_S -Werte ist in Abbildung 1.1 zu sehen. Fluorchinolone besitzen deswegen einen amphoteren Charakter und können Zwitterionen ausbilden. Ihre $\log(K_{OW})$ -Werte befinden sich im Bereich von -1,03 bis 0,70 (siehe Tabelle 1.1) und charakterisieren sie als hydrophil, lipophob und polar. Die hohen K_d -Werte ($30 - 18620 \text{ L kg}^{-1}$, siehe Tabelle 1.1, bestimmt für Sedimentproben) weisen auf eine starke Adsorptionsaffinität hin und folglich eine geringe Mobilität im Sediment bzw. Boden (Riaz u. a. 2018; Van Doorslaer u. a. 2014). Fluorchinolone hemmen die Desoxyribonukleinsäure (DNA) bzw. Ribonukleinsäure (RNA)-Synthese im Bakterium und wirken bakterizid (Brown u. a. 2016; Lewis 2013). Ciprofloxacin, Norfloxacin und Ofloxacin werden in der Humanmedizin gegen Infektionen im Atmungs- und Verdauungstrakt verschrieben. Enrofloxacin wird nur in der Veterinärmedizin eingesetzt (Etebu u. a. 2016; Küster u. a. 2013; Van Doorslaer u. a. 2014)

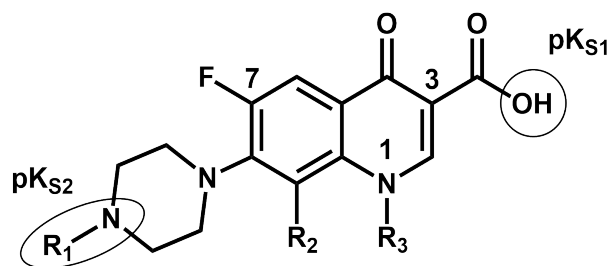


Abbildung 1.1: Chemische Grundstruktur der Fluorchinolone. Zahlen dienen zur Nummerierung der Atome. R1 bis R3 bezeichnen unterschiedliche funktionelle Gruppen. Ausführliche Strukturformeln sind im Anhang in Abbildung A.1 bis A.4 dargestellt.

Lincosamide

Die beiden wichtigsten Vertreter sind Lincomycin und Clindamycin. Die Struktur ist in Abbildung A.18 im Anhang abgebildet. Basierend auf den $\log(K_{OW})$ -Werten kann Clindamycin als hydrophob und lipophil klassifiziert werden. Ein K_d -Wert ist nicht verfügbar. Wünnemann

u. a. leiteten von berechneten K_{OC} -Werten (K_d -Wert, bei dem die organische Kohlenstoff-Fraktion im Sediment/Boden einbezogen wird) eine geringe Neigung zur Adsorption ab. Der bakteriostatische Wirkungsmechanismus von Clindamycin im Bakterium besteht darin, die Proteinsynthese zu hemmen (Küster u. a. 2013; Lewis 2013). Es wird für Erkrankungen der Haut und bei Atemwegsinfektionen verschrieben (World Health Organization 2020; Wünnemann u. a. 2020).

Makrolide

Das Grundgerüst ist ein 12 bis 16-gliedriger Lacton-Ring (cyclischer Carbonsäureester), der mit einem Aminozucker und Desoxyzucker (Monosacharide, bei denen OH-Gruppen durch H-Atome ersetzt wurden) substituiert ist (siehe Abbildung 1.2) (Etebu u. a. 2016; Kolter 2015). Die Makrolide weisen von allen untersuchten ABs die höchsten molaren Massen auf ($734 - 837 \text{ g mol}^{-1}$, siehe Tabelle 1.1). Ihre pK_S -Wert liegen im basischen ($8,88 - 9,17$, siehe Tabelle 1.1). Die Makrolide sind unpolare, hydrophobe und lipophile Stoffe ($\log(K_{OW})$ -Werte $1,7 - 3,2$, siehe Tabelle 1.1). Die K_d -Werte werden in der Literatur mit 211 bis 1557 L kg^{-1} (siehe Tabelle 1.1) angegeben und deuten auf eine geringe bis hohe Adsorptionsaffinität hin (Senta u. a. 2021; Wenzel u. a. 2014). Die bakteriostatische Wirkung der Makrolide beruht auf der Hemmung der Proteinsynthese des Bakteriums (Brown u. a. 2016; Lewis 2013; Wenzel u. a. 2014). Die Makrolide finden bei Atemwegsinfektionen, Erkrankungen im Hals-, Nasen- und Ohrenbereich und bei Entzündungen am Auge (Bindehautentzündung) Anwendung (Küster u. a. 2013; Wenzel u. a. 2014).

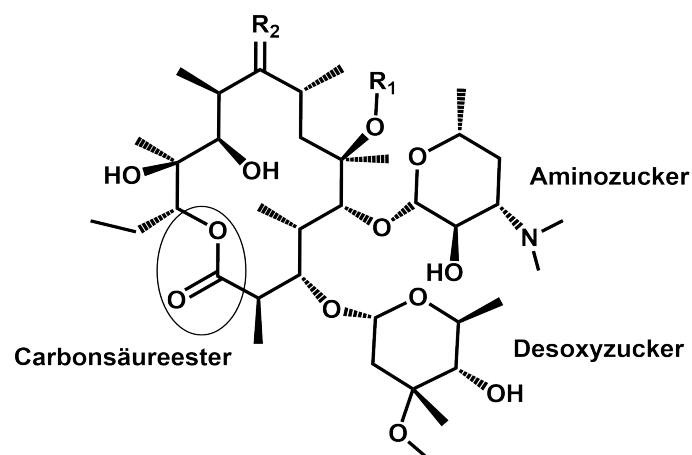


Abbildung 1.2: Grundgerüst der Makrolide. R1 und R2 beziehen sich auf unterschiedliche funktionelle Gruppen und variieren abhängig vom Makrolid. Detaillierte Strukturformeln sind in Abbildungen A.5 bis A.7 im Anhang.

Sulfonamide

Das chemische Grundgerüst ist das 4-Aminobenzensulfonamid. Durch Substitution mit unterschiedlichen Heterozyklen an der Sulfonamid-Gruppe (R_1 , siehe Abbildung 1.3) wurde eine Vielzahl an Sulfonamiden entwickelt (siehe Abbildungen A.8 bis A.12 im Anhang). Im Vergleich zu den anderen ABs-Klassen dieser Arbeit stammen die Sulfonamide nicht von Naturstoffen ab, sondern wurden synthetisch entwickelt. Sie besitzen geringe molare Massen mit 249,3 bis 310,33 g mol^{-1} (siehe Tabelle 1.1) als die anderen ABs-Klassen. Die Zuordnung des pK_{S1} - (1,6 – 2,7) und pK_{S2} -Werts (4,5 – 8,4) sind Abbildung 1.3 zu entnehmen. Folglich weisen die Sulfonamide auch einen amphoteren Charakter auf (Qiang u. a. 2004). Ihre $\log(K_{\text{OW}})$ -Werte reichen von -0,09 bis 1,63 (Tabelle 1.1). Dadurch charakterisieren sich die Sulfonamide als polar, hydrophil und lipophob. Die K_d -Werte der Sulfonamide für Sedimente liegen bei 0,6 bis 105 L kg^{-1} bzw. für Böden bei 0,6 bis 7,4 L kg^{-1} (siehe Tabelle 1.1). Im Vergleich zu den Fluorchinolonen sind die K_d -Werte kleiner (0,6 – 105 L kg^{-1} im Vergleich zu 30 – 18620 L kg^{-1} , siehe Tabelle 1.1) und weisen auf eine geringe Adsorptionsaffinität hin. Die Sulfonamide werden häufig in Kombination mit Trimethoprim als Medikament vermarktet (z. B. Co-Trimoxazol, Co-Trifamol). Dadurch können synergetische Effekte genutzt werden, da beide ABs die Synthese der Folsäure in Bakterien hemmen. Jedoch zielen sie auf unterschiedliche Abschnitte in der Synthese der Bakterien ab (Märtlbauer 2011a; Märtlbauer 2011c). Sulfonamide wirken bakteriostatisch und werden gegen Protozoen (Einzeller wie Amöben, Geißeltierchen) angewendet. Beim Menschen wird Sulfamethoxazol gegen Harnwegsinfektionen, chronische Bronchitis und Mittelohrentzündung verabreicht (Märtlbauer 2011a).

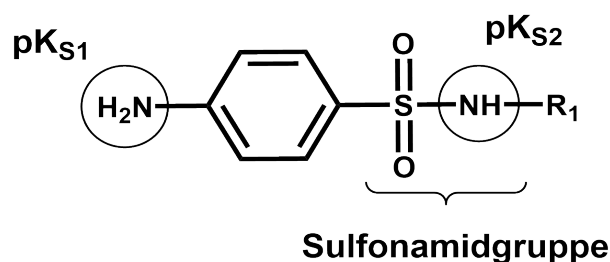


Abbildung 1.3: Grundgerüst der Sulfonamide. R_1 bezieht sich auf unterschiedliche funktionelle Gruppen und variiert abhängig vom Sulfonamid. R_1 ist für die untersuchten Sulfonamide in den Abbildungen A.8 bis A.12 im Anhang dargestellt.

Tetracycline

Das chemische Grundgerüst besteht aus vier aromatischen Benzolringen (A bis D) und geht auf die Naphthacen Struktur zurück. Das Ringsystem weist eine Vielzahl an Substitutionen mit

funktionellen Gruppen wie Hydroxyl-, Amin- und Carbonyl-Gruppen auf (siehe Abbildung 1.4). Durch die Kombination an Hydroxyl-Gruppen in Nachbarschaft einer Doppelbindung sind Keto-Enol-Tautomerien möglich (siehe Abbildung A.17, Anhang). Eine weitere Besonderheit stellt die Verknüpfung der Ringe A und B des Ringsystems dar. Diese sind in einer cis-Formation verknüpft und dadurch sind die beiden Ringe abgewinkelt. Dieses Strukturmerkmal begünstigt die Komplexierung von trivalenten Kationen (Etebu u. a. 2016; Märtlbauer 2011a).

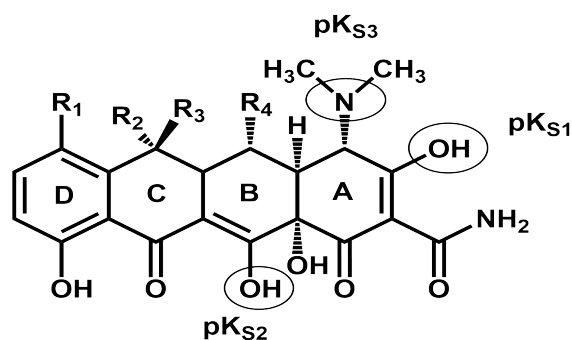


Abbildung 1.4: Chemische Grundstruktur der Tetracycline. R1 bis R4 bezeichnet funktionelle Gruppen. Für die detaillierte Struktur der Tetracycline siehe Abbildungen A.13 bis A.16 im Anhang.

Die Tetracycline weisen drei pK_S -Werte im Bereich von 3,27 bis 3,5; 7,32 bis 7,70 und 9,11 bis 9,70 auf (siehe Tabelle 1.1). Die Zuordnung der pK_S -Werte zu den funktionellen Gruppen ist in Abbildung 1.4 zusammengefasst. Die Tetracycline weisen wie die Fluorchinolone und Sulfonamide einen amphoteren Charakter auf. Wie die Fluorchinolone bilden die Tetracycline bei pH-Werten von $pK_{S1} < pH < pK_{S2}$ Zwitterionen aus. In diesem Fall gleicht sich die positive und negative Ladung aus. Die Tetracycline sind für pH-Werte $< pK_{S1}$ positiv geladen und im Fall von $pK_{S2} < pH < pK_{S3}$ bzw. $> pK_{S3}$ negativ geladen (Anderson u. a. 2005).

Alle untersuchten Tetracycline besitzen negative $\log(K_{OW})$ -Werte (-1,37 – 0,02) und sind dementsprechend polare, hydrophile und lipophobe Analyten (siehe Tabelle 1.1). Sie weisen hohe K_d -Werte im Bereich von 306 bis 2386 L kg⁻¹ auf (siehe Tabelle 1.1). Damit ist eine hohe Adsorptionsaffinität verbunden (Scaria u. a. 2021). Die Absorptionsmaxima liegen im Bereich des sichtbaren Lichtspektrums (354 – 367 nm, siehe Tabelle 1.1). Wie zuvor Clindamcin und die Makrolide, hemmen Tetracycline die Proteinsynthese im Bakterium und wirken bakteriostatisch (Brown u. a. 2016; Lewis 2013; Märtlbauer 2011b). Die Anwendung beim Menschen erfolgt gegen Infektionen des Atmungs-, Verdauungs- und Urogenitalsystems sowie gegen Malaria. Tetracycline werden aber auch in der Tiermast eingesetzt (Küster u. a. 2013; Märtlbauer 2011b).

Diaminopyrimidin

Zu den Vertretern der Diaminopyrimidin gehören Trimethoprim, Teroxoprim und Methotrexat (Märtlbauer 2011c). Im Rahmen dieser Arbeit wird nur Trimethoprim verwendet (siehe Tabelle 1.1 und Struktur im Anhang A.19). Der $\log(K_{OW})$ -Wert liegt im Grenzbereich zwischen hydrophil und hydrophob (0,91, siehe Tabelle 1.1). Der K_d -Wert fällt geringer aus als für die Fluorchinolone und Tetracycline (15 – 286 L kg⁻¹, siehe Tabelle 1.1). Wie bereits erwähnt wird Trimethoprim in Verbindung mit den Sulfonamiden verabreicht, da beide ABs-Klassen die Biosynthese der Folsäure hemmen (Märtlbauer 2011c). Anders als die Sulfonamide wirkt Trimethoprim bakterizid (Küster u. a. 2013).

Weitere Informationen zu den Antibiotika wie die Herkunft, Anwendung und Nennung auf der Überwachungsliste der Europäischen Union (EU) sind in Tabelle B.1 im Anhang zusammengefasst.

1.1.4 Verbrauch der ABs-Klassen in der Human- und Veterinärmedizin

Die Verbrauchsmenge für die zuvor beschriebenen ABs-Klassen im ambulanten Bereich (außerhalb des Krankenhauses) und die Abgabemengen in der Veterinärmedizin sind in den Abbildung 1.5 und A.20 (Anhang) zusammengefasst. In beiden Kategorien weisen die Penicilline (Unterklasse der β -Lactame) den höchsten Anteil auf (Humanmedizin 31 – 36 %, Veterinärmedizin 37 – 40 %). Für die Humanmedizin folgen dann die Makrolide (einschließlich Lincosamide und Streptogramine, 15 – 16 %) und Tetracycline (13 – 16 %). Die Gesamtsumme des Verbrauchs in Deutschland lag in den Jahren 2017 bis 2021 bei 13,7 bis 8,1 Tagesdosen (defined daily doses, DDD) pro 1000 Einwohner (EW) und Tag (DDD 1000 EW⁻¹ d⁻¹) und war damit geringer als im europäischen Vergleich (21,8 – 15 DDD 1000 EW⁻¹ d⁻¹) (ECDC 2018, 2022a). Abbildung 1.5 stellt einen Rückgang des ABs-Verbrauchs in der Humanmedizin in den letzten fünf Jahren dar. In der Veterinärmedizin sind die Anteile der Tetracycline (21 – 26 %) und Sulfonamide (8 – 11 %) an der Gesamtabgabe höher als für die Humanmedizin in Deutschland (13 – 16 % und 4 – 6 %). In der Veterinärmedizin ist ein Rückgang der Abgabemengen in den letzten fünf Jahren nicht deutlich zu erkennen (siehe Abbildung A.20, Anhang). Bei der Betrachtung der Gesamtabgabemenge von 2011 bis 2021 (1706 – 601 t) ist jedoch eine starke Abnahme zu vermerken (BVL 2022). Die für diese Arbeit ausgewählten ABs-Klassen werden sowohl in der Human- als auch Veterinärmedizin eingesetzt und von einem Eintrag in die Umwelt ist auszugehen.

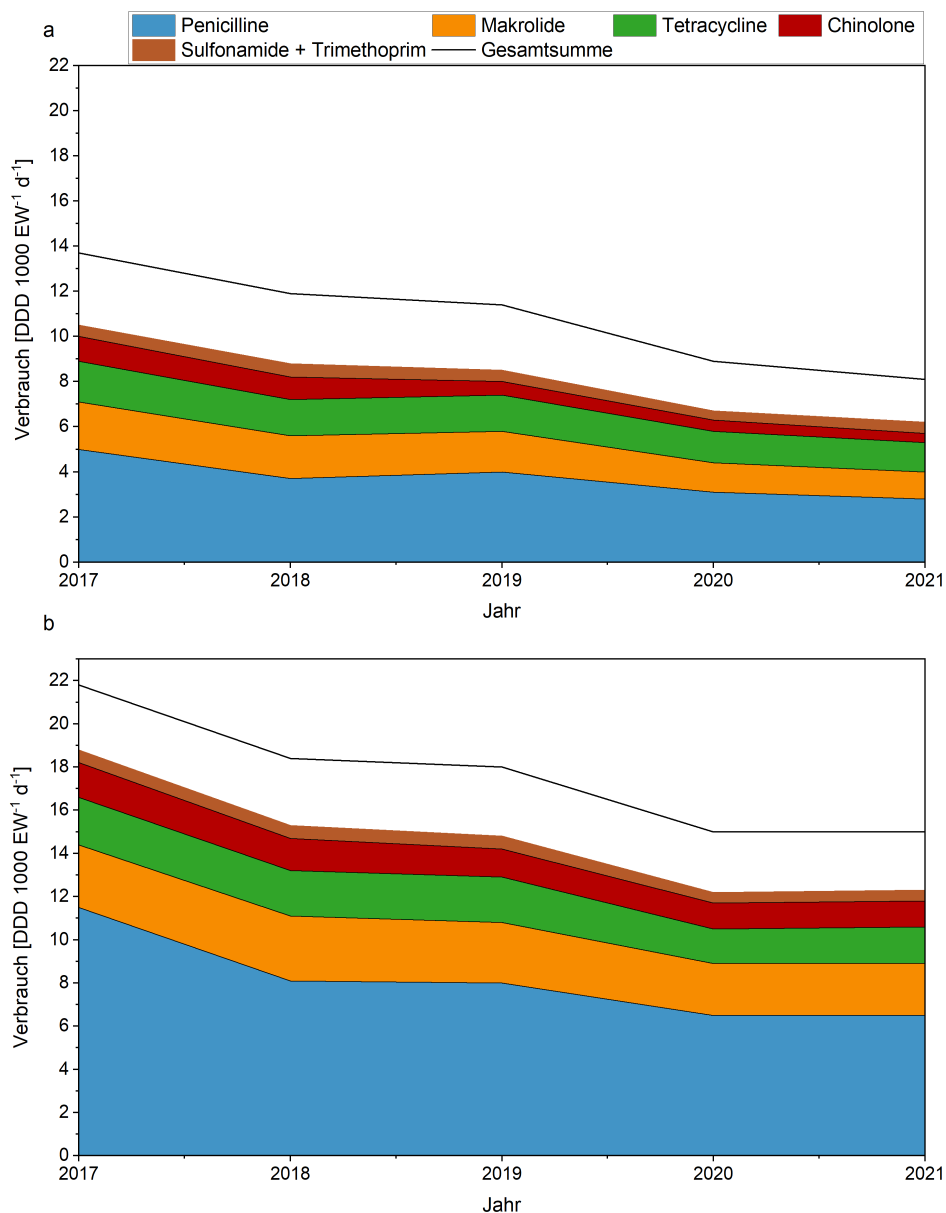


Abbildung 1.5: Verbrauch an ABs in Deutschland (a) und der Europäischen Union (b), (gewichteter Mittelwert unter Einbeziehung der Bevölkerungszahlen) im ambulanten Bereich (außerhalb des Krankenhauses) für die Jahre 2017 bis 2021. Der Verbrauch wird in Tagesdosen (defined daily doses, DDD) pro 1000 Einwohner (EW) und Tag ($\text{DDD } 1000 \text{ EW}^{-1} \text{ d}^{-1}$) angegeben. Die Einteilung der ABs erfolgt nach der Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Klassifikation, die sich von der Einteilung in dieser Arbeit unterscheidet. Die Gruppe der Makrolide umfasst ebenfalls Lincosamide und Streptogramine, die Penicilline gehören zur Gruppe der β -Lactame, werden aber in der Statistik extra erfasst. Die Gesamtsumme bezieht auch nicht dargestellte ABs-Klassen z. B. β -Lactame (Cephalosporine) oder Aminoglykoside mit ein. Daten zusammengestellt aus dem jährlichen epidemiologischen Bericht des europäischen Zentrums für Prävention und Kontrolle von Krankheiten (ECDC) (ECDC 2018, 2019, 2020, 2021, 2022a).

1.2 Antibiotika und Antibiotikaresistenzgene in der aquatischen Umwelt

1.2.1 Eintrag und Vorkommen der Antibiotika in die aquatische Umwelt

Beim Eintrag von ABs in die aquatische Umwelt muss zwischen den ABs in der Human- und Veterinärmedizin unterschieden werden. Nach der Verschreibung und Einnahme der ABs durch den Menschen im ambulanten (Haushalt) und stationären Bereich (Krankenhäuser und Pflegeeinrichtungen) werden 10 bis 90 % des Wirkstoffs abhängig vom AB verstoffwechselt. Der andere Anteil wird mit Urin und Fäkalien ausgeschieden (Kümmerer 2009). Mit dem kommunalen Abwasser werden die ABs in die Kläranlagen transportiert. Die biologischen Reinigungsstufen der kommunalen Kläranlagen sind nicht dafür ausgelegt ABs zu entfernen. Die Entfernungsleistungen betragen 36 bis 79 % (abhängig vom AB und vom Prozess) (Aydin u. a. 2019; Kim u. a. 2007c; Michael u. a. 2013). ABs können aber auch am Klärschlamm adsorbieren (Adler u. a. 2018; Golet u. a. 2002; Xiao u. a. 2022). Damit stellen Kläranlagen die Haupteintragsquelle für ABs in die aquatische Umwelt dar (Michael u. a. 2013). Insbesondere Kläranlagen mit Abwässern aus Krankenhäuser weisen eine höhere Fracht an ABs auf (Ekwanzala u. a. 2020; Rodriguez-Mozaz u. a. 2015). Bei Starkregenereignis erfolgt zum Teil eine direkt Einleitung des unbehandelten Abwassers in die aquatische Umwelt (Carvalho u. a. 2016). Somit werden kontinuierlich ABs in die aquatische Umwelt, d. h. Flüsse und Seen, durch gereinigtes Abwasser eingeleitet (Chunhui u. a. 2016; Loos u. a. 2013; Rodriguez-Mozaz u. a. 2020). Dort ist eine Anreicherung in der Sedimentphase möglich (Gibs u. a. 2013; Kerrigan u. a. 2018a).

Die Eintragspfade für ABs, die in der Veterinärmedizin verschrieben werden, stehen im Zusammenhang mit den Exkrementen der Tiere aus Mastbetrieben und dessen Eintrag in den Boden. Dabei können ABs durch Gülle, die zu Düngungszwecken auf Äcker aufgetragen werden, oder Ausscheidungen der Tiere auf Weiden in den Boden eingebracht werden (Adler u. a. 2018). Von dort aus ist der Abfluss ins Oberflächenwasser möglich oder ein Transport ins Grundwasser (Carvalho u. a. 2016). Anstatt der Gülle wird zum Teil auch Klärschlamm als Dünger eingesetzt und durch den Abfluss gelangen ABs der Humanmedizin in die aquatische Umwelt (Bailey u. a. 2015; Van Doorslaer u. a. 2014). Neben Mastbetrieben stellen Aquakulturen, in denen Fische in offenen Zuchtkäfigen in küstennahen Gewässern oder Binnengewässern gehalten werden,

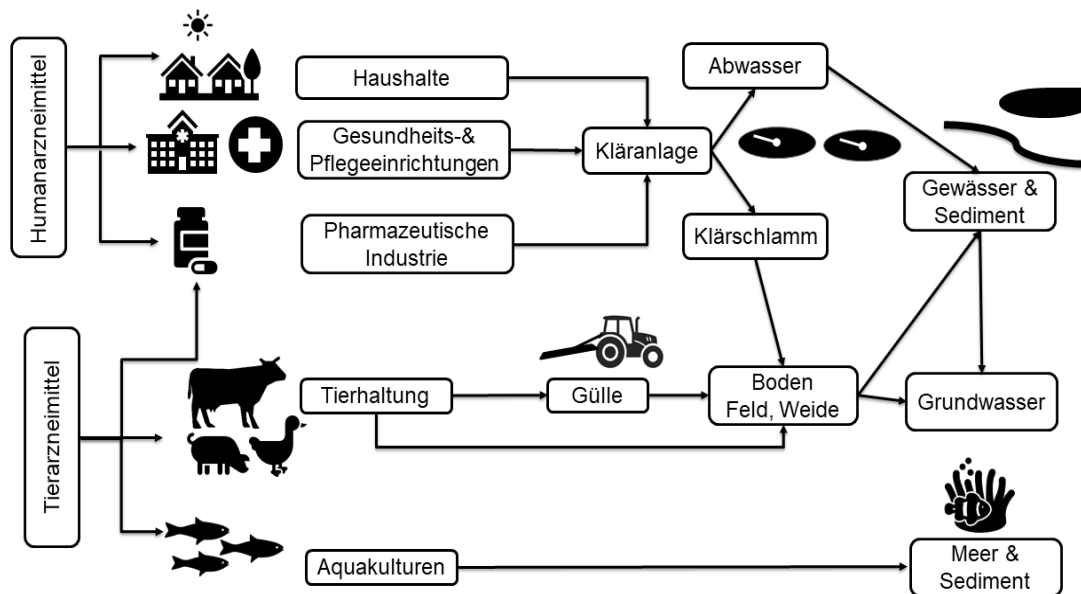


Abbildung 1.6: Schematische Darstellung der möglichen Eintragspfade von ABs, die in der Human- und Veterinärmedizin verschrieben werden, in die aquatische Umwelt.

eine weitere Eintragsquelle dar. Durch den hohen Einsatz an ABs gelangen diese ebenfalls ins Meer oder Oberflächenwasser. Damit ist eine Anreicherung in Sedimenten im Meer und Oberflächenwasser möglich (Chen u. a. 2017; Kümmerer 2009; Küster u. a. 2013). Ein zusätzlicher Eintragspfad stellt das Abwasser der Herstellungs-, Verarbeitungs- bzw. Formulierungsprozesse der pharmazeutischen Industrie dar (Larsson u. a. 2007; Senta u. a. 2017, 2021).

Durch die große Anzahl an Eintragsquellen wurden inzwischen in allen Umweltkompartimenten (Oberflächen- und Grundwasser, Fluss- und Meeressediment) ABs nachgewiesen (Boy-Roura u. a. 2018; Felis u. a. 2020). ABs der vier ABs-Klassen Fluorchinolone, Makrolide, Sulfonamide und Tetracycline sowie Trimethoprim und Clindamycin wurden sowohl im Abwasser und Oberflächenwasser sowie in Böden, Sedimenten und Klärschlamm quantifiziert (siehe Tabelle 1.2). Der Konzentrationsbereich dieser ABs lag im Kläranlagenablauf im allgemeinen im unteren $\mu\text{g L}^{-1}$ -Bereich (n. d. – 26000 ng L^{-1}) (Felis u. a. 2020; Szymańska u. a. 2019) und nahm durch die Verdünnung mit dem Oberflächenwasser nach der Einleitung um eine Größenordnung ab (unterer bis oberer ng L^{-1} -Bereich, für Details siehe Tabelle 1.2) (Carvalho u. a. 2016). Eine genauere Diskussion der bestimmten Umweltkonzentrationen von ABs erfolgt im Kapitel 3.4.

ABs können folgende Prozesse in der aquatischen Umwelt eingehen: Adsorption an Sedimenten oder Schwebstoffen, biologischer Abbau durch Mikroorganismen in der Wasser- oder Sedimentphase, Hydrolyse (Reaktion mit Wasser) oder die Zersetzung durch Sonneneinstrahlung

Tabelle 1.2: Zusammenstellung von Umweltkonzentrationen der ABs-Klassen Makrolide, Fluorchinolone, Sulfonamide, Tetracycline und Trimethoprim sowie Clindamycin für Oberflächenwasser, Sediment-, Boden- und Klärschlammproben.

ABs-Klasse	Oberflächenwasser ^[a - g]	Sediment ^[d, h-j]	Boden ^[i]	Klärschlamm ^[i, l]
Einheit	ng L ⁻¹	µg kg ⁻¹	µg kg ⁻¹	µg kg ⁻¹
Makrolide	< 20,0 – 5 000,0	< LOD – 33,5		10,4 – 185,0
Tetracycline	< 10,0 – 400,0	< LOD – 196,0	< 2,6 – 198,7	62,0 – 600,0
Fluorchinolone	< 20,0 – 9 700,0	< LOD – 603,0	3,8 – 25,9	2,1 – 11 000,0
Sulfonamide	< 1,0 – 4 330,0	< LOD – 154,0		3,0 – 28,0
Trimethoprim und Clindamycin	2,0 – 1 808,0	< LOD		

[a] (Chen u. a. 2014), [b] (Felis u. a. 2020), [c] (Gibs u. a. 2013), [d] (Kim u. a. 2007b), [e] (Luo u. a. 2011), [f] (Massey u. a. 2010), [g] (Szymańska u. a. 2019), [h] (Bailey u. a. 2015), [i] (Kerrigan u. a. 2018a), [j] (Harrower u. a. 2021), [k] (Hamscher u. a. 2002), [l] (Halling-Sørensen u. a. 2005)

(Photoabbau). Eine detaillierte Betrachtung der einzelnen Prozesse für jede ABs-Klassen erfolgt im Kapitel 3.3. Im Allgemeinen können ABs wichtige Prozesse im Ökosystem stören (Carvalho u. a. 2016). Der Effekt der eingetragenen ABs in die aquatische Umwelt hängt vom betrachteten Zielorganismus ab. Cyanobakterien (auch Blaualgen genannt) reagieren besonders sensibel auf ABs (Felis u. a. 2020; Kovalakova u. a. 2020). Darüber hinaus hemmen ABs das Wachstum von Algen und wirbellosen Tieren in Flüssen (Baran u. a. 2006; Janecko u. a. 2016). Insbesondere die Auswirkung einer Mischung von ABs auf Organismen ist wenig erforscht. Die bisherigen Untersuchungen deuten darauf hin, dass der toxikologische Effekt höher ist als für die Einzelsubstanzen (Carvalho u. a. 2016).

1.2.2 Problematik der Antibiotikaresistenzen und die Rolle der aquatischen Umwelt

Der Nutzen der ABs für die Menschheit wurde spätestens seit den 1990er Jahren durch das vermehrte Auftreten von Antibiotikaresistenzen (AR) gemindert (Brown u. a. 2016; Clatworthy u. a. 2007; Lewis 2013). AR beschreibt die Fähigkeit von Bakterien, trotz einer zytotoxischen

Konzentration an AB sich weiter zu vermehren und somit gegen die Wirkung des AB zu resistieren. Diese Fähigkeit werde den Bakterien durch Antibiotikaresistenzgene (ARGs) erteilt (Uluseker u. a. 2021; Wright 2007). AR stellen durch ihre Zunahme und Verbreitung eine weltweite und wachsende Bedrohung dar, wie nachfolgende Zahlenbeispiele belegen. Basierend auf den Daten, die im Rahmen der Überwachung von AR in Europa durch das Europäische Zentrum für Prävention und Kontrolle von Krankheiten (European Center for Disease prevention and Control, ECDC) erhoben wurden, nahmen die geschätzten Infektionen durch antibiotikaresistente Bakterien (ARB) im Zeitraum 2016 bis 2019 um 26,3 % zu (von 685 433 auf 865 767 Infektionen). Die geschätzten Todesfälle durch AR im gleichen Zeitraum lagen bei 30 730 bis 38 710 (ECDC 2022b). In dem Bericht von O'Neil u. a. aus dem Jahr 2014 wurde die Anzahl an Toten durch AR-Infektionen für Europa und die USA auf 50.000 Tote pro Jahr geschätzt (O'Neil 2014). Im Vergleich dazu verstarben während der COVID-19 Pandemie allein in Deutschland in den Jahren 2020 bis 2022 41.823 bis 73.318 Menschen an einer COVID-19 Infektion (Robert Koch Institut 2023b).

In Bezug auf die Verbreitung von AR standen Umgebungen, in denen ABs-Konzentrationen oberhalb der minimalen Hemmkonzentration (engl. minimal inhibitory concentration, MIC) bzw. minimalen Konzentration zur Selektion (engl. minimal selective concentration, MSC) eingesetzt wurden, lange im Fokus. Dazu zählen z. B. Krankhäuser und deren Abwässer, die Nutztierhaltung, Aquakulturen und Industrieabwässer von ABs Produktionsstätten (Bengtsson-Palme u. a. 2018). Aber auch auf die Rolle der Umwelt wurde bei der Verbreitung von AR aufmerksam gemacht (Baquero u. a. 2008; Berendonk u. a. 2015; Larsson u. a. 2022). Ein Schwerpunkt liegt dabei auf der aquatischen Umwelt, da neben ABs auch ARG bzw. ARB in Kläranlagen nicht entfernt werden. Folglich transportiert gereinigtes Abwasser ABs, ARG und ARB in die aquatische Umwelt (Felis u. a. 2020; Uluseker u. a. 2021).

Das Risiko von AR in der Umwelt besteht darin, dass die ARGs auf Mikroorganismen der Umwelt übertragen werden und somit AR gegen ABs ausbilden. Diese können dann wieder auf den Menschen zurück übertragen werden. Dadurch werden die natürlichen Grenzen zwischen Umwelt, Tier und Mensch überschritten (Bengtsson-Palme u. a. 2018; Larsson u. a. 2022). Ob die Umweltkonzentrationen von ABs, die unterhalb der minimalen Hemmkonzentration bzw. Konzentration zur Selektion liegen, zur Verbreitung von AR (ARGs und/oder ARBs) in der aquatischen Umwelt führen, ist noch nicht abschließend geklärt (Adler u. a. 2018; Bengtsson-Palme u. a. 2018).

1.3 Analytische Methoden zur Bestimmung von ABs in Umweltproben

Eine analytische Methode umfasst immer die Probenvorbereitung, die Bestimmung des Analyten mittels eines geeigneten Analysenprinzips und die Auswertung (Schwedt u. a. 2016). Ziel ist es, eine möglichst sensitive und selektive Methode für den Analyt zu etablieren. Dabei weist die Probennahme und Probenvorbereitung den deutlich höheren Fehleranteil (bis zu 99 %) auf im Vergleich zur Messtechnik (bis zu 1 %). Treten Fehlerquellen in der Probenvorbereitung auf, können diese nicht durch präzise Messverfahren korrigiert werden (Schwedt u. a. 2016). Deswegen ist die Optimierung der Probenvorbereitung von Wichtigkeit.

Aufgrund der zum Teil geringen Konzentrationen der ABs im Oberflächenwasser und Flusssediment (siehe Tabelle 1.2) sowie der komplexen Matrix (Abwasser und Sediment) ist eine Probenvorbereitung unbedingt erforderlich. Hinzukommt, dass die ABs sehr unterschiedliche chemisch-physikalische Eigenschaften aufweisen, wie zuvor bereits erläutert wurde (siehe Kapitel 1.1.3). Bei der Wahl der Parameter für die Probenvorbereitung ist folglich ein Kompromiss zu finden (Carvalho u. a. 2016).

1.3.1 Probenvorbereitung für flüssige Proben

Für wässrige Proben etablierte sich zur Anreicherung der Analyten und gleichzeitigen Abtrennung von Störstoffen der Matrix die Festphasenextraktion (engl. solid-phase extraction, SPE) (Gros u. a. 2013; Kim u. a. 2018; Kim u. a. 2007a). Das Prinzip der SPE beruht darauf, dass die Analyten mit dem Sorbens in der Kartusche wechselwirken und dadurch zurückgehalten werden (siehe Abbildung 1.7). Die Wahl des Sorbens richtet sich dabei nach der Polarität und der Ladung der Analyten beim verwendeten pH-Wert. Im Allgemeinen wird die SPE in vier Schritte unterteilt (siehe Abbildung 1.7) (Macherey-Nagel 2020; Schwedt u. a. 2016):

1. Die Konditionierung des Sorbens mit den verwendeten Lösungsmitteln: Dabei wird die SPE-Kartusche mit allen im Protokoll eingesetzten Lösungsmitteln gespült. Dadurch wird das Sorbens benetzt und eine geeignete Umgebung für die Adsorption oder ionische Wechselwirkung der Analyten mit dem Sorbens geschaffen.
2. Die Probenaufgabe der flüssigen Probe auf die Kartusche: Das verwendete Volumen richtet sich nach dem Aufkonzentrierungsfaktor (von wenigen mL bis 1 L). Die Analyten interagieren mit dem Sorbens und werden zurückgehalten.

3. Das Waschen des Sorbens mit einem geeigneten Lösungsmittel: Dadurch werden Rückstände der Probenlösung und störende Bestandteile der Matrix herausgewaschen.
4. Die Elution der Analyten vom Sorbens: Dazu wird ein organisches Lösungsmittel verwendet, da die Affinität der Analyten dafür größer ist.

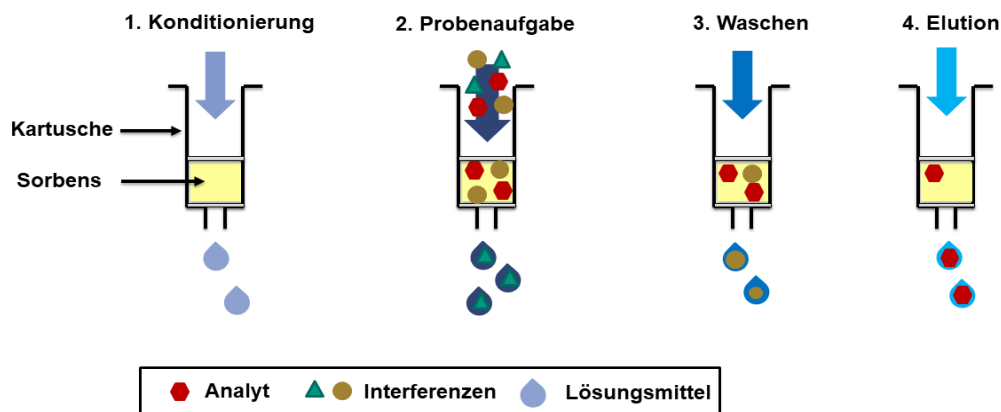


Abbildung 1.7: Die vier Schritte der Festphasenextraktion (SPE) zur Anreicherung von Analyten am Sorbens und Abtrennung von Interferenzen aus der Matrix.

1.3.2 Probenvorbereitung für Feststoffproben

Um organische Spurenstoffe in Feststoffen zu analysieren, ist eine fest-flüssig-Extraktion notwendig. Die Matrix, z. B. Boden, Sediment, Klärschlamm und die geographische Herkunft der Probe bestimmen ihre Zusammensetzung. Abhängig von den anorganischen und organischen Bestandteilen in der Feststoffprobe können verschiedene Wechselwirkungen zwischen dem Analyt und der Probe auftreten (Larivière u. a. 2017; Speltini u. a. 2011). Die Anteile der Mineralien Ton, Schluff und Sand variieren mit der Probenahmestelle und beeinflussen das Adsorptionsverhalten der ABs. Für die Fluorchinolone und Tetracycline konnte bereits gezeigt werden, dass die Adsorption an tonreichen Mineralien höher ist (Nowara u. a. 1997; O'Connor u. a. 2007; Van Doorslaer u. a. 2014; Zhang u. a. 2011). Weitere Einflussfaktoren auf das Adsorptionsverhalten der ABs sind Kationen und Huminstoffe. Daneben beeinflussen auch äußere und schwer zu kontrollierende Faktoren die Sedimentoberfläche wie Scherkräfte, Schwebstoffe, wechselnde Wetterbedingungen und die Bildung von Biofilmen (Schwarzenbach u. a. 2003).

Hingegen kann die Probenvorbereitung (Extraktion der ABs aus Flusssedimenten) unter kontrollierbaren Laborbedingungen durchgeführt werden. Der Fehleranteil der Probenvorbereitung am Gesamtfehler der Analysenmethode fällt damit kleiner aus als für die Probennahme.

Zur Extraktion von ABs aus Feststoffen wurden verschiedene Techniken bereits in der Literatur beschrieben: beschleunigte Lösungsmittlextraktion (engl. pressurized liquid extraction (PLE) oder accelerated solvent extraction (ASE[®])) (da Silva u. a. 2020; Golet u. a. 2002; Senta u. a. 2021), Ultraschall unterstützte Extraktion (Kuang u. a. 2020; Löffler u. a. 2003; Senta u. a. 2021; Yang u. a. 2010), dispersive Festphasenextraktion in Form der QuEChERS (steht für Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe z. dt. schnell, einfach, kostengünstig, effektiv, robust und sicher) (Carmona u. a. 2017; Fernandes u. a. 2020) und Mikrowellen basierte Extraktion (Morales-Muñoz u. a. 2004; Prat u. a. 2006). Dabei wurden die zwei zuerst genannten Techniken (PLE und Ultraschall unterstützte Extraktion) am häufigsten eingesetzt.

Die Extraktion mittels PLE soll im weiterem genauer erläutert werden, da sie in dieser Arbeit verwendet wird. Die PLE-Technik ist eine Weiterentwicklung der Soxhlet-Extraktion und wurde erstmalig 1995 bzw. 1996 beschrieben (Richter u. a. 1996). Die primäre Fehlerquelle einer analytischen Methode ist die Probenvorbereitung. Um Fehlerquellen der Soxhlet-Extraktion und Ultraschall unterstützten Extraktion zu umgehen, wurde die PLE-Technik entwickelt. Im Vergleich zu anderen Techniken wird bei der PLE ein erhöhter Druck und eine höhere Temperatur eingesetzt. Beide Parameter bewirken eine Änderung der Eigenschaften des Lösungsmittels (geringe Viskosität und Oberflächenspannung). Dadurch dringt das Lösungsmittel auch in Poren der Probenmatrix vor, die unter normalen Bedingungen nicht erreicht werden. Außerdem wird die Probe besser benässt. Die erhöhte Temperatur bewirkt nebenbei eine Schwächung der Wechselwirkungen zwischen den Analyten und der Matrix (z. B. van-der-Waals-Kräfte oder Wasserstoffbrücken). Dadurch wird der Desorptionsprozess schneller eingeleitet. Beide Faktoren beeinflussen positiv die Löslichkeit der Analyten und ihren Massentransport an die Oberfläche der Matrix. Ein weiterer Vorteil der PLE-Technik ist, dass auch Lösungsmittel mit niedrigen Siedepunkten bei normalem Druck eingesetzt werden können (Richter u. a. 1996).

Die zu extrahierende Probe befindet sich in einer Metallzelle (Volumen 1 bis 100 mL) und die flüssige Probe wird in einem Glasgefäß aufgefangen (siehe Abbildung 1.8). Die Extraktion mit der PLE gliedert sich in folgende Schritte (Thermo Scientific 2020):

1. Die Probe wird in den vorbeheizten Ofen (Raumtemperatur bis 200°C) eingeführt.
2. Dynamische Extraktion: Während der Aufwärmphase (abhängig von der gewählten Temperatur, allgemein 5 Min) wird die Zelle mit Lösungsmittel oder dem Lösungsmittelgemisch (aus bis zu drei Lösungsmitteln) befüllt. Durch die zugeführte Wärme dehnt sich das Lösungsmittel in der Zelle aus und der Druck in der Zelle steigt. Beim Erreichen eines Drucks von 11,72 MPa öffnet sich das statische Ventil kurz und etwas Lösungsmittel tritt aus. Im Anschluss wird frisches Lösungsmittel in die Zelle gepumpt (siehe Abbildung 1.8).
3. Statische Extraktion: Die Zelle wird für einen definierten Zeitraum (statische Zeit, 5 – 2000 Min) erhitzt. Anschließend wird wieder Lösungsmittel abgelassen. Falls mehrere Extraktionszyklen definiert sind, wird frisches Lösungsmittel in die Zelle gepumpt und der Vorgang wiederholt. Die Anzahl an Extraktionszyklen kann zwischen 1 bis 9 liegen.
4. Am Ende der statischen Extraktion öffnet sich das statische Ventil vollständig, das Lösungsmittel tritt aus und wird im Auffanggefäß gesammelt. Die Lösungsmittelrückstände in der Zelle werden mit Stickstoff ausgespült.

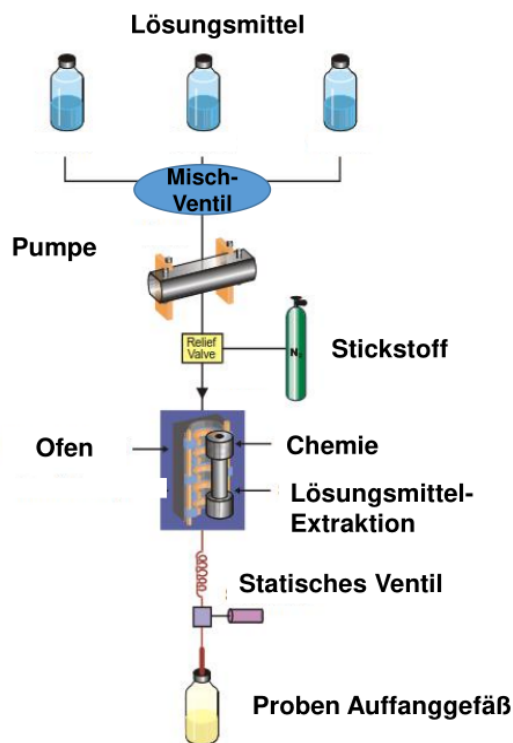


Abbildung 1.8: Schematischer Aufbau des Accelerated Solvent Extractor (ASE[©]), Abbildung entnommen aus (Thermo Scientific 2020) und modifiziert.

Vorteile der PLE-Technik im Vergleich zu anderen Extraktionstechniken sind die stärkere Extraktionskraft als bei der Ultraschallextraktion, die höhere Automatisierung und Probendurchsatz, geringe Extraktionszeiten und Lösungsmittelverbrauch (Golet u. a. 2002; Udalova u. a. 2015). Im Vergleich zum Soxhlet wird weniger Laborplatz, -bedarf und -personal benötigt. Das Gerät ist dafür ausgelegt, über Nacht betrieben zu werden. Im Anschluss müssen die Extrakte weiter aufbereitet werden, um mitextrahierte Matrixinterferenzen zu entfernen. Dabei scheint die SPE die geeignetste Technik zu sein, da der Lösungsmittelverbrauch gering und die Effizienz hoch ist (Kim u. a. 2007a; Yang u. a. 2010). Die Extraktion von ABs ist folglich nur mit einer mehrstufigen und zeitaufwendigen Probenvorbereitung möglich.

1.3.3 Quantifizierung der Antibiotika

Für die Quantifizierung der ABs in Umweltproben ist die Kombination aus Flüssigkeitschromatographie (liquid chromatography, LC) gekoppelt mit einem Massenspektrometer (MS) verbreitet (Carvalho u. a. 2016; Kim u. a. 2018; Larivière u. a. 2017). Die Flüssigkeitschromatographie dient zur Auftrennung der Analyten und das Massenspektrometer zur Detektion dieser. Das Prinzip der Flüssigkeitschromatographie beruht auf der Interaktion der Analyten mit der stationären Phase der Säule. Da die Analyten unterschiedlich stark mit dem Sorbens der stationären Phase wechselwirken, eluieren sie gestaffelt. Folglich treten sie zu unterschiedlichen Zeitpunkten in das Massenspektrometer ein. Zur qualitativen Bestimmung der ABs wird unter anderem die Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS, z. B. Triple-Quadrupolmassenspektrometer) eingesetzt. Vorteile dieser Technik sind, dass mehrere Analyten gleichzeitig detektiert werden können. Somit müssen keine Basislinien-getrennte Peaks, wie mit einem UV-VIS-Detektor, erzielt werden (Skoog u. a. 2013). Der Analyt wird anhand von zwei Kriterien (Quantifier und Qualifier), die unterschiedlichen Massen zu Ladungs-Übergängen (m/z) umfassen, bestimmt. Im Rahmen der quantitativen Analyse können nur ABs bestimmt werden, die in der Messmethode hinterlegt sind. Abbauprodukte oder Metaboliten werden dadurch nicht erfasst (Kim u. a. 2018).

1.4 Forschungsvorhaben und Ziele der Arbeit

ABs werden kontinuierlich in die aquatische Umwelt eingetragen. Über ihre Rolle bei der Verbreitung von AR in der aquatischen Umwelt besteht z. Zt. eine Wissenslücke und ein Forschungsbedarf. Zur Beurteilung der Rolle der ABs sind jedoch Angaben zu ihrem Verhalten zwischen der Wasser- und Sedimentphase sowie Daten zu Umweltkonzentrationen aus Oberflächengewässern notwendig. Um dieses Ziel zu erreichen, wird eine präzise und robuste analytische Methode zur Bestimmung von fünf ABs-Klassen in der Wasser- und Sedimentphase benötigt.

Folgende Ziele und Hypothesen sind für diese Arbeit festgelegt.

1. Im Rahmen einer Methodenentwicklung wird die benötigte analytische Methode etabliert und anschließend validiert. Eine besondere Schwierigkeit stellt die präzise und simultane Bestimmung der ABs in der Sedimentphase dar. Aufgrund der komplexen Matrix, den Wechselwirkungen zwischen ABs und Sedimentbestandteilen und den vermuteten geringen Konzentrationen, ist die Quantifizierung von ABs eine analytische Herausforderung (Larivière u. a. 2017). Die Ergebnisse zur Methodenentwicklung sind in Kapitel 3.1 und 3.2. erläutert.
2. Für das Verhalten der ABs in der aquatischen Umwelt kommen prinzipiell verschiedene Prozesse in Frage. Z. B. Adsorption an Sedimenten, biologischer Abbau in der Wasser- und/oder Sedimentphase, Zersetzung durch Sonnenlicht oder die Reaktion mit Wasser (Hydrolyse) (Bavumiragira u. a. 2022; Liu u. a. 2019). Alternativ ist die Persistenz sowohl in der Wasser- und Sedimentphase möglich. Im Rahmen einer Mesokosmos-Studie, die ermöglicht, das Ökosystem Fluss im Labor nach zu bilden, wird das Umweltverhalten der ABs für die vier genannten Prozesse untersucht. ABs einer Klasse lassen sich durch ihre chemische Struktur und die daraus resultierenden chemisch-physikalischen Eigenschaften charakterisieren. Ein Zusammenhang zwischen den chemisch-physikalischen Eigenschaften der ABs (z. B. $\log(K_{OW})$ -Wert, K_d -Wert, Adsorptionsmaxima) und ihrem Verhalten wird vermutet. Ergebnisse der Mesokosmos-Studie werden in Kapitel 3.3 präsentiert.
3. Der Verbleib der ABs in der aquatischen Umwelt ergibt sich durch ihr Verhalten und ihre Stabilität. Flusssedimente fungieren dabei als Senke für anthropogen eingetragene ABs (Thiebault u. a. 2021; Vane u. a. 2022). Um eine Persistenz in der Sedimentphase und damit verbundene Anreicherung zu ermitteln, ist eine Quantifizierung der ABs

sowohl in der Wasserphase als auch in der Sedimentphase notwendig. Die zuvor etablierte analytische Methode wird im Rahmen einer Feldstudie angewendet. Dadurch sollen Umweltkonzentrationen von ABs im lokalen Fluss Alb quantifiziert werden. Mit den erhobenen Daten soll die Verbreitung und der Verbleib der eingetragenen ABs zwischen der Wasser- und Sedimentphase erfasst werden (Kapitel 3.4).

2. Material und Methoden

2.1 Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien und deren Angaben zu den Herstellern und ihre Reinheit sind im Anhang in Tabelle B.2 und Text C.1.1 sowie C.1.2 zusammengefasst. In dieser Arbeit wurden 19 ABs aus den Klassen der Fluorchinolone, Makrolide, Sulfonamide und Tetracycline untersucht, die in Tabelle 1.1 mit ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften aufgelistet sind. Zusätzlich wurden Trimethoprim und Clindamycin aufgenommen, die zu unterschiedlichen AB-Klassen gehören. Für diese Arbeit wurden diese ABs zu der Gruppe „Andere“ zusammengefasst. Die ausgewählten ABs werden sowohl in der Human- und Veterinärmedizin verschrieben (siehe Tabelle B.1). Darüber hinaus wurden sie bereits häufig in der aquatischen Umwelt quantifiziert (Haenni u. a. 2022; Kerrigan u. a. 2018b; Rodriguez-Mozaz u. a. 2020; Senta u. a. 2021; Zhou u. a. 2011). Aus den Feststoffen wurde für jedes AB eine Stammlösung von 1 g L^{-1} in organischen Lösungsmitteln und Wasser hergestellt (10 mL Maßkolben, Details siehe Tabelle B.3 im Anhang). Aus diesen Stammlösungen wurde ein Mischstandard von 10 mg L^{-1} jedes AB in Methanol und Wasser hergestellt. Für die deuterierten ABs wurde ebenfalls ein Mischstandard von 10 mg L^{-1} je AB in Methanol angesetzt. Alle weiteren Arbeitsstandards und -lösungen wurden aus diesen Mischstandards in Methanol und Wasser (pH 2) hergestellt.

2.2 Probennahmen

Die Wasser- und Sedimentproben, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht und verwendet wurden, stammen aus dem lokalen Fluss Alb. Die Alb ist ein mit 51 km Länge mittelgroßer

Fluss, der im Nordschwarzwald entspringt und nördlich von Karlsruhe in den Rhein mündet (Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg 2022b). Der Abfluss betrug im Jahr 2022 im Durchschnitt $1,7 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ($0,5 - 11,8 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, (Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg 2022a). Kurz vor der Mündung der Alb in den Rhein wird der Ablauf der Kläranlage Karlsruhe eingeleitet. Die kommunale Kläranlage Karlsruhe wurde für einen Einwohnerwert von 875.000 bemessen und weist ein Einzugsgebiet von $45,86 \text{ km}^2$ auf (Tiefbauamt 2010). Der Anteil an Industrieabwasser beträgt 50 % (mündliche Mitteilung im Rahmen einer Führung).

2.2.1 Sedimentproben

Für die Methodenentwicklung und die Mesokosmos-Studie wurde die Alb vor Einleitung des Kläranlagenablaufs beprobt, um eine mögliche Kontamination mit ABs zu vermeiden. Die genauen Koordinaten für die Probenahmestellen lauten: $49^\circ 03' 48'' \text{N}$, $8^\circ 20' 36'' \text{O}$ (Methodenentwicklung und Mesokosmos-Experiment) und $49^\circ 02' 43'' \text{N}$, $8^\circ 19' 31'' \text{O}$ (Mesokosmos-Experiment). Sedimentproben wurden als Stichprobe mit einer Metallschaufel genommen und in braune Glasgefäße gefüllt. Direkt im Anschluss an die Probennahme wurden sie gekühlt und lichtgeschützt ins Labor transportiert. Die Lagerung im Labor erfolgte dunkel und kühl (5 bis $7 \text{ }^\circ \text{C}$) bis zur Weiterverarbeitung.

Für die Methodenentwicklung (siehe Unterkapitel 2.3.2) wurden die Sedimentproben bei 100°C getrocknet und gesiebt ($500 \text{ }\mu\text{m}$, Testsieb Retsch GmbH, Haan, Deutschland). Die gesiebten Proben wurden bis zur Anwendung in der Methodenentwicklung in braunen Glasgefäßen bei Raumtemperatur gelagert.

Für die Mesokosmos-Studie (siehe Unterkapitel 3.3) wurden mit einem Sedimentgreifer aus Metall 10 L Oberflächensediment im August 2021 aus der Alb geholt. Die Probennahme erfolgte vor Einleitung des Kläranlagenablaufs ($49^\circ 02' 43'' \text{N}$, $8^\circ 19' 31'' \text{O}$). Nach direktem Transport ins Labor wurde das Sediment gesiebt ($2,5 \text{ mm}$), um größere Steine und Pflanzenmaterialien abzutrennen.

2.2.2 Wasserproben

Für die Entwicklung des SPE-Protokolls wurden Einzelproben des Oberflächenwassers vom Ufer aus vor ($49^\circ 03' 54'' \text{N}$, $8^\circ 20' 40'' \text{O}$) und nach ($49^\circ 04' 07'' \text{N}$, $8^\circ 20' 47'' \text{O}$) der Einleitung des Kläranlagenablaufs aus der Alb im März und Mai 2020 genommen. Vor der Probennahme wurden die Gefäße drei Mal mit dem Albwasser gespült. Zum Abfüllen der Wasserproben in

1 L braune Glasflaschen wurde die Flaschen 30 cm unter der Wasseroberfläche mit der Öffnung nach oben getaucht und bis zum Flaschenhals gefüllt (DIN-Normenausschuss Wasserwesen 2016). Die Proben wurden gekühlt und dunkel ins Labor transportiert und dort innerhalb von 48 Stunden weiterverarbeitet. Zur Entfernung von Partikeln wurden die Proben über 0,45 µm Cellulose-Acetat-Membranfilter filtriert ($\varnothing = 47$ mm, Sartorius, Deutschland) und auf einen pH-Wert von 2 eingestellt (37 % Salzsäure). Die weitere Lagerung erfolgte bei 5 bis 7 °C im Dunkeln.

2.3 Probenvorbereitung

2.3.1 Festphasenextraktion

Zur Abtrennung von Matrixbestandteilen der Probenmatrix und zur Anreicherung der ABs wurde eine SPE durchgeführt. Dafür wurde die filtrierte und angesäuerte (pH 2) Wasserprobe in einen Maßkolben überführt und mit dem Chelatbildner Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) versetzt, um eine Konzentration von 1000 mg L⁻¹ zu erreichen. Das EDTA diente dazu, mehrwertige Metallkationen z. B. Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺ der Probenmatrix zu komplexieren, da diese mit Tetracyclinen und Fluorchinolonen Komplexe ausbilden und die Interaktionen der ABs mit dem Adsorbens verhindern. Nach Auffüllen des Maßkolbens bis zur Eichmarke wurde dieser in Aluminiumfolie eingeschlagen, um eine Zersetzung der ABs durch Licht zu verhindern. Drei verschiedene SPE-Kartuschen der Firma Waters (USA) wurden für die Methodenentwicklung erprobt (Details siehe Tabelle 2.1). Die Angaben zu den eingesetzten Lösungsmitteln und Volumina für die Konditionierung, das Waschen und die Elution der HLB-, MCX- und MAX-Kartusche sind in Tabelle 2.2 zusammengefasst.

Das vierte Protokoll für die Tandem-SPE wurde nach Meyer u. a. adaptiert (Meyer u. a. 2007) und verwendete zwei Kartuschen (HLB und MCX). Die beiden SPE-Kartuschen wurden einzeln nach den Angaben in Tabelle 2.2 konditioniert. Zur Probenaufgabe wurde die MCX-Kartusche auf dem Deckel der Vakuumkammer befestigt und mit Reinstwasser bei pH 2 gefüllt. Mittels eines Schlauchadapters (Sigma Aldrich bzw. Merck, Deutschland) wurde die HLB-Kartusche auf die MCX-Kartusche gesteckt. Zum Aufgeben der Probe auf die SPE-Kartuschen wurde ein weiterer Schlauchadapter in die HLB-Kartusche gesteckt und über einen Teflon-Schlauch die Probe in die Kartusche geleitet (siehe Abbildung 2.1). Der Volumenstrom betrug 5 mL min⁻¹. Das Waschen der Kartusche erfolgte nach den Angaben in Tabelle 2.2. Für die Tandem-SPE wurden die HLB-MCX-Kartuschen einzeln gewaschen. Anschließend wurden die Kartuschen unter

Tabelle 2.1: Getestete SPE Kartuschen während der Methodenentwicklung.

Hersteller Bezeichnung	Abkürzung	Beschreibung	Format (Masse der Festphase und Volumen der Kartusche)	Konfiguration
Oasis [®] HLB	HLB	Umkehrphasen- Adsorbens mit hydrophilen-lipophilen Anteilen	500 mg, 6 mL	Einzel
Oasis [®] MCX	MCX	Kationenaustauscher Adsorbens	150 mg, 6 mL	Einzel
Oasis [®] MAX	MAX	Anionenaustauscher Adsorbens	150 mg, 6 mL	Einzel
Oasis [®] HLB + Oasis [®] MCX	HLB-MCX	Kombination aus zwei SPE-Kartuschen	500 mg, 6 mL + 150 mg, 6 mL	Kombiniert

einem leichten Stickstoffstrom getrocknet. Die Elution erfolgte mit Methanol und Acetonitril (Details siehe Tabelle 2.2). Das Eluat wurde in 15 mL graduierte Reagenzgläser aufgefangen. Für die Elution in der Tandem-SPE-Konfiguration wurde diesmal die HLB-Kartusche auf den Deckel der Vakuum-Kammer befestigt und mit 2,5 mL Methanol gefüllt. Die MCX-Kartusche wurde mittels Schlauchadapter auf der HLB-Kartusche fixiert und ebenfalls mit 2,5 mL Methanol befüllt. Nach der Elution mit Methanol wurden 5 mL Acetonitril in die MCX-Kartusche gegeben und erneut eluiert (siehe Abbildung 2.1). Zum Abschluss wurde die MCX-Kartusche einzeln mit 2,5 mL Methanol mit 5 % Ammoniumhydroxid eluiert. Zur weiteren Aufkonzentrierung wurde das Eluat auf 1 mL unter einem leichten Stickstoffstrom eingeeengt. Vor der Messung mittels LC-MS/MS wurde ein Aliquot von 100 µL des eingeeengten SPE Eluates in 900 µL LC-MS Wasser (pH 2) verdünnt.

2.3.2 Beschleunigte Lösungsmittlextraktion

Zur Extraktion der ABs aus dem Flusssediment wurde die beschleunigte Lösungsmittlextraktion (PLE) angewendet. Dazu wurde der Dionex[®] Accelerated Solvent Extractor (ASE[®]) 350 (Thermo Scientific, Dreieich, Deutschland) verwendet. Für die Methodenentwicklung wurden

Tabelle 2.2: SPE-Protokoll für das hydrophile-lipophile Umkehrphasen-Adsorbens (HLB), Kationenaustauscher Adsorbens (MCX), Anionenaustauscher Adsorbens (MAX). Abkürzungen: Ammoniumhydroxid (NH_4OH), Salzsäure (HCl), die Prozentangaben beziehen sich auf die Volumenanteile.

Schritt	HLB	MCX	MAX
Konditionierung	5 mL	2,5 mL	2,5 mL
	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol • Acetonitrile • Reinstwasser 	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol • Acetonitrile • 5 % NH_4OH in Methanol • Reinstwasser • 0,1 M HCl 	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol • Acetonitrile • Methanol mit 2 % Ameisensäure • Reinstwasser • Reinstwasser mit 5 % NH_4OH
	2 x 5 mL	2 x 2,5 mL Reinstwasser bei pH 2	2 x 2,5 mL
Waschen	5 mL	2,5 mL	2,5 mL
	<ul style="list-style-type: none"> • Reinstwasser 	<ul style="list-style-type: none"> • 0,1 M HCl 	<ul style="list-style-type: none"> • Wasser mit 5 % NH_4OH
Elution	5 mL	2,5 mL	2,5 mL
	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol • Acetonitrile 	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol • Acetonitrile • Methanol mit 5 % NH_4OH 	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol • Acetonitrile • Methanol mit 2 % Ameisensäure

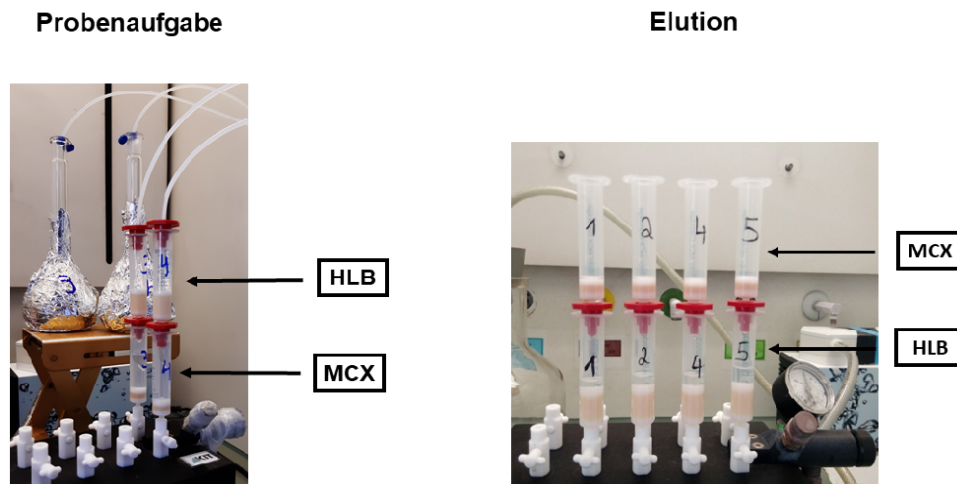


Abbildung 2.1: Aufbau für die Beladung und Elution in der Tandem-SPE Konfiguration.

das Sediment (1-5 g) mit einer ABs-Stammlösung (Methanol/Wasser-Mischung, V/V, 50/50) in einer Petrischale dotiert, um einen Massenanteil von $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ jedes AB zu erhalten. Die dotierte Sedimentprobe wurde über Nacht äquilibriert. Die Befüllung der Extraktionszelle erfolgte wie folgt: das dotierte Sediment wurde mit 5 g Sand (Thermo Fisher Scientific Ottawa Sand oder Merck See Sand) im Mörser homogenisiert. Das Sediment-Sand-Gemisch wurde in eine 10 mL Stahl-Extraktionszelle (Dionex[®]ASE[®] 150/350, Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Deutschland) transferiert, die einen Cellulose-Filter (Thermo Fisher Scientific, Deutschland) und eine dünne Sandschicht (Thermo Fisher Scientific Ottawa Sand) enthielt. Die Zelle wurde mit Ottawa Sand aufgefüllt und mit einem Filter abgeschlossen. Die getesteten Methoden aus der Literatur mit ihren entsprechenden Parametern sind in Tabelle 2.3 zusammengefasst. Der Druck lag bei 1500 psi (entspricht 103 bar) bzw. 10,34 MPa) und die Aufwärmzeit der Zelle betrug 5 Min. Die Extrakte wurden in 60 mL Glasgefäßen aufgefangen. Für Protokolle C, E und F wurde die organische Phase im Wasserbad mit einem Rotationsverdampfer (Laborota 4001, Heidolph, Schwabach, Deutschland) abgezogen oder unter einem Stickstoff-Gasstrom verdampft. Für die anschließende Abtrennung der Matrixbestandteile mit Hilfe der SPE wurden die PLE-Extrakte in 250 mL Maßkolben transferiert und mit einer EDTA-Stammlösung versetzt, um eine Konzentration von $0,5 \text{ g L}^{-1}$ zu erhalten. EDTA diente als Chelatbildner, um mehrwertige Metallkationen zu komplizieren, die ebenfalls mit Fluorchinolonen und Tetracyclinen Komplexe ausbilden. Die Extrakte wurden mit Reinstwasser (pH 2) auf ein Volumen von 250 mL verdünnt. Die Maßkolben wurden in Aluminiumfolie eingeschlagen, um einen möglichen Abbau der AB durch Sonnenlicht zu vermeiden. Im Anschluss wurde das unter Kapitel 2.3.1 beschriebene Tandem-SPE-Protokoll angewendet. Für die Methodvalidierung und die

Umweltproben wurde das Tandem-SPE-Protokoll für die Elution leicht abgeändert. Die MCX-Kartusche wurde auf der Vakuumkammer befestigt und mit 2,5 mL Methanol gefüllt. Die HLB-Kartusche wurde mit einem Schlauchadapter auf die MCX-Kartusche gesteckt und ebenfalls mit 2,5 mL Methanol befüllt. Nach der Elution des Methanols wurden 5 mL Acetonitril in die HLB-Kartusche gegeben und eluiert. Zum Abschluss wurde die MCX-Kartusche alleine mit 2,5 mL Methanol mit 5 % Ammoniumhydroxid eluiert. Die Eluate wurden in 15 mL graduierte Reagenzgläser aufgefangen. Für die LC-MS Messung wurde ein Aliquote von 50 μ L der SPE-Extrakte in 950 μ L LC-MS Wasser (pH 2) verdünnt.

Tabelle 2.3: Übersicht über die getesteten PLE-Protokolle und deren Parameter.

Protokoll	A ^[a]	B ^[b]	C ^[c]	D ^[a,d]	E ^[e]		F ^[a,e]		G ^[a]
	Eins	Eins	Eins	Eins	E1	Zwei	F1	F2	Eins
Organisches Lösungsmittel	ACN	MeOH/ ACN	MeOH	MeOH+	EtOAc/ ACE	ACE	ACE	ACN	ACN
Wässriges Lösungsmittel	50 mM H ₃ PO ₄ (pH 2)	0,2 M CA (pH 4,5)	50 mM Phosphat Buffer pH 7	0,2 % NH ₄ OH 50 mM H ₃ PO ₄ (pH 2)	-	1% H ₃ PO ₄	1% H ₃ PO ₄	50 mM H ₃ PO ₄ (pH 2)	50 mM H ₃ PO ₄ (pH 2)
Lösungsmittel- verhältnis (%)	50/50	40/40/20	50/50	50/50	66/33	66/33	66/33	66/33	50/50
Zyklen	6	2	2	6	2	2	2	6	2
Temperatur (°C)	100	80	100	100	80	80	80	100	100
Statische Zeit (min)	15	10	5	15	5	5	5	15	10
Spülvolumen (%)	150	100	150	150	60	60	60	150	150
Spülzeit (s)	300	40	100	300	120	120	120	300	300

Protokolle wurden angepasst nach [a] (Golet u. a. 2002), [b] (Salvia u. a. 2015), [c] (Kerrigan u. a. 2018a) [d] (Senta u. a. 2021), [e] (Chiaia-Hernandez u. a. 2017), ACE – Aceton, ACN – Acetonitril, CA – Zitronensäure, EtOAc – Ethylacetat, MeOH – Methanol

2.4 Quantifizierung der Antibiotika mittels LC-MS/MS

Die ABs wurden mittels Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer quantifiziert. Dabei wurde ein Agilent 1290 Infinity II UHPLC System verbunden mit einem Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS System eingesetzt (Waldbronn, Deutschland). Die Auftrennung der ABs erfolgte mit einer Agilent ZORBAX Eclipse Plus C-18 Säule (50×2.1 mm, $1.8 \mu\text{m}$ Partikel Größe, Waldbronn, Deutschland). Als Eluent wurden Wasser und Acetonitrile, beides angesäuert mit Ameisensäure, auf eine Konzentration von 0,05 % (V/V) verwendet. Weitere Geräteparameter können den Tabellen B.4 bis B.10 im Anhang entnommen werden. Die Kalibrierung erfolgte im Bereich von 10 bis 1500 ng L^{-1} für die Wasserproben und 10 bis 1500 ng kg^{-1} für die Sedimentproben. Der Regressionskoeffizient (R^2) betrug mindestens 0,990.

2.4.1 Qualitätssicherung der LC-MS/MS Methode

Um die Genauigkeit der analytischen Methode zu garantieren, wurden mehrere Maßnahmen zur Qualitätssicherung ergriffen. In jedem SPE-Durchlauf wurde ein Blindwert, bestehend aus Reinstwasser bei pH 2, und ein Matrixblindwert (Oberflächenwasser ohne AB Zugabe) mit aufbereitet. In jedem Extraktionsdurchlauf mit der PLE wurde ein Blindwert, der Ottawa Sand enthielt, mit extrahiert. Außerdem wurde ein Matrixblindwert bestehend aus 1 bis 5 g Flusssediment ohne ABs Zugabe mit aufbereitet. Diese Maßnahmen dienten dazu, mögliche Kontaminationen während der Probenvorbereitung zu ermitteln. Während der LC-MS/MS Messung wurden Blindwerte (HPLC Wasser bei pH 2) alle zehn bis 15 Proben gemessen. Die Konzentration in den Blindwerten lag jedoch unterhalb der Quantifizierungsgrenze. Folglich wurde davon ausgegangen, dass keine Kreuzkontamination auftrat. Um die Performance des Messgeräts zu überwachen und den Matrixeffekt zu korrigieren, wurde ein interner Standard eingesetzt. Die Zugabe erfolgte in allen Proben und Kalibrierstandards vor der Trennung auf der Chromatographie-Säule. Die Zuordnung der ABs und ihrer internen Standards sind in den Tabellen B.6 und B.7 zusammengetragen. Zusätzlich wurde der 500 ng L^{-1} Kalibrierstandard nach zehn bis 15 Proben erneut gemessen, um mögliche Schwankungen während der Messung zu erfassen. Die Abweichung zwischen den Messungen betrug weniger als 10 % und wies auf eine gute Wiederholbarkeit hin. Um die Effizienz während der Probenvorbereitung zu quantifizieren, wurde ein AB derselben Klasse als Surrogat gewählt. Die Surrogate wiesen ähnliche chemisch-physikalische Eigenschaften wie die Analyten auf und wurden vor der Probenvorbereitung in die Probenmatrix hinzugegeben. Dabei wurden ABs gewählt, deren Vorkommen in der

aquatischen Umwelt unwahrscheinlich sind. Im Falle der Wasserproben wurden deuterierte ABs als Surrogate eingesetzt. Für die PLE-Protokolle wurden während der Methodenentwicklung die deuterierten ABs als Surrogate verwendet. Daraufhin konnten ähnliche Wiederfindungsraten (WFRn) für die ABs und deuterierte ABs ermittelt werden. Aufgrund des starken Matrixeffekts wurden die deuterierten ABs für die Methodvalidierung und die Sedimentproben als interner Standard verwendet. Als Surrogate für die Sedimentproben wurde die ABs aus Tabelle 2.4 verwendet. Die ermittelte Konzentration an ABs in der Probe wurde um die bestimmte WFR des korrespondierenden Surrogates korrigiert.

Tabelle 2.4: Zuordnung der Surrogate zu den ABs-Klassen für die Sedimentproben.

ABs-Klasse	Surrogate
Sulfonamide, Trimethoprim, Clindamycin	Sulfachloropyridazine
Tetracycline	Meclocycline
Fluorchinolone	Clinafloxacin
Makrolide	Oleandomycin-triacetat

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (engl. limit of detection (LOD) und limit of quantification (LOQ)) des Geräts wurden mit Hilfe der Kalibrierungsgerade bestimmt. Dabei war die Nachweisgrenze der niedrigste Standard, für den ein Signal-Rausch-Verhältnis von mindestens 3 erreicht wurde. Die Bestimmungsgrenze stellte den niedrigsten Standard dar, dessen Signal-Rausch-Verhältnis mindestens 10 betrug. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen lagen im Bereich von 5 bis 250 ng L⁻¹ (siehe Tabelle B.6 und B.7).

2.5 Auswertung der Methodenentwicklung und Methodvalidierung für die Bestimmung der ABs

Zur Beurteilung der Probenvorbereitung wird der Parameter der WFR angewendet. Im Allgemeinen wird damit das Verhältnis der gemessenen Konzentration zur theoretischen Konzentration ausgedrückt. Zur Bestimmung der WFR der getesteten SPE-Protokolle während der Methodenentwicklung wurde die Wasserprobe zuvor mit einer ABs-Stammlösung versetzt. Die Konzentration betrug 20 ng L⁻¹ in 250 mL. Die WFRn wurden nach Formel 2.1 berechnet. Die quantifizierte AB-Konzentration in der wässrigen Probe ($\beta(\text{AB gemessen})$) wurde durch die theoretische Konzentration an AB ($\beta(\text{AB dotiert})$) geteilt.

$$WFR = \frac{\beta(AB \text{ gemessen})}{\beta(AB \text{ dotiert})} \cdot 100\% \quad [\%] \quad (2.1)$$

Bei den PLE-Protokollen wurde die WFR von drei mit ABs dotierten Sedimentproben bestimmt. Die relative WFR gab das Verhältnis des gemessenen Massenanteils ($w(\text{Probe dotiert})$) im Sediment gegenüber dem theoretischen Massenanteil ($w(\text{dotiert theoretisch})$) an (siehe Formel 2.2). Der gemessene Massenanteil wurde nach dem Schema in Anhang C.1.7 aus den LC-MS/MS Messwerten berechnet. Da zur Methodenentwicklung Sedimentproben aus dem lokalen Fluss Alb verwendet wurden, die theoretisch ABs enthielt, wurde der Matrix-Blindwert abgezogen ($w(\text{Matrix-Blindwert})$). Die WFR sollten dabei im Bereich von 45 bis 125 % liegen.

$$\text{rel. WFR} = \frac{w(\text{Probe dotiert}) - w(\text{Matrix Blindwert})}{w(\text{dotiert theoretisch})} \cdot 100 \% \quad [\%] \quad (2.2)$$

Für das PLE-Protokoll G wurde die Methodvalidierung durchgeführt. In diesem Rahmen wurden folgende Parameter bestimmt: die Linearität, die Nachweis- und Bestimmungsgrenze der Methode (method limit of detection (MLOD) and quantification (MLOQ)), die Methodenrichtigkeit und Methodenpräzision sowie die Selektivität. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze wurde nach der Formel von Chiaia-Hernandez u. a. (Chiaia-Hernandez u. a. 2013) mit Hilfe der Nachweis- und Bestimmungsgrenze des Geräts unter Einbeziehung eines Matrix- und Probenvorbereitungsfaktor berechnet (siehe Formel 2.3 und 2.4). Der Faktor für die Probenvorbereitung umfasste die Verdünnungs- und Konzentrationsfaktoren der einzelnen Schritte der Probenvorbereitung (siehe dazu Schema in Kapitel C.1.7 im Anhang).

$$MLOD = \frac{LOD}{\text{Matrix Faktor}} \times \text{Faktor Probenvorbereitung} \quad [ng L^{-1}, \mu g kg^{-1}] \quad (2.3)$$

$$MLOQ = \frac{LOQ}{\text{Matrix Faktor}} \times \text{Faktor Probenvorbereitung} \quad [ng L^{-1}, \mu g kg^{-1}] \quad (2.4)$$

Für die Bestimmung der Genauigkeit wurde die Richtigkeit (systematischer Fehler) und Präzision (zufälliger Fehler) der Methode bestimmt. Dazu wurde ein Dotierungsexperiment mit jeweils fünf Sedimentproben für die Konzentration 50 und 100 $\mu g kg^{-1}$ an ABs und Surrogate durchgeführt. Da keine Referenzmaterialien zu Verfügung standen, wurde die Dotierung des

Sediments mit methanolhaltiger ABs-Lösung gewählt. Die Methodenrichtigkeit wurde durch die WFRn, die sowohl PLE als auch SPE einschloss, berechnet (siehe Formel 2.2). Die Methodenpräzision entsprach der Wiederholbarkeit, die mit der relativen Standardabweichung und dem Variationskoeffizient (CV, siehe Formel 2.5) quantifiziert wurde.

$$CV = \frac{\text{Standard Abweichung der WFR}}{\text{Mittelwert der WFR}} \times 100 \% \quad [\%] \quad (2.5)$$

Die Selektivität wurde mit dem Matrixeffekt erfasst. Für den Matrixeffekt wurde der Matrixfaktor aus dem Verhältnis der Fläche des dotierten Matrixblindwerts und der Fläche eines Standards der Kalibriergeraden der gleichen Konzentration in Wasser (LC-MS Reinheit, pH 2) berechnet. Die Dotierung erfolgte nach der Probenvorbereitung (PLE-SPE) (Waters Corporation 2017). Für den dotierten Matrixblindwert wurde eine Blindwertkorrektur durchgeführt (siehe Formel 2.6).

$$\text{Matrix Faktor} = \frac{\text{Fläche}(\text{dotierter Extrakt}) - \text{Fläche}(\text{Matrix Blindwert})}{\text{Fläche}(\text{Kalibrierstandard})} \quad (2.6)$$

Ein positiver Matrixeffekt und damit eine Verstärkung des Messsignals trat auf, wenn der Matrixfaktor größer als 1,1 war. In diesem Fall war die Fläche des dotierten Extrakts deutlich größer als die des Kalibrierstandards. Ein Matrixfaktor von eins trat auf, wenn der Größenunterschied zwischen der Fläche des dotierten Extrakts und des Kalibrierstandards ähnlich ausfielen. Ein negativer Matrixeffekt beschrieb eine Unterdrückung des Messsignals und trat für einen Matrixfaktor von kleiner als 0,9 auf. Dieses war der Fall, wenn die Fläche des dotierten Extrakts kleiner war als die Fläche des Kalibrierstandards.

2.6 Mesokosmos-Studie

2.6.1 Aufbau

In der Mesokosmos-Studie im Labormaßstab wurden vier Prozesse untersucht: Adsorption an das Flusssediment, Biodegradation, Hydrolyse und Photoabbau durch sichtbares Licht. Als Mesokosmos diente ein 10 L zylindrischer Reaktor aus Acrylglas (PLEXIGLAS[®], Dicke 5 mm, Höhe: 38 cm und Breite 20 cm) mit Deckel. Bei einem Wasservolumen von 3 L wies der Reaktor einen Auslasshahn auf (Esska, Hamburg, Deutschland). Ein Stahlpropeller diente als Rührer

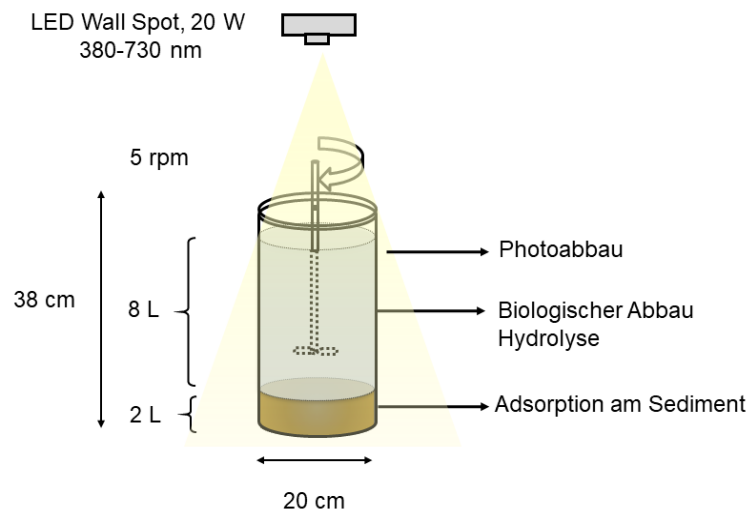


Abbildung 2.2: Aufbau des Mesokosmos und ablaufende Prozesse.

(550 × 8 × 100 mm, IKA[©], Staufen, Deutschland) (siehe Abbildung 2.2). Insgesamt wurden fünf 10 L Reaktoren mit Rührer für die Studie verwendet (R1 bis R5). Die Rührer waren an einem selbstgebauten Aluminiumgestell (item, Solingen, Deutschland) befestigt und wurden über Zahnräder und Riemen (Mädler, Stuttgart, Deutschland) von einem DC-Getriebemotor (12 Volt, RS Components GmbH, Frankfurt an Main, Deutschland) gedreht. Die Drehgeschwindigkeit betrug 5 rpm (entspricht 4 Volt). Die Steuerung des Motors erfolgte mit einer digitalen Steuereinheit (Konrad, Sande, Deutschland). In R1 bis R3 und R5 wurde jeweils 2 L Alb Sediment und 8 L Leitungswasser hineingefüllt. R4 enthielt nur 10 L Leitungswasser. Nach Befüllung der Mesokosmen R1 bis R3 und R5 wurden diese für zwei Monate ruhen gelassen, damit sich die Mikroorganismen an die neuen Bedingungen adaptieren konnten. Während der Ruhezeit und der Versuchsdurchführung wurde wöchentlich mittels Schnelltest (Hach Lange GmbH, Deutschland) der Nährstoffgehalt an Nitrat-Stickstoff (NO_3^- -N, LCK 339) und Phosphat-Phosphor (PO_4^{3-} -P, Ortho-Phosphat LCK 349) bestimmt. Um eine ausreichende Nährstoffverfügbarkeit in den Mesokosmen zu gewährleisten, wurde die Massenkonzentration wöchentlich auf $1,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N und $0,3 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$ -P eingestellt. Der pH-Wert und der gelöste Sauerstoffgehalt wurden in der Wasserphase ebenfalls wöchentlich bestimmt (Elektrode von WTW, xylem, Weilheim i. OB, Deutschland). Die Studie wurde bei 10°C durchgeführt.

In den Mesokosmen R1 bis R3 liefen mehrere Prozesse parallel ab. Die Versuchsbedingungen umfassten eine Lichtquelle für die Exposition von Sonnenlicht, die Anwesenheit von Sediment und die Zugabe von Natriumazid um die mikrobiologische Aktivität zu hemmen. Die Versuchsparameter wurden von R1 bis R4 modifiziert, um jeweils einen Prozess zu deaktivieren. In

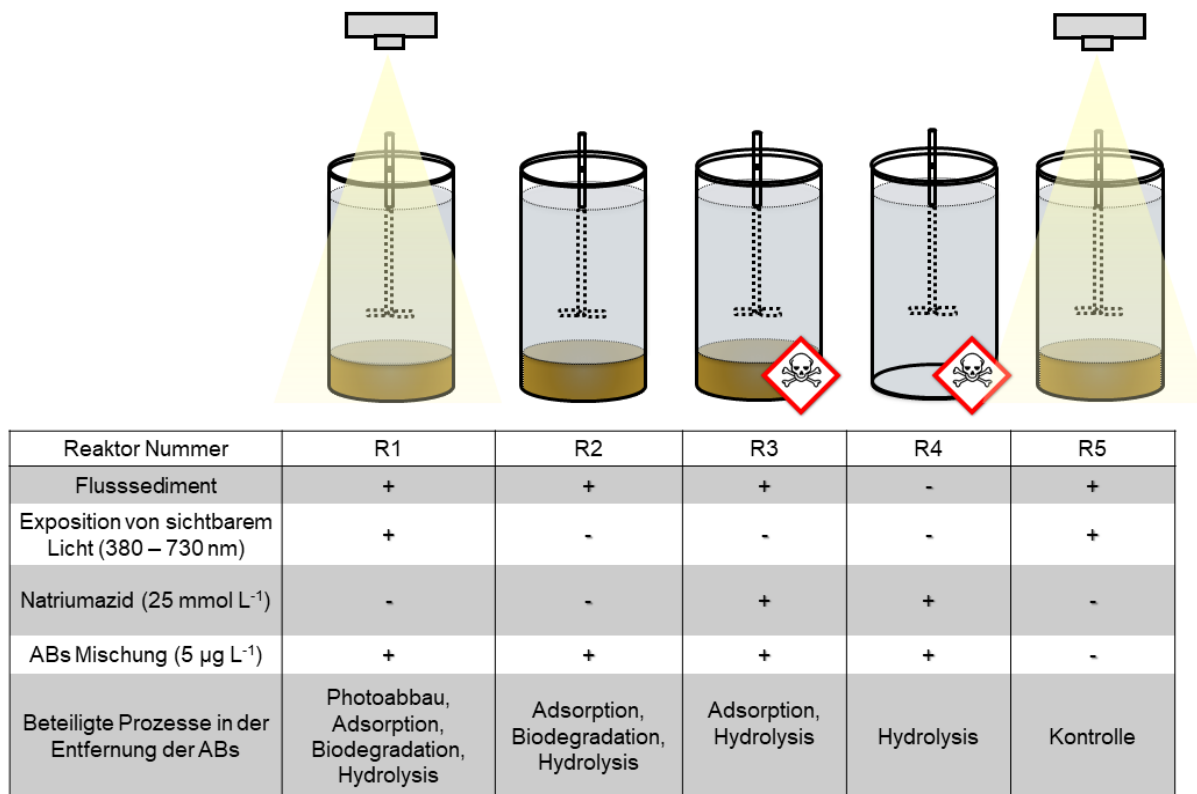


Abbildung 2.3: Aufbau der Mesokosmos-Studie, Versuchsbedingungen, die im Mesokosmos herrschten und Prozesse, die in R1 bis R4 untersucht wurden.

Abbildung 2.3 sind die angewendeten Versuchsparameter sowie die ablaufenden Prozesse für jeden Mesokosmos zusammengestellt. Der fünfte Mesokosmos (R5) diente als Kontrolle und Matrix Blindwert für die analytische Methode.

Das Sonnenlicht wurde durch einen LED-Decken-Spot simuliert (6 LED Chips, 600 x 45 x 22 cm, LxBxH, Leistung 20 W, Abstrahlwinkel von 30°, Wellenlängen 380 bis 730 nm von Venso, Michelstadt, Deutschland). Der LED-Decken-Spot strahlte nur Licht im sichtbaren Bereich aus. Mit Hilfe einer Zeitschaltuhr wurde ein Tag-Nacht-Rhythmus von 12 h Beleuchtung bzw. 12 h Dunkelheit pro Tag simuliert. Nur R1 und R5 wurden beleuchtet. R2 bis R4 befanden sich in einer selbst gebauten Holzbox, um vor der Lichtquelle geschützt zu sein.

Natriumazid (NaN_3) ist giftig und hemmt die Aktivität der Mikroorganismen. Deswegen wurde es zur Unterbindung der Biodegradation in R3 und R4 24 h vor der Zugabe der ABs in die Mesokosmen R3 und R4 hinzugegeben (25 mmol L^{-1}) (Cabrol u. a. 2017). Für die Untersuchung des Verhaltens der ABs in der aquatischen Umwelt wurden die fünf ABs-Klassen (Fluorchinolone, Makrolide, Sulfonamide, Tetracycline und Andere) aus Kapitel 2.1 in R1 bis R4 dotiert. Für die Makrolide wurde nur Erythromycin hinzugegeben. Die Massenkonzentrationen

on jedes AB betrug $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Für die Fluorchinolone wurde eine höhere Massenkonzentration von $10 \mu\text{g L}^{-1}$ gewählt, da die Bestimmungsgrenzen in der Sedimentphase höher lagen. Die Studie wurde über einen Zeitraum von 42 d (6 Wochen) durchgeführt. Um eine Adsorption der ABs am Plexiglas des Mesokosmos auszuschließen, wurde parallel zur Mesokosmosstudie die Hydrolyse in drei 1 L braunen Glasflaschen untersucht. Dazu wurde Reinstwasser (1 L), ein Rührfisch sowie die 18 ABs in die Glasflaschen gegeben.

2.6.2 Beprobung und Vorbereitung der Wasserproben

Im Abstand von drei Tagen (96 h) wurden Wasserproben zur Quantifizierung der ABs aus allen fünf Mesokosmen (R1 – R5) entnommen. Pro Mesokosmos wurden drei Replikate (unten, in der Mitte und oben) von jeweils 10 mL mit einer Glaspipette entnommen und in braune Glasgefäße abgefüllt. Die Wasserproben wurden über einen $0,45 \mu\text{m}$ Cellulose-Acetat-Filter filtriert (Spritzenvorsatzfilter, Labware, Deutschland) und 1 zu 20 mit HPLC LC-MS Wasser (mit HCl auf pH 2 eingestellt) in 1,5 mL Braunglas-Schraubgläser verdünnt. Die Quantifizierung der ABs erfolgte nach der beschriebenen LC-MS/MS Methode in Kapitel 2.4.

2.6.3 Beprobung und Vorbereitung der Sedimentproben

Probennahme für die Sedimente in R1 bis R3 und R5 erfolgte wöchentlich mit einem selbst gebauten Probennehmer (PVC, Durchmesser 2 cm, (Brown u. a. 2020)). Der Probennehmer wurde maximal 2 cm tief ins Sediment eingeführt, um nur die Oberflächenschicht des Sediments zu entnehmen. Insgesamt wurden 50 mL nasses Sediment in 250 mL braune Glasgefäße abgefüllt. Bis zur Weiterverarbeitung wurden die Sedimentproben in der Gefriertruhe (-18°C) gelagert. Zur Probenvorbereitung wurden die Proben zuerst für 24 h gefriergetrocknet. Anschließend wurden sie im Porzellanmörser homogenisiert. Nach dem Sieben (Porengröße $0,5 \text{ mm}$) erfolgte die weitere Probenvorbereitung und Extraktion wie in Kapitel 2.3.2 beschrieben. Die Aufreinigung der Extrakte erfolgte mit dem in Kapitel 2.3.1 beschriebenen Tandem-SPE-Protokoll. Für die Quantifizierung der ABs wurde die in Kapitel 2.4 beschriebene LC-MS/MS Methode verwendet.

2.6.4 Datenauswertung: Modellierung und Massenbilanz

Modellierung der Mesokosmos-Studie

Die Abnahme der Massenkonzentration der ABs in der Wasserphase in R1 bis R4 konnte einer Reaktion erster Ordnung zugeordnet werden (siehe Gleichung 2.7).

$$\ln\left(\frac{\beta_i(AB)}{\beta_0(AB)}\right) = -k_n \cdot t \quad (2.7)$$

Dabei ist $\beta(AB)_i$ die Massenkonzentration der ABs in der Wasserphase während des Experiments zum Zeitpunkt i und $\beta_0(AB)$ die Massenkonzentration zu Beginn des Experiments. k_n ist die Geschwindigkeitskonstante und n bezieht sich auf die Mesokosmen R1 bis R4. t gibt die Zeit in Tage (d) an. k entsprach der Steigung der Gerade, die durch eine lineare Regression durch das Auftragen von $\ln\left(\frac{\beta(AB)}{\beta_0(AB)}\right)$ gegen t erhalten wurde. Die Standardabweichung der Steigung wurde über die RGP-Funktion von Excel bestimmt. Die Halbwertszeit ($t_{1/2}(n)$) wurde nach Gleichung 2.8 berechnet.

$$t_{1/2}(n) = \frac{\ln(2)}{k_n} \quad [d] \quad (2.8)$$

Für das Modell wurde angenommen, dass die vier Prozesse (Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau) parallel im Mesokosmos ablaufen. Somit entspricht k_1 der Summe der vier Prozesse (Gleichung 2.9). Nach dem gleichen Schema wurden für k_2 bis k_4 die Gleichungen 2.10 bis 2.12 aufgestellt.

$$k_1 = k_{\text{Photoabbau}} + k_{\text{biologischer Abbau}} + k_{\text{Adsorption}} + k_{\text{Hydrolyse}} \quad [d^{-1}] \quad (2.9)$$

$$k_2 = k_{\text{biologischer Abbau}} + k_{\text{Adsorption}} + k_{\text{Hydrolyse}} \quad [d^{-1}] \quad (2.10)$$

$$k_3 = k_{\text{Adsorption}} + k_{\text{Hydrolyse}} \quad [d^{-1}] \quad (2.11)$$

$$k_4 = k_{\text{Hydrolyse}} \quad [d^{-1}] \quad (2.12)$$

Aus dem linearen Gleichungssystem konnten dann die Geschwindigkeitskonstanten für die vier Prozesse mit den Gleichungen 2.13 bis 2.16 bestimmt werden.

$$k_{Photoabbau} = k_1 - k_2 \quad [d^{-1}] \quad (2.13)$$

$$k_{biologischer\ Abbau} = k_2 - k_3 \quad [d^{-1}] \quad (2.14)$$

$$k_{Adsorption} = k_3 - k_4 \quad [d^{-1}] \quad (2.15)$$

$$k_{Hydrolyse} = k_4 \quad [d^{-1}] \quad (2.16)$$

Die Standardabweichung (s) für die Geschwindigkeitskonstanten $k_{Photoabbau}$ bis $k_{Hydrolyse}$ (siehe Formel 2.13 bis 2.16) wurde durch die Fehlerfortpflanzung nach Formel 2.17 berechnet. Dabei ist s_{kn} die Standardabweichung der Geschwindigkeitskonstanten für R1 bis R4, die mit Gleichung 2.7 bestimmt wurden.

$$s_{Prozess} = \sqrt{(s_{kn})^2 + (s_{kn+1})^2} \quad [d^{-1}] \quad (2.17)$$

Die Berechnung des Anteils jedes Prozesses am Gesamtverbleib des ABs erfolgte mit dem Verhältnis der Geschwindigkeitskonstante des jeweiligen Prozesses durch k_1 , die alle Prozesse umfasste. Als Beispiel:

$$Adsorption = \frac{k_{(Adsorption)}}{k_{(1)}} \cdot 100 \quad [\%] \quad (2.18)$$

Massenbilanz für den Mesokosmos

Um den theoretischen angereicherten Massenanteil der ABs im Sediment zu berechnen, wurde eine Massenbilanz für die Mesokosmen R1 bis R3 erstellt. Die Gesamtmasse an AB ($m(AB)_0$), die zu Beginn des Experiments in den Meskosmos eingebracht wurde, ist in Gleichung 2.19 definiert.

$$m(AB)_0 = \beta(AB)_0 \cdot V_{tot} \quad [g] \quad (2.19)$$

Wobei $\beta(AB)_0$ die Massenkonzentration zu Beginn des Versuchs ist und V_{tot} das Gesamtvolumen des Mesokosmos (10 L). Die Masse an AB ($m(AB)_t$), die am Ende des Versuchszeitraum in der Wasserphase verblieb, ergab sich durch Gleichung 2.20. Bedingung war jedoch,

dass das AB im Mesokosmos quantifizierbar war. Da die Bestimmungsgrenze der Methode bei 50 ng L^{-1} lag (kleinster Kalibrierstandard), konnten wegen der 1 zu 20 Verdünnung nur Konzentrationen bis $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ im Mesokosmos nachgewiesen werden.

$$m(AB)_t = \beta(AB)_t \cdot V_{Wasser} \quad [g] \quad (2.20)$$

Für die Fluorchinolone wurde die Massenbilanz in R1 nach 10 d, R2 nach 14 d und R3 nach 21 d berechnet. Bei Clindamycin, den Sulfonamiden und Trimethoprim wurde für R1 bis R3 die Massenbilanz nach 35 d aufgestellt. Für die Tetracycline wurde die Massenbilanz bereits nach 3 d (R1) bzw. 7 d (R2, R3) bestimmt.

Die Massendifferenz zwischen $m(AB)_0$ und $m(AB)_t$ ergab die Masse an AB, die durch das Einwirken der Prozesse (Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau) aus der Wasserphase abnahm (Gleichung 2.21).

$$\Delta m(AB) = m(AB)_0 - m(AB)_t \quad [g] \quad (2.21)$$

Der theoretische Massenanteil des ABs, der am Sediment adsorbierte, wurde dann mit Gleichung 2.22 berechnet.

$$w(AB)_{theoretisch} = \frac{\Delta m(AB)}{m(Sediment)} \cdot p\%(Adsorption) \quad [\mu\text{g kg}^{-1}] \quad (2.22)$$

Dabei entsprach $m(\text{Sediment})$ der Trockenmasse an Sediment im Mesokosmos (bezogen auf 2 L, 1,55 kg, für Details siehe Anhang C.1.9) und $p\%(Adsorption)$ der durch Gleichung 2.18 bestimmte Anteil der Adsorption für das jeweilige AB. Für R3 wurde für $p\%(Adsorption)$ 100 % angenommen. Nur für die Tetracycline wurde für R3 zusätzlich der Beitrag der Hydrolyse berücksichtigt.

2.7 Feldstudie

2.7.1 Probennahme

Um den Eintrag der ABs in die Wasser- und Sedimentphase zu erfassen, wurde im September 2020 eine Feldstudie an der Alb durchgeführt. Vor Einleitung des Kläranlagenablaufs, flussaufwärts, wurden im Abstand von 1000 m an drei Stellen (U1 – U3, siehe Abbildung 2.4) Wasser-

und Sedimentproben für die Quantifizierung der ABs und ARGs genommen. Das gereinigte Abwasser der Kläranlage Karlsruhe fließt in einen 2,2 km langen Hauptsammelkanal zur Alb. Die Wasserproben des Kläranlagenablaufs (E1) wurden direkt auf dem Gelände der Kläranlage Karlsruhe nach der Sandfiltration mit einem Probennehmer (Schöpfkelle) entnommen. Im renaturierten Bereich des Abwasserkanals wurde an der Stelle E2 und E3 die Wasserphase beprobt (siehe Abbildung 2.4). Der Untergrund des Kanals lies eine Sedimentprobennahme nicht zu, so dass keine Proben für die Quantifizierung der ABs entnommen werden konnten. Nach der Einleitung des Kläranlagenablaufs in die Alb wurde erst in einer Entfernung von 400 m mit der Beprobung begonnen (D1). Dieses Vorgehen stellte sicher, dass sich Kläranlagenablauf und Flusswasser ausreichend vermischt hatten. Ab D1 wurde im Abstand von 100 m elf weitere Stellen (D2 bis D11, siehe Abbildung 2.4) beprobt. An den Stellen D1 bis D11 wurde jeweils die Wasser- und Sedimentphase für die Quantifizierung der ABs und ARGs beprobt. An allen Probenahmestellen wurden für beide Phasen jeweils zwei Replikate abgefüllt. Insgesamt belief sich der Probenumfang auf 36 Wasserproben und 28 Sedimentproben von 18 verschiedenen Stellen. Nach Einleitung des Kläranlagenablaufs wurde ein 1,2 km langer Abschnitt der Alb untersucht. Anschließend mündet der Fluss in den Rhein.

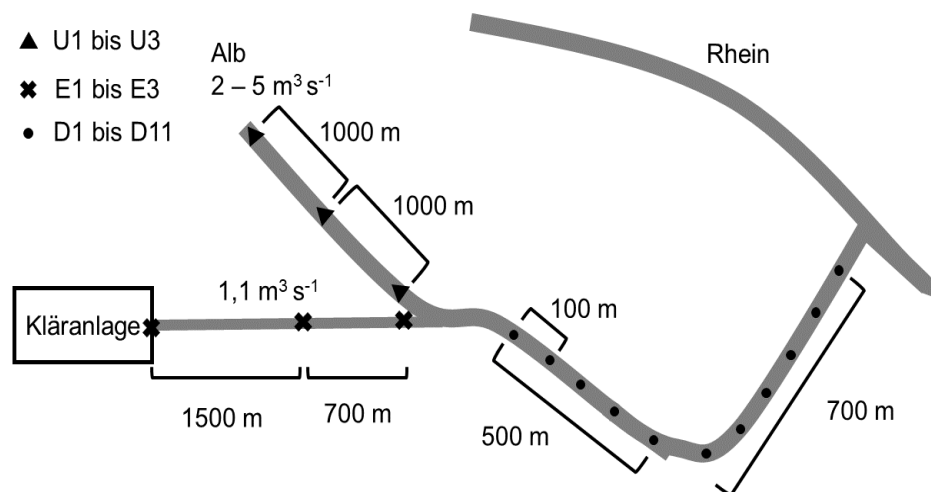


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung der Probenahmestellen an der Alb: vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3), Kläranlagenablauf (E1 bis E3) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11).

Die Wasserproben wurden in 1 L sterilen braunen Glasflaschen (zuvor autoklaviert, VWR, Deutschland) abgefüllt. Die Sedimentproben für die Quantifizierung der ABs wurden von der

Oberfläche des Flussbetts (maximale Tiefe 5 cm) mit einem selbst gebautem Sedimentstecher (PVC Röhre mit Innendurchmesser von 2 cm) genommen und in 100 mL Schraubglasgefäße (VWR, Deutschland) abgefüllt. Für die Bestimmung der ARGs wurden die Sedimentproben in 50 mL sterile konische Plastik-Zentrifugenröhrchen des Typs Falcon[©] (LLG Labware, Deutschland) abgefüllt. Zur Charakterisierung des Flusssediments wurde mit einer Plastikschaufel Oberflächensediment in Allzweckbeutel mit Gleitverschluss (PE) transferiert. Während der Probenahme wurden alle Proben kühl und dunkel gelagert und im Anschluss direkt ins Labor transportiert. Bis zur Aufbereitung wurden die Wasserproben bei 7°C im Dunkeln gelagert. Zur Konservierung wurden die Sedimentproben für die Quantifizierung der ABs eingefroren (-18°C). Die Sedimentproben für die ARGs wurden schockgefroren mit flüssigem Stickstoff und anschließend ebenfalls bei -18°C gelagert (Czekalski u. a. 2014). Durch die Schockgefrierung sollte sichergestellt werden, dass das genetische Material nicht durch die Bildung von Eiskristallen beschädigt wurde.

2.7.2 Probenvorbereitung für die Quantifizierung der Antibiotika

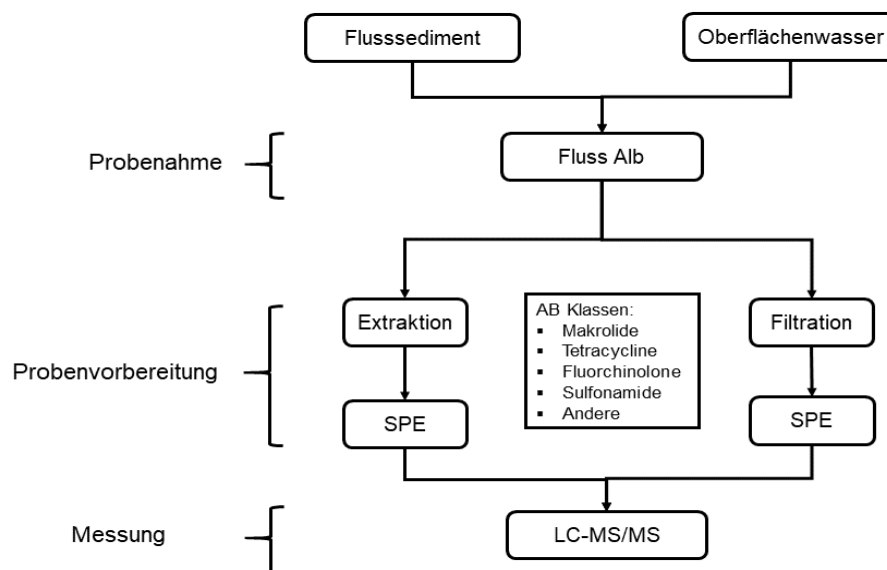


Abbildung 2.5: Fließschema zur analytischen Methode für die Feldstudie.

Die Probenvorbereitung für die Wasser- und die Sedimentproben erfolgte separat (siehe Abbildung 2.5).

Wasserproben

Die Wasserproben (500 – 1000 L) wurden über sterile 0,2 µm Cellulose-Acetat-Membranfilter ($\varnothing = 47$ mm, Sartorius, Deutschland) mit einem Glas-Vakuumfiltrationsgerät (Glasaufsatz 250 mL, PTFE-Stützsieb, Sartorius, Deutschland) filtriert. Das Filtrat wurde aufgefangen (1 L Glasflasche), mit HCl (32 %) auf pH 2 eingestellt und bis zur Durchführung der SPE dunkel und kühl (7°C) gelagert. Der Filter wurde in ein 5 mL steriles Zentrifugenröhrchen (Eppendorf, Deutschland) transferiert und bis zur Extraktion der Desoxyribonukleinsäure (DNA) eingefroren. Nach Überprüfung des pH-Werts wurden die filtrierten Wasserproben in 1 L Maßkolben überführt und mit der Surrogat-Mischung versetzt. Die Surrogat-Mischung umfasste die deuterierten ABs und DMC (Endkonzentration 10,0 ng L⁻¹, Details siehe Tabelle B.11 im Anhang). Anschließend wurde eine EDTA-Lösung bis zu einer Konzentration von 0,5 g L⁻¹ zugegeben. EDTA diente zur Komplexierung von mehrwertigen Kationen, damit diese keine Komplexe mit Fluorchinolonen und Tetracyclinen bilden. Für diese Wasserproben wurde jeweils 1 L Oberflächenwasser auf die HLB-Kartusche angereichert (siehe dazu HLB-Protokoll im Kapitel 2.3.1). Die Quantifizierung erfolgte mit der unter 2.4 beschriebenen LC-MS/MS Methode.

Sedimentproben

Die Sedimentproben wurden für 24 h gefriergetrocknet, um das Wasser zu entfernen und die ABs nicht thermisch zu zersetzen. Im Anschluss wurden die Proben zur Homogenisierung gemörsert (Porzellan Mörser) und gesiebt (500 µm, Testsieb Retsch GmbH, Haan, Deutschland). Um den Extraktionsprozess zu überwachen, wurden 5 g der gesiebten Proben in einer Petrischale mit der Surrogat-Stammlösung versetzt (siehe Abschnitt 2.4.1 Methanol/Wasser, V/V, 50/50). Der Massenanteil im Sediment sollte 35 µg kg⁻¹ pro Surrogat betragen. Zur Verdampfung des Lösungsmittels wurde die dotierte Sedimentprobe über Nacht bei Raumtemperatur gelagert (in Aluminiumfolie eingepackt, Schutz vor Licht). Im Anschluss erfolgte die Befüllung der Extraktionszellen wie unter 2.3.2 beschrieben. Die Proben wurden mit Protokoll G (siehe Tabelle 2.3) extrahiert und die Extrakte mit dem Tandem-SPE-Protokoll (siehe 2.3.1) aufgereinigt. Für die Quantifizierung der ABs in den Sedimentextrakten wurde die unter 2.4 beschriebene LC-MS/MS Methode verwendet.

2.7.3 Charakterisierung Wasser- und Sedimentproben

Wasserproben

Der pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit (Multimeter 3630 IDS von WTW mit pH-Elektrode SenTix[®] und TetraCon325) und folgende Summenparameter wurden aus der nicht filtrierten

Wasserprobe bestimmt: chemischer Sauerstoffbedarf (CSB), Gesamtstickstoff (Total Nitrogen, TN) und gesamter organischer Kohlenstoff (Total Organic Carbon, TOC). Für die abfiltrierbaren Feststoffe (Total Suspended Solids, TSS) wurden 1 L Probenlösung über einen vorgespülten, getrockneten und ausgewogenen Cellulose-Acetat-Filter (0,45 μm , $\varnothing = 47$ mm Satorius, Deutschland) filtriert, bei 100°C getrocknet, ausgekühlt und gewogen. Das Filtrat wurde zur Analyse der Anionen Nitrat, Sulfat und Phosphat sowie den Elementen Calcium und Magnesium verwendet. Die Anionen wurden mittels Ionenchromatographie (790 Personal IC 790 von Metrohm, Herisau, Schweiz) quantifiziert.

Der TOC und der gelöste organische Kohlenstoff (Dissolved Organic Carbon, DOC) wurden nach Ansäuern auf pH 2 als nicht ausgasbarer organischer Kohlenstoff (engl. non purgeable organic carbon, NPOC) durch katalytische Verbrennung bei 720°C bestimmt. Das entstandene CO_2 wurde mittels Infrarot-Spektroskopie durch einen TOC-Analysator detektiert (TOC-L CPH, Shimadzu, Duisburg, Deutschland). Der TOC-Analysator enthielt zusätzlich eine Einheit, um gebildetes NO_2^* mit einem Chemolumineszenz-Detektor zu erfassen (TNM-L, Shimadzu, Duisburg, Deutschland). Für den DOC wurde die Probe zuvor über einen vorgespülten (50 mL Reinstwasser) Spritzenvorsatzfilter (Cellulose Acetate, 0,45 μm , $\varnothing = 25$ mm, LLG-Spritzenvorsatzfilter, Deutschland) filtriert. Der CSB wurde mittels Schnelltest von Hach Lange (LCK 1414) bestimmt. Für die Gehaltsbestimmung der Elemente Calcium und Magnesium wurden die filtrierten Wasserproben 1 zu 20 verdünnt. Die Quantifizierung erfolgte mit optischer Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppelten Plasmas (ICP-OES) (Agilent Technologies, 5110, Waldbronn, Deutschland).

Sedimentproben

Die Charakterisierung der Sedimentproben wurden im Labor für Bodenbiogeochemie des Instituts für Geographie und Geoökologie am Karlsruher Institut für Technologie durchgeführt. Der pH-Wert und die elektrische Fähigkeit wurden in Wasser bestimmt (Verhältnis 1 zu 2,5, weitere Details dazu siehe (Blume u. a. 2011)). Die Verteilung der Partikelgröße des Feinbodens (< 2 mm) wurde durch eine Kombination aus Nasssieben und Dichteunterscheidung bestimmt. Zuvor wurde das organische Material durch Oxidation mit Wasserstoffperoxid und Dispersion mit 0,1 mol L⁻¹ Natriumpyrophosphate entfernt.

Der gesamte Kohlenstoff (TC) und Stickstoff der Sedimentproben wurden aus gemahlene Aliquoten mit einem Elementaranalysator (Thermo Scientific, Flash 2000 HT Plus, Bremen, Deutschland) durch thermische Verbrennung bestimmt. Die Detektion erfolgte durch die Mes-

sung der thermischen Leitfähigkeit von CO_2 und N_2 in einem Helium-Strom. Der TOC wurde aus der Differenz des TCs und des gesamt-anorganischen Kohlenstoffs (Total Inorganic Carbon, TIC) bestimmt. Der TIC wurde nach einer Behandlung mit Säure und Messung des austretenden CO_2 aus einer Scheibler-Apparatur bestimmt.

Die effektive Kationenaustauschkapazität (KAK) und austauschbare Kationen wurden durch Extraktion mit 1 mol L^{-1} Ammoniumnitrat Lösungen (NH_4NO_3) und Messung der Kationen mittels ICP-OES bestimmt (5100 VDV ICP-OES, Waldbronn Agilent, Deutschland).

Zur Bestimmung der Gesamt-Elementkonzentration wurde ein Mikrowellen-Aufschluss mit Salpetersäure, Flusssäure und Wasserstoffperoxid (4:2:1) durchgeführt (Mars 6, Kamp-Lintfort CEM, Deutschland). Überschüssige Flusssäure wurde mit Borsäure komplexiert. Die Konzentration der Makroelemente (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, and P) wurde mit ICP-OES (5100 VDV ICP-OES, Agilent, Waldbronn, Deutschland) bestimmt. Die Konzentration der Mikroelemente (Cd, Cu, Mo, Mn, Pb and Zn) wurde hingegen mit ICP-MS quantifiziert (7900 MS, Agilent, Waldbronn, Deutschland). Zur Qualitätskontrolle wurde bei dem Aufschluss ebenfalls folgendes Referenzmaterial Columbia-Plateaubasalt (BCR2, Columbia river basalt) mit aufgeschlossen.

2.7.4 Auswertung und Berechnungen zur Feldstudie

Konzentration an ABs in der Wasserphase

Zur Berechnung der Konzentration in der Wasserphase wurden zwei Faktoren angewendet. Zum einem der Faktor Wasser ($F(W)$) für die Probenvorbereitung, der alle Aufkonzentrierung und Verdünnungen umfasst (Größenordnung von 50, siehe Formel C.3 im Anhang). Der andere Faktor Surrogate ($F(\text{Sur})$) umfasste den evtl. Konzentrationsverlust durch die SPE. Dazu wurde die WFR des korrespondierenden Surrogates nach Formel 2.1 berechnet. Die Formel für den Korrekturfaktor ist 2.23. F_2 wurde nur berechnet, wenn die WFR des Surrogats berechnet werden konnte (z. B. Signal-Rausch-Verhältnis > 10) und die WFR < 1 war.

$$F(\text{Sur}) = 1 + (1 - WFR(\text{Surrogate})) \quad (2.23)$$

Die Konzentration im Oberflächenwasser wurde nach Formel 2.24 bestimmt. $\beta(\text{LCMS})$ bezieht sich in diesem Fall auf die Konzentration, die in der gemessenen Probe durch das LC-MS/MS quantifiziert wurde.

$$\beta(\text{AB}) = \beta(\text{LC} - \text{MS/MS}) \cdot \frac{F(\text{Sur})}{F(W)} \quad [\text{ng L}^{-1}, \mu\text{g L}^{-1}] \quad (2.24)$$

Massenanteil in der Sedimentphase

Zur Berechnung des Massenanteils in der Sedimentphase wurden Faktoren Sediment ($F(\text{Sed})$) und $F(\text{Sur})$ angewendet. Jedoch umfasste $F(\text{Sed})$ die Massen für die Extraktion und SPE (siehe dazu Erläuterung unter C.1.7 im Anhang). $F(\text{Sur})$ wurde nur für Clindamycin, die Sulfonamide und Trimethoprim berechnet, da für die anderen ABs die WFR der Surrogate nicht den Kriterien entsprachen (siehe oben). Der Massenanteil im Sediment in $\mu\text{g kg}^{-1}$ wurde nach Formel 2.25 ermittelt.

$$w(AB) = \beta(LC - MS/MS) \cdot \frac{F(\text{Sur})}{F(\text{Sed})} \cdot \frac{1}{1000} \quad [\mu\text{g kg}^{-1}] \quad (2.25)$$

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Methodenentwicklung für die Festphasenextraktion

3.1.1 Einleitung

Ziel der Methodenentwicklung war die Entwicklung und Etablierung eines SPE-Protokolls für Oberflächenwasser. Die selbst gewählten Kriterien waren eine Wiederfindungsrate (WFR) von mindestens 80 % und eine geringe Spannweite der WFRn. Die WFR gibt das Verhältnis von der gemessenen Konzentration zur eingesetzten Konzentration an (siehe Formel 2.1). Verschiedene Autoren verglichen in ihren Studien unterschiedliche SPE-Kartuschen miteinander. Das Umkehrphasen-Adsorbens mit hydrophilen-liphophilen Anteilen von Oasis[®]Waters (HLB) wurde als bester Kandidat ermittelt (Gros u. a. 2013; Lindsey u. a. 2001; Senta u. a. 2008; Zhou u. a. 2012). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass ein saurer pH-Wert der Probenlösung (im Bereich von 2,5 – 4,0) höhere WFR für das AB im Vergleich zu neutralen Probenlösungen erzielte. Durch das saure Milieu lag das AB abhängig von seiner chemischen Struktur in seiner neutralen oder geladenen Form vor. Der höhere Rückhalt des ABs wurde auf eine bessere Wechselwirkung zwischen Polymere-Adsorbens und Analyt zurückgeführt (Gros u. a. 2013; Kim u. a. 2018). Folglich wird die Interaktion zwischen dem Analyten und dem Adsorbens vom pK_S -Wert des ABs und dem pH-Wert der Probenlösung bestimmt (Kim u. a. 2018).

Bereits publizierte Methoden umfassten entweder einzelne Vertreter jeder ABs-Klasse (Rossmann u. a. 2014; Zhou u. a. 2012) oder eine Auswahl der in dieser Arbeit gewählten fünf ABs-Klassen. Die Methode von Senta u. a. umfasste Fluorchinolone, Makrolide und Sulfonamide,

aber keine Tetracycline (Senta u. a. 2008). Yang u. a. sowie Lindsey u. a. entwickelten Methoden, die nur an Sulfonamide und Tetracycline getestet wurden (Fluorchinolone und Makrolide fehlen) (Lindsey u. a. 2001; Yang u. a. 2004b). Nur Makrolide wurden in der Methode von Yang und Carlsons berücksichtigt (Yang u. a. 2004a). Somit konnte für die Fragestellung der Arbeit keine Methode aus der Literatur übernommen werden.

Als Hypothese wurde angenommen, dass die fünf ABs-Klassen aufgrund ihrer unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften (z. B. pK_S -Werte) sich nicht alle an einem Adsorbens aus der Wasserphase anreichern lassen würden. Folglich stellte die Kombination von zwei Adsorbentien (Tandem-SPE) eine vielversprechende Alternative dar. Innerhalb einer ABs-Klasse wurde ein ähnliches Verhalten gegenüber dem Adsorbens angenommen. Um ein geeignetes Adsorbens für die 19 ABs zu ermitteln, wurden im Rahmen dieser Methodenentwicklung drei Adsorbentien von Oasis[®]Waters in der einzelnen Konfiguration mit der kombinierten Konfiguration (Tandem-SPE) verglichen.

Das Grundgerüst der Adsorbentien besteht aus einem Copolymer, das sich unter anderem aus N-Vinyl-2-pyrrolidon- und Divinylbenzol-Einheiten zusammensetzt. Der 2-Pyrrolidon Heterocyclus repräsentiert dabei den hydrophilen Teil und kann Wechselwirkung mit polaren Verbindungen eingehen. Der Benzolring der Divinylbenzol-Einheit geht lipophil Wechselwirkung mit unpolaren Verbindungen ein. Damit zeichnet sich das Umkehrphasen-Adsorbens durch einen hydrophilen und lipophilen Anteil aus und wird im nachfolgenden als HLB (engl. für hydrophilic-lipophilic balanced) bezeichnet. Ein Vorteil dieses Adsorbens ist die Abwesenheit von Silanolgruppen, die mit Tetracycline starke Wechselwirkungen ausbilden und eine Verringerung der WFRn verursachen (Lindsey u. a. 2001). Das Kationenaustauscher-Adsorbens weist zusätzlich eine negativ geladene Sulfonsäuregruppe (SO_3^-) auf und wird nachfolgend MCX (für Mixed-mode Cation eXchange) genannt. Das Anionenaustauscher-Adsorbens besitzt positiv geladene quarternäre Ammoniumgruppen und wird nachfolgend als MAX (für Mixed-mode Anion eXchange) bezeichnet. Bei den MCX- und MAX-Adsorbentien können zusätzlich zu den hydrophilen-lipophilen Wechselwirkungen noch ionische Wechselwirkungen auftreten (Waters Corporation 2011).

Desweiteren wurde ein Tandem-SPE-Protokoll nach Meyer u. a. erprobt (Meyer u. a. 2007). Bei der Tandem-SPE wurde eine HLB- mit der MCX-Kartusche für den Beladungsschritt kombiniert. Die flüssige Probe floss dabei durch das HLB-MCX-System und die Elution der Analyten erfolgte ebenfalls über die HLB-MCX-Kombination. Die WFRn für das Tandem-SPE-

Protokoll werden im Folgenden unter der Bezeichnung HLB-MCX präsentiert. Die Vorteile einer Tandem-SPE sind, dass neben unpolaren und polaren Analyten auch Ionen extrahiert werden können (abhängig von der eingesetzten Kartusche). Ein Tandem-SPE eignet sich insbesondere für Analyten bzw. Stoffgruppen, die ein weites Spektrum an Polaritäten aufweisen, z. B. die verschiedenen Klassen der ABs (Kim u. a. 2018).

Die Ergebnisse für die vier getesteten SPE-Protokolle werden in den Zusammenhang zu den chemisch-physikalischen Eigenschaften der ABs gestellt. Dafür wurden die ABs entsprechend ihres ersten pK_S -Wertes (pK_{S1}) in zwei Gruppen unterteilt. Der pK_{S1} wurde gewählt, da die Proben vor der Beladung auf die SPE-Kartuschen auf pH 2 eingestellt wurden. Gruppe 1 umfasst alle ABs, deren pK_{S1} zwischen -1,74 und 4,5 liegt (pK_S -Wert Bereich der starken Säuren). Dazu gehören alle Tetracycline (pK_{S1} 3,27 – 3,50) und drei Sulfonamide (Sulfamethoxazol, Sulfamethazin und Sulfadimethoxin pK_{S1} 1,6 – 2,65). Zu Gruppe 2 zählen alle AB mit pK_S -Werten zwischen 4,5 und 9,5. Sie schließen alle Fluorchinolone (pK_{S1} 5,97 – 6,27) und Makrolide (8,88 – 9,17) sowie zwei Sulfonamide (Sulfapyridin und Sulfadiazin), Clindamycin und Trimethoprim mit ein. Die WFRn sortiert nach ABs-Klassen können in Tabelle B.14 im Anhang eingesehen werden.

3.1.2 Gruppe 1 – starke Säuren

Abbildung 3.1 stelle die WFRn für die ABs der Gruppe 1 für die vier getesteten Protokolle dar. Für das Adsorbens mit Anionenaustauschereigenschaften (MAX) wurden die geringsten WFRn erzielt (3,6 – 54,9 %). Bei einem pH-Wert von 2 sind die Tetracycline positiv geladen (Protonierung des tertiären Amins) (Anderson u. a. 2005), da ihre pK_{S1} -Werte bei 3,27 bis 3,50 liegen. Die drei SA sind ebenfalls positiv geladen (Protonierung des primären Amins am Benzolring) (Gros u. a. 2013). Aufgrund der positiven Ladung der Analyten und des Adsorbens kam es zur elektrostatischen Abstoßung. Folglich waren die Wechselwirkungen zwischen beiden geringer als für die anderen SPE-Protokolle. Für das HLB- und MCX-Protokoll lagen die WFRn im Bereich von 17,7 bis 68,6 % und 16,6 bis 75,9 %. Dabei erzielten die drei Sulfonamide höhere WFRn (56,4 – 68,6 %, blaue Rauten) als die Tetracycline (17 – 28 %, grüne Rauten) für beide Protokolle. In beiden Fällen wurden WFRn von mindestens 80 % nicht erreicht. Die niedrigen WFRn der Tetracycline für MCX und MAX könnten zusätzlich auf einen negativen Matrixeffekt zurückzuführen sein. Die Matrixfaktoren lagen bei 0,1 bis 0,43 (siehe Tabelle B.16), was auf eine starke Unterdrückung des Signals hinwies. Für die Sulfonamide wurden hingegen Matrixfaktoren von 0,96 bis 1,28 berechnet, die auf einen geringen Einfluss der Matrix während

der Messung hindeuteten (siehe Tabelle B.15 und B.16, Anhang). Für die Methode von Lindsey u. a. wurde ebenfalls ein stärkerer Matrixeffekt für die Tetracycline als für die Sulfonamide bestimmt (Lindsey u. a. 2001).

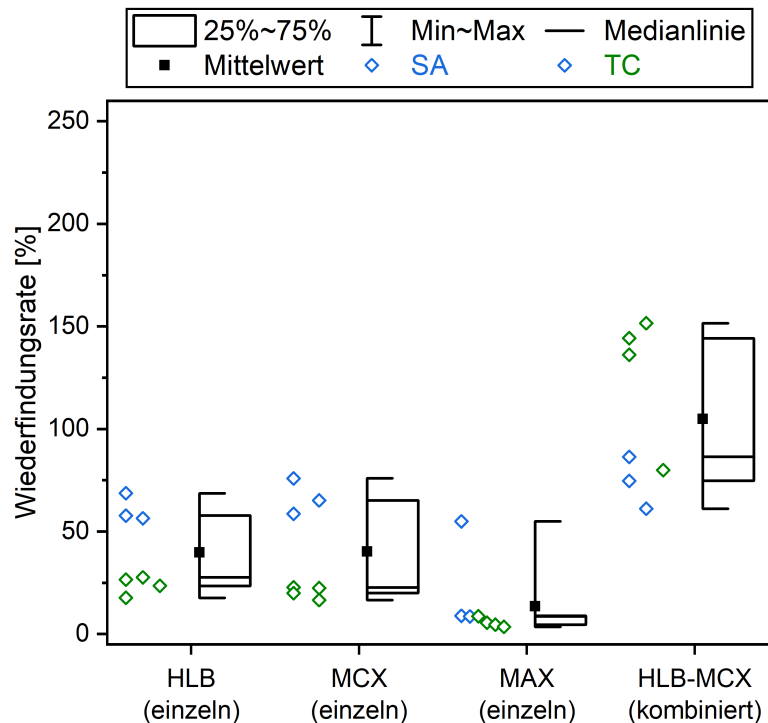


Abbildung 3.1: Wiederfindungsraten für die Tetracycline (TC) und drei Sulfonamide (SA, Sulfamethoxazol, Sulfamethazin und Sulfadimethoxin) für vier SPE-Protokolle. Umkehrphasen-Adsorbens mit hydrophilen und lipophilen Anteil (HLB), Kationenaustauscher (MCX), Anionenaustauscher (MAX) und Tandem-SPE (HLB-MCX).

Für das Tandem-SPE-Protokoll (HLB-MCX) wurde eine deutliche Verbesserung der WFRn für die Tetracycline erreicht (79,9 – 151,5 %, grüne Rauten) und die WFRn der Sulfonamide blieben vergleichbar (61,1 – 86,4 %, blaue Rauten). In der Literatur wurden für die Sulfonamide WFRn von 50 bis 89 %, 90 bis 116 % und 75,1 bis 104,4 % (Gros u. a. 2013; Senta u. a. 2008; Zhou u. a. 2012) für Wasserproben aus Oberflächengewässer unter Verwendung von Oasis[®]HLB-Kartuschen (Waters) angegeben. Für die gleichen Literaturstellen lagen die WFRn der Tetracycline bei 76 bis 108 % und 61,0 bis 84,7 % (Gros u. a. 2013; Zhou u. a. 2012).

Die zitierten WFRn lagen in einer vergleichbaren Größenordnung wie die WFRn, die in dieser Arbeit mit der Tandem-SPE bestimmt wurden. Die WFRn für beide ABs-Klassen in der Tandem-SPE-Methode nach Meyer u. a. betragen 81 bis 101 % (Sulfonamide) und 185 bis 1200 % (Tetracycline) für dotierte Oberflächen- und Grundwasserproben. Die WFRn der Te-

tracycline von größer als 100 % wurden auf einen Verstärkungseffekt bei der Ionisation in der Quelle des Massenspektrometers zurückgeführt (Meyer u. a. 2007). In dieser Arbeit wurden ebenfalls WFR von größer als 100 % für drei Tetracycline erzielt (136,1 – 151,5 %). Die ebenfalls auf einen Verstärkungseffekt während der Ionisation in der Quelle zurückzuführen waren. Außerdem waren die Tetracycline die einzige ABs-Klasse, für die nur ein isotopenmarkiertes AB als interner Standard (Doxycyclin-d3) zur Verfügung stand. Für die anderen ABs-Klassen wurde für jedes AB das korrespondierende isotopenmarkierte AB als interner Standard verwendet (siehe Tabelle B.6 und B.7 enthielten mehrere Deuterium-Atome). Der interne Standard wurde vor der Messung allen Proben hinzugegeben. Sein Einsatz ermöglicht Matrixeffekte in der Quelle des Massenspektrometers zu erfassen und zu korrigieren (Gros u. a. 2013). Da der Analyt und der interne Standard gleiche chemische Eigenschaften aufweisen, eluieren beide zum gleichen Zeitpunkt von der Trennsäule. Folglich treten beide gleichzeitig in die Ionisationsquelle ein und die gleichen Effekte wirken auf beide Moleküle. Im Massenspektrometer werden sie hingegen aufgrund ihrer unterschiedlichen Massen unterschieden (Skoog u. a. 2013). Für Gruppe 1 stellte das Tandem-SPE-Protokoll die beste Wahl dar. Dabei hatte das verwendete SPE-Protokoll einen geringeren Einfluss auf die Extraktionseffizienz der Sulfonamide im Vergleich zu den Tetracyclinen.

3.1.3 Gruppe 2 – schwache Säuren

In Abbildung 3.2 sind die WFRn für die ABs der Gruppe 2 nach den vier SPE-Protokollen zusammengefasst. Wie bereits für die Gruppe 1 wurden für das MAX-Protokoll die geringsten WFRn erzielt (23,8 – 94,6 %). Fluorchinolone sind bei einem pH-Wert von 2 aufgrund ihrer pK_S -Werte von 5,97 bis 8,74 am sekundärem Amin des Piperazin protoniert (Gros u. a. 2013). Die beiden Sulfonamide wiesen ebenfalls eine positive Ladung auf (siehe Gruppe 1). Folglich kam es erneut zu elektrostatischen Abstoßungen. Damit wurden die geringeren WFRn bzw. große Spannweite des MAX-Protokolls für die Fluorchinolone (schwarze Rauten) und Sulfonamide (blaue Rauten) (23,8 – 94,6 %) begründet. Für die Makrolide wurden WFRn von 78,3 bis 85,4 % für das MAX-Protokoll erzielt. Makrolide besitzen von den untersuchten AB die höchsten pK_{S1} -Werte (8,88 – 9,17) und weisen somit basische Eigenschaften auf. Sie waren die einzigen, die WFRn im Bereich von 80 % mit einer geringen Spannweite (78,3 – 85,4 %) für das MAX-Protokoll ABs-Klasse erzielten.

Für die HLB- und MCX-Protokolle lagen die Spannweiten (106,8 und 96,1) und Mediane (102,8 und 99,1 %) in einer ähnlichen Größenordnung. Die Fluorchinolone erzielten die höch-

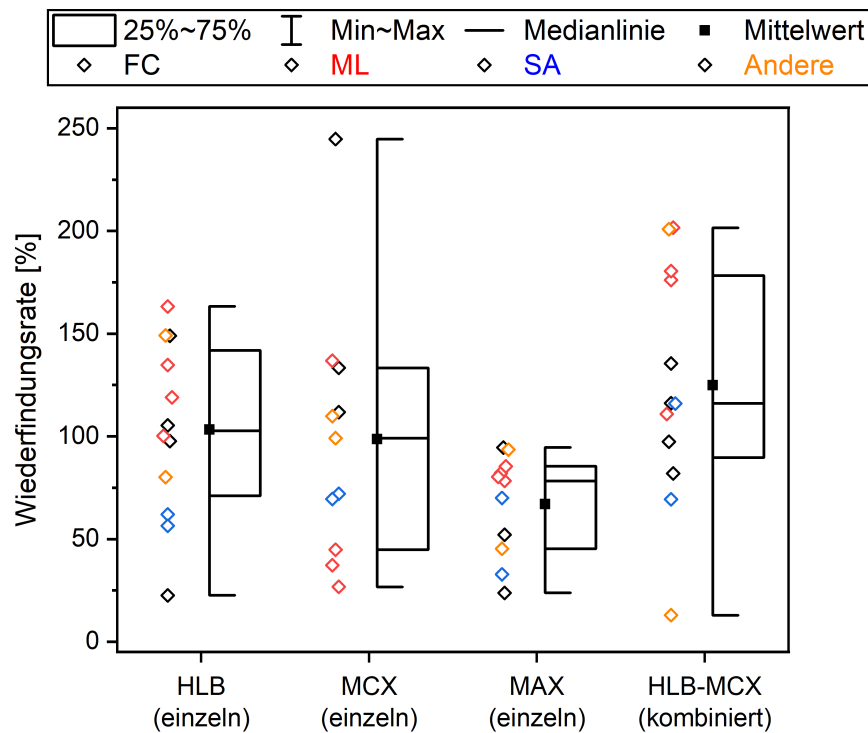


Abbildung 3.2: Wiederfindungsraten für die Fluorchinolone (FC), Makrolide (ML), Sulfonamide (SA, Sulfapyridine und Sulfadiazine) und Trimethoprim und Clindamycin (Andere) für die vier SPE-Protokolle.

ten WFRn für das MCX-Protokoll (111,8 – 244,8 %) und die Makrolide die geringsten WFRn (26,7 – 44,8 %, Ausnahme Erythromycin 136,8 %). Die höheren WFRn für die Fluorchinolone wurden auf die ionischen Wechselwirkungen zwischen der negativen SO_3^- -Gruppe des Adsorbens und der positiven Ladung des sekundären Amins sowie auf den polaren und hydrophilen Charakter der Fluorchinolone zurückgeführt ($\log(K_{\text{OW}})$ -Wert -1,03 – 0,7). Die Makrolide sind hingegen unpolar und hydrophob ($\log(K_{\text{OW}})$ -Werte 1,7 – 3,16) und damit waren weniger Wechselwirkungen möglich. Für das HLB-Protokoll wurden WFRn größer als 80 % für alle ABs erzielt (80,2 – 149,1 %), außer Norfloxacin (22,8 %) und die zwei Sulfonamide (56,5 – 61,9 %). Die WFRn von größer als 100 % wurden durch Signalverstärkung der Matrix bei der Quantifizierung mittels LC-MS/MS begründet. Die berechneten Matrixfaktoren für die Fluorchinolone, Makrolide und Trimethoprim lagen bei 1,10 bis 2,16 (siehe Tabelle B.15 und B.16, Anhang). Ein positiver Faktor deutet auf eine Verstärkung des Signals hin. In der Literatur wurden für die Verwendung von Waters Oasis[®]HLB-Kartuschen folgende WFRn für Oberflächenwasser angegeben: 55 bis 121 %, 72 bis 79 %, 61,0 bis 97,4 % für die Fluorchinolone und 66 bis 95 %, 87 bis 106 %, 96,4 bis 101,4 % für die Makrolide (Gros u. a. 2013; Senta u. a. 2008; Zhou u. a. 2012). Die WFRn waren vergleichbar mit den WFRn dieser Arbeit.

Für das Tandem-SPE-Protokoll wurde ein Median von 116,1 % ermittelt, der höher lag als die Mediane der HLB- und MCX-Protokolle. Eine Ausnahme war Clindamycin mit einer sehr geringen WFR von 12,9 %. Die Spannweite der WFRn war deutlich weiter als für die HLB- und MCX-Protokolle (132,3 % Vergleich zu 106,8 und 96,1 %). Für die Makrolide und Trimethoprim wurden WFRn von 176,1 bis 201,6 % erzielt. Meyer u. a. gaben für ihre Tandem-SPE-Methode folgende WFR für dotierte Oberflächen- und Grundwasserproben an: 120 bis 139 % für die Makrolide, $102 \pm 35,7$ % für Trimethoprim und 92 bis 107 % für die Fluorchinolone (Meyer u. a. 2007). Die WFRn der Makrolide und Trimethoprim lagen in beiden Protokollen über 100 %. Als Ursache für die höhere WFRn wurde eine Verstärkung des Messsignals des ABs in Kombination mit einer Reduzierung des Signals des internen Standards angegeben (Meyer u. a. 2007). Da sowohl für die Fluorchinolone und Makrolide Matrixfaktoren größer eins berechnet wurden (0,62 – 2,16), wurden die WFRn von größer als 100 % in dieser Arbeit ebenfalls auf den Matrixeffekt zurückgeführt.

Die großen Spannweiten der WFRn für die Gruppe 2 (96,1 – 132,3 %) wurden auf die unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften der ABs zurückgeführt. Diese Gruppe umfasst zwei ABs-Klassen mit unterschiedlichen Polaritäten. Die Fluorchinolone, die zwei Sulfonamide und Trimethoprim weisen einen $\log(K_{OW})$ -Wert kleiner als eins auf (-1,03 – 0,91). Sie sind deswegen polar und hydrophil. Die Makrolide und Clindamycin besitzen einen $\log(K_{OW})$ -Wert größer als eins (1,7 – 3,16) und sind unpolar und hydrophob. Die unterschiedlichen Polaritäten beeinflussten neben der Ladung die Interaktionen mit den Adsorbens Material. Für die ABs der Gruppe 2 stellte das HLB- oder Tandem-SPE-Protokoll einen guten Kompromiss dar.

3.1.4 Einfluss der EDTA Konzentration auf die Wiederfindungsraten

Im Anschluss an die Auswahl des SPE-Protokolls wurde der Einfluss der Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) Konzentration auf die WFRn untersucht. Fluorchinolone und Tetracycline bilden aufgrund ihrer chemischen Strukturen Komplexe mit mehrwertigen Metallkationen der Probenmatrix aus (z. B. für Tetracycline Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} (Anderson u. a. 2005) für Fluorchinolone zusätzlich Al^{3+} , Fe^{3+} (Speltini u. a. 2011)). Als Folge adsorbieren die gebildeten AB-Metallkomplexe irreversibel am Adsorbens der SPE-Kartusche und die WFRn fielen geringer aus (Kim u. a. 2018). Um die Komplexbildung zu umgehen, wird der Einsatz eines Chelatbildners wie EDTA, Oxalsäure (Ethandisäure) oder Zitronensäure empfohlen. Für Makrolide wurde der Einsatz von Chelatbildner in der Probenvorbereitung ebenfalls angeraten (Gros u. a.

2013; Kim u. a. 2018). Sulfonamide können aufgrund ihrer Struktur keine Komplexe ausbilden und benötigen folglich keinen Zusatz eines Chelatbildners.

In dieser Arbeit wurden drei verschiedene EDTA Konzentrationen (50, 100 und 1000 mg L⁻¹) für das Tandem-SPE-Protokoll an Wasserproben aus dem lokalen Fluss Alb getestet. In der Literatur wurde nach Wissen der Autorin keine Untersuchung zum Einfluss der EDTA Konzentration auf die WFRn durchgeführt. Die eingesetzten EDTA Konzentrationen in der Literatur lagen zwischen 1 und 700 mg L⁻¹ (Jia u. a. 2009; Luo u. a. 2011; Meyer u. a. 2007; Rossmann u. a. 2014; U. S. Environmental Protection Agency 2007). Die Ergebnisse für die Fluorchinolone, Makrolide und Tetracycline sind in Abbildung 3.3 als Boxplot dargestellt. Für die Sulfonamide konnte kein klarer Trend aus den Daten abgelesen werden (siehe Tabelle B.18, Anhang).

Für die niedrigste EDTA Konzentration wurde die größte Spannweite von 241,3 % erreicht und wies auf eine starke Streuung der WFRn hin. Für eine EDTA Konzentration von 100 mg L⁻¹ lag der Median und Mittelwert bei 113,5 % und 108,0 % und damit niedriger als für die 1000 mg L⁻¹ EDTA Konzentration (135,8 und 136,0 %). Die Spannweite für die EDTA Konzentrationen 100 mg L⁻¹ war größer als für die 1000 mg L⁻¹ (171,4 % und 125,6 %). Im Fall der 1000 mg L⁻¹ überschritten sich Median und Mittelwert (135,8 und 136,0 %) und wiesen auf eine homogenere Verteilung der WFRn hin. Für die Fluorchinolone und Tetracycline wurden mit 1000 mg L⁻¹ höhere WFRn mit einer geringen Spannweite erzielt (76,3 – 202,0 %) als für das 100 mg L⁻¹ Protokoll (59,3 – 230,7 %). Deswegen wurde für die finale Methode eine Konzentration von 1000 mg L⁻¹ gewählt.

3.1.5 Schlussfolgerung für die Methodenentwicklung der SPE

Mit dem Vergleich der vier SPE-Protokolle konnte die in der Literatur beschriebene Anwendung des hydrophilen-lipophilen Umkehrphasen-Adsorbens (HLB) zur Anreicherung von ABs aus der Wasserphase bestätigt werden (Gros u. a. 2013; Kim u. a. 2018; Senta u. a. 2008; Zhou u. a. 2012). Die Ergebnisse verdeutlichten, dass die Ionenaustauscher Adsorbentien (MCX und MAX) eine limitierende Anwendung haben. Im Falle des MCX-Protokolls wurden nur für Clindamycin, Norfloxacin und Trimethoprim WFRn im Bereich von 99,1 bis 111,8 % erzielt. Das MAX-Protokoll ergab zufriedenstellende Ergebnisse nur für die Makrolide (78,3 – 85,4 %). Die WFRn der anderen ABs lagen im niedrigen zweistelligen Bereich bzw. die Spannweite war zu groß (3,6 – 8,6 % für die Tetracycline oder 8,6 – 70,0 % für die Sulfonamide). Der Vergleich der WFRn für die unterschiedlichen ABs-Klassen ergab, dass auf Grund der unterschiedlichen

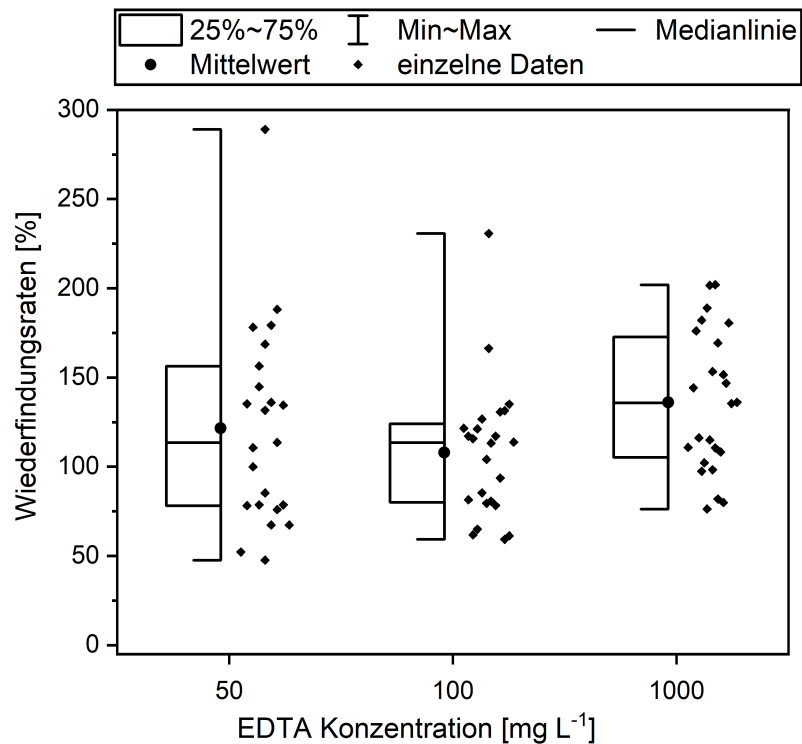


Abbildung 3.3: Wiederfindungsraten für das Tandem-SPE-Protokoll für EDTA Konzentrationen von 50, 100 und 1000 mg L⁻¹.

physikalisch-chemischen Eigenschaften der AB für jede Klasse ein anderes Protokoll gewählt werden sollte. Damit wurde die zu Beginn aufgestellte Hypothese bestätigt. Darüber hinaus konnte der Zusammenhang zwischen Ladung und Polarität des ABs und der WFRn des entsprechenden Protokolls erläutert werden.

Die chemischen Eigenschaften der ABs beeinflussten maßgeblich ihr Verhalten während der SPE. Basierend auf dieser Erkenntnis wurden die ABs entsprechend ihrer pK_S -Werte in zwei Gruppen aufgeteilt. Für ABs mit pK_S -Werten zwischen -1,74 und 4,5 stellte das Tandem-SPE-Protokoll (HLB-MCX) die beste Wahl dar. Für ABs mit pK_S -Werten zwischen 4,5 bis 9,5 konnte sowohl das HLB- oder Tandem-SPE-Protokoll gewählt werden. Insgesamt erzielten 9 bzw. 15 ABs von 19 für diese beiden Protokolle eine WFRn größer als 80 % (80,2 – 163,2 % bzw. 81,9 – 201,6 %). Damit wurde die Annahme, dass das Tandem-SPE-Protokoll eine gute Alternative zum klassischen SPE-Protokoll war, bestätigt.

Die Verwendung eines Chelatbildners z. B. EDTA im Konzentrationsmaßstab von 1000 mg L⁻¹ für die Fluorchinolone, Makrolide und Tetracycline steigerte die WFRn. Durch die entwickelte SPE-Methode konnten die ABs im unteren ng L⁻¹-Bereich mit Methodennachweis- und Methodenbestimmungsgrenzen von 5 bis 558 ng L⁻¹ und 13 bis 1394 ng L⁻¹ quantifiziert werden

(für Details siehe Tabelle B.15 und B.16, Anhang). Bei der Auswahl des SPE-Protokolls sollten ebenfalls weitere Faktoren berücksichtigt werden, z. B. zeitlicher Arbeitsaufwand, Anzahl an Proben und die Probenmatrix. Das Tandem-SPE-Protokoll wies einen höheren Zeitbedarf auf, da zwei Kartuschen pro Proben verarbeitet werden mussten. Auf der anderen Seite konnten durch zwei Kartuschen ABs mit unterschiedlicher Polarität und Ladung sowie unterschiedlichen Matrixbestandteilen zurückgehalten werden. Für eine komplexe Probenmatrix wird das Tandem-SPE-Protokoll empfohlen. Für eine große Anzahl an Proben, die eine schnelle Verarbeitung benötigen, war das HLB-Protokoll die bessere Wahl.

3.2 Methodenentwicklung zur Extraktion von Antibiotika aus Flusssediment

Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse und Abbildungen wurden als wissenschaftliche Publikation bei Water (MDPI) wie folgt veröffentlicht: Chabilan, A.; Landwehr, N.; Horn, H.; Borowska, E., Impact of $\log(K_{OW})$ Value on the Extraction of Antibiotics from River Sediments with Pressurized Liquid Extraction. Water 2022, 14, 2534, <https://doi.org/10.3390/w14162534>.

3.2.1 Einleitung

Das Ziel der Methodenentwicklung war die Etablierung einer Methode zur Extraktion von vier ABs-Klassen zuzüglich Clindamycin und Trimethoprim (insgesamt 19 ABs) aus Flusssedimenten. Aufgrund der komplexen Sedimentmatrix und der geringen Konzentrationen der ABs im Flusssediment ($1 - 25 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Gibs u. a. 2013; Kerrigan u. a. 2018a; Massey u. a. 2010)) war eine mehrstufige und zeitaufwendige Probenaufbereitung notwendig. Die verwendete Extraktionstechnik ist die beschleunigte Lösungsmittelextraktion (engl. pressurized liquid extraction, PLE). Anschließend wurden die Extrakte mittels Tandem-SPE aufbereitet, um Matrixinterferenzen zu entfernen. Dabei wurde die im Kapitel 3.1 entwickelte Tandem-SPE angewendet. Wegen ihres geringen Lösungsmittelverbrauchs und hoher Effizienz schien die Tandem-SPE die Methode der Wahl zu sein (Kim u. a. 2007a; Yang u. a. 2010). In der ersten Hypothese wurde angenommen, dass alle 19 ABs mit der PLE-Methode aus dem Flusssediment extrahiert werden können. Um die Effizienz der Extraktion zu bewerten, wurden die WFR_n berechnet. Idealerweise sollte diese bei der Extraktion von Feststoffproben im Bereich von 45 bis 125 % liegen.

In der Literatur wurden bereits mehrfach PLE-Methoden für die Extraktion von ABs aus Böden (da Silva u. a. 2020; Golet u. a. 2002; Halling-Sørensen u. a. 2005; Popova u. a. 2019;

Tabelle 3.1: Übersicht über die Spannweite der WFRn für unterschiedliche Methoden zur Extraktion von ABs aus Sedimenten aus der Literatur.

ABs-Klasse	WRF (min – max) [%]	Quelle
Fluorchinolone	64,7 – 132,2	(Gibs u. a. 2013)
	40,0 – 63,3	(Kerrigan u. a. 2018a)
	3,0 – 59,0	(Li u. a. 2012)
	50,0 – 72,0	(Vazquez-Roig u. a. 2010)
Makrolide	63,4 – 100,5	(Gibs u. a. 2013)
	68,0 – 104,1	(Kerrigan u. a. 2018a)
	85,0 – 360,0	(Li u. a. 2012)
	54,0 – 99,0	(Senta u. a. 2021)
	68,0 – 149,0	(Silva u. a. 2011)
Sulfonamide	96,8 – 132,3	(Gibs u. a. 2013)
	100,2 – 106,9	(Kerrigan u. a. 2018a)
	70,0 – 224,0	(Li u. a. 2012)
	45,7	(Silva u. a. 2011)
	84,0 – 87,0	(Vazquez-Roig u. a. 2010)
Tetracycline	53,3 – 102,9	(Gibs u. a. 2013)
	1,0 – 122,0	(Kerrigan u. a. 2018a)
	63,0 – 70,0	(Vazquez-Roig u. a. 2010)
Trimethoprim	97,2	(Silva u. a. 2011)
	93,0 – 97,0	(Vazquez-Roig u. a. 2010)

Salvia u. a. 2015) oder Klärschlamm (Golet u. a. 2002; Lillenberg u. a. 2009; Salvia u. a. 2015) beschrieben. Methoden für die Extraktion von mindestens drei ABs-Klassen aus Flusssediment waren hingegen selten (Gibs u. a. 2013; Kerrigan u. a. 2018a; Li u. a. 2012). Abhängig von der verwendeten Methode und der ABs-Klasse war die Spannweite der WFRn weit (siehe Tabelle 3.1). Weitere publizierte Methoden wurden nur für eine ABs-Klasse entwickelt oder an ausgewählten ABs getestet. Z. B. wurde die Methode von Senta u. a. nur an Makroliden erprobt (WFRn von 54 – 99 %) (Senta u. a. 2021). Wie Tabelle 3.1 zusammenfasst, war die Spannweite der WFRn für die ABs weit und wies daraufhin, dass die Extraktion von ABs aus Sedimenten eine analytische Herausforderung ist.

3.2.2 Einführung einer neuen Einteilung der ABs nach ihrem $\log(K_{OW})$ -Wert

Basierend auf der Literaturrecherche wurden zu Beginn der Methodenentwicklung vier PLE-Protokolle (A bis D weitere Angabe siehe Tabelle 2.3) getestet, die für Boden- und Sedimentproben entwickelt wurden (Golet u. a. 2002; Kerrigan u. a. 2018a; Salvia u. a. 2015; Senta u. a. 2021). Abbildung 3.4 stellt die WFRn für die vier ABs-Klassen der Fluorchinolone, Makrolide, Sulfonamide und Tetracycline dar. Für Clindamycin und Trimethoprim befindet sich die Abbildung im Anhang (A.21). Der Vergleich der WFRn für die Fluorchinolone und Tetracycline ergab, dass die WFRn im Allgemeinen kleiner als 45 % ausfielen ($< 1 - 23,0\%$ bzw. $< 1 - 81,3\%$). Diese war bereits in der Literaturrecherche aufgefallen. Eine weitere Analyse der Daten wies keinen Zusammenhang zwischen dem getesteten Protokoll und der ABs-Klasse auf. Die Spannweiten innerhalb einer ABs-Klasse waren für das gleiche Protokoll weit z. B. Protokoll A: Fluorchinolone 18 %, Makrolide 116 %, Sulfonamide 34,5 % und Tetracycline 67 %.

Die Einteilung der ABs nach Klassen beruht auf ihrer chemischen Struktur und ist eine weitverbreitete Klassifizierung. Um zu testen, ob die Extraktionseffizienz evtl. von einem weiteren chemisch-physikalischen Parameter abhängig war, wurde der $\log(K_{OW})$ -Wert als neues Kriterium eingeführt. Wie bereits in Kapitel 1.1 dargestellt, unterscheiden sich ABs derselben Klasse in ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften. Sowohl für den $\log(K_{OW})$ -Wert als auch für die fest-flüssige Extraktion wird ein Gleichgewicht zwischen einer wässrigen/hydrophilen Phase (Wasser bzw. das verwendete Lösungsmittel) und einer hydrophoben Phase (Sediment) eingestellt. Somit stellte der $\log(K_{OW})$ -Wert eine gute Näherung für die fest-flüssige Extraktion dar (Schwarzenbach u. a. 2003). Im Folgenden wird eine neue Klassifizierung der ABs nach ihren $\log(K_{OW})$ -Werten in vier Gruppen vorgestellt und anschließend die Methodenentwicklung diskutiert. Die $\log(K_{OW})$ -Werte der 19 ABs liegen im Bereich von -1,37 bis 3,16. Die ABs wurden in vier $\log(K_{OW})$ -Gruppen eingeteilt (1 bis 4). Die Einteilung ist graphisch in Abbildung 3.5 dargestellt und die ABs und dazugehörigen Abkürzungen sind in Tabelle B.19 (Anhang) zusammengefasst. Wie Abbildung 3.5 zeigt, wiesen sieben ABs einen negativen $\log(K_{OW})$ -Wert auf und sind lipophob, hydrophil und polar. Elf ABs besitzen einen positiven $\log(K_{OW})$ -Wert und sind lipophil, hydrophob und nicht polar. Die Fluorchinolone verteilten sich auf Gruppe 1 bis 3. Die Makrolide gehörten alle der Gruppe 4 an. Die Sulfonamide waren auf die Gruppen 2 bis 4 verteilt. Die Tetracycline wurden den Gruppen 1 bis 3 zugeordnet.

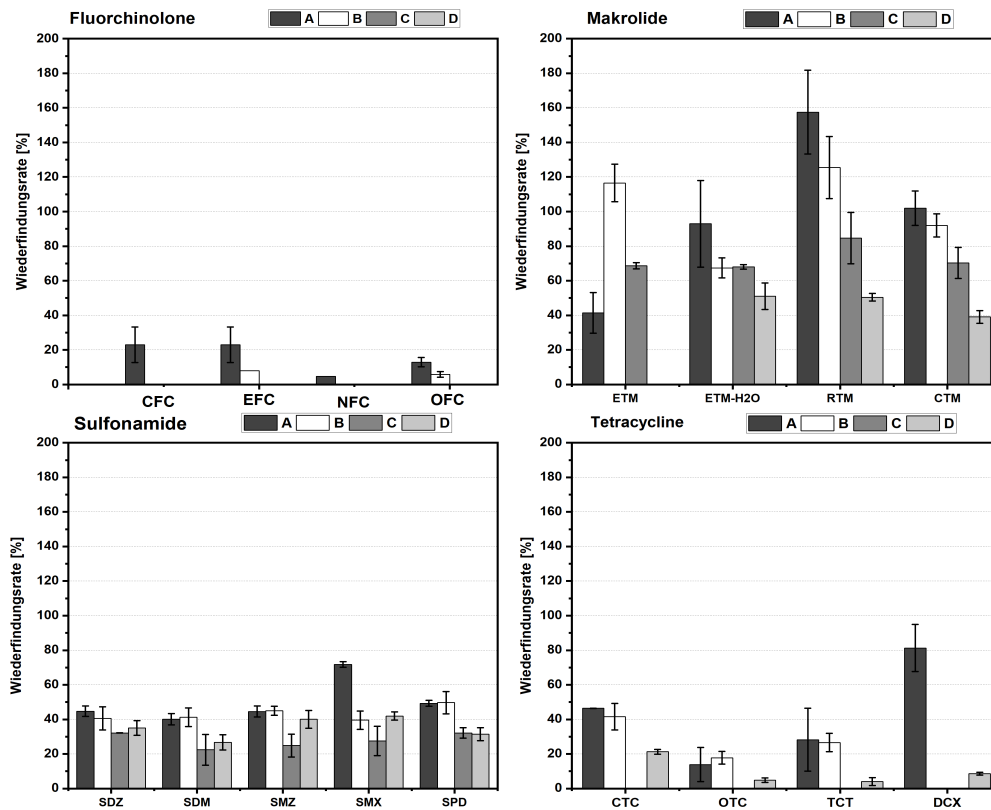


Abbildung 3.4: Wiederfindungsraten für die Protokolle A bis D (siehe Tabelle 2.3) der ABs-Klasse der Fluorchinolone, Makrolide, Sulfonamide und Tetracycline. PLE-Protokolle wurden nach Golet u. a. (A), Salvia u. a. (B), Kerrigan u. a. (C) und Senta u. a. (D) modifiziert. Die Buchstaben unter dem Diagramm geben die Abkürzungen für die ABs an (siehe Tabelle 1.1). Graphik adaptiert nach (Chabilan u. a. 2022).

Abbildung 3.6 stellt die WFRn der Protokolle A bis D für jede $\log(K_{OW})$ -Gruppe da. In der $\log(K_{OW})$ -Gruppe 1 wurden für die Protokolle A, B und D WFRn von 4,0 bis 28,3 % erreicht. Für Protokoll C konnten keine ABs im Extrakt nachgewiesen werden. Keines der vier Protokolle erzielte die geforderte WFR im Bereich von 45 bis 125 %. Für die $\log(K_{OW})$ -Gruppe 2, die sich hauptsächlich aus Tetracyclinen zusammensetzt, lagen die WFRn der Protokolle A, B und D in folgenden Bereichen 12,9 bis 81,3 %; 5,4 bis 40,6 %; 3,1 bis 24,3 %. Für Protokoll C wurde nur Sulfadiazin quantifiziert (WFR von 32,2 %). Für die Protokolle B und D lag der Median der WFR unterhalb des geforderten Werts von 45 % (7,8 und 15,0 %). Für Protokoll A lag der Median bei 44,7 %. Die Spanweite für Protokoll A war jedoch sehr hoch (68,3 %). In der $\log(K_{OW})$ -Gruppe 3 traten folgende WFRn für Protokolle A, B, C und D auf: 13,0 bis 139,1 %; 10,5 bis 65,4 %, 24,8 bis 52,4 % und 17,2 bis 49,3 %. Für Protokoll A und B war der Median größer als 45 % (46,9 und 45,1 %). Im Vergleich zu den $\log(K_{OW})$ -Gruppen 1 und 2 wurden

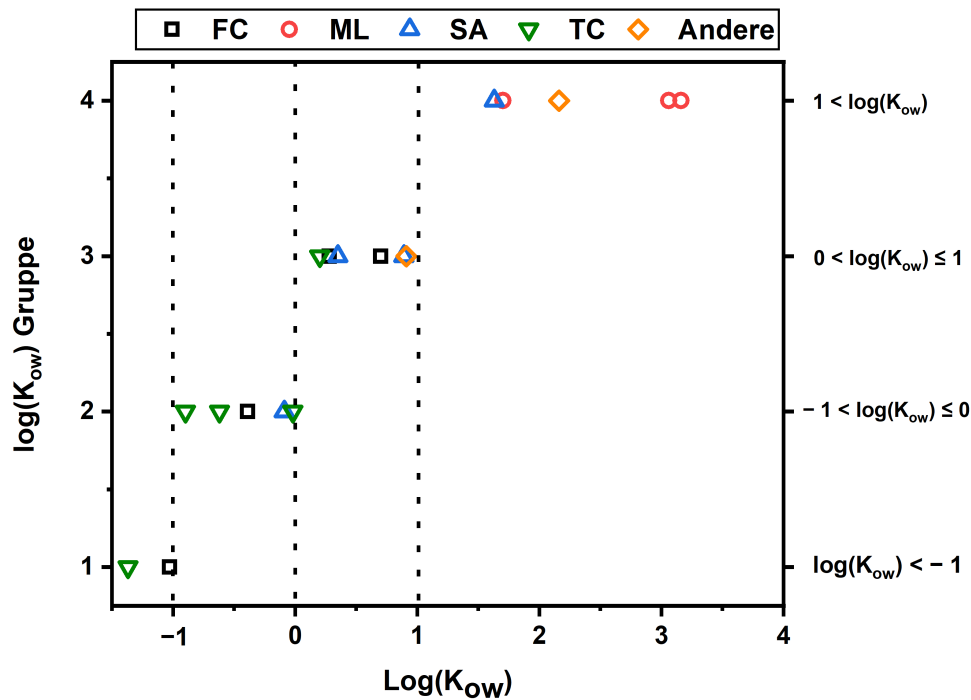


Abbildung 3.5: Einteilung der ABs nach ihren $\log(K_{OW})$ -Werten in vier Gruppen 1 bis 4 (y-Achse). Vier Fluorchinolone (FC), drei Makrolide (ML), fünf Sulfonamide (SA), vier Tetracycline (TC) und zwei Andere (Clindamycin, Trimethoprim). Für Erythromycin-H₂O war kein $\log(K_{OW})$ -Wert verfügbar. Graphik adaptiert nach (Chabilan u. a. 2022).

im allgemeinen höhere Wiederfindungsraten erzielt. In der letzten Gruppe betragen die WFR für die Protokolle A, B und C 40,1 bis 157,5 %; 14,8 bis 75,7 % und 22,4 bis 84,7 %. Damit waren sie höher als für das Protokoll D (22,5 bis 37,1 %). Die Mediane der Protokolle A bis C lagen im gewünschten Bereich von 45 bis 125 % (70,9, 64,3 und 69,5 %). Der Vergleich der Mediane für die Protokolle A bis D deutete darauf hin, dass ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten größer als null höhere WFR erzielten als ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten kleiner als null.

3.2.3 Der Einfluss des $\log(K_{OW})$ -, pK_S -, K_d - und pH-Werts auf die Extraktionseffizienz

$\log(K_{OW})$ -Wert

Im Folgenden werden die Protokolle A und D miteinander verglichen, um den Einfluss des Lösungsmittels auf die Extraktion zu verdeutlichen. Wie aus Tabelle 2.3 im Kapitel 2.3.2 entnommen werden kann, unterscheiden sich beide Protokolle nur in den organischen Lösungsmitteln. Für Protokoll A wurde das polare aprotische Lösungsmittel Acetonitril mit einem $\log(K_{OW})$ -Wert von -0,34 genutzt. Für Protokoll D wurde das polare protische Lösungsmittel Methanol

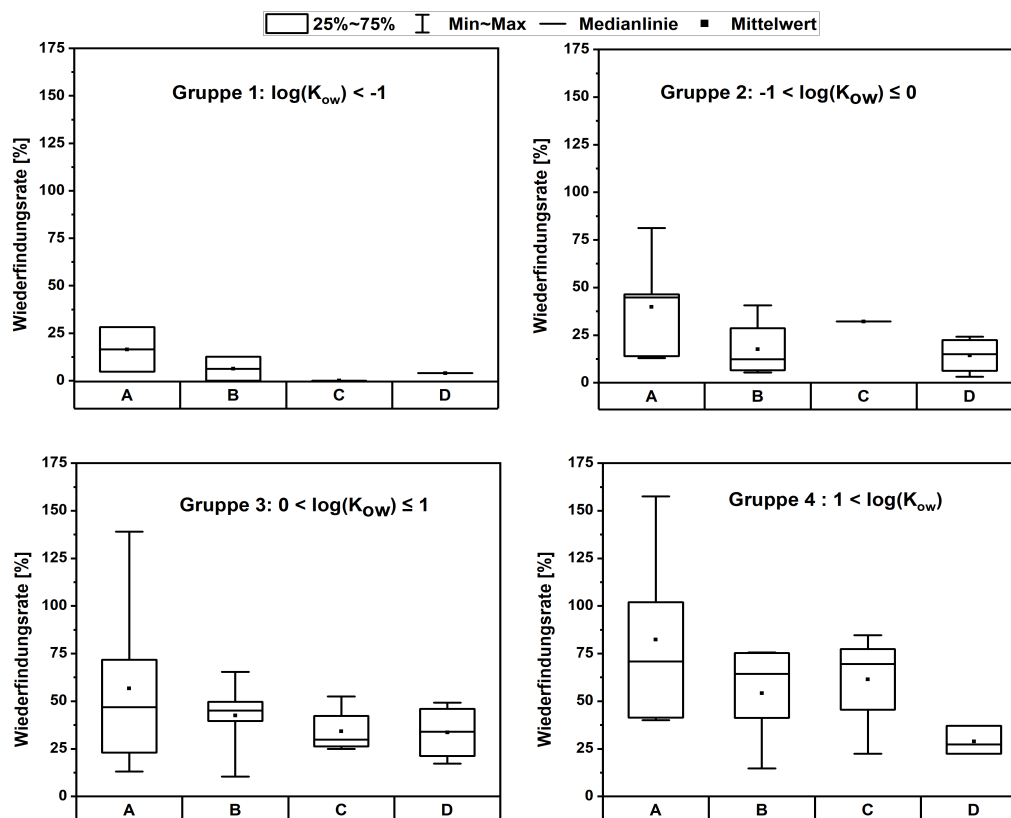


Abbildung 3.6: Boxplot für die Wiederfindungsraten der Protokolle A bis D (siehe Tabelle 2.3). ABs wurden nach ihren $\log(K_{ow})$ -Werten in vier Gruppen (1 bis 4) aufgeteilt. Graphiken adaptiert nach (Chabilan u. a. 2022).

versetzt mit 0,2 % Ammoniumhydroxid mit einem $\log(K_{ow})$ -Wert von -0,77 eingesetzt. Wie auf Abbildung 3.6 dargestellt ist, waren die WFRn für Protokoll A höher als für Protokoll D. Der Unterschied lässt sich anhand der $\log(K_{ow})$ -Werte der ABs und der Lösungsmittel erklären. Mehr als die Hälfte der ABs (11 von 19) gehören den $\log(K_{ow})$ -Gruppen 2 und 3 an, die den Wertebereich -1 bis 1 abdecken. Acetonitril ist aufgrund seines $\log(K_{ow})$ -Werts von -0,34 hydrophober als Methanol. Das hydrophobere Lösungsmittel extrahiert die ABs aus Gruppe 2 (12,9 – 81,3 % im Vergleich zu 3,2 – 24,3 %) und 3 (13,0 – 139,1 % im Gegensatz zu 17,2 – 49,3 %) besser.

Für Protokolle B und C wurde ebenfalls Methanol als organisches Lösungsmittel eingesetzt. Die WFRn des Protokolls C für die Gruppen 2 und 3 waren jedoch geringer als für Protokoll A (32,3 und 24,9 – 52,4 % im Vergleich zu 12,9 – 81,3 % und 13,0 – 139,1 %). Für Protokoll B wurde sowohl Acetonitril als auch Methanol im gleichen Verhältnis verwendet. Die WFRn für die Gruppen 1 bis 3 waren höher (12,6 %, 5,4 – 40,6 % und 10,5 – 65,4 %) als im Protokoll C (32,2 %, 24,9 – 52,4 %), jedoch geringer als im Protokoll A (4,7 – 28,3; 12,9 – 46,4 % und

13,0 – 139,1 %). Für die $\log(K_{OW})$ -Gruppe 3 erzielten Protokoll C und D (beide Methanol als organisches Lösungsmittel) ähnliche WFRn (24,9 – 52,4 % und 17,2 – 49,3 %). Der Vergleich der WFRn unterstrich den Einfluss des $\log(K_{OW})$ -Werts auf die Extraktionseffizienz. Ähnliche Effekte wurden in der Literatur für bestimmte ABs-Klassen bereits beschrieben. Ding u. a. konnten für die Sulfonamide (hauptsächlich Gruppe 3) zeigen, dass beim Einsatz von Acetonitril und Wasser (gleicher Anteil, V/V, 50:50) (56 – 63 %) im Vergleich zu Methanol und Wasser (gleicher Anteil, V/V, 50:50) (48 bis 59 %) für die Extraktion von ABs aus Klärschlamm höhere WFRn erzielt wurden (Ding u. a. 2011). Für die Tetracycline, die den Gruppen 1 und 2 angehören, wiesen die Protokolle B bis D die niedrigsten WFRn auf (3,2 – 40,6 %). Das in Protokoll D verwendete Methanol war mit einer Base (Ammoniumhydroxid) versetzt und hatte einen pH-Wert von 6,5. Popova u. a. zeigte, dass Tetracycline bei der Extraktion mit wässriger Methanol-Lösung mit einem pH-Wert von 6,5 die niedrigsten WFRn erzielten (Popova u. a. 2019).

pK_S-Wert

Wie Abbildung 3.6 verdeutlicht, waren die WFRn für Protokolle A bis D für die Gruppen 1 und 2 kleiner als 45 %. Damit wurde das selbstgewählte Kriterium von einer WFR von mindestens 45 % nicht erreicht. Beide Gruppen setzen sich hauptsächlich aus Fluorchinolonen und Tetracyclinen zusammen, für die weite Spannweiten bereits in der Literatur berichtet wurden (siehe Tabelle 3.1). Beide ABs-Klassen weisen verschiedene funktionelle Gruppen auf: Carbonsäure-, Carbonyl- und Hydroxy-Funktionen, sekundäre und tertiäre Amine und Amid-Gruppen (siehe ebenfalls Kapitel 1.1.3) (Scaria u. a. 2021; Van Doorslaer u. a. 2014). Im pH-Wert Bereich, in dem gilt $pK_{S1} < pH < pK_{S2}$, besitzen Fluorchinolone und Tetracycline aufgrund der unterschiedlichen funktionellen Gruppen in ihrer chemischen Struktur zwei Ladungen (eine positive und eine negative). Das AB Molekül als Ganzes ist neutral geladen, da die entgegengesetzten Ladungen sich ausgleichen. Das entstandene Ion wird als Zwitterion bezeichnet. Die pK_S-Werte der Fluorchinolone und Tetracycline liegen im Bereich von 5,97 bis 8,3 und 3,3 bis 9,7 (siehe Tabelle 1.1) und damit im pH-Wert Bereich von Bodenproben (6 bis 8). Die eingesetzten Sedimentproben hatten einen pH-Wert von 7,2. Folglich bilden beide ABs-Klassen Zwitterionen aus und können mit kationischen und anionischen Stellen im Sediment oder Boden interagieren (Anderson u. a. 2005; O'Connor u. a. 2007).

K_d-Wert

Für die Fluorchinolone wurde bereits beschrieben, dass ionische und hydrophobe Wechselwirkungen eine signifikante Rolle für den Adsorptionsprozess spielen (Van Doorslaer u. a. 2014). Aufgrund der Eigenschaften der Zwitterion können Fluorchinolone stabile Komplexe mit Kationen wie Magnesium, Calcium und Aluminium bilden. Der Adsorptionsmechanismus an Tonmineralien umfasst die Ausbildung von Kationenbrücken zwischen den Fluorchinolonen, mehrwertigen Metallkationen (Ca^{2+} , Mg^{2+}) und der Oberfläche, ionische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken-Bindungen (Speltini u. a. 2011; Tolls 2001). Des Weiteren beeinflussen die Eigenschaften des Sediments z. B. die Kationenaustauschkapazität und der organische Kohlenstoffanteil (TOC) die Adsorption der Fluorchinolone (Speltini u. a. 2011). Wie die Fluorchinolone bilden Tetracycline mit zweiwertigen Metallkationen Komplexe aus (z. B. Ca^{2+} , Mg^{2+}) (Anderson u. a. 2005; Larivière u. a. 2017). Der in Kapitel 1.1.2 eingeführte Sorptionskoeffizient (K_d -Wert) wurde als weiterer Parameter zur Erklärung der geringen WFRn der Fluorchinolone und Tetracycline herangezogen. Für die Fluorchinolone lagen die K_d -Werte von Süß- und Salzwasser-Sedimenten im Bereich von 30 bis 18620 L kg^{-1} (Van Doorslaer u. a. 2014). Die K_d -Werte für Oxytetracycline in Süß- und Salzwasser-Sedimenten betragen 290 bis 490 L kg^{-1} (Tolls 2001). In sandigen und tonhaltigen Sedimenten wurden K_d -Werte von 417 bis 11908 L kg^{-1} für die Tetracycline bestimmt (Bavumiragira u. a. 2022). Für Erythromycin und die Sulfonamide wurden kleinere K_d -Werte in der Literatur angegeben ($0,6$ bis $7,4 \text{ L kg}^{-1}$ (Bavumiragira u. a. 2022)). Durch die höheren K_d -Werte weisen Fluorchinolone und Tetracycline eine höhere Affinität zur Adsorption an Böden und Sedimenten als Makrolide und Sulfonamide auf. Dieser Umstand erklärt womöglich die geringen WFRn der ABs aus Gruppe 1 und 2 bzw. der Fluorchinolone und Tetracycline.

pH-Wert

Neben dem eingesetzten organischen Lösungsmittel hatte der pH-Wert der wässrigen Phase einen Einfluss auf die WFR der Analyten. Protokoll A basierte auf der Methode von Golet u. a. (Golet u. a. 2002), indem Ciprofloxacin und Norfloxacin mit WFRn von 97,6 und 94,4 % extrahiert wurden. Die Autoren führten höhere WFR der beiden Fluorchinolone bei niedrigen pH-Werten auf elektrostatische Abstoßung zwischen den protonierten anionischen Stellen der Fluorchinolone und der Oberfläche des Klärschlammes zurück. Ein weiterer Punkt war die steigende Löslichkeit der Fluorchinolone bei niedrigem oder hohem pH-Wert. Die Löslichkeit ist auf Grund der zwitterionischen Struktur der Fluorchinolone am niedrigsten bei neutralem pH-

Wert (Golet u. a. 2002). Ein ähnlicher Trend war für die Gruppe 1 und 2 in Abbildung 3.6 zu erkennen. Die pH-Werte der wässrigen Phase der Protokolle A bis C lagen im Bereich 2 bis 7. Bei einem neutralen pH-Wert (Protokoll C) wurden keine Fluorchinolone quantifiziert. In der Studie von Popova u. a. wurde der Einfluss unterschiedlicher pH-Werte (6,5; 8 und 10) auf die Extraktion von Tetracyclinen untersucht. Für einen pH-Wert von 10 wurden höhere WFRn als für die pH-Werte 6,5 und 8 erzielt. Sowohl bei pH-Wert 8 und 10 lagen die Tetracycline negativ geladen vor. Dadurch war eine Reduzierung der ionischen Wechselwirkungen mit der Matrix möglich (Popova u. a. 2019).

Schlussfolgerung

Wie die Ergebnisse in Abbildung 3.6 verdeutlichten, war Acetonitril mit einem $\log(K_{OW})$ -Wert von -0,34 das geeignetere Extraktionslösungsmittel im Vergleich zum Methanol ($\log(K_{OW})$ -Wert von -0,77). Der $\log(K_{OW})$ -Wert stellte somit ein einfach anzuwendendes Kriterium dar, um PLE-Methoden für mehrere ABs-Klassen zu evaluieren. Für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 1 bis 3 erzielten die wässrigen Phasen mit einem saurem pH-Wert (Protokoll A und B) höhere WFRn als die wässrigen Phasen mit einem neutralen pH-Wert (Protokoll C). Der Vergleich der vier Protokolle A, B, C und D für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 1 und 2 unterstrich, dass sie schwieriger zu extrahieren sind, als die Gruppen 3 und 4. Die Interaktionen der ABs mit der Matrix waren stärker als für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 3 und 4. Durch das Protokoll A wurden für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 2 bis 4 zufriedenstellende WFRn erzielt (12,9 – 81, %, 13,0 – 139,1 %; 40,1 – 157,5 %). Aber nur für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 3 und 4 lagen die WFRn des Protokolls A im geforderten Bereich von 45 bis 125 %.

3.2.4 Extraktionsprotokolle mit zwei aufeinanderfolgenden Extraktionsschritten

Wie zuvor diskutiert, variieren die ABs in ihren chemischen Eigenschaften. Folglich benötigte jede der vier $\log(K_{OW})$ -Gruppen andere Extraktionsparameter (z. B. Lösungsmittel oder pH-Wert). Aufgrund der automatisierten Extraktion können mit der PLE-Technik einfach und unkompliziert zwei verschiedene PLE-Protokolle nacheinander an derselben Probe durchgeführt werden (Boulard u. a. 2020; Chiaia-Hernandez u. a. 2017). Bei anderen Extraktionstechniken z. B. Ultraschall oder QuEChERs sind Wechsel des Extraktionsprotokolls mit höherem Aufwand verbunden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Methode von Chiaia-Hernandez (Chiaia-Hernandez u. a. 2017) (Protokoll E, siehe Tabelle 2.3) getestet. Zusätzlich wurden die Protokolle A und E zu einem neuen Protokoll F kombiniert. Im Vergleich zu den Protokollen A bis D

bestehen Protokoll E und F aus zwei aufeinander folgenden Extraktionen (E1 und E2 bzw. F1 und F2). Für die Methodenentwicklung wurden die Extrakte aus E1 und E2 bzw. F1 und F2 getrennt aufgefangen und aufbereitet. Abbildung 3.7 stellt die WFRn für die Protokolle E und F als Boxplot dar. Für Protokoll E1 wurden zwei polare aprotische Lösungsmittel Ethylacetat (66 %) mit einem $\log(K_{OW})$ -Wert von 0,73 und Aceton (33 %) mit einem $\log(K_{OW})$ -Wert von -0,24 genutzt. Protokoll E2 verwendet Wasser als polares protisches Lösungsmittel (33 %) und Aceton (66 %). Protokoll F1 entsprach Protokoll E2. Protokoll F2 entsprach Protokoll A, das Acetonitril und Wasser (pH 2) als Lösungsmittel enthält.

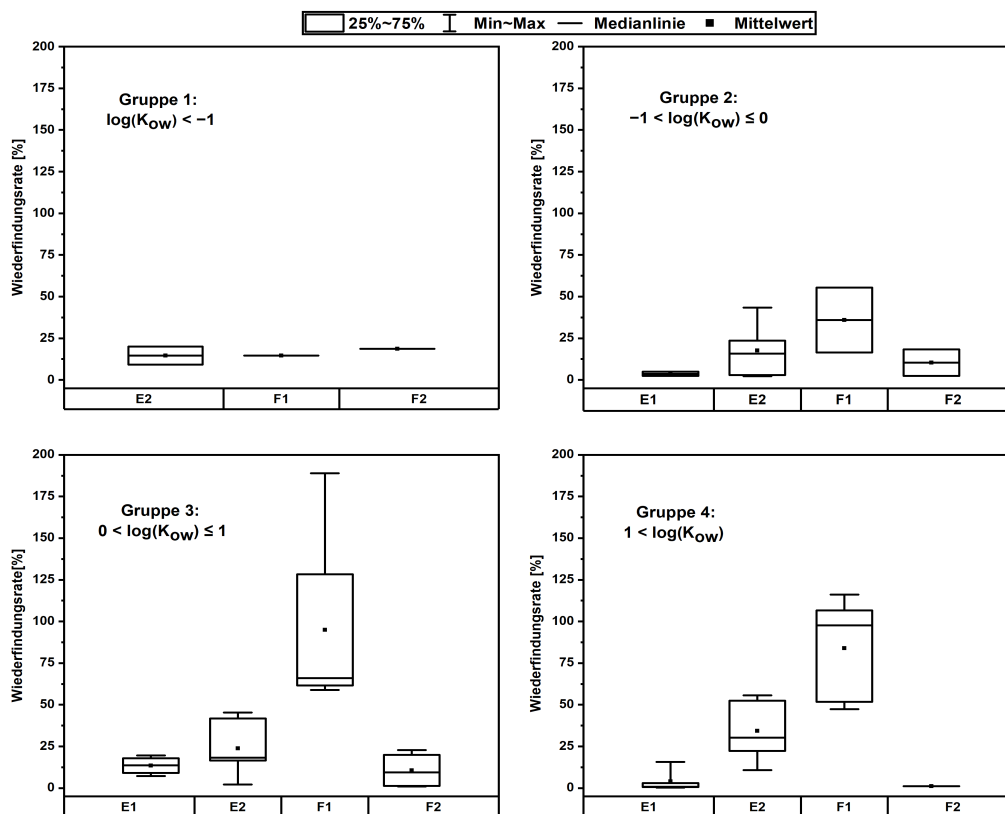


Abbildung 3.7: Wiederfindungsraten für die Protokolle E und F (siehe Tabelle 2.3) mit zwei aufeinander folgenden Extraktionsschritten, die als 1 und 2 gekennzeichnet sind. ABs sind nach ihren $\log(K_{OW})$ -Werten zusammen gefasst. Graphiken adaptiert nach (Chabilan u. a. 2022).

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Protokolle E und F für die verschiedenen $\log(K_{OW})$ -Gruppen diskutiert. Die ABs der Gruppen 1 und 2, die $\log(K_{OW})$ -Werte kleiner als null aufweisen, wurden für E1 nicht nachgewiesen oder ihre WFRn waren kleiner als 10 %. Für Protokoll E2 wurden folgende WFRn erreicht: 2 bis 43 % (Gruppe 2), 2 bis 45 % (Gruppe 3) und 11 bis 56 % (Gruppe 4). Prinzipiell stellte Protokoll E2 eine gute Wahl für die Extraktion der ABs dar. Die WFRn für Protokoll F1 betragen 17 bis 55 %, 59 bis 189 % und 47 bis

116 % für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 2 bis 4. Für Protokoll F2 lagen die WFRn bei 1 bis 23 % für $\log(K_{OW})$ -Gruppen 1 bis 4 (siehe Abbildung 3.7).

Aufgrund der sehr geringen WFRn von E1 für alle $\log(K_{OW})$ -Gruppen wurde dieses Protokoll für die weitere Methodenentwicklung ausgeschlossen. Im Allgemeinen fiel auf, dass die WFRn für die Protokolle E2 und F1 von der $\log(K_{OW})$ -Gruppe 1 (9 – 20 %) bis 4 (11 – 166 %) zunahmen. Der gleiche Trend wurde bereits für Protokoll A festgestellt (Abbildung 3.6 und 3.7). Der Vergleich der Protokolle F1 (entspricht E2) mit F2 ergab, dass F1 höhere WFRn für alle ABs erzielte. Bis jetzt wies Protokoll A (entspricht F2) die besten WFRn auf (siehe Abbildung 3.6). Da die ABs bereits mit Protokoll F1 extrahiert wurden, konnten sie nicht mit F2 extrahiert werden. Eine Ausnahme stellten die Fluorchinolone dar, die nur durch Protokoll F2 (WFRn von 17 – 22 %, Gruppe 1 bis 3) extrahiert wurden. Die WFRn lagen in der gleichen Größenordnung wie für Protokoll A (5 – 23 %). Für Protokoll F1 war das Signal-Rausch-Verhältnis der Fluorchinolone kleiner als 10. Wegen der guten WFRn des Protokolls F1 für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 3 und 4 (größer als 45 %), wurden diese mit den WFRn aus Protokoll A verglichen. Die Spannweite für die genannten $\log(K_{OW})$ -Gruppen (umfassen Makrolide und Sulfonamide) waren ähnlich: 23 bis 139 % und 40 bis 158 % für Protokoll A im Vergleich zu 59 bis 189 % und 47 bis 116 % für Protokoll F1. Für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 1 und 2 wurden hingegen nur drei von sieben ABs mit WFRn von 15 bis 55 % für Protokoll F1 quantifiziert. Mit Protokoll A wurden alle sieben ABs und damit alle Fluorchinolone bestimmt (5 – 81 %, siehe Abbildung 3.4).

Im Vergleich aller getesteten Protokolle (A bis F) fiel auf, dass der Extraktionseffizienz der $\log(K_{OW})$ -Gruppen 3 und 4 höher ausfiel als für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 1 und 2. Eine mögliche Erklärung dafür war, dass Makrolide und Sulfonamide keine Zwitterionen ausbilden. Damit ist keine Bildung von Komplexen mit Metall-Kationen des Sediments möglich. Die Wechselwirkungen zwischen der Sediment-Matrix und den Makroliden bzw. Sulfonamiden sind schwächer als für die Fluorchinolone und Tetracycline.

Die Ergebnisse dieses Abschnitts zeigten, dass eine Kombination aus zwei polaren aprotischen organischen Lösungsmitteln (E1) für die Extraktion der ABs nicht geeignet war (WFRn < 20 %). Hingegen erzielte die Kombination aus einem polaren aprotischen Lösungsmittel wie Aceton und Acetonitril und einem wässrigen Lösungsmittel wie Wasser (angesäuert) bessere Ergebnisse (E2 oder A). Die zweistufige Anwendung der Protokolle F1 gefolgt von F2 um

ABs mit verschiedenen chemisch-physikalischen Eigenschaften zu extrahieren, steigerte die Extraktionseffizienz der Methode nicht.

3.2.5 Anpassung des SPE-Protokolls für die Sedimentproben

Das in Kapitel 3.1 entwickelte Tandem-SPE-Protokoll wurde im Bezug auf die Reihenfolge der SPE-Kartuschen optimiert. Beide Kombinationen von HLB gefolgt von MCX und MCX gefolgt von HLB wurden getestet. Die Ergebnisse sind im Anhang in Tabelle B.20 für die jeweiligen ABs-Klassen zusammengefasst. Alle ABs-Klassen, außer die Sulfonamide, wiesen höhere WFRn für die HLB-MCX-Kombination auf (0,7 – 69,2 % im Vergleich zu 0,8 – 59,4 %). Für die Fluorchinolone waren mit der Kombination MCX-HLB nur zwei von vier ABs quantifizierbar. Für die weitere Validierung wurde die Kombination aus HLB gefolgt von MCX verwendet.

3.2.6 Methodvalidierung

Der Vergleich der Extraktionsprotokolle A bis D zeigte, dass Protokoll A für die gewählten ABs die zufriedenstellende WFRn ergab. Protokoll A wurde unter der Bezeichnung Protokoll G validiert. Im Rahmen der Methodvalidierung wurden folgende Parameter bestimmt: Nachweis- und Bestimmungsgrenze der Methode (method limit of detection (MLOD) and quantification (MLOQ)), Richtigkeit berechnet durch die WFR (systematische Abweichung), die Präzision unter Wiederholbedingungen zwischen zwei Tagen angegeben durch die Standardabweichung, die Selektivität berechnet durch den Matrixeffekt. Die Berechnung der Parameter ist in Kapitel 2.5 erläutert und die Validierungsdaten in Tabelle B.21 und B.22 im Anhang zusammengefasst.

Die MLOD variierten von 0,1 bis 4,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (siehe Tabelle B.21 und B.22). In der Literatur wurden LOD bzw. MLOD mit 0,15 bis 8,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Kerrigan u. a. 2018a), 0,3 bis 6,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Vazquez-Roig u. a. 2010) und 0,09 bis 3,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Silva u. a. 2011) angegeben. Die MLOQ des Protokolls G befanden sich im Bereich von 0,1 bis 8,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (siehe Tabelle B.21 und B.22). Für die gleichen Literaturstellen wie bei den MLOD wurden folgende MLOQ- bzw. LOQ-Werte angegeben: 0,32 bis 22,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Kerrigan u. a. 2018a), 0,9 bis 23 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Vazquez-Roig u. a. 2010) und 0,2 bis 10,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Silva u. a. 2011). Die in dieser Arbeit bestimmten MLOD- und MLOQ-Werte lagen in einer ähnlichen Größenordnung wie MLOD- bzw. MLOQ- oder LOD- und LOQ-Werte aus den zitierten Quellen. Dementsprechend eignet sich das Protokoll G zur Bestimmung von ABs im unteren $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich.

Die Richtigkeit bzw. WFR der Methode sind in Tabelle 3.2 nach den vier $\log(K_{OW})$ -Gruppen zusammengefasst. Für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 1 und 2 ($\log(K_{OW})$ -Werte kleiner als 0) wurden

Tabelle 3.2: Übersicht der Validierungsparameter für das Protokoll G sortiert nach $\log(K_{OW})$ -Gruppen. Angepasst nach (Chabilan u. a. 2022).

Gruppennummer	1	2	3	4
$\log(K_{OW})$ -Bereich	≤ -1	$-1 < x \leq 0$	$0 < x \leq 1$	$1 < x$
rel. WFR [%]	1,1 – 4,2	0,2 – 26,3	0,8 – 64,8	13,7 – 48,8
Koeffizient der Variation (CV) [%]	16 – 32	4 – 80	7 – 61	14 – 48
Standard Abweichung der rel. WFR	0,2 – 1,3	0,9 – 5,1	0,1 – 12,8	2,4 – 10,4
Matrixeffekt	0,42 – 0,83	0,08 – 0,83	0,04 – 0,29	0,03 – 0,66

WFRn von 1,1 bis 4,2 % und 0,2 bis 26,3 % bestimmt. Diese $\log(K_{OW})$ -Gruppen setzten sich aus Fluorchinolonen und Tetracyclinen zusammen. Wie in diesem Kapitel bereits diskutiert wurde, sind die ABs dieser Klassen aufgrund ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften schwierig zu extrahieren. Die geringen WFRn von weniger als 45 % (Zielmarke) wurden auf die Interaktionen der Fluorchinolone und Tetracycline mit der Matrix zurückgeführt. Für die $\log(K_{OW})$ -Gruppe zwischen 0 und 1 (Gruppe 3) betragen die WFRn 0,8 bis 64,8 %. Wobei Ciprofloxacin die geringste WFRn von 0,8 % aufwies und Trimethoprim die höchste WFR von 64,8 % besaß. Für die letzte $\log(K_{OW})$ -Gruppe (Gruppe 4, $\log(K_{OW})$ -Wert größer als 1) wurden WFRn von 13,7 bis 48,8 % erreicht (siehe Tabelle 3.2). Die Methodengenauigkeit war in einem akzeptablen Bereich für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 3 und 4. Der definierte Bereich für die WFR von 45 bis 125 % wurde nur für Trimethoprim (44,9 %) und Clindamycin (64,8 %) erreicht.

Die Ergebnisse des Matrixeffekts sind in Tabelle 3.2 zusammengefasst. Da der berechnete Faktor kleiner als eins war, wurde eine Suppression des Messsignals für alle ABs beobachtet. Dieser Effekt fiel schwächer aus, wenn der Matrixfaktor nahe eins war. Eine stärkere Signalunterdrückung fand für Werte nahe null statt. Für die $\log(K_{OW})$ -Gruppen 3 und 4 lagen die Matrixfaktoren im Bereich von 0,03 bis 0,66. Für die Fluorchinolone und Tetracycline (Gruppen 1 und 2) variierten die Matrixfaktoren von 0,08 bis 0,83. Die geringen WFRn für Doxycyclin, Enrofloxacin und Ofloxacin könnten auf die starke Unterdrückung des Messsignals zurückzuführen sein, da die Matrixfaktoren bei 0,26 und 0,08 lagen. Die validierte Methode erlaubte die genaue und zuverlässige Quantifizierung der ABs der $\log(K_{OW})$ -Gruppen 3 und 4 (Clindamycin, Makrolide, Sulfonamide und Trimethoprim).

3.2.7 Schlussfolgerung für Methodenentwicklung SPE-PLE

In Kapitel 3.2.2 wurde die Bedeutung und der Einfluss des $\log(K_{OW})$ -Werts auf die Extraktion von AB aus Flusssedimenten erläutert. ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten kleiner als null wiesen im Allgemeinen eine niedrige WFRn auf als ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten größer als null. Dabei war das verwendete Extraktionsprotokoll nicht ausschlaggebend. Folglich ist die Einteilung der ABs nach ihren $\log(K_{OW})$ -Werten relevanter für die PLE-Methodenentwicklung als die klassische Einteilung nach ABs-Klassen (z. B. Makrolide und Sulfonamide). Darüber hinaus wurde die Wahl des Extraktionslösungsmittels vereinfacht. Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde verdeutlicht, dass ein Transfer einer Methode, die ursprünglich für Böden oder Klärschlamm entwickelt wurde, auf Sedimente nicht ohne weiteres möglich ist. Die geringen WFRn für ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten kleiner als null konnten mit starken Wechselwirkungen zwischen dem Analyt und der Matrix erklärt werden. Die Kombination aus sauren, wässrigen Lösungsmitteln und aprotischen, polaren organischen Lösungsmitteln (z. B. Aceton oder Acetonitril) erreichte höhere WFRn als Protokolle mit neutralen, wässrigen Lösungsmitteln für die ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten größer als null. Die optimale Methode für die Bestimmung von 19 ABs, die ein weites Spektrum an chemisch-physikalischen Eigenschaften aufweisen, wurde zusammengesetzt aus zwei aufeinander folgenden Extraktionszyklen und Lösungsmitteln mit unterschiedlichen Polaritäten. Die PLE-Methode verwendete Acetonitril und 50 millimolare Phosphorsäure (Verhältnis eins zu eins, V/V) bei 100°C. Anschließend wurden die Extrakte mit einer Festphasenextraktion aufbereitet. Mit dieser Methode wurden WFRn von 0,3 bis 1,9 % für die Fluorchinolone, 3,3 bis 30,9 % für die Makrolide, 48,8 bis 64,8 % für Clindamycin and Trimethoprim (Andere), 8,7 bis 33,5 % für Sulfonamide und 4,2 bis 26,3 % für Tetracycline erreicht. Die Extraktion aller ABs mit der PLE-Methode aus dem Flusssediment war möglich und die erste Hypothese konnte angenommen werden. Die zweite Hypothese wurde hingegen nicht bestätigt. Nur für zwei ABs (Clindamycin und Trimethoprim) konnten WFRn von größer als 45 % erzielt werden. Die anschließende Methodvalidierung ergab, dass die entwickelte Methode zur Quantifizierung von ABs im unteren $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich geeignet war (MLOQ Bereich von 0,1 – 27,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$).

3.3 Verhalten und Verbleib von Antibiotika an der Grenzfläche zwischen Wasser und Sediment untersucht im Rahmen einer Mesokosmos-Studie

Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse und Abbildungen wurden als wissenschaftliche Publikation bei Science of the Total Environment wie folgt veröffentlicht: Chabilan, A.; Barajas Ledesma D. G.; Horn, H.; Borowska, E., Mesocosm experiment to determine the contribution of adsorption, biodegradation, hydrolysis and photodegradation in the attenuation of antibiotics at the water sediment interface. Science of the Total Environment, 2023, 866, 161385, <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161385>.

3.3.1 Einleitung

Die Mesokosmos-Studie zielte darauf ab, den Verbleib und das Verhalten von 18 ABs in der aquatischen Umwelt quantitativ zu erfassen. Darüber hinaus sollte ermittelt werden, welcher der folgenden vier Prozesse den höchsten Anteil am Verbleib der ABs hatte: Adsorption am Sediment, biologischer Abbau, Hydrolyse oder photolytischer Abbau durch Einstrahlung von Licht im sichtbaren Bereich. Die Studie wurde in Form eines Mesokosmos-Versuchs durchgeführt. Der verwendete Mesokosmos bestand aus einem 10 L Reaktor, der mit Flusssediment und Wasser gefüllt war. Durch die Änderung der Versuchsparameter konnten in einem Mesokosmos gleichzeitig bis zu vier Prozesse simuliert werden. Damit unterschied sich diese Mesokosmos-Studie von bisherigen veröffentlichten Studien. Insgesamt kamen fünf 10 L Mesokosmen zum Einsatz (R1 - R5, für Details siehe Abbildung 2.3). Zu Versuchsbeginn wurden einmalig die 18 ABs in den Mesokosmos dotiert und anschließend über einen Zeitraum von 42 d in der Wasserphase quantifiziert. Für die Auswertung wurde das Modell einer Reaktion erster Ordnung getestet. In bisherigen Studien wurde das Verhalten von einzelnen AB (Baena-Nogueras u. a. 2017; Li u. a. 2020) oder nur bestimmte ABs-Klassen (Li u. a. 2018; Zhang u. a. 2011) untersucht. Dabei belief sich der Anteil des Photoabbaus auf mehr als 50 % und Prozesse der Hydrolyse konnten vernachlässigt werden (Ding u. a. 2021; Liu u. a. 2019).

Als Hypothese wurde angenommen, dass ABs derselben Klasse aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Struktur ein vergleichbares Verhalten im Mesokosmos-Experiment aufweisen. Zusätzlich wurde vermutet, dass sich das Verhalten der ABs mit ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften erläutern lässt. Mit dem K_d -Wert konnte die Affinität für die Adsorption vorausgesagt werden. Für die Hydrolyse wurde die chemische Struktur, insbesondere das Vorhandensein von

Hydroxyl-Gruppen, analysiert. Für den Photoabbau diente das Absorptionsmaxima der ABs als Kriterium.

Die Konzentration in der Wasserphase lag vor Zugabe der ABs unterhalb der Bestimmungsgrenze. Die Konzentrationsabnahme der Fluorchinolone, Sulfonamide, Tetracycline und Anderen (Clindamycin und Trimethoprim) in R1 bis R3 wurde mit dem kinetischen Modell einer Reaktion erster Ordnung beschrieben. Mit dem kinetischen Modell wurden die Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten für jeden Mesokosmos und Prozess bestimmt. Mit Hilfe der berechneten Halbwertszeiten in R1 wurde die Persistenz der ABs in der aquatischen Umwelt abgeschätzt. Dabei wurden drei Gruppen definiert. Gruppe I umfasste die ABs mit Halbwertszeiten von ≤ 11 d bzw. $k_1 \geq 0.09$ d⁻¹, die nicht in der Wasserphase persistieren. In Gruppe II wurden die gemäßigt persistenten ABs mit Halbwertszeiten von 12 bis 35 d (0.02 d⁻¹ $< k_1 < 0,09$ d⁻¹) zusammengefasst. Die letzte Gruppe, Gruppe III, wies alle ABs mit Halbwertszeiten ≥ 36 d ($k_1 < 0,02$ d⁻¹) auf und orientierte sich an der Definition nach REACH (European legislation on registration, evaluation and authorization of chemicals, Regulation No 1907/2006, Annex XIII). Dort werden Chemikalien mit Halbwertszeiten von 40 d oder größer in Süß- oder Oberflächenwasser als persistent eingestuft (European Parliament 2022; Felis u. a. 2020).

Neben der Wasserphase wurde ebenfalls der Massenanteil (w) der ABs in der Sedimentphase vor der Zugabe der ABs und nach 35 d untersucht. Der Massenanteil vor Zugabe der ABs in der Sedimentphase lag unterhalb der Bestimmungsgrenze. Die quantifizierten Massenanteile wurden mit den theoretischen Massenanteilen der ABs im Sediment verglichen. Dazu wurde eine Massenbilanz der ABs im Mesokosmos erstellt (Details siehe Kapitel 2.6.4). Die präsentierten Ergebnisse der Sedimentphase stammten aus dem zweiten Mesokosmos-Experiment.

Die Mesokosmos-Studie wurde zweimal durchgeführt. Damit konnten die Ergebnisse des ersten Versuchs bestätigt werden. Für die Diskussion wurden die Ergebnisse des ersten Mesokosmos-Experiments verwendet. Die Ergebnisse der Wasserphase des zweiten Versuchs sind tabellarisch im Anhang B.23 bis B.25 zusammengefasst. Im Folgenden sind die Ergebnisse der Mesokosmos-Studie nach ABs-Klassen zusammengestellt und diskutiert. Da die Hydrolyse nur bei den Tetracyclinen auftrat, wurde dieser Prozess zusammen mit dem Nährstoffverbrauch der Mesokosmen vorab betrachtet.

3.3.2 Hydrolyse und Nährstoffverbrauch

Für R4, der nur Leitungswasser enthielt, um damit die Hydrolyse zu untersuchen, wurde eine Konzentrationsabnahme von 20 % für alle Fluorchinolone, Sulfonamide, Clindamycin und Trimethoprim nach 3 d festgestellt. Das Konzentrationsverhältnis β_i/β_0 (β_0 – Anfangskonzentration des ABs im Mesokosmos, β_i – Konzentration des AB zum Zeitpunkt 3,7,10,14,17, ... 42 d im Mesokosmos) verblieben während der 42 d konstant bei 80 % (siehe Abbildung A.22 - A.36, Anhang). Somit war keine Anwendung des kinetischen Modells erster Ordnung möglich. Folglich wurde das Umweltverhalten dieser ABs nicht durch die Hydrolyse bestimmt. Die Beobachtung wurde durch Loftin u. a. bestätigt. Als Erklärung dafür führten die Autoren an, dass Clindamycin, die Sulfonamide und Trimethoprim keine funktionellen Gruppen aufweisen, die unter Umweltbedingungen (niedrige Temperatur und neutralen pH-Wert) hydrolysieren können (Loftin u. a. 2008).

Um einen Nährstoffmangel zu vermeiden, wurden wöchentlich die Nitrat- und Phosphatkonzentration in den Mesokosmen bestimmt. Falls notwendig wurde die Zielkonzentration von $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ Nitrat-Stickstoff und $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ Phosphat-Phosphor wiedereingestellt. Der wöchentliche Nährstoffverbrauch an Nitrat-Stickstoff und Phosphat-Phosphor für R1 (alle Prozesse), R2 (Adsorption, biologischer Abbau und Hydrolyse) und R5 (Kontrolle) schwankte zwischen 21 bis 98 % und deutete damit auf eine aktive Mikrobiologie hin. Für R3 (Adsorption und Hydrolyse) und R4 (Hydrolyse) lag der wöchentliche Nährstoffverbrauch bei 9 bis 57 %. Beide Mesokosmen enthielten Natriumazid zur Hemmung der mikrobiologischen Aktivität. Der Einsatz von Natriumazid wurde in der Literatur bereits beschrieben (Cabrol u. a. 2017; Xu u. a. 2011; Zhang u. a. 2013).

3.3.3 Fluorchinolone

Wasserphase

Die Konzentrationsabnahme in der Wasserphase von R1 bis R3 betrug 84,5 bis 92,0 % des Konzentrationsverhältnisses β_i/β_0 innerhalb der ersten 24 d (siehe Abbildung A.22 bis A.25, Anhang). Die berechneten Geschwindigkeitskonstanten k_1 und Halbwertszeiten ($t_{1/2}$) für R1 sind in Tabelle 3.3 zusammengefasst. Die Halbwertszeiten der Fluorchinolone betragen 6 bis 8 d und waren vergleichbar mit denen von Liu u. a. (5,3 – 11,1 d), die als Mesokosmos eine Wasserrinne nutzten (Liu u. a. 2019). Ciprofloxacin und Norfloxacin ($0,121 - 0,124 \text{ d}^{-1}$) nahmen in der Wasserphase von R1 schneller ab als Enrofloxacin und Ofloxacin ($0,090 - 0,098 \text{ d}^{-1}$).

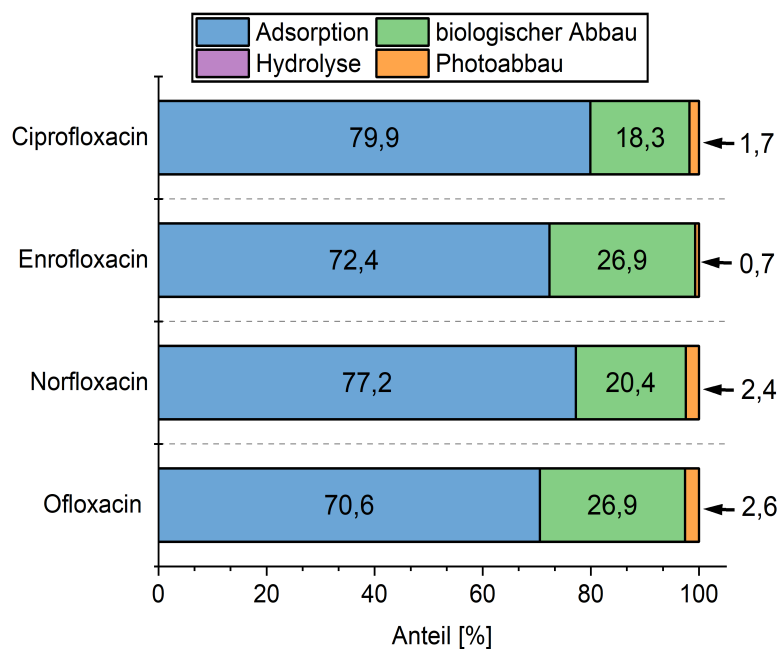


Abbildung 3.8: Prozentualer Anteil der vier untersuchten Prozesse Adsorption am Sediment, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau an der Abnahme der Fluorchinolone in der Wasserphase. Die Konzentration der Fluorchinolone lag unterhalb der Bestimmungsgrenze nach 21 bis 24 d in R1 bis R3. Adaptiert nach (Chabilan u. a. 2023).

Das Verhalten der Fluorchinolone im Mesokosmos wurde maßgeblich durch die Adsorption bestimmt, die einen Anteil von 70,5 bis 80,0 % hatte (siehe Abbildung 3.8). Als Maß für die Adsorptionsaffinität wurde der K_d -Wert verwendet. Für die Fluorchinolone liegen die K_d -Werte von Salz- und Süßwasser-Sedimenten bei 30 bis 18620 L kg^{-1} (Van Doorslaer u. a. 2014) und bei 260 bis 5012 L kg^{-1} für unterschiedliche Bodenproben (für weitere Details siehe (Riaz u. a. 2018)). Die K_d -Werte waren deutlich höher als für die Sulfonamide ($0,6 - 7,4 \text{ L kg}^{-1}$ (Bavumiragira u. a. 2022)). Der hohe Anteil der Adsorption am Verbleib der Fluorchinolone war in Übereinstimmung mit der in der Literatur beschriebenen hohen Affinität dieser für Schlamm, Böden und Sedimente (Riaz u. a. 2018; Van Doorslaer u. a. 2014).

Der Beitrag des biologischen Abbaus an der gesamten Abnahme der Fluorchinolone aus der Wasserphase betrug 18,3 bis 26,9 %. Dabei konnte der biologische Abbau entweder in der Wasserphase oder an der Sedimentoberfläche stattfinden. Die Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten für den biologischen Abbau lagen bei $0,022$ bis $0,026 \text{ d}^{-1}$ (Tabelle 3.3) und 26 bis 31 d (Tabelle 3.3). In der Literatur wurden für die Fluorchinolone Halbwertszeiten in einer ähnlichen Größenordnung angegeben. Für Ofloxacin lag die Halbwertszeit bei 34 d für ein Mesokosmos-Experiment im Labormaßstab mit Sedimenten aus dem Meer (Xu u. a. 2009).

Höhere Halbwertszeiten von 98 bis 134 d wurden für zwei andere Fluorchinolone (Oxolinsäure und Flumechin) in einem Laborexperiment unter Verwendung von Sediment- und Wasserproben aus einem Aal und Schirms Teich ermittelt (Lai u. a. 2009). Der biologische Abbau in der Wasserphase wurde von Baena-Nogueras u. a. sowie Li und Cui als langsamer Prozess eingestuft, da die k -Werte bei 0,002 bis 0,053 d⁻¹ und die Halbwertszeiten bei 15 bis 345 d lagen (Baena-Nogueras u. a. 2017; Li u. a. 2020). Der langsame biologische Abbau der Fluorchinolone konnte in der Mesokosmos-Studie dieser Arbeit ebenfalls beobachtet werden. Chemikalien mit Halbwertszeiten von mehr als 30 d werden als schlecht biologisch abbaubar angesehen (Riaz u. a. 2018; Van Doorslaer u. a. 2014).

Wie zuvor dargestellt wiesen die k -Werte und die Halbwertszeiten in der Literatur eine große Spannweite im Vergleich zu den Ergebnissen dieser Studie auf. Der Unterschied wurde auf die unterschiedliche Zusammensetzung der mikrobiologischen Population in den verwendeten Proben zurückgeführt. Die Fähigkeit, gegen den bakteriziden oder bakteriostatischen Effekt der ABs resistent zu sein oder diese abzubauen, hing von der eingesetzten Matrix ab und unterschied sich von Studie zu Studie. Außerdem unterschied sich die Anzahl an getesteten ABs. In der Studie von Li und Cui wurde nur ein AB eingesetzt (Li u. a. 2020), während bei Baena-Nogueras u. a. ABs in Kombination mit Entzündungshemmern und Antihypertensivum (blutdrucksenkende Arzneimittel) erprobt wurden (Baena-Nogueras u. a. 2017). Laut Felis u. a. und Grenni u. a. ist der ökotoxikologische Effekt, der durch eine Mischung von mehreren ABs ausgelöst wird, größer als für ein einzelnes AB (Felis u. a. 2020; Grenni u. a. 2018).

Der Anteil des Photoabbaus an der Gesamtabnahme betrug 0,7 bis 2,6 % (siehe Abbildung 3.8) und die Halbwertszeiten für diesen Prozess beliefen sich auf 231 bis 1074 d (Tabelle 3.3). In der Literatur wurden kürzere Halbwertszeiten für den Photoabbau angegeben (Baena-Nogueras u. a. 2017; Li u. a. 2020). Für Enrofloxacin lag die Halbwertszeit bei 0,8 (bei vollständiger Sonneneinstrahlung) bis 72 d (Schatten) in einem Mesokosmos, der sich in einem Teich befand. Folglich variierte die Halbwertszeit mit der Sonneneinstrahlung (Knapp u. a. 2005). Darüber hinaus wurde der Photoabbau in der Literatur als wichtigster Abbauprozesse in der aquatischen Umwelt genannt (Knapp u. a. 2005; Riaz u. a. 2018; Van Doorslaer u. a. 2014). Als Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnissen in dieser Studie und in der Literatur ist zum einen die eingesetzte Lichtquelle und der damit verbundene Bereich des elektromagnetischen Spektrums zu nennen. Das eingesetzte LED Leuchtmittel strahlte nur Licht im sichtbaren Bereich von 380 bis 730 nm aus. Die Absorptionsmaxima der Fluorchinolone liegen jedoch zwischen 270 und 331 nm (Tabelle 1.1) und somit im UV-Bereich des Sonnenlichts (100 - 400 nm). Da in

dieser Studie keine UV-Strahlung zum Einsatz kam, konnte der Photoabbau nicht stattfinden und war nicht effizient. Fluorchinolone wurden nur mit sehr geringem Anteil (0,7 – 2,6 %) durch Strahlung im Bereich von 380 bis 730 nm entfernt.

Tabelle 3.3: Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Fluorchinolone in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.

Parameter	Einheit	Ciprofloxacin	Enrofloxacin	Norfloxacin	Ofloxacin
Geschwindigkeitskonstanten (k)					
R1	d ⁻¹	0,121 ± 0,011	0,090 ± 0,005	0,124 ± 0,008	0,098 ± 0,006
R2	d ⁻¹	0,119 ± 0,014	0,089 ± 0,006	0,121 ± 0,006	0,095 ± 0,006
R3	d ⁻¹	0,097 ± 0,007	0,065 ± 0,004	0,096 ± 0,004	0,069 ± 0,004
R4	d ⁻¹	-	-	-	-
Adsorption	d ⁻¹	0,097 ± 0,007	0,065 ± 0,004	0,096 ± 0,004	0,069 ± 0,004
biologischer Abbau	d ⁻¹	0,022 ± 0,0016	0,024 ± 0,007	0,025 ± 0,008	0,026 ± 0,007
Hydrolyse	d ⁻¹	-	-	-	-
Photoabbau	d ⁻¹	0,002 ± 0,018	0,001 ± 0,008	0,003 ± 0,010	0,003 ± 0,008
Halbwertszeiten (t _{1/2})					
R1	d	6	8	6	7
R2	d	6	8	6	7
R3	d	7	11	7	10
R4	d	-	-	-	-
Adsorption	d	7	11	7	10
biologischer Abbau	d	31	29	27	26
Hydrolyse	d	-	-	-	-
Photoabbau	d	329	1074	231	276
Persistenzgruppe [#]		I	I	I	I

[#] Persistenzgruppen basierend auf der Halbwertszeit (t_{1/2}) für R1 (umfasst alle Prozesse).

Gruppe I ist nicht persistent (t_{1/2} ≤ 11 d), Gruppe II ist moderat persistent (t_{1/2} = 12-35 d) und Gruppe III ist persistent (t_{1/2} ≥ 36 d).

Sedimentphase

Fluorchinolone wurden erst nach 21 d in der Sedimentphase von R1 bis R3 mit Massenanteile von 0,97 bis 10,72 µg kg⁻¹ quantifiziert. Abbildung 3.9 stellt die gemessenen Massenanteile nach 35 d (6 Wochen) in R1 bis R3 den theoretisch berechneten Massenanteilen gegenüber.

Wie zu erkennen ist, müssten die gemessenen Massenanteile der Sedimentphase deutlich höher ausfallen. Der Unterschied in der Größenordnung von 30 bis 52 $\mu\text{g kg}^{-1}$ wurde mit den geringen WFR der Fluorchinolone in der PLE-SPE Methode begründet (0,2 – 1,8 %, siehe Tabelle 3.2).

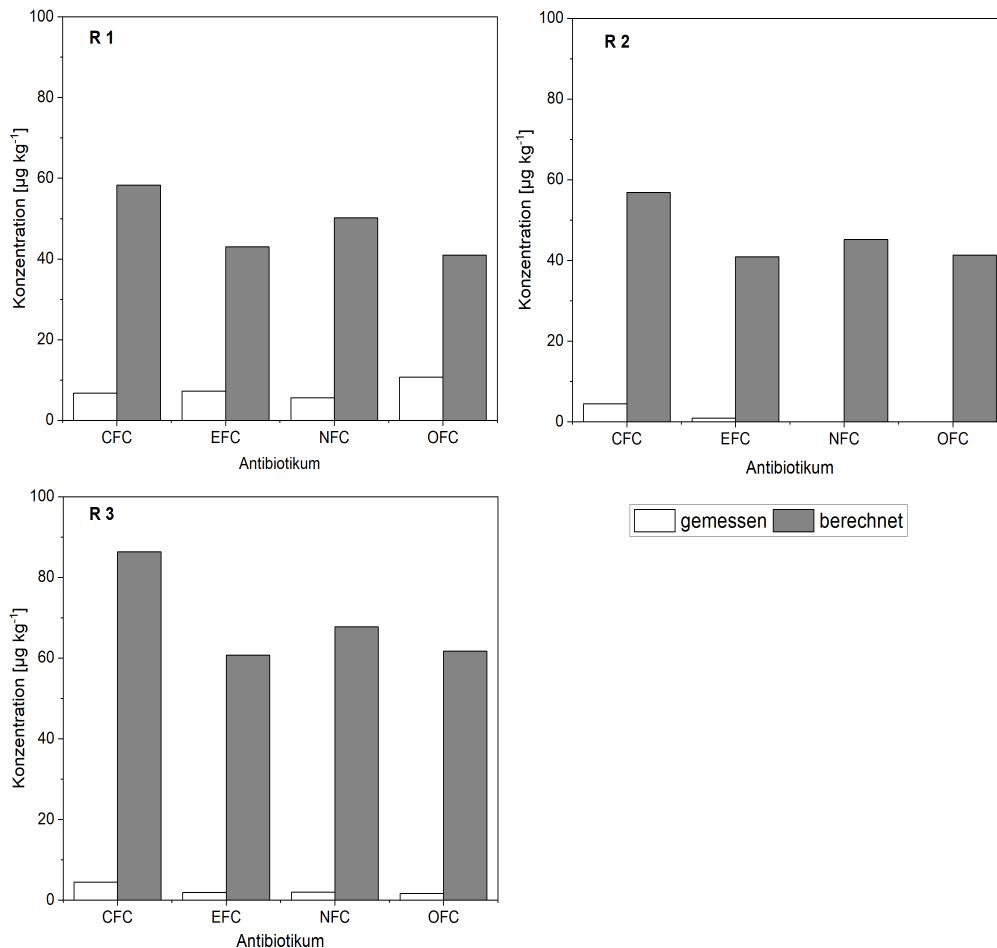


Abbildung 3.9: Gegenüberstellung von quantifizierten (gemessenen, weiß) Massenanteilen der ABs in der Sedimentphase von R1 bis R3 nach 35 d und dem theoretisch berechnetem Massenanteil (Massenbilanz, grau) nach 10-17 d für R1 und R2 und 21 d für R3. Zu diesem Zeitpunkt lag die Massenkonzentration in der Wasserphase unterhalb der Bestimmungsgrenze. Abkürzung: Ciprofloxacin (CFC), Enrofloxacin (EFC), Norfloxacin (NFC), Ofloxacin (OFC).

In einem Freiland-Mesokosmos-Versuch in den USA wurde Klärschlamm als Dünger auf ein Versuchsfeld aufgebracht und die Konzentration von Pharmazeutika über drei Jahre gemessen. Die Fluorchinolone Ciprofloxacin, Norfloxacin und Ofloxacin wurden zu Beginn in den Bodenproben mit Konzentration von 45 bis 542 $\mu\text{g kg}^{-1}$ bestimmt. Nach 994 d (2,7 a) betrug die Konzentration noch 390 und 267 $\mu\text{g kg}^{-1}$ für Ciprofloxacin und Ofloxacin (Norfloxacin lag unterhalb der Bestimmungsgrenze). Die Autoren schlussfolgerten, dass Fluorchinolone in der Umwelt persistieren. Als Begründung führten sie die elektrostatischen Wechselwirkungen zwi-

schen der Zwitterionenform der Fluorchinolone und den organischen Bestandteilen im Boden an. Dadurch wurde die biologische Verfügbarkeit verringert (Walters u. a. 2010). Der Photoabbau von adsorbierten Fluorchinolonen an Böden ist nur an der Oberfläche möglich und ein sehr langsamer Prozess (Lai u. a. 2009; Xu u. a. 2009).

Abschließend ließ sich festhalten, dass die Adsorption der Hauptprozess für die Abnahme der Fluorchinolone aus der Wasserphase war. Damit konnte ein direkter Zusammenhang zwischen dem Verhalten der Fluorchinolone und ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften (K_d -Werte) gezeigt werden. Die vier Fluorchinolone wiesen sehr ähnliche Anteile für die vier möglichen Prozesse in der Wasserphase auf. Die Halbwertszeiten der Fluorchinolone waren unter umweltähnliche Bedingungen kurz. Deswegen wurden sie in Gruppe I, nicht persistent in der Wasserphase, eingeteilt (Tabelle 3.3). Für nachfolgende Mesokosmos-Studien wäre eine höhere Anfangskonzentration für die Fluorchinolone und ein längerer Versuchszeitraum sinnvoll. Für die Sedimentphase sollte eine Dreifachbestimmung in einem Intervall von 14 Tagen erfolgen.

3.3.4 Makrolide

Abbildung 3.10 stellt den Verlauf des Konzentrationsverhältnisses β_i/β_0 über den Versuchszeitraum für die drei Makrolide Clarithromycin, Erythromycin- H_2O und Roxithromycin dar. Erythromycin- H_2O tritt als Hauptmetabolit von Erythromycin beim Menschen auf. Er entsteht unter sauren Bedingungen z. B. im Magen (McArdell u. a. 2003; Senta u. a. 2017). Wie die Abbildung 3.10 verdeutlicht, erfolgte keine kontinuierliche Abnahme der drei Makrolide aus der Wasserphase. Nur für Clarithromycin nahm in R1 das Konzentrationsverhältnis β_i/β_0 mit $k_1 = 0.019 \pm 0.002 \text{ d}^{-1}$ ab (Halbwertszeiten von 36 d). Die Änderung des Konzentrationsverhältnisses β_i/β_0 für Erythromycin- H_2O und Roxithromycin in R1 bis R4 sowie für Clarithromycin in R2 bis R4 folgte keinem Trend. Deswegen wurde kein kinetisches Modell angewendet und die Berechnung der Beteiligung der vier Prozesse am Verbleib der Makrolide war nicht möglich.

Aufgrund von K_d -Werte von 130 bis 337 L kg^{-1} (Harrower u. a. 2021) wurde nur ein geringer Einfluss der Adsorption angenommen. Für den biotischen Abbau wurde basierend auf Ergebnissen aus anderen Studien eine geringe biologische Abbaubarkeit in der Wasserphase angenommen (Alexy u. a. 2004; Gartiser u. a. 2007; Kaeseberg u. a. 2018). Kaeseberg u. a. studierten unterschiedliche abiotische und biotische Abbauewege für ABs. Sie schlussfolgerten, dass der abiotische und mikrobielle Abbau von Clarithromycin und Roxithromycin vernachlässigbar war (Kaeseberg u. a. 2018). In der Studie von Alexy u. a. wurde die biologische Abbaubarkeit von ABs durch die Norm OECD 301 (Closed bottle test, geschlossener Flaschentest, bei 20°C im

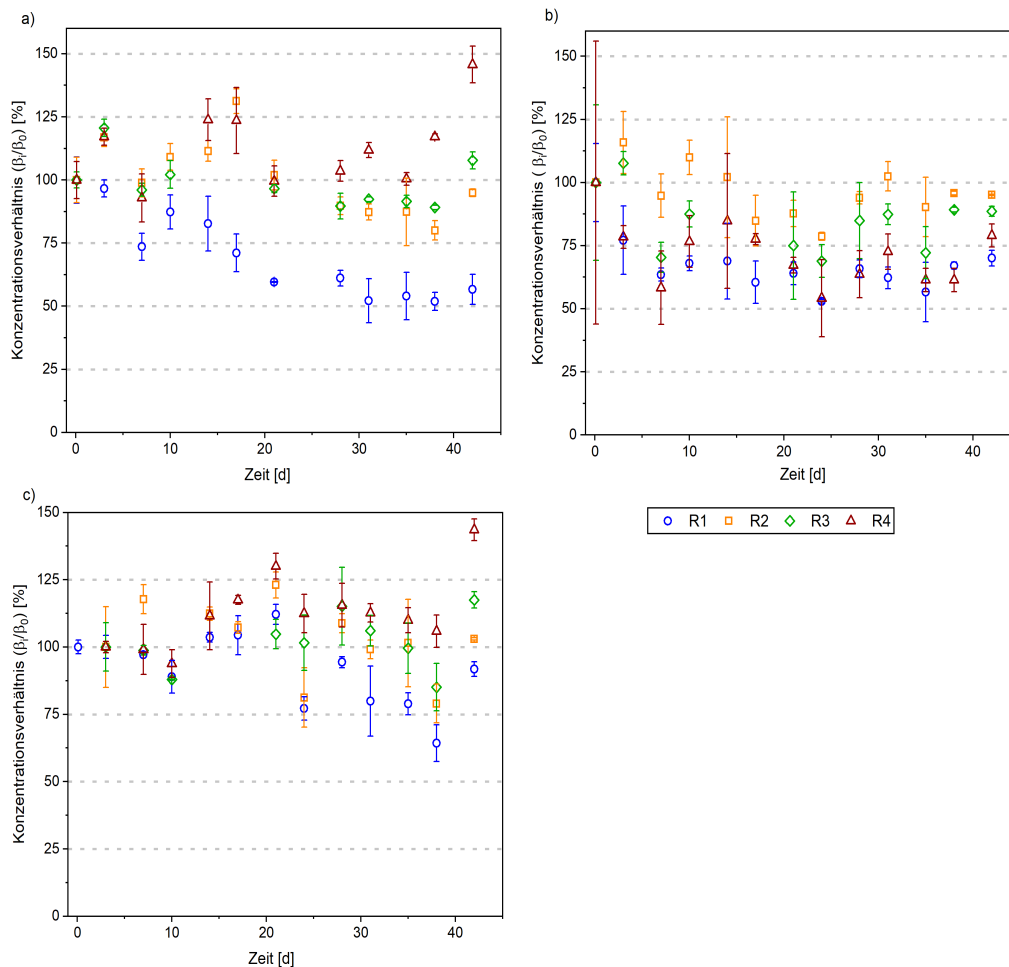


Abbildung 3.10: Verlauf des Konzentrationsverhältnisses (β_i/β_0) für a) Clarithromycin, b) Erythromycin-H₂O, c) Roxithromycin in R1 bis R4 für den Versuchszeitraum. Fehlerbalken geben die Standardabweichung aus den drei Messpunkten in der Wassersäule des Mesokosmos an (oben, Mitte und unten). Graphiken adaptiert nach (Chabilan u. a. 2023).

dunklen für 28 Tage) untersucht. Clarithromycin und Erythromycin wurden als nicht biologisch leicht abbaubar eingestuft, da die Degradationsraten 23,1 bis 24,4 % betrug (Alexy u. a. 2004). In einer Kombination aus den OECD Normen 301 B und 302 B (CO₂-Entwicklungstest und Zahn-Wellens Test) wurde die Mineralisierung von Antibiotika bei Raumtemperatur untersucht. Für Erythromycin betrug die DOC Entfernung 13 bis 33 % (Gartiser u. a. 2007). Photoabbau wurde aufgrund der Absorptionsmaxima der Makrolide im Wellenlängenbereich von 199 bis 280 nm (UV-Bereich) (Li u. a. 2009; PubChem 2022) nicht erwartet. Wie bereits für die Fluorchinolone beschrieben, wurde dieser Bereich des Sonnenlichts im Experiment nicht verwendet.

Wie aus Abbildung 3.10 deutlich wird, wiesen die Konzentrationsverhältnisse β_i/β_0 relative Standardabweichungen von 1 bis 23 % für R1 bis R4 auf. Für die Quantifizierung der ABs wur-

den pro Mesokosmos drei Proben an drei verschiedenen Positionen in der Wassersäule (unten, in der Mitte und oben) genommen. Die relative Standardabweichung der drei Makrolide war dabei höher (1 – 23 %) als für die anderen AB-Klassen (1 – 14 %). Daraus wurde geschlossen, dass die Makrolide ungleich in der Wassersäule verteilt waren. Dieser Umstand wurde auf die unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften der Makrolide im Vergleich zu den anderen ABs-Klassen zurückgeführt (siehe Tabelle 1.1). Die Makrolide weisen höhere molare Massen ($734 - 837 \text{ g mol}^{-1}$) im Vergleich zu den Sulfonamiden, Tetracycline und Fluorchinolone ($249 - 310 \text{ g mol}^{-1}$, $444,4 - 479 \text{ g mol}^{-1}$, $319 - 359 \text{ g mol}^{-1}$) auf. Ihre $\log(K_{OW})$ -Werte sind größer als 1 (1,7 – 3,16) und zeigen an, dass Makrolide einen hydrophoben, lipophilen und unpolaren Charakter haben. Die $\log(K_{OW})$ -Werte der anderen ABs sind kleiner als 1 (-1,37 – 0,91) und deuten auf einen hydrophilen, lipophoben und polaren Charakter hin. Die pK_S -Werte der Makrolide liegen im Bereich von 8,88 bis 9,17. Der pH-Wert der Wasserphase lag in einem ähnlichen Bereich (7,2 – 8,6). Dadurch konnten die Makrolide dissoziieren und es kam zur Änderung der Konzentration.

In der Literatur wurde ein ähnliches Verhalten beschrieben. McArdell u. a. stellten keine Eliminierung von Clarithromycin in der Wasserphase in einem 36 km langen Flussabschnitt in der Schweiz fest (McArdell u. a. 2003). Für die Sedimentphase wurde aufgrund der Schwankungen in der Wasserphase und den fehlenden Angaben zur Beteiligung der vier Prozesse keine Massenbilanz berechnet. Die Makrolide ließen sich in der Sedimentphase von R1 bis R3 nachweisen, jedoch unterlagen die Massenanteile wöchentlichen Schwankungen wie in der Wasserphase (siehe Tabelle B.26). Zum einen wurden die Schwankungen auf eine geringere Richtigkeit und Präzision der Analyse zurückgeführt, da nur eine Sedimentprobe pro Mesokosmos und Woche extrahiert wurde. Desweiteren wäre ein reversibler Prozess bestehend aus Adsorption und Desorption möglich. Die Makrolide wurden aufgrund ihrer Persistenz in der Wasserphase der Gruppe III zugeordnet.

3.3.5 Sulfonamide

Wasserphase

Die Sulfonamide wurden nur zum Teil aus der Wasserphase entfernt. Die Abnahme des Konzentrationsverhältnisses β_i/β_0 betrug 42,5 bis 78,7 % der Anfangskonzentration in R1 und R2 ($k_1 = 0,013 - 0,036 \text{ d}^{-1}$) und 14,1 bis 32,6 % der Anfangskonzentration in R3 ($k_1 = 0,003 - 0,009 \text{ d}^{-1}$) (siehe Tabelle 3.4 und Abbildung A.26 bis A.30). Wie aus Tabelle 3.4 und Tabelle 3.3 ersichtlich wird, waren die Geschwindigkeitskonstanten für die Sulfonamide kleiner als für

die Fluorchinolone. Die Prozesse liefen folglich langsamer ab. Die Halbwertszeiten für die Sulfonamide in R1 (alle Prozesse) lagen bei 37 bis 47 d (siehe Tabelle 3.4). Nur Sulfapyridin wies eine kürzere Halbwertszeit von 19 d auf. In der Literatur wurden für eine Mesokosmos-Studie in einer Wasserinne Halbwertszeiten von 17,3 bis 25,7 d angegeben (Liu u. a. 2019).

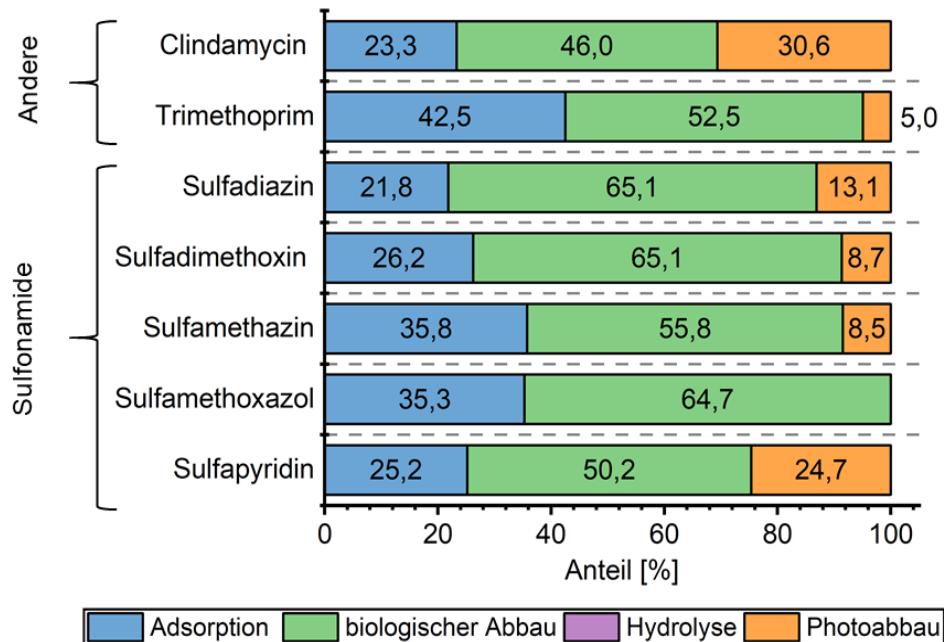


Abbildung 3.11: Beitrag der Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau am Verbleib von Clindamycin, Trimethoprim und den Sulfonamiden in der Wasserphase. Ein Beitrag der Hydrolyse konnte nicht ermittelt werden. Nach 42 d lag die Konzentration in der Wasserphase von R1 bis R3 bei 1,11 bis 5,43 $\mu\text{g L}^{-1}$. Abbildung angepasst nach (Chabilan u. a. 2023).

Der Hauptprozess für die Sulfonamide war der biologische Abbau mit 50,1 bis 65,1 %. Die Meinungen über die biologische Abbaubarkeit von Sulfonamiden in der aquatischen Umwelt waren in der Fachliteratur gespalten (Baran u. a. 2011). Chen und Xie schlussfolgerten in ihrer Literaturübersicht, dass der biologische Abbau ein wichtiger Prozess im Abbau von Sulfonamiden in Böden spielte (Chen u. a. 2018). Baran u. a. argumentierten hingegen, dass Sulfonamide schwer bzw. nicht biologisch abbaubar waren, da für sie Halbwertszeiten von größer als 30 d in Reinst-, Oberflächenwasser und Böden bestimmt wurden (Baran u. a. 2011). Xu u. a. ermittelten ähnliche Geschwindigkeitskonstanten ($0,009 \pm 0,002 \text{ d}^{-1}$) und Halbwertszeiten (77,02 d) für ihre Untersuchung des biologischen Abbaus von Sulfamethoxazol nach der OECD Norm 308 wie in dieser Mesokosmos-Studie ($0,011 \pm 0,002 \text{ d}^{-1}$; 61 d, Tabelle 3.4). In der zitierten Studie wurde der biologische Abbau bei einer Temperatur von 4 und 25°C untersucht. Für eine Tem-

peratur von 25°C wurden höhere Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten gemessen ($0,041 \pm 0,002 \text{ d}^{-1}$ und 16,91 d) (Xu u. a. 2011). Da die Mesokosmos-Studie dieser Arbeit bei einer Raumtemperatur von 10°C ablief, hat die Temperatur einen Einfluss auf den biologischen Abbau der Sulfonamide gehabt. Zhang u. a. untersuchten den Abbau von Sulfamethoxazol, Sulfamethazin und Sulfadimethoxin in Seewasser in einem Inkubator mit natürlichen Lichtverhältnissen. Die Konzentrationsabnahme folgte einer Reaktion erster Ordnung. Nach 55 d waren mehr als 92 % der drei Sulfonamide entfernt worden. Durch Hemmung des biologischen Abbaus (Zugabe von 0,1 % NaN_3) betrug die Konzentrationsabnahme 51,6 bis 66,5 %. Daraus schlussfolgerten die Autoren, dass der biologische Abbau in Kombination mit dem Photoabbau, als abiotischer Prozess, die wichtigsten Prozesse in der Wasserphase waren (Zhang u. a. 2013).

Der Anteil der Adsorption am Verbleib der Sulfonamide betrug 21,8 bis 35,8 % (siehe Abbildung 3.11). Der geringere Anteil der Adsorption im Vergleich zu den Fluorchinolone war aufgrund von K_d -Werten im Bereich von 0,6 bis 7,4 L kg^{-1} für Ton, Sand oder Schluff (Bavumiragira u. a. 2022) erwartet worden. Die K_d -Werte der Fluorchinolone und Tetracycline liegen deutlich höher bei 30 bis 18620 L kg^{-1} (Van Doorslaer u. a. 2014) und 417 bis 11908 L kg^{-1} (Bavumiragira u. a. 2022). Durch die Literatur wurde die geringe Adsorptionsaffinität bestätigt. Ma u. a. gaben an, dass die Sorption von Sulfonamiden schwach war (Ma u. a. 2021). Wegst-Uhrich u. a. untersuchten die Sorption von Sulfamethazin an unterschiedlichen Böden wie z. B. lehmigen Sediment. Die experimentell bestimmten K_d -Werte lagen bei 0,9 bis 12 L kg^{-1} für sandigen Lehm oder Lehm bei verschiedenen pH-Werten oder für wässrige Lösungen mit unterschiedlicher Ionenstärke. Sulfamethazin wurde aufgrund seiner K_d -Werte als mobil klassifiziert (Wegst-Uhrich u. a. 2014).

In der Literatur wurde der Photoabbau als Hauptprozess für die Sulfonamide in der aquatischen Umwelt angegeben (Baena-Nogueras u. a. 2017; Li u. a. 2020; Liu u. a. 2019). In dieser Mesokosmos-Studie belief sich der Anteil des Photoabbaus auf 8,5 bis 24,7 % (siehe Abbildung 3.11) und fiel damit geringer aus als in der Literatur beschrieben. Der Unterschied konnte mit der eingesetzten Lichtquelle und dem Absorptionsmaxima der Sulfonamide begründet werden. Die Absorptionsmaxima der Sulfonamide lagen bei 215 bis 267 nm (Almandoz u. a. 2014; Borowska u. a. 2015; Liang u. a. 2017; Nassar u. a. 2017) (Tabelle 1.1). Bei Wellenlängen von größer als 350 nm trat keine Absorption auf (Nassar u. a. 2017). Bei photolytischen Abbauversuchen in der Literatur wurden im Allgemeinen Xenon Lampen eingesetzt, die Licht im Wellenlängenbereich von 300 bis 800 nm emittierten (Baena-Nogueras u. a. 2017; Liu u. a.

2019; Nassar u. a. 2017; Su u. a. 2016). Damit wurde der Absorptionsbereich der Sulfonamide abgedeckt (< 350 nm). Eine Absorption war möglich, die sich in kleineren Halbwertszeiten als in dieser Mesokosmos-Studie ausdrückte (0,14 und 0,16 d (Baena-Nogueras u. a. 2017) 17,3 – 25,7 d (Liu u. a. 2019) im Vergleich zu 78 – 448 d (Tabelle 3.4)). Die LED Lichtquelle in dieser Studie strahlte nur sichtbares Licht im Wellenlängenbereich von 380 bis 730 nm aus und deckte die Absorptionsmaxima der Sulfonamide nicht ab. Folglich konnte kein photolytischer Abbau der Sulfonamide stattfinden.

Die Ergebnisse dieser Mesokosmos-Studie waren in Übereinstimmung von Adamek u. a., die das Verhalten von Sulfamethoxazol und Sulfadiazin in Flusswasser untersuchten (bei 21°C, unter Luftzustrom und ohne UV-A Strahlung). In Reinst- bzw. Leitungswasser nahm die Konzentration unter Einfluss von natürlichem Licht nicht ab, sodass sowohl die Hydrolyse als auch die photolytische Transformation ausgeschlossen wurden. Die Entfernungsrates von Sulfadiazin betrug maximal $0,4 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und die Halbwertszeiten betragen 29,3 bis 46,2 d (72 d, diese Studie Tabelle 3.4). Für Sulfamethoxazol wurden Halbwertszeiten von 51,7 bis 71,2 d (61 d diese Studie Tabelle 3.4) ermittelt. Die Abnahme wurde auf den biologischen Abbau zurückgeführt (Adamek u. a. 2016).

In dem Mesokosmos-Versuch von Brown u.a. mit vergleichbarem Aufbau und Bedingungen wie für R2 (Adsorption, biologischer Abbau und Hydrolyse) nahm die Konzentration von Sulfamethoxazol innerhalb von sieben Tagen mit $0,14 \pm 0,10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bezogen auf eine Anfangskonzentration von $5,1 \pm 0,9 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ab (entsprach einer Abnahme um 20 ± 11 % der Anfangskonzentration) (Brown u. a. 2020). In der Mesokosmos-Studie dieser Arbeit wurde eine Abnahme in der gleichen Größenordnung von $0,12 \pm 0,03 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bezogen auf eine Anfangskonzentration von $6,2 \pm 0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (entsprach einer Abnahme um 16 ± 3 % der Anfangskonzentration) in der Wasserphase für die ersten drei Wochen ermittelt.

Liu u.a. gaben für ihre Studie den Anteil des Photoabbaus mit 40 bis 78 % an und der Anteil des biologischen Abbaus betrug 8,4 bis 23 %. Das Verhalten der ABs wurden in Batch Experimenten in Bechergläsern untersucht. Als Lichtquelle wurde ein Sonnenlicht-Simulator im Wellenlängenbereich von 300 bis 800 nm verwendet. Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten wurden in einer Wasserrinne ermittelt und lagen bei $0,027$ bis $0,040 \text{ d}^{-1}$ und 17,3 bis 25,7 d. Von den untersuchten ABs wiesen die Sulfonamide die kleinsten k-Werte für das Zusammenspielen aller vier Prozesse (Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau) auf. Die Autoren schlussfolgerten, dass der Transport zum Sediment langsam war (Liu

u. a. 2019). Diese Studie ermittelte zwar andere prozentuale Anteile für die Prozesse als in dieser Arbeit. Jedoch unterschied sich der experimentelle Aufbau dieser Studie und von Liu grundlegend. Beide Studien konnten zeigen, dass die Sulfonamide längere Verweilzeiten in der aquatischen Umwelt aufwiesen als die Fluorchinolone und Tetracycline.

Tabelle 3.4: Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Sulfonamide in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.

Parameter	Einheit	Sulfadiazin	Sulfa- dimethoxin	Sulfa- methoxazol	Sulfa- methazin	Sulfapyridin
Geschwindigkeitskonstanten (k)						
R1	d^{-1}	0,015 ± 0,001	0,018 ± 0,001	0,017 ± 0,001	0,019 ± 0,001	0,036 ± 0,001
R2	d^{-1}	0,013 ± 0,001	0,016 ± 0,001	0,017 ± 0,002	0,017 ± 0,001	0,027 ± 0,002
R3	d^{-1}	0,003 ± 0,000	0,005 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,007 ± 0,001	0,009 ± 0,001
R4	d^{-1}	-	-	-	-	-
Adsorption	d^{-1}	0,003 ± 0,000	0,005 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,007 ± 0,001	0,009 ± 0,001
biologischer Abbau	d^{-1}	0,010 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,011 ± 0,002	0,011 ± 0,001	0,018 ± 0,002
Hydrolyse	d^{-1}	-	-	-	-	-
Photo- abbau	d^{-1}	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,002	<0	0,002 ± 0,001	0,009 ± 0,002
Halbwertszeiten ($t_{1/2}$)						
R1	d	47	39	40	37	19
R2	d	54	43	40	40	25
R3	d	216	149	112	102	76
R4	d	-	-	-	-	-
Adsorption	d	216	149	112	102	76
Biologischer Abbau	d	72	60	61	66	38

Parameter	Einheit	Sulfadiazin	Sulfa- dimethoxin	Sulfa- methoxazol	Sulfa- methazin	Sulfapyridin
Hydrolyse	d	-	-	-	-	-
Photo- abbau	d	358	448	-	431	78
Persistenz- gruppe [#]		III	III	III	III	II

Persistenzgruppen basierend auf der Halbwertszeit ($t_{1/2}$) für R1 (umfasst alle Prozesse).

Gruppe I ist nicht persistent ($t_{1/2} \leq 11$ d), Gruppe II ist moderat persistent ($t_{1/2} = 12-35$ d) und Gruppe III ist persistent ($t_{0,5} \geq 36$ d).

Sedimentphase

Die Massenanteile der ABs nach 35 d in R1 bis R3 sind in Abbildung 3.12 dem berechneten Massenanteil gegenübergestellt. Der allgemeine Vergleich der drei Balkendiagramme zeigte, dass die Massenanteile in R3 ($2,39 - 15,91 \mu\text{g kg}^{-1}$) höher waren als in R1 und R2 ($1,71 - 11,19 \mu\text{g kg}^{-1}$). Die berechneten Massenanteile ($3,05 - 16,57 \mu\text{g kg}^{-1}$) waren im Vergleich zu den Fluorchinolonen ($40,89 - 86,34 \mu\text{g kg}^{-1}$) geringer, da der Adsorptionsprozess nur einen Anteil von 21,8 bis 35,8 % hatte. Hinzukommt, dass die Adsorption langsam ablief. Die Halbwertszeiten für die Adsorption beliefen sich auf 76 bis 216 d (Tabelle 3.4) und überschritten, damit deutlich die Dauer des Experiments (42 d). Die Halbwertszeiten für die Adsorption der Fluorchinolone lagen bei 7 bis 11 d (Tabelle 3.3).

Sulfapyridin (SPD) wies von allen fünf untersuchten Sulfonamiden den höchsten Massenanteil im Sediment in R1 bis R3 auf ($10,67 - 15,91 \mu\text{g kg}^{-1}$ im Vergleich zu $1,71 - 13,89 \mu\text{g kg}^{-1}$). Der höhere Massenanteil ging einher mit einer höheren Entfernrates (k) von Sulfapyridin ($0,053 - 0,213 \mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$) in R1 bis R3 als für die anderen Sulfonamiden ($0,02 - 0,114 \mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$).

Für Sulfamethazine war der Anteil der Adsorption am Verbleib der Sulfonamide in der aquatischen Umwelt am größten: 35,8 % (siehe Abbildung 3.11). Für Sulfamethazin wurden ebenfalls höhere Massenanteile im Sediment ($10,51 - 13,89 \mu\text{g kg}^{-1}$) im Vergleich zu Sulfadiazin, Sulfadimethoxin und Sulfamethoxazol ($1,71 - 6,55 \mu\text{g kg}^{-1}$) bestimmt. Der Anteil der Adsorption fiel von allen Sulfonamiden am geringsten für Sulfadiazin mit 21,8 % aus. Parallel dazu wurde ein geringerer Massenanteil in der Sedimentphase im Vergleich zu den anderen Sulfonami-

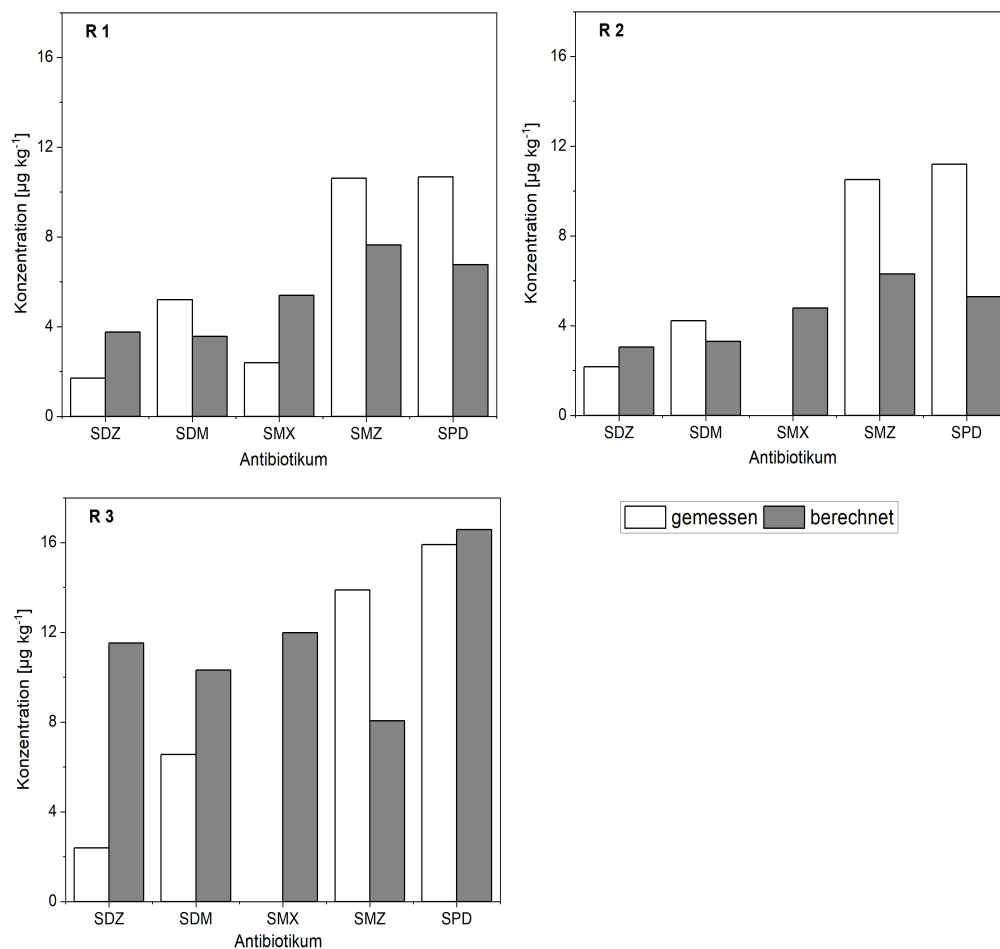


Abbildung 3.12: Quantifizierte (gemessene, weiß) und theoretisch berechnete (grau) Massenanteile der Sulfonamide in der Sedimentphase von R1 bis R3 nach 35 d. Für Sulfamethoxazol lag der Massenanteil unterhalb der Bestimmungsgrenze in R2 und R3. Abkürzung Sulfadiazin (SDZ), Sulfadimethoxin (SDM), Sulfamethoxazol (SMX), Sulfadimethazin (SMZ) und Sulfapyridin (SPD).

den ($1,71 - 2,39 \mu\text{g kg}^{-1}$ im Vergleich zu $2,39 - 13,89 \mu\text{g kg}^{-1}$ ausgenommen Sulfapyridin) bestimmt.

Für die ABs-Klasse der Sulfonamide konnte der aus der Wasserphase adsorbierte Anteil im Sediment quantifiziert werden. Folglich ergaben das kinetische Modell und die berechnete Massenbilanz übereinstimmende Ergebnisse. Höhere Entfernungsraten konnten durch höhere Massenanteile im Sediment belegt werden. Im Vergleich zu den Fluorchinolonen und Tetracyclinen ($0,2 - 26,3 \%$) erzielten die Sulfonamide höhere WFR in der PLE-SPE Methode ($8,7 - 33,5 \%$). Ob der Unterschied zwischen bestimmten und berechneten Massenanteilen nur auf die Verluste während der Probenvorbereitung zurückzuführen war, oder ob ein biologischer Abbau der Sulfonamide im Sediment stattfand, konnte im Rahmen dieser Studie nicht

bestimmt werden. Auffallend war, dass der Massenanteil für Sulfamethoxazol unterhalb der Bestimmungsgrenze in R2 (Adsorption und biologischer Abbau) lag. Für Sulfamethoxazol berichteten Zhang u. a. und Koba u. a. einen schnelleren Abbau in der Sedimentphase als für die andere Sulfonamide (Koba u. a. 2017; Zhang u. a. 2013). In der Studie von Zhang u. a. betrug die Halbwertszeit von Sulfamethoxazol im Sediment 9,9 bis 10,5 d. Bei der Zugabe von 0,1 % NaN_3 zur Inhibition des biologischen Abbaus betrug die Halbwertszeit 95,0 bis 135,9 d. Für die beiden anderen Vertreter der Sulfonamide (Sulfadimethoxin und Sulfamethazin) lag die Halbwertszeit in den Versuchen mit und ohne biologischen Abbau in einer ähnlichen Größenordnung (34,7 – 75,3 d und 33,0 – 62,4 d). Die Autoren schlussfolgerten, dass der biologische Abbau einen geringen Beitrag für diese beiden Sulfonamide hatte (Zhang u. a. 2013). Pesce u. a. beobachteten einen Anstieg der mikrobiologischen Aktivität im Sediment beim Einsatz von höheren Konzentrationen an Sulfamethoxazol im Mesokosmos (Sediment und Wasser), die vermutlich durch den Abbau von Sulfamethoxazol und Sulfamethazine durch die mikrobiologische Gemeinschaft anstieg (Pesce u. a. 2021).

Die Entfernung der Sulfonamide im Sediment kann aber auch durch andere Parameter beeinflusst werden. So zeigten Zhang u. a. in ihrer Studie, dass unter aeroben sterilen Bedingungen mit Lichteinfluss kleinere Halbwertszeiten (33 – 95 d) erzielt wurden als unter Lichtausschluss (36,3 – 135,9 d) (Zhang u. a. 2013). Bei Ma u. a. war die Entfernrungsrate im Sediment von drei Sulfonamiden (Sulfamethoxazol, Sulfamethazin und Sulfadiazin) höher unter sauerstoffreichen Bedingungen (72 ± 28 %) als unter sauerstoffarmen Bedingungen (Nitrat reduzierendene Bedingungen, 29 ± 20 %) (Ma u. a. 2021).

Somit konnte diese Mesokosmos-Studie beide Aussagen aus der Literatur belegen. Der biologische Abbau bestimmte maßgeblich den Verbleib der Sulfonamide (50,1 - 65,1 %), jedoch lief dieser Prozesse mit Halbwertszeiten von mehr als 30 d bzw. k-Werten von 0,015 bis 0,036 d^{-1} (Tabelle 3.4) sehr langsam ab. Der Photoabbau durch sichtbares Licht (380 – 730 nm) hatte nur einen sehr geringen Einfluss auf den Verbleib der Sulfonamide. Als Konsequenz wurden die Sulfonamide als persistent in der Umwelt kategorisiert und der Gruppe III zugeordnet. Sulfapyridin wurde aufgrund der geringeren Halbwertszeit (19 d) in die Gruppe II moderat persistent eingeordnet. Der adsorbierte Anteil der Sulfonamide konnte in der Sedimentphase quantifiziert werden und lag in der Größenordnung der theoretischen Massenanteile.

3.3.6 Tetracycline

Das Konzentrationsverhältnis β_i/β_0 nahm innerhalb von 7 d in R1 bis R3 um 58,3 bis 86,9 % ab (siehe Abbildung A.31 bis A.34, $k_1 = 0,056 - 0,353 \text{ d}^{-1}$, siehe Tabelle 3.5). Die Halbwertszeiten betragen 2 bis 12 d (Tabelle 3.5) und waren damit deutlich kürzer als für die Fluorchinolone 6 bis 8 d (Tabelle 3.3) und die Sulfonamide 19 bis 47 d (Tabelle 3.4). Die schnelle Abnahme von Tetracyclin wurde bereits im Mesokosmos-Versuch von Brown u. a. beobachtet, in der Tetracyclin innerhalb von einer Woche um 90 % abnahm. Für diese Mesokosmos-Studie lag das Konzentrationsverhältnis β_i/β_0 von R2 bei 64 % nach 7 d. Nach 10 d konnte Tetracyclin nicht mehr quantifiziert werden, da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze lag. Folglich war die Entfernrungsrate größer als 90 %. Die Tetracycline waren die einzige AB-Klasse, für die eine Abnahme des Konzentrationsverhältnisses β_i/β_0 in R4 beobachtet wurde (siehe Abbildung A.31 bis A.34 im Anhang). Nach 7 d war die Konzentration auf 3 bis 53 % der Ausgangskonzentration gesunken (mit $k_4 = 0,036 - 0,054 \text{ d}^{-1}$, Tabelle 3.5).

Die Adsorption war der Prozess mit den höchsten Anteilen von 44,4 bis 52,0 % für die Tetracycline. Der Photoabbau hatte für Doxycyclin und Oxytetracyclin einen ähnlichen Anteil (41,3 – 43,0 %) wie die Adsorption (siehe Abbildung 3.13). In der Literatur wurde die Adsorption und der Photoabbau als Hauptprozess für den Verbleib der Tetracycline in der aquatischen Umwelt benannt (Bavumiragira u. a. 2022; Felis u. a. 2020; Scaria u. a. 2021). Die Tetracycline wiesen K_d -Werte im Bereich von 417 bis 11908 L kg^{-1} für lehmhaltigen Sand oder sandige oder tonhaltige Lehmerde auf (Bavumiragira u. a. 2022). Die K_d -Werte waren vergleichbar mit denen der Fluorchinolone in Bereich von 30 bis 18620 L kg^{-1} für Salz- und Süßwasser-Sedimente (Van Doorslaer u. a. 2014). Für diese AB-Klasse hatte die Adsorption ebenfalls den höchsten Anteil (70,5 – 80,0 %) am Verbleib der Fluorchinolone in der aquatischen Umwelt. Die höheren K_d -Werte spiegelten die starke Adsorptionsaffinität beider ABs-Klassen wieder. Eine weitere Gemeinsamkeit zwischen beiden ABs-Klassen war die Ausbildung von Zwitterionen. Die chemische Struktur der Tetracycline weist unterschiedliche funktionelle Gruppen auf z. B. phenolische Hydroxyl-Gruppen, Carbonyl-Gruppen, Carbonsäureamid-Gruppe und tertiäre Amine mit zwei Methylgruppen (Scaria u. a. 2021) (siehe Abbildung 1.4). Dadurch bilden Tetracycline im pH-Wert Bereich von 3,3 bis 7,7 Zwitterionen aus (Anderson u. a. 2005; O'Connor u. a. 2007). Durch die Zwitterionen-Struktur können Tetracycline durch ionische Wechselwirkungen, Kationenaustausch und Bildung von Komplexen mit Metalloxiden aus der oberflächennahen Schicht des Sediments (Kationenbrücke) mit der Sedimentoberfläche interagieren (Scaria u. a. 2021). Wie bereits im Kapitel 3.2 erläutert wurde, bilden Tetracycline Chelatkomplexe mit

Tabelle 3.5: Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Tetracycline in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.

Parameter	Einheit	Chlortetracyclin	Oxytetracyclin	Tetracyclin	Doxycyclin
Geschwindigkeitskonstanten (k)					
R1	d ⁻¹	0,056 ± 0,009	0,353*	0,285*	0,305*
R2	d ⁻¹	0,087 ± 0,004	0,184*	0,182 ± 0,007	0,167 ± 0,023
R3	d ⁻¹	0,076 ± 0,013	0,241 ± 0,028	0,190 ± 0,020	0,184 ± 0,012
R4	d ⁻¹	0,036 ± 0,005	0,054 ± 0,002	0,038 ± 0,003	0,041 ± 0,005
Adsorption	d ⁻¹	0,040 ± 0,014	0,188 ± 0,029	0,152 ± 0,021	0,143 ± 0,013
biologischer Abbau	d ⁻¹	0,011 ± 0,014	-	-	-
Hydrolyse	d ⁻¹	0,036 ± 0,005	0,054 ± 0,002	0,038 ± 0,003	0,041 ± 0,005
Photo- abbau	d ⁻¹	-	0,170 ± 0,000	0,102 ± 0,007	0,139 ± 0,023
Halbwertszeiten ($t_{1/2}$)					
R1	d	12	2	2	2
R2	d	8	4	4	4
R3	d	9	3	4	4
R4	d	19	13	18	17
Adsorption	d	17	4	5	5
biologischer Abbau	d	64	-	-	-
Hydrolyse	d	19	13	18	17
Photoabbau	d	-	4	7	5
Persistenz- gruppe [#]		II	I	I	I

*Berechnet nach einem Zeitintervall von 7 Tagen, das drei Datenpunkten entspricht. Nach 7 Tagen lag die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze und folglich konnte keine Standardabweichung von k_1 berechnet werden.

[#] Persistenzgruppen basierend auf der Halbwertszeit ($t_{1/2}$) für R1 alle Prozesse.

Gruppe I ist nicht persistent ($t_{1/2} \leq 11$ d), Gruppe II ist moderat persistent ($t_{1/2} = 12-35$ d) und Gruppe III ist persistent ($t_{1/2} \geq 36$ d).

mehrwertigen Metallionen aus (Anderson u. a. 2005; Larivière u. a. 2017). Diese Eigenschaften führten dazu, dass Tetracycline eine starke Adsorptionstendenz aufwiesen.

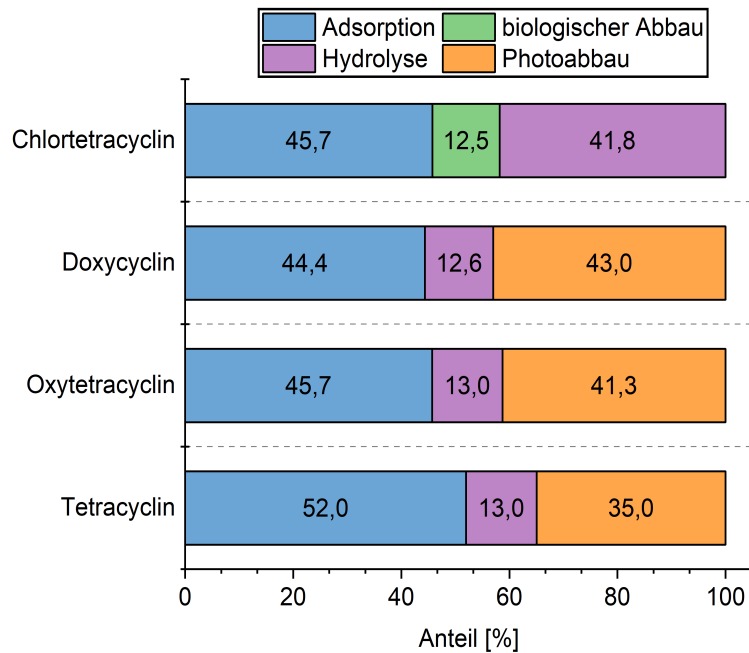


Abbildung 3.13: Prozentualer Anteil der vier untersuchten Prozesse Adsorption am Sediment, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau an der Abnahme der Tetracycline in der Wasserphase. Die Konzentration der Tetracycline lag in R1 bis R3 bereits nach 7 d unterhalb der Bestimmungsgrenze. Für R4 betrug die Konzentration nach 35 d 0,79 bis 2,51 $\mu\text{g L}^{-1}$. Adaptiert nach (Chabilan u. a. 2023).

Im Vergleich zu den anderen ABs konnte nur für Chlortetracyclin ein Beitrag des biologischen Abbaus von 12,5 % bestimmt werden. Für die anderen Tetracycline war die Geschwindigkeitskonstante von R3 (Adsorption und Hydrolyse) größer als für R2 (Adsorption, biologischer Abbau und Hydrolyse) ($0,184 - 0,241 \text{ d}^{-1}$ im Vergleich zu $0,167 - 0,184 \text{ d}^{-1}$, Tabelle 3.5). Folglich konnte $k(\text{biologischer Abbau})$ mit Gleichung 2.14 nicht bestimmt werden und kein Beitrag des biologischen Abbaus durch das gewählte Modell ermittelt werden. Als mögliche Erklärung wurde die schnelle Adsorption der Tetracycline innerhalb von 7 d und die Abnahme der Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze innerhalb von 10 d angeführt. Dadurch konnte für die Berechnung der k -Werte im kinetischen Modell nur drei Datenpunkte verwendet werden. Für die anderen ABs-Klassen konnten mindestens acht Datenpunkte in die Berechnung einbezogen werden. Als Folge daraus fiel die Präzision geringer aus. Der zufällige Fehler angegeben durch die Standardabweichung für k_3 lag im Bereich von $0,012$ bis $0,029 \text{ d}^{-1}$ für die Tetracycline im Vergleich zu maximal $0,01$ für die andere ABs (Tabelle 3.3 bis 3.5). In der

Literatur wurde der Beitrag des biologischen Abbaus als minimal oder nicht signifikant in der aquatischen Umwelt angegeben (Scaria u. a. 2021). Für weitere Untersuchungen sollte eine höhere Startkonzentration der Tetracycline gewählt werden z. B. $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Dadurch könnten mehr Datenpunkte erhoben werden und die Präzision des kinetischen Modells würde zunehmen. Jedoch könnten höhere Startkonzentrationen auch einen inhibierenden Effekt auf die Mikroorganismen im Mesokosmos ausüben (Grenni u. a. 2018). Für die Wasserphase konnte somit nur für Chlortetracyclin eine Beteiligung des biologischen Abbaus ermittelt werden.

Die Hydrolyse wies einen Anteil von 12,6 bis 13,0 % am Verbleib von drei der vier Tetracyclinen (Doxycyclin, Oxytetracyclin und Tetracyclin) auf. Für Chlortetracyclin betrug der Anteil 41,8 %. Im Vergleich zu den drei anderen ABs-Klassen (Fluorchinolone und Sulfonamide) besitzen die Tetracycline Hydroxyl-Gruppen, die in wässrigem Medium hydrolysieren. Die Beobachtungen in R4 waren in Übereinstimmung mit Loftin u. a., die die Hydrolyse von Chlortetracycline, Oxytetracycline und Tetracycline unter verschiedenen pH-Werten, Temperaturen und Ionenstärken untersuchten. Die Ionenstärke hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Zersetzung der drei Tetracycline. Für pH 7, 9 und 11 hydrolysierten Chlortetracycline schneller als Oxytetracycline und Tetracycline. Die Halbwertszeiten betrugen 6 bis 429 h (18 d) für Chlortetracycline und 301 (13 d) bis 1150 h (48 d) für Oxytetracycline und Tetracycline. Die Halbwertszeiten in dieser Mesokosmos-Studie lagen bei 13 bis 19 d für R4 (nur Hydrolyse mit pH 8 – 8,5).

Der Photoabbau hatte einen Anteil von 35,0 bis 43,0 % für Doxycyclin, Oxytetracyclin und Tetracyclin. Der Beitrag des Photoabbaus konnte mit der chemischen Struktur der Tetracycline begründet werden. Die Absorptionsmaxima der Tetracycline liegen im Bereich von 220 bis 367 nm (siehe Tabelle 1.1). Im Falle von Tetracyclin liegt das Absorptionsmaximum bei etwa 350 nm und verschiebt sich zu 400 nm mit steigendem pH-Wert. Die Absorptionsmaxima und der eingesetzte Wellenlängenbereich von 380 bis 730 nm in der Mesokosmos-Studie überschneiden sich. Folglich war die Absorption möglich und der Einfluss des Photoabbaus konnte untersucht werden. Doxycyclin und Oxytetracyclin weisen sehr ähnliche chemische Strukturen wie Tetracyclin auf (Anzahl und Position der Hydroxyl-Gruppen sind unterschiedlich), folglich sind die Positionen der Absorptionsmaxima (345 und 354 nm) ebenfalls ähnlich (Carlotti u. a. 2010). Deshalb war der Anteil des Photoabbaus für diese drei Tetracycline ähnlich und unterschiedlich zu Chlortetracyclin. Tetracycline wurden in der Literatur als lichtempfindlich beschrieben und zersetzten sich schnell in Wasser (Bavumiragira u. a. 2022; Hamscher u. a. 2002). Die Ergebnisse für den Photoabbau in dieser Studie konnten mit Ergebnissen

aus anderen Studien bestätigt werden. Liu u. a. gaben einen höheren Anteil (59 und 56 %) für den Photoabbau von Tetracyclin und Oxytetracyclin an als in dieser Mesokosmos-Studie (35,0 bis 43,0 %) (Liu u. a. 2019). Für Oxytetracycline wurde eine Halbwertszeit von 5 d und ein k von $0,0057 \text{ h}^{-1}$ ($=0,1368 \text{ d}^{-1}$) in Süßwasser mit simuliertem Sonnenlicht bestimmt (Bavumiragira u. a. 2022). In der Mesokosmos-Studie dieser Arbeit betrug die Halbwertszeit für den Photoabbau von Oxytetracycline 4 d ($k(\text{Photoabbau})= 0,170 \text{ d}^{-1}$, Tabelle 3.5). Song u. a. untersuchten die Photolyse von Tetracyclin in Calciumcarbonat haltigem Wasser mit einer Niederdruck-Quecksilberdampflampe als Lichtquelle. Die Autoren schlussfolgerten, dass die Anwesenheit von Ca^{2+} , CO_3^{2-} und der alkalische pH-Wert die Photolyse förderte ($0,280 \text{ Min}^{-1}$ entspricht $0,0046 \text{ h}^{-1}$ für pH 8) (Song u. a. 2020). Der pH-Wert in R1 (alle Prozesse) lag bei 8,0 bis 8,8 während der Mesokosmos-Studie und könnte dadurch den Photoabbau der Tetracycline gefördert haben.

Sedimentphase

In der Sedimentphase wurde nur Doxycyclin detektiert. Eine Quantifizierung war nicht möglich, da die Qualifier (Massen zu Ladungsübergänge in der Messmethode) nicht detektiert worden sind. Für die anderen Tetracycline war das Signal-Rausch-Verhältnis kleiner als 10 und somit eine Quantifizierung ebenfalls nicht möglich. Quantifizierungsprobleme der Tetracycline standen ebenfalls im Zusammenhang mit den WFRn von 4,2 bis 26,3 % und Bestimmungsgrenzen von $1,0$ bis $2,4 \mu\text{g kg}^{-1}$ der PLE-SPE Methode (siehe Kapitel 3.2.6). Dadurch wurde die Quantifizierung der Tetracycline im Sediment erschwert.

Abbildung 3.14 stellt die berechneten Massenanteile im Sediment für die R1 bis R3 dar. Für R3 ($26,30$ bis $39,93 \mu\text{g kg}^{-1}$) wurden höhere Massenanteile berechnet wie für R1 ($8,30$ – $12,83 \mu\text{g kg}^{-1}$) und R2 ($7,23$ – $20,93 \mu\text{g kg}^{-1}$). Ein Vergleich mit den gemessenen Konzentrationen war aufgrund der zuvor beschriebenen Probleme nicht möglich. Um eine Aussage über die biologische Abbaubarkeit der adsorbierten Tetracycline im Sediment treffen zu können, wäre eine weitergehende Untersuchung der Sedimentphase wichtig. Walters u. a. untersuchten in einem Freilandversuch über drei Jahre die Abnahme der Konzentration von Pharmazeutika und Körperpflegeprodukten auf einem mit Klärschlamm behandeltem Versuchsfeld. In den Bodenproben wurden Doxycyclin und Tetracyclin mit Massenanteilen von 15 bis $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ quantifiziert. Nach drei Jahren lag die Konzentration unterhalb von $5,6$ bzw. $5,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Nachweisgrenze der Methode). Die Halbwertszeiten von Doxycyclin betrug 533 d ($1,5 \text{ a}$) und

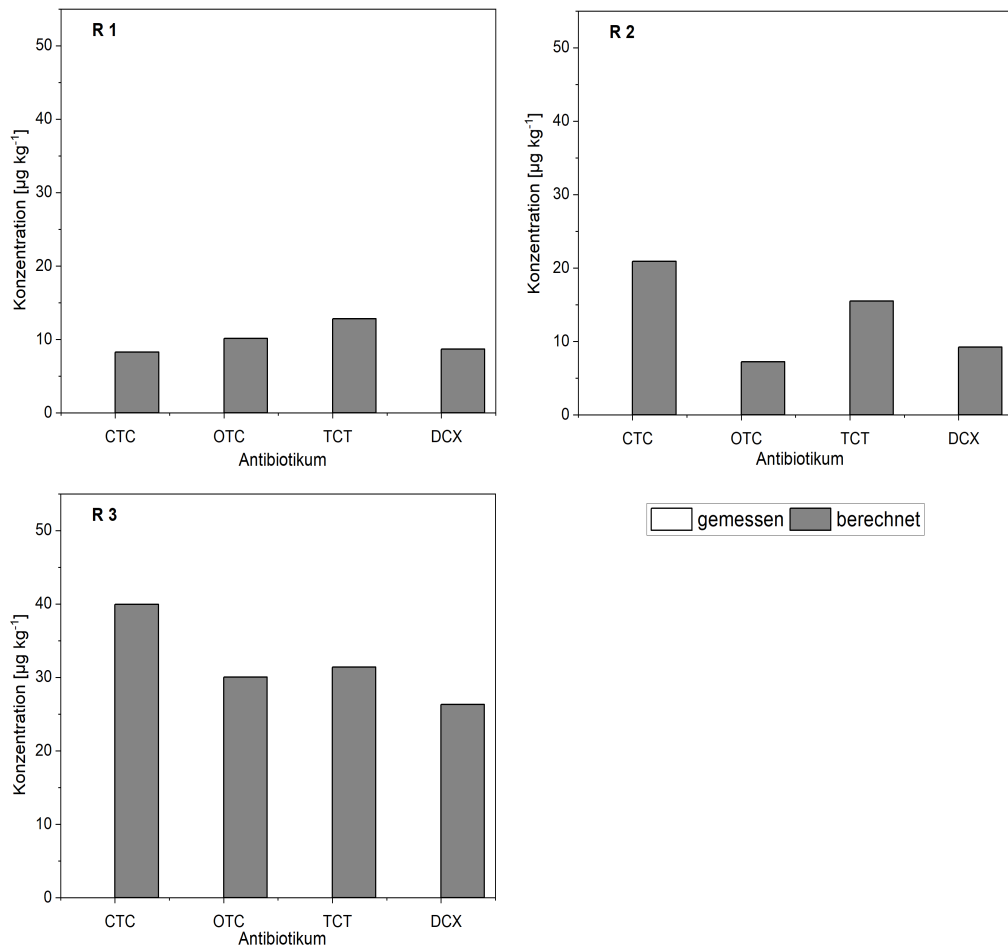


Abbildung 3.14: Theoretisch berechneter Massenanteil der Tetracycline in der Sedimentphase von R1 bis R3 nach 3 bis 7 d. Die Tetracycline konnten in der Sedimentphase nicht quantifiziert werden, da das Signal-Rausch-Verhältnis kleiner als 10 war. Nach 7 d lag die Massenkonzentration in der Wasserphase unterhalb der Bestimmungsgrenze. Abkürzungen: Chlortetracyclin (CTC), Oxytetracyclin (OTC), Tetracyclin, Doxycyclin (DCX).

von Tetracyclin 578 d (1,6 a). Die Autoren klassifizierten die Tetracycline als zeitlich begrenzt persistent (Walters u. a. 2010).

Die Tetracycline waren die einzige ABs-Klasse, für die der Prozess der Hydrolyse auftrat. Ihre chemische Struktur weist funktionelle Gruppen auf, z. B. Hydroxyl-Gruppen, die unter Umweltbedingungen (niedrige Temperaturen und neutraler pH-Wert) hydrolysieren. Im Gegensatz zu den anderen ABs bestimmten zwei Prozesse, Adsorption und Photoabbau oder Adsorption und Hydrolyse, den Verbleib der Tetracycline in der aquatischen Umwelt. Dabei wiesen Doxycyclin, Oxytetracyclin und Tetracyclin ein ähnliches Verhalten auf. Aufgrund ihrer geringen Stabilität in der Wasserphase (Halbwertszeiten von 2 – 12 d) wurden die Tetracycline als nicht persistent eingestuft (Gruppe I, Tabelle 3.5).

3.3.7 Andere

Das Konzentrationsverhältnis β_i/β_0 nahm sowohl für Clindamycin als auch Trimethoprim in R1, R2 und R3 ab. Die Abnahme von Trimethoprim war jedoch schneller als für Clindamycin. In R1 (alle Prozesse) wies Trimethoprim eine Halbwertszeit von 17 d auf und ein Geschwindigkeitskonstante von $0,040 \pm 0,001 \text{ d}^{-1}$ (Tabelle 3.6). In einer Freiland- Mesokosmos-Studie mit Wasser, Sediment und natürlicher Sonneneinstrahlung wurde für Trimethoprim eine ähnliche Halbwertszeit von 11,8 d ermittelt (Nguyen Dang Giang u. a. 2015). Die Halbwertszeit von Clindamycin in R1 betrug 46 d mit einem k-Wert von $0,008 \pm 0,01 \text{ d}^{-1}$ (Tabelle 3.6).

Für beide ABs hatte der biologische Abbau mit 46,0 und 52,5 % den Hauptanteil am Verbleib der ABs in der Wasserphase. Für Trimethoprim wies die Adsorption einen Anteil von 42,5 % und der Photoabbau von 5 % an der Gesamtabnahme in der Wasserphase auf. Der Beitrag des Photoabbaus am Verbleib von Clindamycin in der Wasserphase war größer (30,7 %) und die Adsorption belief sich auf 23,3 % (Abbildung 3.11). Die Mesokosmos-Studie von Li und Cui untersuchte den biologischen Abbau und Photoabbau von Trimethoprim im Mündungswasser. Für den Photoabbau waren die Halbwertszeiten (265,6 d im Vergleich zu 346 d, Tabelle 3.6) und die Geschwindigkeitskonstanten ($0,0026 \text{ d}^{-1}$ im Vergleich zu $0,0020 \text{ d}^{-1}$, Tabelle 3.6) der beiden Mesokosmos-Studien vergleichbar (Li u. a. 2020). Für den biologischen Abbau erbrachte die Mesokosmos-Studie von Li und Cui größere Halbwertszeiten (630,1 d) und Geschwindigkeitskonstanten ($0,0011 \text{ d}^{-1}$) als die Studie dieser Arbeit ($0,0212 \text{ d}^{-1}$ und 33 d, Tabelle 3.6). Li und Cui führten jedoch ebenfalls an, dass die mikrobiologische Dichte in Klärschlamm und Sedimenten höher war als in Abwasser und Oberflächenwasser (Li u. a. 2020). Dies könnte erklären, warum der biologische Abbau in der Mesokosmos-Studie dieser Arbeit höher ausfiel. Gartiser u. a. untersuchten die Mineralisierung von ABs in der wässrigen Phase. Für Trimethoprim und Clindamycin fand nach 28 d keine vollständige Mineralisierung statt. Die Entfernung des DOC aus dem geschlossenen System betrug 16 % für Trimethoprim und 12 % für Clindamycin (Gartiser u. a. 2007). Für Clindamycin wurde in einer andere Studie nach der OECD Norm 301 eine biologische Degradation von 23,1 % bezogen auf die Startkonzentration nach 28 d ermittelt (Alexy u. a. 2004). Die geringe biologische Abbaubarkeit in den zitierten Studien für Clindamycin konnte durch eine Halbwertszeit von 99 d in dieser Studie belegt werden.

Trimethoprim wurde der Gruppe II (moderate persistent) zugeordnet und Clindamycin gehörte wie die Makrolide und Sulfonamide der Gruppe III (persistent) an (Tabelle 3.6).

Sedimentphase

Tabelle 3.6: Geschwindigkeitskonstante und Halbwertszeiten für Clindamycin und Trimethoprim in den Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau.

Parameter	Einheit	Clindamycin	Trimethoprim
Geschwindigkeitskonstanten (k)			
R1	d ⁻¹	0,015 ± 0,001	0,040 ± 0,001
R2	d ⁻¹	0,011 ± 0,000	0,038 ± 0,001
R3	d ⁻¹	0,004 ± 0,001	0,017 ± 0,001
R4	d ⁻¹	-	-
Adsorption	d ⁻¹	0,004 ± 0,001	0,017 ± 0,001
biologischer Abbau	d ⁻¹	0,007 ± 0,001	0,021 ± 0,001
Hydrolyse	d ⁻¹	-	-
Photoabbau	d ⁻¹	0,005 ± 0,001	0,002 ± 0,001
Halbwertszeiten (t _{1/2})			
R1	d	46	17
R2	d	66	18
R3	d	195	40
R4	d	-	-
Adsorption	d	195	40
biologischer Abbau	d	99	33
Hydrolyse	d	-	-
Photoabbau	d	149	346
Persistenzgruppe [#]		III	II

[#] Persistenzgruppen basierend auf der Halbwertszeit (t_{1/2}) für R1

(umfasst alle Prozesse).

Gruppe I ist nicht persistent (t_{1/2} ≤ 11 d), Gruppe II ist moderat

persistent (t_{1/2} = 12-35 d) und Gruppe III ist persistent (t_{1/2} ≥ 36 d).

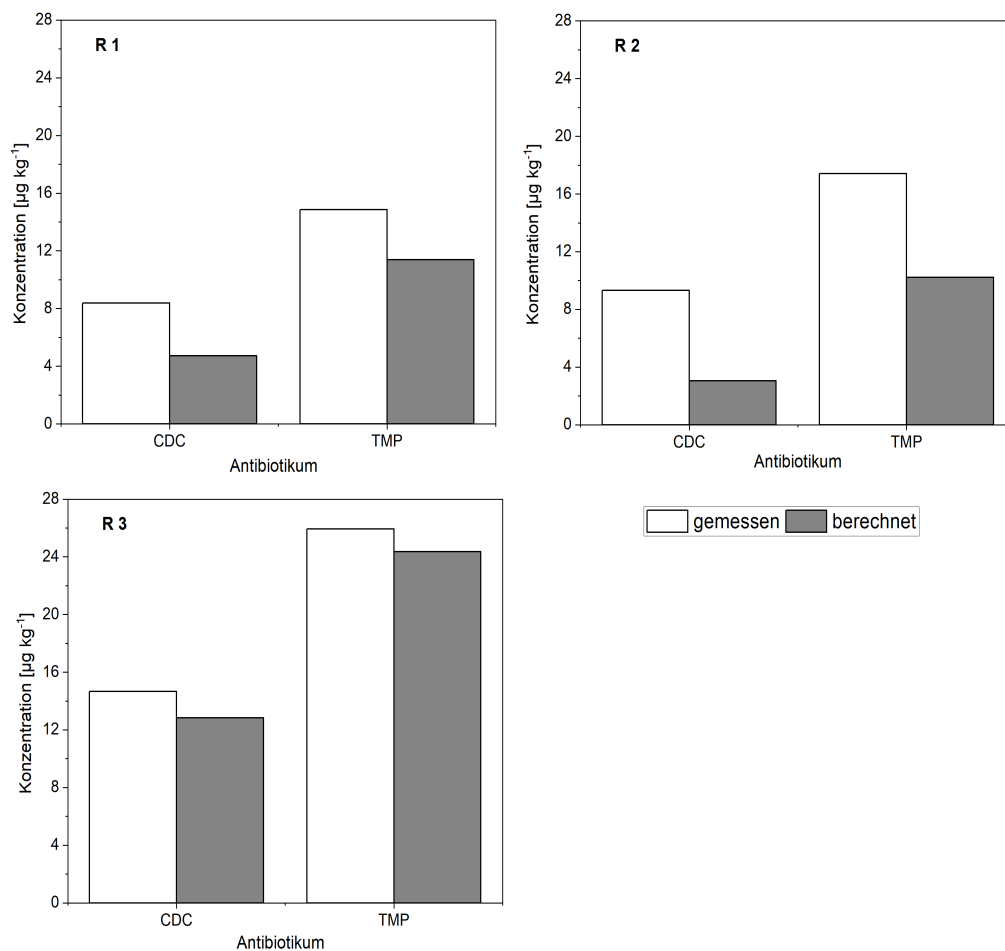


Abbildung 3.15: Quantifizierte (gemessene, weiß) und berechnete (grau) Massenanteile für Clindamycin und Trimethoprim in der Sedimentphase von R1 bis R3 nach 35 d.

Abbildung 3.15 stellt die gemessenen und berechneten Massenanteile von Clindamycin und Trimethoprim im Sediment für R1 bis R3 dar. Im Vergleich zu den anderen ABs lag der quantifizierte Massenanteil höher als der berechnete (6 bis 67 %). Der Massenanteil nahm von R1 bis R3 zu ($8,39 - 14,65 \mu\text{g kg}^{-1}$ für Clindamycin und $14,85 - 25,92 \mu\text{g kg}^{-1}$ für Trimethoprim). R3 wies die höchsten Massenanteile für beiden ABs auf ($14,65$ und $25,92 \mu\text{g kg}^{-1}$). Die Konzentrationszunahme im Sediment wurde mit dem Wegfall des Photoabbaus von R1 zu R2 und der biologische Abbau von R2 zu R3 erklärt. Somit konnte sich in R3 die höchste Menge an ABs im Sediment anreichern. Der Massenanteil für Trimethoprim ($14,85 - 25,92 \mu\text{g kg}^{-1}$) war in R1 bis R3 höher als für Clindamycin ($8,39 - 14,65 \mu\text{g kg}^{-1}$). Trimethoprim wies den höheren Beitrag für die Adsorption (42,5 %) am Verbleib des ABs im Vergleich zu Clindamycin (23,3 %) auf. Damit konnte ein direkter Zusammenhang zwischen der Wasser- und Sedimentphase hergestellt werden. Koba u. a. untersuchten die Abnahme von Clindamycin und Trimethoprim in Bodenproben bei 20°C für 61 d im Dunkeln. Für Clindamycin betrug die Entfernungsr

bis 97 % abhängig von der Zusammensetzung der Bodenprobe. Die Autoren schlussfolgerten, dass Clindamycin wenig persistent ist. Die Entfernungsrates für Trimethoprim war kleiner (13 – 17 % für Löss und sandige Bodenproben und 31 – 84 % für Mischböden). Folglich lief der Abbau von Trimethoprim langsamer ab. Dazu konnte in der hier vorliegenden Mesokosmos-Studie keine Aussage getroffen werden, da die Entfernung nur für die Wasserphase bestimmt wurde. Koba u. a. begründeten die geringere Entfernungsrates von Trimethoprim mit einer höheren Adsorptionsaffinität. Dadurch war Trimethoprim nicht für Mikroorganismen verfügbar (Koba u. a. 2017). Die höhere Adsorptionsaffinität konnte für Trimethoprim in der hier beschriebenen Mesokosmos-Studie ebenfalls belegt werden.

3.3.8 Schlussfolgerung des Kapitels

Im Rahmen der Mesokosmos-Studie wurde der prozentuale Anteil der Adsorption am Flusssediment, des biologischen Abbaus, der Hydrolyse und des Photoabbaus durch Licht im sichtbaren Bereich am Verbleib von 18 ABs in der aquatischen Umwelt bestimmt. Die Konzentrationsabnahme folgte einer Reaktion erster Ordnung. ABs derselben Klasse wiesen ein ähnliches Verhalten in der Mesokosmos-Studie auf. Folglich wurde angenommen, dass ihr Verbleib in der aquatischen Umwelt ebenfalls ähnlich ausfallen würde. Damit bestätigte sich die erste aufgestellte Hypothese.

Das Verhalten der 18 ABs konnte mit ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften (K_d -Werte, $\log(K_{OW})$ -Wert, Absorptionsmaximum) erklärt werden. Damit konnte die zweite Hypothese ebenfalls belegt werden. Für ABs mit einem hohen K_d -Wert (Fluorchinolone und Tetracycline) wurde die Adsorption an das Flusssediment als Hauptprozess mit einem Anteil von 44,4 bis 80,0 % bestimmt. ABs mit einem niedrigen K_d -Wert (Sulfonamide und Clindamycin) zeigten eine geringere Adsorptionstendenz (21,8 – 35,8 %). Sie waren hingegen anfälliger für den biologischen Abbau (46,0 – 65,1 %). Die Tetracycline waren aufgrund ihrer chemischen Struktur (Anwesenheit von Hydroxyl-Gruppen) die einzige ABs-Klasse, die hydrolysierte. Der Photoabbau durch Licht im sichtbaren Bereich wies nur einen geringen Anteil am Verbleib der Fluorchinolone, Sulfonamide und Trimethoprim auf (0,7 – 24,7 %), da ihre Absorptionsmaxima im Bereich der UV-Strahlung lagen.

Die Persistenz der ABs in der aquatischen Umwelt wurde mit der Halbwertszeit in der Wasserphase bestimmt und ermöglichte eine Unterteilung der 18 ABs in drei Gruppen (Gruppe I: nicht persistent ($t_{1/2} \leq 11$ d); Gruppe II: moderat persistent ($12 < t_{1/2} \leq 35$ d) und Gruppe III: persistent ($t_{1/2} \geq 36$ d)). Fluorchinolone und Tetracycline gehören der Gruppe I an. Für die

Makrolide trug keiner der vier Prozesse zu einer Abnahme in der Wasserphase bei, sodass sie der Gruppe III zugeordnet werden. Clindamycin, Sulfonamides und Trimethoprim verteilen sich auf die Gruppen II und III. Abschließend lässt sich festhalten, dass die Adsorption und der biologische Abbau den Verbleib der ABs in der Wasserphase maßgeblich beeinflussen.

Durch eine Bilanzierung des Mesokosmos konnte der theoretische Massenanteil der ABs in der Sedimentphase abgeschätzt werden. Für Clindamycin, die Sulfonamide und Trimethoprim stimmten die quantifizierten und theoretischen Massenanteile gut überein. Damit konnte die zwar geringe Adsorptionstendenz dieser ABs am Sediment belegt werden. Für die Fluorchinolone und Tetracycline war der Abgleich aufgrund zu geringen WFRn der analytischen Methode nicht möglich.

3.4 Vorkommen und Verbreitung von Antibiotika in der Alb

3.4.1 Einleitung

Die für diese Arbeit durchgeführte Feldstudie an der Alb knüpft an die Studie von Brown u. a. an. Ziel der Studie von Brown u. a. war die Überprüfung der These, ob der Eintrag von ABs zur Anreicherung von ARGs in der Sedimentphase führte. Dafür wurde im Jahr 2017 die Alb vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs auf ABs und ARGs untersucht. Für die Studie wurden 46 Wasser- und Sedimentproben vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs in die Alb genommen und vier ARGs (*ermB*, *blaTem*, *tetM* und *qnrS*) analysiert. Jedoch wurden in der Studie von Brown u. a. nur fünf ABs in der Wasserphase untersucht. Aufgrund einer fehlenden analytischen Methode wurde keine weitere Untersuchung der Sedimentphase durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass ein signifikanter Unterschied vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs für die vier Gene sowohl in der Wasser- und Sedimentphase bestand. Die Autoren konnten belegen, dass durch die partikulären Bestandteile des Kläranlagenablaufs ARGs in die aquatische Umwelt eingetragen werden. Durch Sedimentation der Abwasserpartikel war eine Anreicherung in der Sedimentphase möglich. Die Studie von Brown u. a. konnte jedoch keine Aussage dazu treffen, ob der Massenanteil an ABs im Sediment eine Rolle bei der Anreicherung von ARGs im Sediment spielt (Brown u. a. 2019).

Das Ziel der Feldstudie war, die Umweltkonzentrationen an ABs in der Wasser- und Sedimentphase der Alb vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs zu bestimmen. Damit sollte der Eintrag und die Verbreitung der ABs durch den Kläranlagenablauf ermittelt werden. Um einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen der ABs und ARGs in der aquatischen Umwelt zu etablieren, wurden zusätzlich 21 ARGs in der Wasser- und Sedimentphase analysiert. Für die Quantifizierung der ABs wurde die in Kapitel 3.1 und 3.2 vorgestellten entwickelten analytischen Methoden für Oberflächenwasser und Flusssediment verwendet. Wie in zahlreichen Studien bereits gezeigt wurde, stellt der Kläranlagenablauf eine anthropogene Quelle für den Eintrag von ABs und ARGs in die aquatische Umwelt dar (Brown u. a. 2019; Burke u. a. 2016; Gibs u. a. 2013; Hirsch u. a. 1999; Kerrigan u. a. 2018b; Michael u. a. 2013; Rodriguez-Mozaz u. a. 2015). Nach Einleitung des Kläranlagenablaufs werden folglich ABs im unteren $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich der Sedimentphase quantifiziert (Gibs u. a. 2013; Massey u. a. 2010). ARGs, die für Überwachungsprogramme empfohlen werden (z. B. *intl1*, *su1*, *tetM*, *ermB*, *qnrS* (Berendonk u. a. 2015; Liguori u. a. 2022)), zeigten ebenfalls eine signifikant höhere absolute

Häufigkeit nach Einleitung des Kläranlagenablaufs auf (Brown u. a. 2019; Rodriguez-Mozaz u. a. 2015).

Folgende Arbeitshypothesen wurden im Rahmen der Feldstudie geprüft:

1. Das in Kapitel 3.3 bestimmte Verhalten der ABs in der aquatischen Umwelt begründet das Auftreten der ABs in der Alb:
 - (a) Fluorchinolone weisen hohe K_d -Werte ($30 - 18620 \text{ L kg}^{-1}$ (Van Doorslaer u. a. 2014)) und eine starke Adsorptionsaffinität auf. Sie werden nur an Probenahmestellen in direkter Nachbarschaft zur Einleitung des Kläranlagenablaufs in der Wasser- und Sedimentphase auftreten.
 - (b) Die Tetracycline hydrolysieren in Wasser aufgrund ihrer chemischen Struktur ($12,6 - 41,8 \%$) und sind wegen ihrer Absorptionsmaxima im Wellenlängenbereich von 220 bis 367 nm lichtempfindlich (Anteil des Photoabbaus $35,0 - 43,0 \%$). Diese AB-Klasse wird nicht im Kläranlagenablauf und folglich im Oberflächenwasser quantifiziert.
 - (c) Sulfonamide und Makrolide besitzen kleinere K_d -Werte ($0,6 - 97 \text{ L kg}^{-1}$, $211 - 1557 \text{ L kg}^{-1}$) als die Fluorchinolone. Aufgrund ihrer Halbwertszeiten von mehr als 36 d ($37 - 47 \text{ d}$) in der Mesokosmos-Studie, persistierten sie in der Wasserphase. Beide ABs-Klassen werden entlang des beprobten Flussabschnitts sowohl in der Wasserphase als auch in der Sedimentphase quantifiziert.
2. Das zuvor beschriebene Verhalten der ABs führt dazu, dass eine Anreicherung in der Sedimentphase stattfindet. Sedimente sind somit Senken für anthropogene Spurenstoffe (Thiebault u. a. 2021; Vane u. a. 2022).

3.4.2 Antibiotika in der Wasserphase der Alb

In der Wasserphase der Alb wurden neun (Erythromcin und Erythromycin-H₂O werden nicht getrennt gezählt) von 19 möglichen ABs im Kläranlagenablauf (E1 – E3) und nach dessen Einleitung im Flusswasser der Alb (D1 – D12) quantifiziert (Details zu den Probenahmestellen siehe Abbildung 2.4). Tabelle 3.7 fasst die bestimmten Konzentrationen an ABs in den drei beprobten Abschnitten vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 – U3), im Kläranlagenablauf (E1 – E3) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 – D11) zusammen. Außerdem stellt sie die Konzentrationen der neun quantifizierten ABs Ergebnissen aus anderen Studien

gegenüber. Die Auswahl der Studien beschränkt sich auf Europa. Im Kläranlagenablauf und flussabwärts wurden die gleichen neun ABs bestimmt (siehe Tabelle 3.7). Aus jeder ABs-Klasse wurden mindestens zwei ABs quantifiziert. Nur für die Klasse der Tetracycline wurden keine Vertreter bestimmt. Für alle beprobten Abschnitte wurde eine chemisch-physikalische Charakterisierung (pH-Wert, CSB, TOC, Nitrat, TSS) der Wasserproben durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle B.28 im Anhang zusammengestellt.

Für die Probenahmestellen U1 bis U3 wurden nur vier ABs mit Konzentrationen von weniger als 10 ng L^{-1} quantifiziert ($0,1 - 7,13 \text{ ng L}^{-1}$, siehe Tabelle 3.7). Erythromycin gehört zu den natürlich vorkommenden ABs und wird in der Natur gebildet (Demain 2009). Brown u. a. quantifizierten im gleichen Flussabschnitt Erythromycin mit Konzentrationen von $10,6 \pm 6,1 \text{ ng L}^{-1}$. Außerdem wurde Ciprofloxacin und Roxithromycin bestimmt ($4,3 \pm 0,8 \text{ ng L}^{-1}$ und $15,4 \pm 4,6 \text{ ng L}^{-1}$) (Brown u. a. 2019).

Die ABs traten mit Konzentrationen von $1,6$ bis $396,3 \text{ ng L}^{-1}$ im Kläranlagenablauf (E1 – E3) auf. Wie Tabelle 3.7 darstellt, wurden diese neun ABs ebenfalls in Kläranlagenabläufen in anderen europäischen Ländern erfasst. Jedoch fielen die Spannweiten der Konzentration im Kläranlagenablauf für die ABs-Klassen sehr unterschiedlich aus. Die Fluorchinolone, Clindamycin und Trimethoprim traten in der Literatur und in dieser Studie im Bereich von $< 20,0$ bis 920 ng L^{-1} auf (siehe Tabelle 3.7). Hingegen wurden die Makrolide in dieser Studie nur im unteren ng L^{-1} -Bereich bestimmt ($< 20 - 53,1 \text{ ng L}^{-1}$). In der Literatur wurden deutlich höhere Konzentrationen für den Kläranlagenablauf angegeben ($< 20 - 6000 \text{ ng L}^{-1}$, siehe Tabelle 3.7). Ciprofloxacin, Clindamycin und Sulfamethoxazol wiesen die höchsten Konzentrationen im Kläranlagenablauf dieser Studie auf ($154,4$; $154,8$ und $396,3 \text{ ng L}^{-1}$). Auch in anderen Studien wurden für diese drei ABs die höchsten Konzentrationen bestimmt ($881,0 - 8263,0 \text{ ng L}^{-1}$, siehe Tabelle 3.7). Für Sulfamethoxazol wurde in beiden Kategorien (Feldstudie und Literaturstudien) die höchsten Konzentrationen erfasst (8263 ng L^{-1} Literatur und $396,3 \text{ ng L}^{-1}$ Feldstudie, siehe Tabelle 3.7).

Die Unterschiede in den Spannweiten der Konzentrationen sind zum einem mit dem Probenumfang zu erklären. Z. B. wurden in der Studie von Rossmann u. a. 400 Proben der selben Kläranlage analysiert (Rossmann u. a. 2014). Während in dieser Studie acht Proben des Kläranlagenablaufs untersucht wurden. Eine weitere Erklärung wären die Abgabemengen an ABs im jeweiligen Einzugsgebiet. Rodriguez-Mozaz u. a. verglichen in ihrer Studie den ABs-Verbrauch in sieben europäischen Ländern im ambulanten Bereich mit der Gesamtkonzentra-

Tabelle 3.7: Konzentrationen an quantifizierten ABs vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 – U3), im Kläranlagenablauf (E1 – E3) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 – D11) sowie eine Spannweite der Konzentrationen (min - max) entnommen aus anderen Studien an europäischen Kläranlagen bzw. Flüssen.

ABs-Klasse	Antibiotika	Konzentrationsbereich (min - max) der Wasserphase in ng L ⁻¹				
		flussaufwärts U1 – U3	Kläranlagenablauf		flussabwärts	
			E1 – E3	Literatur	D1 – D11	Literatur
Fluor- chinolone	Ciprofloxacin	n.d.	45,6 – 154,4	19,0 – 920,0 ^[a,c,d]	17,7 – 134,9	17,9 – 52,5 ^[a]
	Ofloxacin	n.d.	8,8 – 20,4	20,0 – 305,1 ^[d]	0,5 – 13,8	-
Makrolide	Clarithromycin	0,5 – 1,5	4,7 – 20,1	11,9 – 313,2 ^[c,d]	0,8 – 5,8	-
	Erythromycin	2,7 – 6,5	8,6 – 53,1	99,5 – 168,3 ^[a]	3,4 – 18,3	16,5 – 38,7 ^[a]
	Erythromycin- H ₂ O	0,1 – 0,8	13,5 – 47,3	2500,0 – 6000,0 ^[b]	7,8 – 44,0	150,0 – 1700,0 ^[b]
	Roxithromycin	n.d.	1,9 – 9,1	<LOQ – 1000,0 ^[a,b,c]	0,9 – 5,6	n.d. – 560,0 ^[a,b]
Sulfon- amide	Sulfamethoxazole	1,9 – 7,1	120,3 – 396,3	7,1 – 8263,0 ^[b,c,d]	14,7 – 103,9	30,0 – 480,0 ^[b]
	Sulfapyridine	n.d.	18,5 – 106,9	4,7 – 184,0 ^[d]	2,5 – 17,8	-
Andere	Clindamycin	n.d.	53,7 – 154,8	6,5 – 882,0 ^[c,d]	7,3 – 53,2	-
	Trimethoprim	2,7 – 7,0	1,6 – 20,2	15,2 – 660,0 ^[b,c,d]	3,0 – 14,3	90,0 – 200,0 ^[b]

[a](Brown u. a. 2019), [b] (Hirsch u. a. 1999), [c] (Rossmann u. a. 2014)

[d](Rodriguez-Mozaz u. a. 2020)

tion an Human-ABs im Kläranlagenablauf. Der höhere ABs-Verbrauch in Irland, Portugal und Spanien (20 – 25 DDD 1000 EW⁻¹ d⁻¹) spiegelt sich in höheren ABs-Konzentrationen in den Kläranlagenabläufen wieder (1400 – 1900 ng L⁻¹). Für Deutschland, Finnland und Norwegen

war der Verbrauch hingegen geringer ($14 - 16 \text{ DDD } 1000 \text{ EW}^{-1} \text{ d}^{-1}$) und die Konzentrationen in den Kläranlagenabläufen niedriger ($790 - 1350 \text{ ng L}^{-1}$) (Rodriguez-Mozaz u. a. 2020). Die quantifizierten ABs in den Kläranlagenabläufen werden in Deutschland in der Humanmedizin verschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein möglicher Zusammenhang zu den Abgabemengen an ABs im Jahr 2020 geprüft. Für ABs mit einer geringeren Abgabemenge im Jahr 2020 wurden ebenfalls geringere Konzentrationen im Kläranlagenablauf erfasst (siehe Details unter C.2.1 im Anhang).

Die Konzentration an ABs in der Alb (nach Einleitung des Kläranlagenablaufs) betrug $0,8$ bis $134,9 \text{ ng L}^{-1}$ (siehe Tabelle 3.7). Für die Makrolide, Sulfamethoxazol und Trimethoprim waren die Konzentrationen in anderen Flüssen höher als in der Alb (Literatur: $< 20,0 - 1700,0 \text{ ng L}^{-1}$ im Vergleich zu $< 10 - 103,9 \text{ ng L}^{-1}$). Hirsch u. a. führten an, dass höhere Konzentrationen für Bäche auftraten, bei denen der eingeleitete Kläranlagenablauf einen Anteil von 80% ausmachte. Somit fiel der Verdünnungseffekt geringer aus (Hirsch u. a. 1999). In der Studie von Brown u. a. wurde der gleiche Flussabschnitt beprobt. Die Konzentration an Ciprofloxacin, Erythromycin und Roxithromycin lagen in einer vergleichbaren Größenordnung wie in dieser Studie ($10,3 - 52,5 \text{ ng L}^{-1}$ im Vergleich zu $< 10 - 134,9 \text{ ng L}^{-1}$, siehe Tabelle 3.7) (Brown u. a. 2019).

Von den neun quantifizierten ABs befanden sich sieben (Ciprofloxacin, Clarithromycin und Erythromycin bis 2022, Ofloxacin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim und Clindamycin seit 2022) auf der Beobachtungsliste der europäischen Union (European Commission 2018, 2022). Auf der Beobachtungsliste werden Chemikalien gelistet, die bei EU-weiten Monitorprogrammen überwacht werden sollten, um weitere Daten für eine mögliche Priorisierung zu liefern. Sulfapyridin und Roxithromycin wurden in dieser Studie quantifiziert. Sie waren bis jetzt nicht Teil der Beobachtungsliste. Die neun quantifizierten ABs stehen ebenfalls auf der Liste der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für essentielle Medikamente (World Health Organization 2021) (Details siehe Tabelle B.1 im Anhang).

ABs aus der Klasse der Tetracycline wurden in der Literatur nicht (Brown u. a. 2019; Hirsch u. a. 1999) oder mit geringen Konzentrationen ($15,4 - 231,2 \text{ ng L}^{-1}$ (Rodriguez-Mozaz u. a. 2020)) im Vergleich zu den anderen ABs-Klassen im Kläranlagenablauf quantifiziert. Ein möglicher Grund dafür ist das Verhalten dieser ABs-Klassen in der Wasserphase. Wie in Kapitel 3.3 erläutert wurde, waren die Tetracycline die einzige ABs-Klasse, die in der Wasserphase hydrolysieren ($12,6 - 41,8 \%$) und durch Licht im sichtbaren Bereich abgebaut wurden (Anteil $35,0$

– 43,0 %). Außerdem adsorbierten sie an Klärschlamm und werden so hauptsächlich aus dem Abwasser entfernt (Michael u. a. 2013). Das Mesokosmos-Experiment in Kapitel 3.3 verdeutlichte ebenfalls, dass die Tetracycline die kürzesten Halbwertszeiten in der Wasserphase von allen ABs aufwiesen (2 – 12 d). Somit wurde von einer schnellen Entfernung bzw. Abbau der Tetracycline aus der Wasserphase im Klärwerk bzw. im Abwasserkanal ausgegangen.

Abbildung 3.16 und 3.17 stellen graphisch die Konzentrationen für den Kläranlagenablauf (E1 – E3) und das Oberflächenwasser der Alb nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 – D11) dar. Die Konzentrationen für Clarithromycin, Ofloxacin, Roxithromycin und Trimethoprim lagen sowohl für den Kläranlagenablauf als auch in der Alb im unteren ng L^{-1} -Bereich (0,5 bis $20,4 \text{ ng L}^{-1}$, siehe Abbildung 3.17). Für den Kläranlagenablauf wurden höhere Mittelwerte und Mediane ermittelt als für die Proben flussabwärts. Durch die Vermischung des Kläranlagenablaufs mit dem Flusswasser ergaben sich geringere Konzentrationen in der Alb. Die Differenz der Mediane lag bei $2,7$ bis $156,8 \text{ ng L}^{-1}$.

Die großen Spannweiten der Konzentrationen für das Oberflächenwasser flussabwärts, z. B. $14,7$ bis $103,9 \text{ ng L}^{-1}$ für Sulfamethoxazol, ließen sich auf Schwankungen entlang des Flussverlaufs zurückführen. Zwischen der Einleitung des Kläranlagenablaufs und der Entfernung der Probenahmestelle vom Einleitungsort konnte kein eindeutiger Zusammenhang ermittelt werden (siehe Abbildung A.37 bis A.46 im Anhang).

ABs können einen direkten und indirekten Effekt auf die Mikroorganismen des untersuchten Systems haben. Ein Vergleich der Konzentrationen an ABs in der Alb nach Einleitung des Kläranlagenablaufs mit den „Predicted Non-Effect Concentration (PNEC)“ zur Selektion von AR (PNEC-R) und den vorgeschlagenen Umweltqualitätsstandards (UQS) bzw. PNEC, die aus aquatischen Wirkungsdaten berechnet wurden (Details siehe (Kovalakova u. a. 2020)), befindet sich im Anhang unter C.2.1.

3.4.3 Antibiotika in der Sedimentphase der Alb

In den Sedimentproben wurden sechs der neun ABs quantifiziert, die ebenfalls in der Wasserphase der Alb bestimmt worden sind (siehe Tabelle 3.8). Die Makrolide Clarithromycin und Roxithromycin sowie Sulfamethoxazole wurden nicht in der Sedimentphase vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs quantifiziert. Für die Makrolide konnte im Rahmen der Mesokosmos-Studie (siehe Kapitel 3.3.4) keine Beteiligung der vier untersuchten Prozesse ermittelt werden. Sie persistieren in der Wasserphase und zeigten auf Grund ihrer K_d -Werte

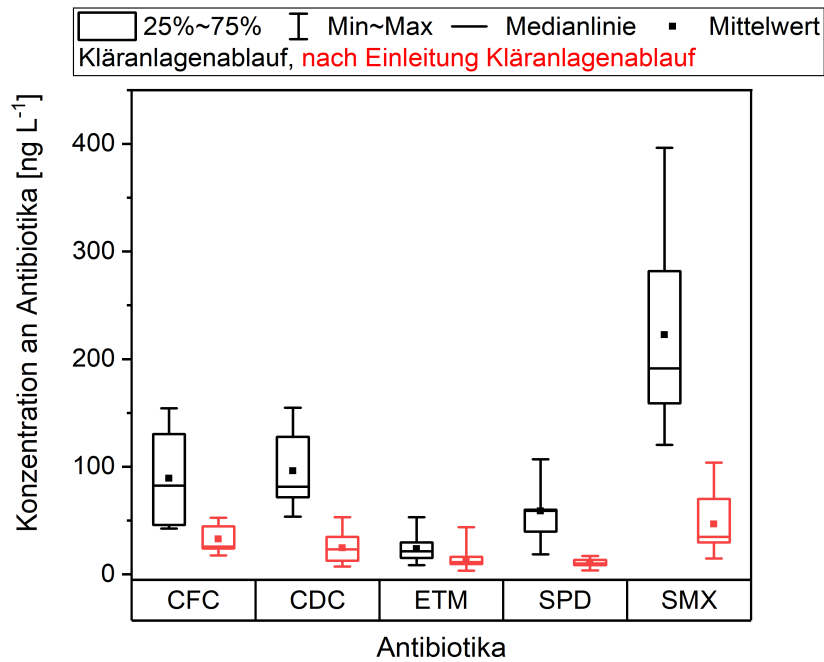


Abbildung 3.16: Konzentration an ABs im Kläranlagenablauf (E1 - E3, schwarz) und nach dessen Einleitung in die Alb (D1 - D11, rot). Folgende ABs sind dargestellt: Ciprofloxacin (CFC), Clindamycin (CDC), Sulfapyridin (SPD) und Sulfamethoxazol (SMX). Erythromycin und Dehydrato-Erythromycin werden zusammen als ETM dargestellt.

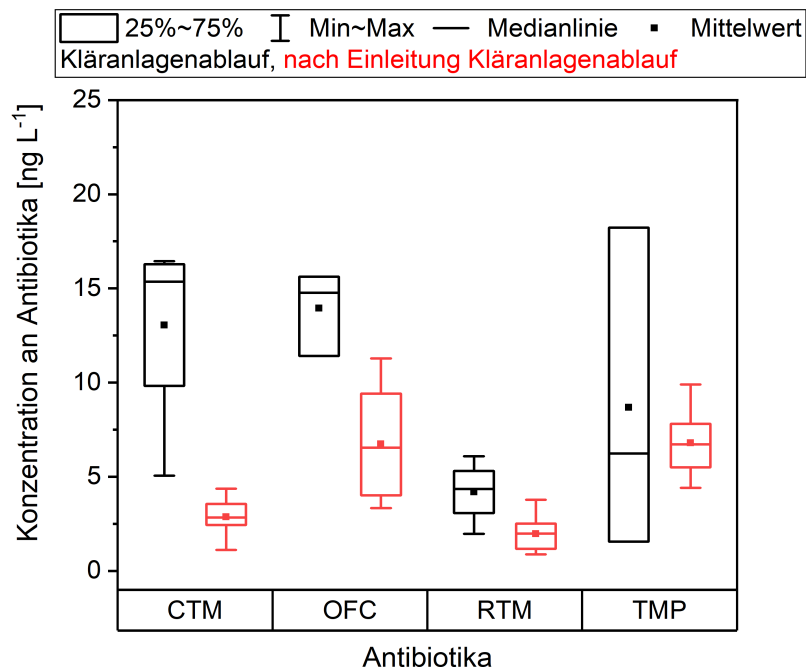


Abbildung 3.17: Konzentration an ABs im Kläranlagenablauf (E1-E3, schwarz) und nach dessen Einleitung in die Alb (D1 - D11, rot) für die Antibiotika Clarithromycin (CTM), Ofloxacin (OFC), Roxithromycin (RTM) und Trimethoprim (TMP).

(211 – 1557 L kg⁻¹, siehe Tabelle 1.1) eine geringere Adsorptionsaffinität als die anderen ABs-Klassen. Hinzu kam, dass die Konzentrationen im Kläranlagenablauf bzw. Oberflächenwasser unterhalb von 20 ng L⁻¹ für Clarithromycin und Roxithromycin lag. Damit war die verfügbare Masse an Makroliden zur Adsorption am Flusssediment zu gering, um in der analytischen Methode quantifiziert zu werden. Für Sulfamethoxazol wurde im Mesokosmos-Experiment der Anteil der Adsorption auf 35,3 % und der Anteil des biologischen Abbaus auf 64,7 % bestimmt. Wie bereits in Kapitel 3.3.5 diskutiert, wiesen andere Studien daraufhin, dass der Abbau von Sulfamethoxazol in der Sedimentphase schneller als für andere Sulfonamide war (Koba u. a. 2017; Pesce u. a. 2021; Zhang u. a. 2013). Deswegen wurde Sulfamethoxazol vermutlich nicht in der Sedimentphase quantifiziert.

Tabelle 3.8: Massenanteil (min – max) der ABs im Flusssediment der Alb vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs. Die letzte Spalte fasst Massenanteile von ABs in Flusssedimenten aus anderen Studien zusammen und dient zum Vergleich und zur Einordnung der quantifizierten Massenanteile aus der Alb.

ABs-Klassen	Antibiotika	Massenanteile (min – max) in µg kg ⁻¹		
		flussaufwärts (U1 – U3)	flussabwärts (D1 – D11)	flussabwärts Literatur
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	n.d.	0,75 – 4,46	< 1,00 – 35,00 ^[a,c]
	Ofloxacin	<MLOQ – 0,42	0,07 – 1,25	<1,00 – 60,00 ^[a-c]
Makrolide	Clarithromycin	n.d.	n.d./MLOD	-
	Erythromycin	n.d.	n.d. – <MLOD	0,90 ^[c]
	Erythromycin-H ₂ O	<MLOD	0,79 – 12,82	-
	Roxithromycin	n.d.	n.d.	-
Sulfonamide	Sulfamethoxazol	n.d.	n.d. – <MLOQ	n.d. – <10,00 ^[b,c]
	Sulfapyridin	0,07 – 2,45	1,09 – 11,52	0,75 – 8,00 ^[c]
Andere	Clindamycin	0,08 – 1,46	0,54 – 21,92	-
	Trimethoprim	0,03 – 1,00	0,26 – 1,48	0,30 – 11,00 ^[a,c]

[a] (Gibs u. a. 2013), [b] (Thiebault u. a. 2021), [c] (Kerrigan u. a. 2018a)

Die Massenanteile der quantifizierten ABs in den Probenahmestellen D1 bis D5, D8 und D11 betrug zwischen 0,07 bis 21,92 µg kg⁻¹ bezogen auf die Trockenmasse des Sediments (siehe

Tabelle 3.8). Im Abwasserkanal mit den Probenahmestellen E2 und E3 konnten keine Sedimentproben genommen werden, da sich auf dem Grund des Kanals kein Sediment befand. Abbildung 3.18 stellt den Massenanteil an ABs im Sediment (Trockenmasse) graphisch dar. Dabei wurden die Probenahmestellen unterteilt in ihre Nähe zur Einleitung des Kläranlagenablaufs. Für die D1 bis D3, die am nächsten an der Einleitungsstelle lagen, wurden höhere Mediane ($0,42 - 5,62 \mu\text{g kg}^{-1}$) ermittelt als für die Probenahmestellen D4 bis D11 ($0,18 - 3,68 \mu\text{g kg}^{-1}$). Für Ciprofloxacin, Ofloxacin, Erythromycin-H₂O und Trimethoprim war der Median und die Spannweite für D1 bis D3 ($0,43 - 5,61 \mu\text{g kg}^{-1}$, $0,30 - 12,82 \mu\text{g kg}^{-1}$) höher als für D4 bis D11 ($0,18 - 1,04 \mu\text{g kg}^{-1}$, $0,07 - 1,94 \mu\text{g kg}^{-1}$). Der Anteil der Adsorption am Verbleib der ABs in der aquatischen Umwelt betrug 42,5 bis 79,9 % (siehe Kapitel 3.3). Insbesondere die Fluorchinolone wiesen eine hohe Adsorptionsaffinität (K_d -Werte $30 - 18620 \text{ L kg}^{-1}$ (Van Doorslaer u. a. 2014)) und kurze Halbwertszeit in der Wasserphase der Mesokosmos-Studie (6 – 7 d, Kapitel 3.3) auf. Folglich adsorbierten sie schneller am Flusssediment als Clindamycin und Sulfapyridin.

Für Clindamycin und Sulfapyridin war die Spannweite für D4 bis D11 weiter ($1,73 - 16,30 \mu\text{g kg}^{-1}$) als für D1 bis D3 ($2,61 - 8,23 \mu\text{g kg}^{-1}$, siehe Abbildung 3.18). In Kapitel 3.3 wurden für beide ABs der Anteil der Adsorption am Verbleib in der aquatischen Umwelt zu 23,3 und 25,2 % bestimmt. Damit war ihre Adsorptionsaffinität geringer als für die zuvor genannten ABs. Clindamycin und Sulfapyridin verblieben länger in der Wasserphase und wurden so weiter flussabwärts transportiert.

Die Massenanteile der ABs im unteren $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich wurden durch andere Studien aus Europa und den USA bestätigt (siehe dazu Vergleich in Tabelle 3.8) (Bailey u. a. 2015; Gibs u. a. 2013; Kerrigan u. a. 2018a,b; Kim u. a. 2007b; Massey u. a. 2010; Thiebault u. a. 2021). Die Ergebnisse der Sedimentphase belegen, dass ABs sich dort anreichern. Folglich diene das Sediment für die quantifizierten ABs als Senke nach Einleitung in die aquatische Umwelt (Harrower u. a. 2021).

In Kapitel 3.2 wurde der Zusammenhang zwischen dem $\log(K_{OW})$ -Wert des ABs und der Extraktionseffizienz gezeigt. Die dort eingeführte Einteilung der ABs nach $\log(K_{OW})$ -Gruppen wurde auf die Ergebnisse der Sedimentphase der Alb übertragen. Jedoch konnte kein Zusammenhang festgestellt werden (siehe Abbildungen A.47 im Anhang).

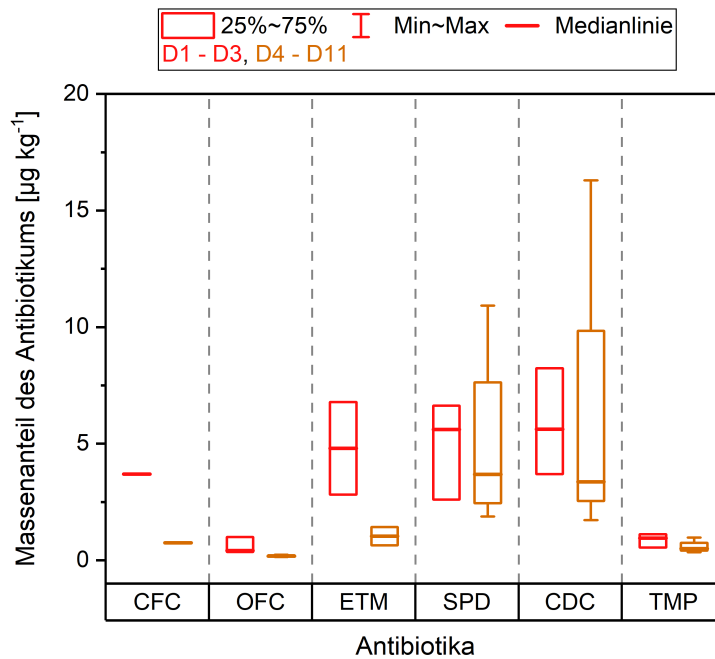


Abbildung 3.18: Massenanteil (Mittelwerte aus der Doppel- bis Dreifachbestimmung) an ABs in der Sedimentphase (Trockenmasse) der Alb nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 – D3, rot) und im Flussverlauf (D4 – D11, braun).

Einfluss der Korngrößenverteilung des Sediments

In der Literatur wurde das Adsorptionsverhalten der ABs in verschiedenen Studien (Figueroa-Diva u. a. 2010; Nowara u. a. 1997; Thiele-Bruhn u. a. 2004; Vasudevan u. a. 2009; Zhou u. a. 2011) mit der Beschaffenheit des Sediments oder Bodens in Zusammenhang gestellt. Mit der physikalischen Charakterisierung der Sedimentproben wurde die Korngrößenverteilung bestimmt (siehe Kapitel 2.7.3). Damit ließ sich der Anteil der Fraktionen Sand (63 – 2000 μm), Schluff (2 – 63 μm) und Ton (< 2 μm) in den Sedimentproben ermitteln. Mit Hilfe des Körnungsdreieckes nach DIN-ISO 11277 (Dreieckskoordinatensystem, in dem die %-Anteile für Sand, Schluff und Ton aufgetragen sind) konnten die Sedimentproben den Bodenarten des Feinbodens zugeordnet werden. Insgesamt werden 21 Bodenarten vom Reinsand bis tonigen Ton unterschieden. Die Sedimentproben aus der Alb wurden dem sandigen bzw. schluffigen Lehm zugeordnet (siehe Tabelle B.31, Anhang). Lehm bezeichnet dabei eine Mischung aus Sand, Schluff und Ton. Die Sedimentproben D1 bis D4 gehören dem sandigen Lehm an, da der Anteil der Korngröße 63 bis 2000 μm am höchsten war. Die Sedimentproben D5 und D6 bzw. D9 bis D11 wiesen einen höheren Anteil für die 2 bis 63 μm Fraktion auf und wurden dem schluffigen Lehm zu geordnet.

Für die sandigen Sedimentproben (D1 bis D4) wurde eine größere Spannweite für den Massenanteil ermittelt ($0,14 - 8,23 \mu\text{g kg}^{-1}$) als für die schluffigen Sedimente (D5D6 und D9 bis D11) ($0,20 - 4,34 \mu\text{g kg}^{-1}$) (siehe Abbildung 3.19). In der Literatur wurde betont, dass feine Partikel eine höhere Adsorptionsaffinität als grobe Partikel hatten (Massey u. a. 2010; Thiele-Bruhn u. a. 2004). Thiele-Bruhn u. a. untersuchten das Adsorptionsverhalten von Sulfonamiden an unterschiedlichen Böden und ermittelten, dass die Adsorptionsaffinität von groben Schluff bis feinem Schluff zunimmt (grober Schluff < gesamte Bodenprobe, medium Schluff < Sand < Ton < feiner Schluff).

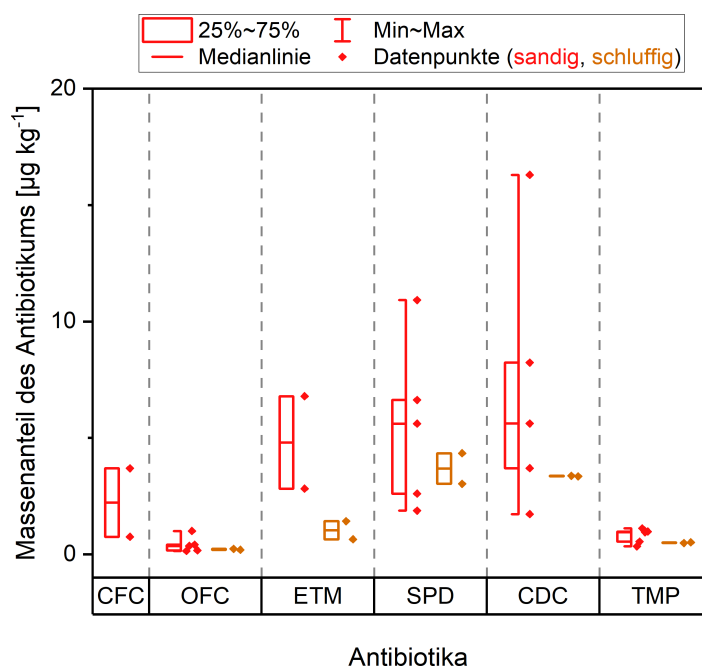


Abbildung 3.19: Massenanteil (Mittelwerte aus der Doppel- bis Dreifachbestimmung) für die ABs im Flusssediment (bezogen auf die Trockenmasse). Einteilung nach der Bodenart: sandiger Lehm (rot) und schluffiger Lehm (braun).

Clindamycin wurde zwar mit den höchsten Massenanteilen in der Sedimentphase quantifiziert. Zur Klasse der Lincosamide wurden jedoch nach bestem Wissen der Autorin keine Studien zum Adsorptionsverhalten publiziert. Die erhobenen Daten wiesen darauf hin, dass Clindamycin homogener an schluffigem Lehm ($3,35 - 3,37 \mu\text{g kg}^{-1}$) adsorbiert als an sandigem Lehm ($1,73 - 16,30 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Insgesamt war aufgrund der geringen Massenanteile der ABs in der Sedimentphase und des kleinen beprobten Abschnitts (1,2 km), eine qualitative Aussage über den Einfluss der Sedi- menteigenschaften schwierig.

3.4.4 Vergleich der Ergebnisse der Feldstudie und der Mesokosmos-Studie

In Abbildung 3.20 werden die bestimmten Massenanteile der ABs in der Sedimentphase der Alb (Feldstudie) und der Mesokosmos-Studie gegenüber gestellt. Für die Feldstudie sind die Massenanteile der Probenahmepunkte direkt nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1-D3; siehe Abbildung 2.4) dargestellt. Die Daten für das Mesokosmos-Experiment stammen aus Reaktor 1 (R1), in dem alle vier Prozesse: Adsorption ans Sediment, biologischer Abbau in der wässrigen Phase, Hydrolyse und Photoabbau stattfanden. R1 repräsentierte damit am besten die Gegebenheiten in der Alb. Die detaillierten Messwerte sind in Tabelle B.33 (Anhang) zusammengestellt. Die Sedimentproben wurden dem Feinboden sandiger (Feldstudie) oder toniger (Mesokosmos-Studie) Lehm zugeordnet (siehe Tabelle B.31).

Für Ciprofloxacin, Sulfapyridin und Clindamycin betrug die Differenz zwischen beiden Massenanteilen weniger als $6 \mu\text{g kg}^{-1}$. Die Größenordnungen der Massenanteile in beiden Experimenten war damit vergleichbar. Für Ofloxacin und Trimethoprim fiel die Differenz größer aus (mindestens $10 \mu\text{g kg}^{-1}$). Ein möglicher Grund für die geringen Massenanteile ($0,07 - 1,48 \mu\text{g kg}^{-1}$) beider ABs in der Feldstudie könnten die Abgabemengen der ABs im ambulanten Bereich sein. Der Verbrauch von Ofloxacin ist im Vergleich zu Ciprofloxacin geringer (3666 DDD gegenüber 7892 DDD im Jahr 2020 (Wissenschaftliches Institut der AOK 2023)). Folglich wurden geringere Mengen an AB in die Umwelt eingetragen, wie die Konzentrationsunterschiede der Fluorchinolone im Kläranlagenablauf verdeutlichen (siehe Tabelle 3.7).

Für Trimethoprim wurde bereits erläutert, dass es zusammen mit Sulfamethoxazol verabreicht wird (siehe Kapitel 1.1.3). Wobei das Verhältnis der beiden ABs 1 zu 5 ist. Für Trimethoprim wurden im Kläranlagenablauf und in der Alb Konzentrationen von maximal 20 ng L^{-1} bestimmt (Details siehe Tabelle 3.7). Hingegen war die Konzentration von Sulfamethoxazol um das 6- bis 20-fache höher (siehe Tabelle 3.7). Der Eintrag von Trimethoprim in die Alb fiel damit geringer aus als für Sulfamethoxazol. In der Mesokosmos-Studie wurden für Sulfapyridin, Trimethoprim und Clindamycin eine Startkonzentration von $5 \mu\text{g L}^{-1}$ verwendet und für Ciprofloxacin und Ofloxacin $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Somit bestand ein 50- bis 1000-facher höherer Eintrag an ABs in den Mesokosmos als in die Alb.

3.4.5 Schlussfolgerung Feldstudie

Ein besonderes Merkmal dieser Feldstudie war die zeitgleiche Analyse von 19 ABs aus fünf ABs-Klassen in der Wasser- und Sedimentphase. Dadurch konnte zum einen der Eintrag von ABs

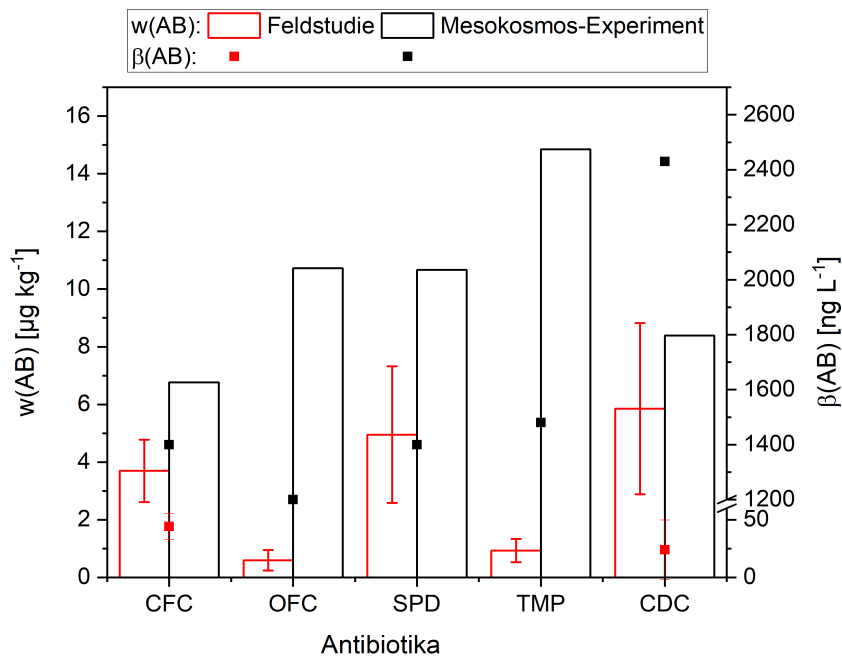


Abbildung 3.20: Gegenüberstellung des Massenanteils ($\mu\text{g kg}^{-1}$, linke y-Achse) an AB in der Sedimentphase der Alb ermittelt im Rahmen der Feldstudie (rot) und im Mesokosmos-Experiment für Reaktor 1 (schwarz) als Balken. Die roten (Feldstudie) und schwarzen (Mesokosmos-Experiment) Quadrate geben die Massenkonzentrationen (ng L^{-1} , rechte y-Achse) an AB in der wässrigen Phase der jeweiligen Studie an. In Reaktor 1 liefen alle vier untersuchten Prozesse ab (Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau). Dargestellt sind Ciprofloxacin (CFC), Ofloxacin (OFC), Sulfapyridin (SPD), Trimethoprim (TMP) und Clindamycin (CDC). Für die Feldstudie ist der Mittelwert aus den Einzelmesswerten der Probenahmepunkte direkt nach der Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D3, siehe Abbildung 2.4) präsentiert. Der Fehlerbalken entspricht der Standardabweichung des Mittelwerts. Für Ofloxacin, Sulfapyridin und Trimethoprim waren $\beta(\text{AB}) < 10 \text{ ng L}^{-1}$ (siehe Tabelle 3.7) und sind nicht präsentiert.

aus der Humanmedizin durch die Einleitung des Kläranlagenablaufs in den Fluss Alb gezeigt werden. Zum anderen konnte durch die zusätzliche Bestimmung der ABs in der Sedimentphase der Verbleib der ABs zwischen beiden Phasen untersucht werden.

Aufgrund der hohen Adsorptionsaffinität der Fluorchinolone (siehe K_d -Werte) waren die Massenanteile in der Sedimentphase in unmittelbarer Nähe zur Einleitung des Kläranlagenablaufs höher als im weiteren Verlauf des Flusses ($0,30 - 4,46 \mu\text{g kg}^{-1}$ im Vergleich zu $0,07 - 0,30 \mu\text{g kg}^{-1}$). Damit konnte Hypothese 1a bestätigt werden. Die Tetracycline wurden aufgrund ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften (Hydrolyse und Lichtempfindlichkeit) weder

im Kläranlagenablauf noch im Oberflächenwasser oder Sediment quantifiziert (Bestätigung von Hypothese 1b). Für die Klassen der Makrolide, Sulfonamide und Anderen (Clindamycin und Trimethoprim) wurden sieben ABs (Clindamycin, Erythromycin, Sulfapyridin, Clarithromycin, Roxithromycin, Sulfamethoxazol und Trimethoprim) in der Wasserphase entlang des beprobten Flussabschnitts quantifiziert. Sie persistierten in der Wasserphase und weisen eine geringe Adsorptionsaffinität als die Fluorchinolone und Tetracycline auf. Aus dieser Gruppe wurden nur drei ABs in der Sedimentphase bestimmt (Clindamycin, Erythromycin und Sulfapyridin, Bestätigung von Hypothese 1c).

Wie zuvor zusammengefasst wurde der Verbleib der ABs mit dem zuvorbestimmten Verhalten aus der Mesokosmos-Studie verglichen. Die aufgezeigten Parallelen bestätigten, dass die chemisch-physikalischen Eigenschaften der ABs (K_d -Wert, dem Absorptionsmaxima oder der Halbwertszeit in der Wasserphase) den Verbleib der ABs im Wasser-Sediment-System entscheiden beeinflussen.

Die Konzentrationen von 0,07 bis 21,92 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in der Sedimentphase der Alb deuten auf eine Anreicherung der ABs im Flusssediment hin. Damit fungieren Sedimente als Senke für eingetragene ABs (Annahme von Hypothese 2). Der Vergleich der Ergebnisse der Sedimentphase der Feldstudie und der Meskosmos-Studie wies für Ciprofloxacin, Sulfapyridin und Clindamycin einen ähnlichen Massenanteil auf (3,70 – 5,85 $\mu\text{g kg}^{-1}$ im Vergleich zu 6,77 – 10,67 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Mit der zusätzlichen Untersuchung der Sedimentphase in der Feldstudie konnte der Verbleib der ABs zwischen dem Oberflächenwasser und dem Flusssediment, der in der Mesokosmosstudie ermittelt wurde, bestätigt werden. Ein zylindrischer Mesokosmos repräsentiert die Gegebenheiten in einem Fluss angebracht.

Von den insgesamt 21 untersuchten ARGs konnten nur für vier ARGs ein Eintrag durch den Kläranlagenablauf ermittelt werden (*msrE*, *ermB*, *sul1*, *tetM*). Die anderen ARGs traten bereits vor Einleitung des Kläranlagenablaufs mit vergleichbaren Häufigkeiten auf (siehe Abschnitt C.2.2 im Anhang).

4. Schlussfolgerung und Ausblick

4.1 Gesamtschlussfolgerung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde als Erstes eine analytische Methode zur Quantifizierung von 19 ABs in der Wasser- und Sedimentphase entwickelt. Die entwickelte Methode wurde dann angewendet, um den Anteil von vier Umweltprozessen am Verhalten der ABs zwischen der Wasser- und Sedimentphase unter Laborbedingungen zu untersuchen. Im letzten Teil der Arbeit wurde der Verbleib von anthropogen eingetragenen ABs in den Fluss Alb untersucht. Dabei sollten die im Labor erhobenen experimentellen Ergebnisse mit den Ergebnissen aus dem Fluss Alb verglichen werden.

Die Anforderungen an die analytische Methode war präzise und simultan 19 ABs in der Wasser- und Sedimentphase zu quantifizieren. Aufgrund der sehr unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften der 19 ABs erwies sich die Methodentwicklung als analytische Herausforderung. Jede ABs-Klasse würde theoretisch ein anderes Protokolle für die Proben-vorbereitung benötigen. Durch die zeitliche und finanzielle Limitierung musste ein Kompromiss bei der Wahl des Protokolls eingegangen werden. Für die Bestimmung der ABs aus der Wasser-phase wurde ein SPE-Protokoll entwickelt (Kapitel 3.1). Die Wahl des SPE-Protokolls wurde durch die Neueinteilung der ABs nach ihren pK_S -Werten in zwei Gruppen vereinfacht. Für ABs mit einem pK_S -Wert zwischen -1,74 und 4,5 erwies sich die Kombination von einem hydrophilen und lipophilen Adsorbens mit einem Kationenaustauscher-Adsorbens als beste Wahl (61,1 – 151,5 %). Auch für die zweite Gruppe, mit pK_S -Werten zwischen 4,5 und 9,5, ergab diese Kombination zufriedenstellende Ergebnisse (12,9 – 201,6 %). Durch die Verwendung von zwei

Adsorbenzien konnten die unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften der ABs besser abgedeckt werden als bei der Verwendung eines Adsorbens.

Für die Sedimentproben war eine mehrschrittige Probenvorbereitung bestehend aus Extraktion (PLE) und Aufreinigung (SPE) notwendig (Kapitel 3.2). Für die Wahl des PLE-Protokolls erwies sich die Einteilung der ABs nach ihren $\log(K_{OW})$ -Werten als geeignet. Für ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten < 0 stellte sich die Extraktion unabhängig vom getesteten PLE-Protokoll als schwierig heraus. Diese ABs gehen stärkere Wechselwirkungen mit der Probenmatrix ein als die ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten > 0 . Für ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten > 0 wurden höhere WFRn erzielt. Die Protokolle mit sauren, wässrigen Lösungsmitteln und aprotischen, polaren organischen Lösungsmitteln (z. B. Aceton oder Acetonitril) erzielten höhere WFRn (10,5 – 157,5 %) als Protokolle mit neutralen, wässrigen Lösungsmitteln (22,4 – 84,7 %) für die ABs mit $\log(K_{OW})$ -Werten > 0 . Damit wurde im ersten Abschnitt der Arbeit der Einfluss der chemisch-physikalischen Eigenschaften der ABs auf ihr Verhalten während der Probenvorbereitung dargelegt. Dabei war die Neueinteilung der ABs nach ihren pK_S -Wert und $\log(K_{OW})$ -Werten ein einfaches und schnelles umsetzbares Verfahren für die Wahl des Probenvorbereitungsprotokolls.

Die entwickelte analytische Methode wurde im Anschluss eingesetzt, um den Verbleib der ABs zwischen der Wasser- und Sedimentphase im Rahmen einer Mesokosmos-Studie zu untersuchen (Kapitel 3.3). Dabei wurden im Labor vier Umweltprozesse in einem Mesokosmos simuliert und dadurch synergetische Effekte mitberücksichtigt. Die untersuchten Prozesse umfassten die Adsorption der ABs am Flusssediment, den biologischen Abbau in der Wasserphase, die Hydrolyse und den photolytischen Abbau. Wie zuvor für die Methodenentwicklung konnte bei der Mesokosmos-Studie das Verhalten der ABs mit ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften (z. B. K_d -Wert, $\log(K_{OW})$ -Wert und Absorptionsmaximum) erklärt werden. Für ABs mit hohen K_d -Werten (Fluorchinolone und Tetracycline) war die Adsorption der Prozess mit dem höchsten Anteil (44,4 – 79,9 %). Sie persistierten nicht in der Wasserphase. Für ABs mit geringen K_d -Werten (Makrolide, Sulfonamide und Andere) war der biologische Abbau in der Wasserphase der Prozess mit den höchsten Anteilen (46,0 – 65,1 %). Diese ABs persistierten in der Wasserphase und wiesen Halbwertszeiten von mehr als 17 d auf. Die Tetracycline waren die einzigen ABs, für die ein Beitrag der Hydrolyse von 12,6 bis 41,8 % ermittelt wurde. Sie besitzen im Gegensatz zu den anderen ABs funktionelle Gruppen, z. B. Hydroxyl-Gruppen, die hydrolysieren können. Die drei verwendeten Parameter, K_d -Wert, $\log(K_{OW})$ -Wert und Absorptionsmaximum, ermöglichen eine erste, einfache und schnelle Abschätzung des Verhaltens der

ABs zwischen der Wasser- und Sedimentphase, falls keine experimentellen Daten zu Verfügung stehen.

Bei der Feldstudie wurde die entwickelte analytische Methode zur Quantifizierung der ABs im Kläranlagenablauf, Oberflächenwasser und Sediment des Flusses Alb angewendet (Kapitel 3.4). Die Bestimmung der ABs sowohl in der Wasser- und Sedimentphase des Flusses ermöglichte den Verbleib der ABs zwischen der Wasser- und Sedimentphase zu erfassen. ABs mit hohen K_d -Werten reichert sich in unmittelbarer Nähe zur Einleitung des Kläranlagenablaufs in der Sedimentphase an (Fluorchinolone). Für diese ABs wurde in der Mesokosmos-Studie die Adsorption mit dem höchsten Anteil (70,6 – 79,9 %) bestimmt. ABs mit geringeren K_d -Werten wurden entweder nicht in der Sedimentphase quantifiziert (Sulfamethoxazol und Makrolide) oder traten entlang des gesamten beprobten Abschnitts auf (Sulfonamide und Andere). Diese ABs persistierten in der Wasserphase der Mesokosmos-Studie ($t_{1/2} = 19 - 47$ d). Die Tetracycline wurden weder in der Wasser- noch Sedimentphase quantifiziert. Aufgrund ihrer geringen Stabilität, die in der Mesokosmos-Studie bestimmt wurde ($t_{1/2} = 2 - 12$ d), hydrolysierten sie wahrscheinlich in der Wasserphase oder wurden durch Sonnenlicht zersetzt.

Die Feldstudie zeigte darüber hinaus, dass die entwickelte analytische Methode geeignet ist, geringe Umweltkonzentrationen im unteren ng L^{-1} - bzw. $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich zu bestimmen. Der Konzentrationsbereich der ABs im Kläranlagenablauf erreichte den dreistelligen ng L^{-1} -Bereich (1,6 – 396,3 ng L^{-1}). Durch die Verdünnung des Kläranlagenablaufs mit dem Flusswasser sank die Konzentration der ABs dort auf den zweistelligen ng L^{-1} -Bereich ab (0,5 – 134,9 ng L^{-1}). Die Konzentrationen in der Sedimentphase schwankten zwischen den ein- und zweistelligen $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich (0,07 – 21,92 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Für Ciprofloxacin, Sulfapyridin und Clindamycin konnten vergleichbare Massenanteile in der oberen Sedimentschicht der Alb und in der Mesokosmosstudie bestimmt werden (3,70 – 5,85 $\mu\text{g kg}^{-1}$ im Vergleich zu 6,77 – 10,67 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Ein zylindrischer Mesokosmos repräsentiert die Gegebenheiten in einem Fluss angebracht. Darüber hinaus wurde der Verbleib der ABs zwischen der Wasser- und Sedimentphase, der in der Mesokosmos-Studie ermittelt wurde, mit den Ergebnissen der Feldstudie belegt. Die parallele Bestimmung der ABs in der Wasser- und Sedimentphase ist zwar aufwendig, aber liefert ein umfassendes Bild über den Verbleib der ABs.

4.2 Ausblick

Um den Verbleib und die Auswirkung des Eintrags der ABs zu erfassen, ist die Untersuchung der ABs und ARGs in der Wasser- und Sedimentphase notwendig. Für weitere Studien, in denen der Verbleib und die Folgen des Eintrags von ABs aus kommunalen Kläranlagenabläufen untersucht werden soll, wird empfohlen, aus jeder ABs Klasse mindestens ein AB zu analysieren. Z. B. Ciprofloxacin, Erythromycin bzw. Dehydrato Erythromycin, Sulfamethoxazol bzw. Sulfapyridin und Clindamycin.

Das Beispiel AR, aber auch die Covid-19 Pandemie, zeigen die engen Verknüpfungen zwischen der menschlichen Gesundheit mit den Bereichen Haus- und Wildtieren und Umwelt. In diesem Zusammenhang sollte der „One-Health“-Ansatz für AR der EU mit dem Eintrag von ABs in die aquatische Umwelt weiterverfolgt werden (European Commission 2017). Unter dem „One Health“-Konzept wird die Einbeziehung der Humanmedizin, der Veterinärmedizin und den Umweltwissenschaften zur Verbesserung der menschlichen Gesundheit verstanden.

In diesem Kontext sollte bei der Umweltrisikobewertungen von ABs in Zukunft sowohl die Wirkung auf das aquatische Ökosystem als auch die Selektionen von Resistenzen mit einbezogen werden. Für die ökotoxikologische Wirkung auf die Wasserphase liegen bereits Studien und Vorschläge für PNEC- bzw. UQS-Werte vor. Für die Selektion von Resistenzen wurden von Bengtsson-Palme und Larsson PNEC-R vorgeschlagen (Bengtsson-Palme u. a. 2016). Jedoch wies Murray u. a. darauf hin, dass nicht für alle ABs eine fundierte Datengrundlage zu den PNEC- bzw. PNEC-R-Werte vorliegt (Murray u. a. 2021). Jedoch wurde in bisherigen Bewertungen der ABs durch das Bundesumweltamt der Aspekt der Selektion von Resistenzen nicht weiter miteinbezogen.

Durch die umfangreiche Literaturrecherche für diese Arbeit wurden Datenlücken ermittelt, die durch weitere Studien geschlossen werden sollten. Zum einem fehlen Studien zum Effekt und zur Auswirkung von ABs auf benthische Organismen im Flusssediment. In den Bewertungen des Bundesumweltamt wird für die fehlende UQS der Sedimentphase als Begründung angeführt, dass eine Anreicherung im Sediment aufgrund eines $\log(K_{OW})$ -Werts < 3 gering ist. Dieses Kriterium konnte jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Fünf der sechs quantifizierten ABs in der Sedimentphase wiesen einen $\log(K_{OW})$ -Wert < 3 auf (-0,39 – 2,16) und wurden mit Massenanteilen von 0,07 bis 21,92 $\mu\text{g kg}^{-1}$ quantifiziert. Nur Erythromycin hat einen $\log(K_{OW})$ -Wert > 3 und wurde mit 0,79 bis 12,82 $\mu\text{g kg}^{-1}$ bestimmt. Tolls zeigte in seiner Publikation zu den chemisch-physikalischen Eigenschaften von ABs, die in der Veterinärmedizin

eingesetzt werden, dass eine Ableitung von K_d -Werten aus $\log(K_{OW})$ -Werten für ABs nicht geeignet ist (Tolls 2001). Diese Aussage konnte durch die Daten dieser Arbeit belegt werden. Das Bewertungskriterium sollte überdacht werden.

Ob der Massenanteil an ABs im Sediment einen Selektionsdruck zur Ausbildung von AR ausübte, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht beantwortet werden. Dafür wären weitere Untersuchungen der Sedimentphase über einen längeren Zeitraum notwendig, z. B. in Form einer Mesokosmos-Studie. Dabei wäre wichtig, nicht nur quantitativ die ARGs nachzuweisen, sondern ebenfalls ARB bzw. Änderungen auf Ebene des Genotyps der Bakterienpopulation zu erfassen. In diesem Zusammenhang wäre ebenfalls interessant zu untersuchen, welchen Einfluss bzw. Effekt der gleichzeitige Eintrag von ABs und ARGs in die Wasser- und Sedimentphase hat.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf dem Umweltverhalten und dem Verbleib von ABs. Die gleiche Fragestellung könnte für die Metaboliten der ABs formuliert werden.

5. Verzeichnis der Publikationen und Konferenzbeiträge

Begutachtete Publikationen

Chabilan, A., Landwehr, H., Horn, N., Borowska, E. (2022). Impact of $\log(K_{OW})$ value on the extraction of antibiotics from river sediments with pressurized liquid extraction. *Water* 14 (16), 2534. DOI: 10.3390/w14162534

Chabilan, A., Barajas Ledesma, D. G., Horn, H., Borowska, E. (2023). Mesocosm experiment to determine the contribution of adsorption, biodegradation, hydrolysis and photodegradation in the attenuation of antibiotics at the water sediment interface. *Science of the Total Environment* 866, 161385. DOI:10.1016/j.scitotenv.2022.161385

Nicht begutachtete Publikationen

Chabilan, A., Borowska, E. (2021). Untersuchung des Verhaltens von Antibiotika in Flüssen und Flusssedimenten und ihre Auswirkung auf die Ausbreitung der Antibiotikaresistenzen in der natürlichen Umwelt, Fachbericht aus Forschung und Lehre. *Sonderdruck aus gwf Wasser | Abwasser 07 -08.2021*, 162, 48 - 50. ISSN: 0016-3651

Chabilan, A., Borowska, E. (2023). Untersuchung zum Verbleib und Verhalten von Antibiotika in der aquatischen Umwelt mit einer Mesokosmos-Studie, Fachbericht aus Forschung und Lehre. *Sonderdruck gwf Wasser | Abwasser 06/2023*, 164, 49 - 50. ISSN: 0016-3651

Konferenzbeiträge

Chabilan, A., Horn, H., Borowska E. Screening nach antibiotikaresistenten Genen in einem Kläranlagenablauf und Vorflutgewässer, Spurenstoffe und Krankheitserreger im Wasserkreislauf (SUK 2021) der Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e. V. (DECHEMA), 19.-20.04.21, online, Posterbeitrag und kurz Vortrag

Chabilan, A., Horn, H., Borowska, E. Development of a tandem solid phase extraction method for determination of 19 antibiotics in aquatic environment, Wasser 2021, Jahrestagung der deutschen Wasserchemischen Gesellschaft, 10.-12.05.21, online, Posterbeitrag

Chabilan, A., Horn, H., Borowska, E. Method development for determination of 19 antibiotics in sediments impacted by treated waste water, 2nd international conference on contaminated sediments (ContaSed), 09.-11.06.21, online, Posterbeitrag und Kurzvortrag

Chabilan, A., Barajas Ledesma, D. G., Horn, H., Borowska, E., Fate of 19 antibiotics in aquatic environment – mesocosm experiment, 6th international symposium on the environmental dimension of antibiotic resistance (EDAR6), 22.-27.09.22, Göteborg, Schweden, Posterbeitrag

6 Literaturverzeichnis

- Adamek, E., Baran, W., Sobczak, A. (2016). Assessment of the Biodegradability of Selected Sulfa Drugs in Two Polluted Rivers in Poland: Effects of Seasonal Variations, Accidental Contamination, Turbidity and Salinity. *Journal of Hazardous Materials* 313, 147–158. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.03.064.
- Adler, N., Balzer, F., Blondzik, K., Brauer, F., Chorus, I., Ebert, I., Fiedler, T., Grummt, T., Heidemeier, J., Hein, A., Helmecke, M., Hilliges, F., Kirst, I., Klasen, J., Konradi, S., Krause, B., Küster, A., Otto, C., Pirntke, U., Roskosch, A., Schönfeld, J., Selinka, H.-C., Szewzyk, R., Westphal-Settele, K., Straff, W. (2018). Antibiotika und Antibiotikaresistenzen in der Umwelt. Umweltbundesamt. URL: <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/antibiotika-antibiotikaresistenzen-in-der-umwelt> (besucht am 10.05.2021).
- Alexy, R., Kumpel, T., Kümmerer, K. (2004). Assessment of Degradation of 18 Antibiotics in the Closed Bottle Test. *Chemosphere* 57 (6), 505–512. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.06.024.
- Almandoz, M. C., Sancho, M. I., Blanco, S. E. (2014). Spectroscopic and DFT Study of Solvent Effects on the Electronic Absorption Spectra of Sulfamethoxazole in Neat and Binary Solvent Mixtures. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 118, 112–119. DOI: 10.1016/j.saa.2013.08.060.
- Anderson, C. R., Rupp, H. S., Wu, W.-H. (2005). Complexities in Tetracycline Analysis—Chemistry, Matrix Extraction, Cleanup, and Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A* 1075 (1-2), 23–32. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.04.013.
- Aydin, S., Aydin, M. E., Ulvi, A., Kilic, H. (2019). Antibiotics in Hospital Effluents: Occurrence, Contribution to Urban Wastewater, Removal in a Wastewater Treatment Plant, and Environmental Risk Assessment. *Environmental Science and Pollution Research* 26 (1), 544–558. DOI: 10.1007/s11356-018-3563-0.
- Baena-Nogueras, R. M., González-Mazo, E., Lara-Martín, P. A. (2017). Degradation Kinetics of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Surface Waters: Photolysis vs Biodegradation. *Science of The Total Environment* 590–591, 643–654. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.015.

- Bailey, C., Spielmeier, A., Frings, R. M., Hamscher, G., Schüttrumpf, H. (2015). From Agricultural Fields to Surface Water Systems: The Overland Transport of Veterinary Antibiotics. *Journal of Soils and Sediments* 15 (7), 1630–1634. DOI: 10.1007/s11368-015-1140-4.
- Baquero, F., Martínez, J.-L., Cantón, R. (2008). Antibiotics and Antibiotic Resistance in Water Environments. *Current Opinion in Biotechnology* 19 (3), 260–265. DOI: 10.1016/j.copbio.2008.05.006.
- Baran, W., Adamek, E., Ziemiańska, J., Sobczak, A. (2011). Effects of the Presence of Sulfonamides in the Environment and Their Influence on Human Health. *Journal of Hazardous Materials* 196, 1–15. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.08.082.
- Baran, W., Sochacka, J., Wardas, W. (2006). Toxicity and Biodegradability of Sulfonamides and Products of Their Photocatalytic Degradation in Aqueous Solutions. *Chemosphere* 65 (8), 1295–1299. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.04.040.
- Bavumiragira, J. P., Ge, J., Yin, H. (2022). Fate and Transport of Pharmaceuticals in Water Systems: A Processes Review. *Science of The Total Environment* 823, 153635. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153635.
- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., Larsson, D. G. J. (2018). Environmental Factors Influencing the Development and Spread of Antibiotic Resistance. *FEMS Microbiology Reviews* 42 (1). DOI: 10.1093/femsre/fux053.
- Bengtsson-Palme, J., Larsson, D. G. J. (2016). Concentrations of Antibiotics Predicted to Select for Resistant Bacteria: Proposed Limits for Environmental Regulation. *Environment International* 86, 140–149. DOI: 10.1016/j.envint.2015.10.015.
- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., Bürgmann, H., Sørum, H., Norström, M., Pons, M.-N., Kreuzinger, N., Huovinen, P., Stefani, S., Schwartz, T., Kisand, V., Baquero, F., Martinez, J. L. (2015). Tackling Antibiotic Resistance: The Environmental Framework. *Nature Reviews Microbiology* 13 (5), 310–317. DOI: 10.1038/nrmicro3439.
- Blume, H.-P., Stahr, K., Leinweber, P. (2011). *Bodenkundliches Praktikum: eine Einführung in pedologische Arbeiten für Ökologen, insbesondere Land- und Forstwirte, und für Geowissenschaftler*. 3., neubearb. Aufl. Heidelberg: Spektrum, Akad. Verl. ISBN: 978-3-8274-1553-0.
- Borowska, E., Felis, E., Miksch, K. (2015). Degradation of Sulfamethoxazole Using UV and UV/H₂O₂ Processes. *Journal of Advanced Oxidation Technologies* 18 (1), 69–77. DOI: 10.1515/jaots-2015-0109.
- Boulard, L., Dierkes, G., Schlüsener, M. P., Wick, A., Koschorreck, J., Ternes, T. A. (2020). Spatial Distribution and Temporal Trends of Pharmaceuticals Sorbed to Suspended Particulate Matter of German Rivers. *Water Research* 171, 115366. DOI: 10.1016/j.watres.2019.115366.

- Boy-Roura, M., Mas-Pla, J., Petrovic, M., Gros, M., Soler, D., Brusi, D., Menció, A. (2018). Towards the Understanding of Antibiotic Occurrence and Transport in Groundwater: Findings from the Baix Fluvià Alluvial Aquifer (NE Catalonia, Spain). *Science of The Total Environment* 612, 1387–1406. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.012.
- Brown, E. D., Wright, G. D. (2016). Antibacterial Drug Discovery in the Resistance Era. *Nature* 529 (7586), 336–343. DOI: 10.1038/nature17042.
- Brown, P. C., Borowska, E., Peschke, R., Schwartz, T., Horn, H. (2020). Decay of Elevated Antibiotic Resistance Genes in Natural River Sediments after Sedimentation of Wastewater Particles. *Science of The Total Environment* 705, 135861. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.135861.
- Brown, P. C., Borowska, E., Schwartz, T., Horn, H. (2019). Impact of the Particulate Matter from Wastewater Discharge on the Abundance of Antibiotic Resistance Genes and Facultative Pathogenic Bacteria in Downstream River Sediments. *Science of The Total Environment* 649, 1171–1178. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.394.
- Bundesregierung Deutschland (2016). Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer (Oberflächengewässerverordnung - OGeV). URL: www.gesetze-im-internet.de/ogewv_2016/OGewV.pdf (besucht am 03.06.2020).
- Burke, V., Richter, D., Greskowiak, J., Mehtens, A., Schulz, L., Massmann, G. (2016). Occurrence of Antibiotics in Surface and Groundwater of a Drinking Water Catchment Area in Germany. *Water Environment Research* 88 (7), 652–659. DOI: 10.2175/106143016X14609975746604.
- BVL (2022). Deutlich geringere Abgabemengen von Antibiotika in der Tiermedizin. Pressemitteilungen des BVL. URL: https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/05_tierarzneimittel/2022/2022_PM_Abgabemengen_Antibiotika_Tiermedizin.html (besucht am 21.04.2023).
- Cabrol, L., Quéméneur, M., Misson, B. (2017). Inhibitory Effects of Sodium Azide on Microbial Growth in Experimental Resuspension of Marine Sediment. *Journal of Microbiological Methods* 133, 62–65. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.12.021.
- Carlotti, B., Fuoco, D., Elisei, F. (2010). Fast and Ultrafast Spectroscopic Investigation of Tetracycline Derivatives in Organic and Aqueous Media. *Physical Chemistry Chemical Physics* 12 (48), 15580–15591. DOI: 10.1039/C0CP00044B.
- Carmona, E., Andreu, V., Picó, Y. (2017). Multi-Residue Determination of 47 Organic Compounds in Water, Soil, Sediment and Fish—Turia River as Case Study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 146, 117–125. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.08.014.
- Carvalho, I. T., Santos, L. (2016). Antibiotics in the Aquatic Environments: A Review of the European Scenario. *Environment International* 94, 736–757. DOI: 10.1016/j.envint.2016.06.025.

- Chabilan, A., Horn, H., Borowska, E. (2021). "Development of a Tandem Solid Phase Extraction Method for Determination of 19 Antibiotics in Aquatic Environment". In: *Kurzreferate Zur Wasser 2021*. Wasser 2021. online.
- Chabilan, A., Landwehr, N., Horn, H., Borowska, E. (2022). Impact of Log(K_{ow}) Value on the Extraction of Antibiotics from River Sediments with Pressurized Liquid Extraction. *Water* 14 (16), 2534. DOI: 10.3390/w14162534.
- Chabilan, A., Ledesma Barajas, D. G., Horn, H., Borowska, E. (2023). Mesocosm Experiment to Determine the Contribution of Adsorption, Biodegradation, Hydrolysis and Photodegradation in the Attenuation of Antibiotics at the Water Sediment Interface. *Science of The Total Environment* 866, 161385. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.161385.
- ChemicalBook—Chemical Search Engine (2022). URL: https://www.chemicalbook.com/ProductIndex_DE.aspx (besucht am 18.05.2022).
- Chen, C., Zheng, L., Zhou, J., Zhao, H. (2017). Persistence and Risk of Antibiotic Residues and Antibiotic Resistance Genes in Major Mariculture Sites in Southeast China. *Science of The Total Environment* 580, 1175–1184. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.075.
- Chen, J., Xie, S. (2018). Overview of Sulfonamide Biodegradation and the Relevant Pathways and Microorganisms. *Science of The Total Environment* 640–641, 1465–1477. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.016.
- Chen, K., Zhou, J. (2014). Occurrence and Behavior of Antibiotics in Water and Sediments from the Huangpu River, Shanghai, China. *Chemosphere* 95, 604–612. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.119.
- Chiaia-Hernandez, A. C., Keller, A., Wächter, D., Steinlin, C., Camenzuli, L., Hollender, J., Krauss, M. (2017). Long-Term Persistence of Pesticides and TPs in Archived Agricultural Soil Samples and Comparison with Pesticide Application. *Environmental Science & Technology* 51 (18), 10642–10651. DOI: 10.1021/acs.est.7b02529.
- Chiaia-Hernandez, A. C., Krauss, M., Hollender, J. (2013). Screening of Lake Sediments for Emerging Contaminants by Liquid Chromatography Atmospheric Pressure Photoionization and Electrospray Ionization Coupled to High Resolution Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology* 47 (2), 976–986. DOI: 10.1021/es303888v.
- Chunhui, Z., Liangliang, W., Xiangyu, G., Xudan, H. (2016). Antibiotics in WWTP Discharge into the Chaobai River, Beijing. *Archives of Environmental Protection* 42 (4), 48–57. DOI: 10.1515/aep-2016-0036.
- Clatworthy, A. E., Pierson, E., Hung, D. T. (2007). Targeting Virulence: A New Paradigm for Antimicrobial Therapy. *Nature Chemical Biology* 3 (9), 541–548. DOI: 10.1038/nchembio.2007.24.

- Czekalski, N., Gascón Díez, E., Bürgmann, H. (2014). Wastewater as a Point Source of Antibiotic-Resistance Genes in the Sediment of a Freshwater Lake. *The ISME Journal* 8 (7), 1381–1390. DOI: 10.1038/ismej.2014.8.
- Da Silva, J. J., da Silva, B. F., Stradiotto, N. R., Petrovic, M., Gago-Ferrero, P., Gros, M. (2020). Pressurized Liquid Extraction (PLE) and QuEChERS Evaluation for the Analysis of Antibiotics in Agricultural Soils. *MethodsX* 7, 101171. DOI: 10.1016/j.mex.2020.101171.
- Demain, A. L. (2009). Antibiotics: Natural Products Essential to Human Health. *Medicinal Research Reviews* 29 (6), 821–842. DOI: 10.1002/med.20154.
- Deo, R. P. (2014). Pharmaceuticals in the Surface Water of the USA: A Review. *Current Environmental Health Reports* 1 (2), 113–122. DOI: 10.1007/s40572-014-0015-y.
- DIN-Normenausschuss Wasserwesen (2016). *Wasserbeschaffenheit – Probenahme – Teil 6: Anleitung zur Probenahme aus Fließgewässern (ISO 5667-6:2014)*. Beuth Verlag GmbH. URL: <https://www.beuth.de/de/norm/din-en-iso-5667-6/254661510> (besucht am 05. 05. 2020).
- Ding, Y., Cui, K., Lv, K., Li, R., Chen, Y., Liu, X. (2021). Revealing the Hydrological Transport and Attenuation of 14 Antibiotics in a Low-Flow Stream. *Science of The Total Environment* 761, 143288. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143288.
- Ding, Y., Zhang, W., Gu, C., Xagorarakis, I., Li, H. (2011). Determination of Pharmaceuticals in Biosolids Using Accelerated Solvent Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1218 (1), 10–16. DOI: 10.1016/j.chroma.2010.10.112.
- ECDC (2018). Antimicrobial consumption Annual Epidemiological Report for 2017. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, URL: <http://ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-consumption-annual-epidemiological-report-2017> (besucht am 15. 08. 2019).
- ECDC (2019). Antimicrobial consumption in the EU/EEA Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2018> (besucht am 19. 04. 2023).
- ECDC (2020). Antimicrobial consumption in the EU/EEA Annual Epidemiological Report for 2019. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2019> (besucht am 02. 12. 2020).
- ECDC (2021). Antimicrobial Consumption in the EU/EEA (ESAC-Net) Annual Epidemiological Report for 2020. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2020> (besucht am 25. 07. 2022).

- ECDC (2022a). Antimicrobial consumption in the EU/EEA (ESAC-Net) - Annual Epidemiological Report for 2021. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2021> (besucht am 22. 11. 2022).
- ECDC (2022b). Assessing the health burden of infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU/EEA, 2016-2020. Technical report TQ-04-22-166-EN-N. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/health-burden-infections-antibiotic-resistant-bacteria-2016-2020> (besucht am 22. 11. 2022).
- Ekwanzala, M. D., Lehutso, R. F., Kasonga, T. K., Dewar, J. B., Momba, M. N. B. (2020). Environmental Dissemination of Selected Antibiotics from Hospital Wastewater to the Aquatic Environment. *Antibiotics* 9 (7), 431. DOI: 10.3390/antibiotics9070431.
- Etebu, E., Ariekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and Mechanisms of Action with Emphasis on Molecular Perspectives. *International Journal of applied microbiology and biotechnology research* 4 (6), 90–101. DOI: doi.org/10.33500/ijambr.2016.04.011.
- European Commission (2015). Commission Implementing Decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 Establishing a Watch List of Substances for Union-wide Monitoring in the Field of Water Policy Pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council (Notified under Document C(2015) 1756) Text with EEA Relevance. URL: http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2015/495/oj/eng (besucht am 16. 08. 2022).
- European Commission (2017). *A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR)*. URL: https://health.ec.europa.eu/publications/european-one-health-action-plan-against-antimicrobial-resistance-amr_en (besucht am 18. 05. 2023).
- European Commission (2018). Commission Implementing Decision (EU) 2018/840 of 5 June 2018 Establishing a Watch List of Substances for Union-wide Monitoring in the Field of Water Policy Pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council and Repealing Commission Implementing Decision (EU) 2015/495 (Notified under Document C(2018) 3362). URL: http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2018/840/oj/eng (besucht am 16. 08. 2022).
- European Commission (2020). Commission Implementing Decision (EU) 2020/1161 of 4 August 2020 Establishing a Watch List of Substances for Union-wide Monitoring in the Field of Water Policy Pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council (Notified under Document Number C(2020) 5205) (Text with EEA Relevance). URL: http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2020/1161/oj/eng (besucht am 16. 08. 2022).
- European Commission (2022). Commission Implementing Decision (EU) 2022/1307 of 22 July 2022 Establishing a Watch List of Substances for Union-wide Monitoring in the Field of Water Policy Pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council (Notified

- under Document C(2022) 5098) (Text with EEA Relevance). URL: http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2022/1307/oj/eng (besucht am 16. 08. 2022).
- European Medicines Agency (2018). Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use - Scientific Guideline. European Medicines Agency. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/environmental-risk-assessment-medicinal-products-human-use-scientific-guideline> (besucht am 16. 03. 2023).
- European Parliament (2000). Richtlinie 2000/60/EG des EU Parlaments und des Rates, Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:02000L0060-20141120&from=DE> (besucht am 15. 05. 2023).
- European Parliament (2022). Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 Concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), Establishing a European Chemicals Agency, Amending Directive 1999/45/EC and Repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC (Text with EEA Relevance). URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1907/2022-05-01/eng> (besucht am 13. 09. 2022).
- Felis, E., Kalka, J., Sochacki, A., Kowalska, K., Bajkacz, S., Harnisz, M., Korzeniewska, E. (2020). Antimicrobial Pharmaceuticals in the Aquatic Environment - Occurrence and Environmental Implications. *European Journal of Pharmacology* 866, 172813. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172813.
- Fernandes, M. J., Paíga, P., Silva, A., Llaguno, C. P., Carvalho, M., Vázquez, F. M., Delerue-Matos, C. (2020). Antibiotics and Antidepressants Occurrence in Surface Waters and Sediments Collected in the North of Portugal. *Chemosphere* 239, 124729. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.124729.
- Figuroa-Diva, R. A., Vasudevan, D., MacKay, A. A. (2010). Trends in Soil Sorption Coefficients within Common Antimicrobial Families. *Chemosphere* 79 (8), 786–793. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.03.017.
- Gartiser, S., Urich, E., Alexy, R., Kümmerer, K. (2007). Ultimate Biodegradation and Elimination of Antibiotics in Inherent Tests. *Chemosphere* 67 (3), 604–613. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.08.038.
- Gibs, J., Heckathorn, H. A., Meyer, M. T., Klapinski, F. R., Alebus, M., Lippincott, R. L. (2013). Occurrence and Partitioning of Antibiotic Compounds Found in the Water Column and Bottom Sediments from a Stream Receiving Two Wastewater Treatment Plant Effluents in Northern New Jersey, 2008. *Science of The Total Environment* 458–460, 107–116. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.03.076.

- Golet, E. M., Strehler, A., Alder, A. C., Giger, W. (2002). Determination of Fluoroquinolone Antibacterial Agents in Sewage Sludge and Sludge-Treated Soil Using Accelerated Solvent Extraction Followed by Solid-Phase Extraction. *Analytical Chemistry* 74 (21), 5455–5462. DOI: 10.1021/ac025762m.
- Goodarzi, M., Shahbazikhah, P., Reza Sohrabi, M., Fathabadi, M., Hassan Nouri, S. (2009). Direct Orthogonal Signal Correction-Partial Least Squares for Simultaneous Spectrophotometric Determination of Sulfamethoxazole and Trimethoprim in Pharmaceutical Formulation and Synthetic Samples. *Journal of the Chilean Chemical Society* 54 (3), 309–313. DOI: 10.4067/S0717-97072009000300022.
- Grenni, P., Ancona, V., Barra Caracciolo, A. (2018). Ecological Effects of Antibiotics on Natural Ecosystems: A Review. *Microchemical Journal* 136, 25–39. DOI: 10.1016/j.microc.2017.02.006.
- Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., Barceló, D. (2013). Rapid Analysis of Multiclass Antibiotic Residues and Some of Their Metabolites in Hospital, Urban Wastewater and River Water by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Quadrupole-Linear Ion Trap Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A. State-of-the Art of (UHP)LC-MS(-MS) Techniques and Their Practical Application* 1292, 173–188. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.12.072.
- Haenni, M., Dagot, C., Chesneau, O., Bibbal, D., Labanowski, J., Vialette, M., Bouchard, D., Martin-Laurent, F., Calsat, L., Nazaret, S., Petit, F., Pourcher, A.-M., Togola, A., Bachelot, M., Topp, E., Hocquet, D. (2022). Environmental Contamination in a High-Income Country (France) by Antibiotics, Antibiotic-Resistant Bacteria, and Antibiotic Resistance Genes: Status and Possible Causes. *Environment International* 159, 107047. DOI: 10.1016/j.envint.2021.107047.
- Halling-Sørensen, B., Jacobsen, A.-M., Jensen, J., SengeløV, G., Vaclavik, E., Ingerslev, F. (2005). Dissipation and Effects of Chlortetracycline and Tylosin in Two Agricultural Soils: A Field-Scale Study in Southern Denmark. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (4), 802–810. DOI: 10.1897/03-576.1.
- Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., Nau, H. (2002). Determination of Persistent Tetracycline Residues in Soil Fertilized with Liquid Manure by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 74 (7), 1509–1518. DOI: 10.1021/ac015588m.
- Harrower, J., McNaughtan, M., Hunter, C., Hough, R., Zhang, Z., Helwig, K. (2021). Chemical Fate and Partitioning Behavior of Antibiotics in the Aquatic Environment—A Review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 40 (12), 3275–3298. DOI: 10.1002/etc.5191.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., Kratz, K.-L. (1999). Occurrence of Antibiotics in the Aquatic Environment. *Science of The Total Environment* 225 (1-2), 109–118. DOI: 10.1016/S0048-9697(98)00337-4.

- Janecko, N., Pokludova, L., Blahova, J., Svobodova, Z., Literak, I. (2016). Implications of Fluoroquinolone Contamination for the Aquatic Environment-a Review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35 (11), 2647–2656. DOI: 10.1002/etc.3552.
- Jia, A., Xiao, Y., Hu, J., Asami, M., Kunikane, S. (2009). Simultaneous Determination of Tetracyclines and Their Degradation Products in Environmental Waters by Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216 (22), 4655–4662. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.03.073.
- Kaeseberg, T., Zhang, J., Schubert, S., Oertel, R., Krebs, P. (2018). Abiotic, Biotic and Photolytic Degradation Affinity of 14 Antibiotics and One Metabolite – Batch Experiments and a Model Framework. *Environmental Pollution* 241, 339–350. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.05.074.
- Kerrigan, J. F., Sandberg, K. D., Engstrom, D. R., LaPara, T. M., Arnold, W. A. (2018a). Sedimentary Record of Antibiotic Accumulation in Minnesota Lakes. *Science of The Total Environment* 621, 970–979. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.130.
- Kerrigan, J. F., Sandberg, K. D., Engstrom, D. R., LaPara, T. M., Arnold, W. A. (2018b). Small and Large-Scale Distribution of Four Classes of Antibiotics in Sediment: Association with Metals and Antibiotic Resistance Genes. *Environmental Science: Processes & Impacts* 20 (8), 1167–1179. DOI: 10.1039/C8EM00190A.
- Kim, C., Ryu, H.-D., Chung, E. G., Kim, Y., Lee, J.-k. (2018). A Review of Analytical Procedures for the Simultaneous Determination of Medically Important Veterinary Antibiotics in Environmental Water: Sample Preparation, Liquid Chromatography, and Mass Spectrometry. *Journal of Environmental Management* 217, 629–645. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.04.006.
- Kim, S.-C., Carlson, K. (2007a). Quantification of Human and Veterinary Antibiotics in Water and Sediment Using SPE/LC/MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (4), 1301–1315. DOI: 10.1007/s00216-006-0613-0.
- Kim, S.-C., Carlson, K. (2007b). Temporal and Spatial Trends in the Occurrence of Human and Veterinary Antibiotics in Aqueous and River Sediment Matrices. *Environmental Science & Technology* 41 (1), 50–57. DOI: 10.1021/es060737+.
- Kim, S., Aga, D. S. (2007c). Potential Ecological and Human Health Impacts of Antibiotics and Antibiotic-Resistant Bacteria from Wastewater Treatment Plants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 10 (8), 559–573. DOI: 10.1080/15287390600975137.
- Knapp, C. W., Cardoza, L. A., Hawes, J. N., Wellington, E. M. H., Larive, C. K., Graham, D. W. (2005). Fate and Effects of Enrofloxacin in Aquatic Systems under Different Light Conditions. *Environmental Science & Technology* 39 (23), 9140–9146. DOI: 10.1021/es050895l.

- Koba, O., Golovko, O., Kodešová, R., Fér, M., Grabic, R. (2017). Antibiotics Degradation in Soil: A Case of Clindamycin, Trimethoprim, Sulfamethoxazole and Their Transformation Products. *Environmental Pollution* 220, 1251–1263. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.11.007.
- Kolter, T. (2015). Makrolid-Antibiotika. Römpp. URL: <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-13-00288?context=search#/> (besucht am 26. 04. 2023).
- Kovalakova, P., Cizmas, L., McDonald, T. J., Marsalek, B., Feng, M., Sharma, V. K. (2020). Occurrence and Toxicity of Antibiotics in the Aquatic Environment: A Review. *Chemosphere* 251, 126351. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.126351.
- Kuang, Y., Guo, X., Hu, J., Li, S., Zhang, R., Gao, Q., Yang, X., Chen, Q., Sun, W. (2020). Occurrence and Risks of Antibiotics in an Urban River in Northeastern Tibetan Plateau. *Scientific Reports* 10 (1), 20054. DOI: 10.1038/s41598-020-77152-5.
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the Aquatic Environment – A Review – Part I. *Chemosphere* 75 (4), 417–434. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.11.086.
- Küster, A., Lehmann, S., Hein, A., Schönfeld, J. (2013). Antibiotika in der Umwelt - Wirkung mit Nebenwirkung. *Umwelt und Mensch - Informationsdienst UMID* 01/2013: Schwerpunkt Chemikalien, Umwelt und Gesundheit (01/2013), 18–28.
- Lai, H.-T., Lin, J.-J. (2009). Degradation of Oxolinic Acid and Flumequine in Aquaculture Pond Waters and Sediments. *Chemosphere* 75 (4), 462–468. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.12.060.
- Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg (2022a). Hydrologische Landespegel. Daten- und Kartendienst der LUBW. URL: https://udo.lubw.baden-wuerttemberg.de/public/api/processingChain?repositoryItemGlobalId=oberflGew.Hydrologische+Landespegel.gkm%3Agkm_z_pegel_messwerte%24ind1.sel&conditionValuesSetHash=574FD41&selector=oberflGew.Hydrologische+Landespegel.gkm%3Agkm_z_pegel_messwerte%24ind1.sel&sourceOrderAsc=false&offset=0&limit=2147483647 (besucht am 09. 05. 2023).
- Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg (2022b). Kartenansicht Gewässername. Daten- und Kartendienst der LUBW. URL: <https://udo.lubw.baden-wuerttemberg.de/public/pages/map/default/index.xhtml?mapId=910a0bf1-a065-4c87-a0c9-d4168b9e3240&repositoryItemGlobalId=.Wasser.Amtliches+Gew%C3%A4ssernetz+%28AWGN%29.Flie%C3%9Fgew%C3%A4ssernetz.gewaessername.layer&mapSrs=EPSG%3A25832&mapExtent=451489.27499061637%2C5400454.699348089%2C477090.4580398244%2C5417522.154714228> (besucht am 09. 05. 2023).
- Landwehr, N. (2021). "Entwicklung einer Extraktionsmethode zur Bestimmung von Antibiotika in Sedimenten". Bachelorarbeit. Karlsruhe: Karlsruher Institut für Technologie.
- Larivière, A., Lissalde, S., Soubrand, M., Casellas-Français, M. (2017). Overview of Multiresidues Analytical Methods for the Quantitation of Pharmaceuticals in Environmental Solid Matrixes:

- Comparison of Analytical Development Strategy for Sewage Sludge, Manure, Soil, and Sediment Samples. *Analytical Chemistry* 89 (1), 453–465. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b04382.
- Larsson, D. G. J., de Pedro, C., Paxeus, N. (2007). Effluent from Drug Manufactures Contains Extremely High Levels of Pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials* 148 (3), 751–755. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.07.008.
- Larsson, D. G. J., Flach, C.-F. (2022). Antibiotic Resistance in the Environment. *Nature Reviews Microbiology* 20 (5), 257–269. DOI: 10.1038/s41579-021-00649-x.
- Lettieri, T., Napierska, D., Loos, R., Marinov, D., Sanseverino, I., European Commission, Joint Research Centre (2018). Review of the 1st Watch List under the Water Framework Directive and Recommendations for the 2nd Watch List.
- Lewis, K. (2013). Platforms for Antibiotic Discovery. *Nature Reviews Drug Discovery* 12 (5), 371–387. DOI: 10.1038/nrd3975.
- Lewis, K. (2020). The Science of Antibiotic Discovery. *Cell* 181 (1), 29–45. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.056. pmid: 32197064.
- Li, C.-X., Han, J., Wang, Y., Yan, Y.-S., Xu, X.-H., Pan, J.-M. (2009). Extraction and Mechanism Investigation of Trace Roxithromycin in Real Water Samples by Use of Ionic Liquid–Salt Aqueous Two-Phase System. *Analytica Chimica Acta* 653 (2), 178–183. DOI: 10.1016/j.aca.2009.09.011.
- Li, J., Cui, M. (2020). Kinetic Study on the Sorption and Degradation of Antibiotics in the Estuarine Water: An Evaluation Based on Single and Multiple Reactions. *Environmental Science and Pollution Research* 27 (33), 42104–42114. DOI: 10.1007/s11356-020-10194-4.
- Li, W., Shi, Y., Gao, L., Liu, J., Cai, Y. (2012). Occurrence of Antibiotics in Water, Sediments, Aquatic Plants, and Animals from Baiyangdian Lake in North China. *Chemosphere* 89 (11), 1307–1315. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.05.079.
- Li, Y., Rashid, A., Wang, H., Hu, A., Lin, L., Yu, C.-P., Chen, M., Sun, Q. (2018). Contribution of Biotic and Abiotic Factors in the Natural Attenuation of Sulfamethoxazole: A Path Analysis Approach. *Science of The Total Environment* 633, 1217–1226. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.232.
- Liang, S., Luo, Q., Huang, Q. (2017). Degradation of Sulfadimethoxine Catalyzed by Laccase with Soybean Meal Extract as Natural Mediator: Mechanism and Reaction Pathway. *Chemosphere* 181, 320–327. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.04.100.
- Liguori, K., Keenum, I., Davis, B. C., Calarco, J., Milligan, E., Harwood, V. J., Pruden, A. (2022). Antimicrobial Resistance Monitoring of Water Environments: A Framework for Standardized Methods and Quality Control. *Environmental Science & Technology* 56 (13), 9149–9160. DOI: 10.1021/acs.est.1c08918.

- Lillenberg, M., Yurchenko, S., Kipper, K., Herodes, K., Pihl, V., Sepp, K., Löhmus, R., Nei, L. (2009). Simultaneous Determination of Fluoroquinolones, Sulfonamides and Tetracyclines in Sewage Sludge by Pressurized Liquid Extraction and Liquid Chromatography Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216 (32), 5949–5954. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.06.029.
- Lindsey, M. E., Meyer, M., Thurman, E. M. (2001). Analysis of Trace Levels of Sulfonamide and Tetracycline Antimicrobials in Groundwater and Surface Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 73 (19), 4640–4646. DOI: 10.1021/ac010514w.
- Liu, X., Lv, K., Deng, C., Yu, Z., Shi, J., Johnson, A. C. (2019). Persistence and Migration of Tetracycline, Sulfonamide, Fluoroquinolone, and Macrolide Antibiotics in Streams Using a Simulated Hydrodynamic System. *Environmental Pollution* 252, 1532–1538. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.06.095.
- Lizondo, M., Pons, M., Gallardo, M., Estelrich, J. (1997). Physicochemical Properties of Enrofloxacin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 15 (12), 1845–1849. DOI: 10.1016/S0731-7085(96)02033-X.
- Löffler, D., Ternes, T. A. (2003). Determination of Acidic Pharmaceuticals, Antibiotics and Ivermectin in River Sediment Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1021 (1), 133–144. DOI: 10.1016/j.chroma.2003.08.089.
- Loftin, K. A., Adams, C. D., Meyer, M. T., Surampalli, R. (2008). Effects of Ionic Strength, Temperature, and pH on Degradation of Selected Antibiotics. *Journal of Environmental Quality* 37 (2), 378–386. DOI: 10.2134/jeq2007.0230.
- Loos, R., Carvalho, R., António, D. C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., Ghiani, M., Lettieri, T., Blaha, L., Jarosova, B., Voorspoels, S., Servaes, K., Haglund, P., Fick, J., Lindberg, R. H., Schwesig, D., Gawlik, B. M. (2013). EU-wide Monitoring Survey on Emerging Polar Organic Contaminants in Wastewater Treatment Plant Effluents. *Water Research* 47 (17), 6475–6487. DOI: 10.1016/j.watres.2013.08.024.
- Luo, Y., Xu, L., Rysz, M., Wang, Y., Zhang, H., Alvarez, P. J. J. (2011). Occurrence and Transport of Tetracycline, Sulfonamide, Quinolone, and Macrolide Antibiotics in the Haihe River Basin, China. *Environmental Science & Technology* 45 (5), 1827–1833. DOI: 10.1021/es104009s.
- Ma, Y., Modrzyński, J. J., Yang, Y., Aamand, J., Zheng, Y. (2021). Redox-Dependent Biotransformation of Sulfonamide Antibiotics Exceeds Sorption and Mineralization: Evidence from Incubation of Sediments from a Reclaimed Water-Affected River. *Water Research* 205, 117616. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117616.

- Macherey-Nagel (2020). *Chromatographie Säulen und Zubehör Katalog Edition VI*. URL: <https://www.mn-net.com/de/chromatographie-downloads> (besucht am 09.03.2020).
- MacLeod, S. L., McClure, E. L., Wong, C. S. (2007). Laboratory Calibration and Field Deployment of the Polar Organic Chemical Integrative Sampler for Pharmaceuticals and Personal Care Products in Wastewater and Surface Water. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 (12), 2517–2529. DOI: 10.1897/07-238.1.
- Majlander, J., Anttila, V.-J., Nurmi, W., Seppälä, A., Tiedje, J., Muziasari, W. (2021). Routine Wastewater-Based Monitoring of Antibiotic Resistance in Two Finnish Hospitals: Focus on Carbapenem Resistance Genes and Genes Associated with Bacteria Causing Hospital-Acquired Infections. *Journal of Hospital Infection* 117, 157–164. DOI: 10.1016/j.jhin.2021.09.008.
- Märtlbauer (2011a). Sulfonamide. Römpp. URL: <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-19-04871?searchterm=sulfonamide&context=search> (besucht am 19.04.2023).
- Märtlbauer, E. (2011b). Tetracycline. Römpp. URL: <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-20-00880?searchterm=tetracycline&context=search> (besucht am 19.04.2023).
- Märtlbauer, E. (2011c). Trimethoprim. Römpp. URL: <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-20-02945?searchterm=trimethoprim&context=search> (besucht am 19.04.2023).
- Massey, L. B., Haggard, B. E., Galloway, J. M., Loftin, K. A., Meyer, M. T., Green, W. R. (2010). Antibiotic Fate and Transport in Three Effluent-Dominated Ozark Streams. *Ecological Engineering* 36 (7), 930–938. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2010.04.009.
- McArdell, C. S., Molnar, E., Suter, M. J.-F., Giger, W. (2003). Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environmental Science & Technology* 37 (24), 5479–5486. DOI: 10.1021/es034368i.
- Meyer, M., Lee, E., Ferrell, G., Baumgarner, J., Varns, J. (2007). Scientific Investigations Report - Evaluation of Offline Tandem and Online Solid-Phase Extraction with Liquid Chromatography/Electrospray Ionization-Mass Spectrometry for Analysis of Antibiotics in Ambient Water and Comparison to an Independent Method. Scientific Investigations Report 2007-5021,
- Michael, I., Rizzo, L., McArdell, C., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban Wastewater Treatment Plants as Hotspots for the Release of Antibiotics in the Environment: A Review. *Water Research* 47 (3), 957–995. DOI: 10.1016/j.watres.2012.11.027.
- Morales-Muñoz, S., Luque-García, J. L., Luque de Castro, M. D. (2004). Continuous Microwave-Assisted Extraction Coupled with Derivatization and Fluorimetric Monitoring for the Determination of Fluoroquinolone Antibacterial Agents from Soil Samples. *Journal of Chromatography A* 1059 (1), 25–31. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.09.086.

- Murray, A. K., Stanton, I., Gaze, W. H., Snape, J. (2021). Dawning of a New ERA: Environmental Risk Assessment of Antibiotics and Their Potential to Select for Antimicrobial Resistance. *Water Research* 200, 117233. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117233.
- Nassar, R., Trivella, A., Mokh, S., Al-Iskandarani, M., Budzinski, H., Mazellier, P. (2017). Photodegradation of Sulfamethazine, Sulfamethoxypyridazine, Amitriptyline, and Clomipramine Drugs in Aqueous Media. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 336, 176–182. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2016.12.008.
- Nguyen Dang Giang, C., Sebesvari, Z., Renaud, F., Rosendahl, I., Hoang Minh, Q., Amelung, W. (2015). Occurrence and Dissipation of the Antibiotics Sulfamethoxazole, Sulfadiazine, Trimethoprim, and Enrofloxacin in the Mekong Delta, Vietnam. *PLOS ONE* 10 (7). Hrsg. von S. Das, e0131855. DOI: 10.1371/journal.pone.0131855.
- Nowara, A., Burhenne, J., Spitteller, M. (1997). Binding of Fluoroquinolone Carboxylic Acid Derivatives to Clay Minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (4), 1459–1463. DOI: 10.1021/jf960215l.
- O'Connor, S., Aga, D. S. (2007). Analysis of Tetracycline Antibiotics in Soil: Advances in Extraction, Clean-up, and Quantification. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 26 (6), 456–465. DOI: 10.1016/j.trac.2007.02.007.
- O'Neil, J. (2014). Review on Antimicrobial Resistance. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. Review on Antimicrobial Resistance. England,
- Pesce, S., Kergoat, L., Paris, L., Billet, L., Besse-Hoggan, P., Bonnineau, C. (2021). Contrasting Effects of Environmental Concentrations of Sulfonamides on Microbial Heterotrophic Activities in Freshwater Sediments. *Frontiers in Microbiology* 12.
- Popova, I. E., Morra, M. J., Parikh, S. J. (2019). Pressurized Liquid Extraction of Six Tetracyclines from Agricultural Soils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 54 (1), 35–40. DOI: 10.1080/03601234.2018.1530547. pmid: 30406723.
- Prat, M. D., Ramil, D., Compañó, R., Hernández-Arteseros, J. A., Granados, M. (2006). Determination of Flumequine and Oxolinic Acid in Sediments and Soils by Microwave-Assisted Extraction and Liquid Chromatography-Fluorescence. *Analytica Chimica Acta* 567 (2), 229–235. DOI: 10.1016/j.aca.2006.03.051.
- PubChem (2022). PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (besucht am 18.05.2022).
- Qiang, Z., Adams, C. (2004). Potentiometric Determination of Acid Dissociation Constants (pKa) for Human and Veterinary Antibiotics. *Water Research* 38 (12), 2874–2890. DOI: 10.1016/j.watres.2004.03.017.

- Riaz, L., Mahmood, T., Khalid, A., Rashid, A., Ahmed Siddique, M. B., Kamal, A., Coyne, M. S. (2018). Fluoroquinolones (FQs) in the Environment: A Review on Their Abundance, Sorption and Toxicity in Soil. *Chemosphere* 191, 704–720. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.10.092.
- Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N., Pohl, C. (1996). Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation. *Analytical Chemistry* 68 (6), 1033–1039. DOI: 10.1021/ac9508199.
- Robert Koch Institut (2023a). Antibiotika-Verbrauchs-Surveillance. ARS. URL: <https://avs.rki.de/Content/ReferenceData/AIReport.aspx> (besucht am 16. 03. 2023).
- Robert Koch Institut (2023b). RKI - Coronavirus SARS-CoV-2 - Todesfälle nach Sterbedatum. RKI - Coronavirus SARS-CoV-2 - Todesfälle nach Sterbedatum (6.4.2023). URL: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Projekte_RKI/COVID-19_Todesfaelle.html?nn=13490888 (besucht am 08. 04. 2023).
- Rodriguez-Mozaz, S., Chamorro, S., Marti, E., Huerta, B., Gros, M., Sánchez-Melsió, A., Borrego, C. M., Barceló, D., Balcázar, J. L. (2015). Occurrence of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Hospital and Urban Wastewaters and Their Impact on the Receiving River. *Water Research* 69, 234–242. DOI: 10.1016/j.watres.2014.11.021.
- Rodriguez-Mozaz, S., Vaz-Moreira, I., Varela Della Giustina, S., Llorca, M., Barceló, D., Schubert, S., Berendonk, T. U., Michael-Kordatou, I., Fatta-Kassinos, D., Martinez, J. L., Elpers, C., Henriques, I., Jaeger, T., Schwartz, T., Paulshus, E., O’Sullivan, K., Pärnänen, K. M. M., Virta, M., Do, T. T., Walsh, F., Manaia, C. M. (2020). Antibiotic Residues in Final Effluents of European Wastewater Treatment Plants and Their Impact on the Aquatic Environment. *Environment International* 140, 105733. DOI: 10.1016/j.envint.2020.105733.
- Rossmann, J., Schubert, S., Gurke, R., Oertel, R., Kirch, W. (2014). Simultaneous Determination of Most Prescribed Antibiotics in Multiple Urban Wastewater by SPE-LC–MS/MS. *Journal of Chromatography B* 969, 162–170. DOI: 10.1016/j.jchromb.2014.08.008.
- Sahlin, S., Larsson, D. G. J., Agerstrand, M. (2018). Ciprofloxacin, EQS data overview. ACES Report 15. Stockholm,
- Salvia, M.-V., Fieu, M., Vulliet, E. (2015). Determination of Tetracycline and Fluoroquinolone Antibiotics at Trace Levels in Sludge and Soil. *Applied and Environmental Soil Science* 2015, 1–10. DOI: 10.1155/2015/435741.
- Scaria, J., Anupama, K., Nidheesh, P. (2021). Tetracyclines in the Environment: An Overview on the Occurrence, Fate, Toxicity, Detection, Removal Methods, and Sludge Management. *Science of The Total Environment* 771, 145291. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.145291.
- Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M., Imboden, D. M. (2003). Environmental Organic Chemistry. 2. ed. Wiley-Interscience. New York: Wiley. ISBN: 978-0-471-35750-6.

- Schwedt, G., Schmidt, T. C., Schmitz, O. J. (2016). Analytische Chemie: Grundlagen, Methoden und Praxis. ISBN: 978-3-527-69879-0.
- Senta, I., Krizman-Matasic, I., Terzic, S., Ahel, M. (2017). Comprehensive Determination of Macrolide Antibiotics, Their Synthesis Intermediates and Transformation Products in Wastewater Effluents and Ambient Waters by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1509, 60–68. DOI: 10.1016/j.chroma.2017.06.005.
- Senta, I., Terzic, S., Ahel, M. (2021). Analysis and Occurrence of Macrolide Residues in Stream Sediments and Underlying Alluvial Aquifer Downstream from a Pharmaceutical Plant. *Environmental Pollution* 273, 116433. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.116433.
- Senta, I., Terzić, S., Ahel, M. (2008). Simultaneous Determination of Sulfonamides, Fluoroquinolones, Macrolides and Trimethoprim in Wastewater and River Water by LC-Tandem-MS. *Chromatographia* 68 (9), 747. DOI: 10.1365/s10337-008-0780-6.
- Silva, B. F. da, Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A. A., Petrovic, M., Barceló, D. (2011). Occurrence and Distribution of Pharmaceuticals in Surface Water, Suspended Solids and Sediments of the Ebro River Basin, Spain. *Chemosphere* 85 (8), 1331–1339. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.07.051.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R., Nießner, R., Föllner, B. (2013). Instrumentelle Analytik: Grundlagen - Geräte - Anwendungen. 6., vollst. überarb. erw. Aufl., [=2. dt. Aufl.] Lehrbuch. Berlin: Springer Spektrum. ISBN: 978-3-642-38169-0.
- Song, C., Liu, H.-Y., Guo, S., Wang, S.-G. (2020). Photolysis Mechanisms of Tetracycline under UV Irradiation in Simulated Aquatic Environment Surrounding Limestone. *Chemosphere* 244, 125582. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125582.
- Speltini, A., Sturini, M., Maraschi, F., Profumo, A., Albini, A. (2011). Analytical Methods for the Determination of Fluoroquinolones in Solid Environmental Matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Climate-Change Impacts on Water Chemistry 30 (8), 1337–1350. DOI: 10.1016/j.trac.2011.04.011.
- Stedtfeld, R. D., Guo, X., Stedtfeld, T. M., Sheng, H., Williams, M. R., Hauschild, K., Gunturu, S., Tift, L., Wang, F., Howe, A., Chai, B., Yin, D., Cole, J. R., Tiedje, J. M., Hashsham, S. A. (2018). Primer Set 2.0 for Highly Parallel qPCR Array Targeting Antibiotic Resistance Genes and Mobile Genetic Elements. *FEMS Microbiology Ecology* 94 (9), fiy130. DOI: 10.1093/femsec/fiy130.
- Su, T., Deng, H., Benskin, J. P., Radke, M. (2016). Biodegradation of Sulfamethoxazole Photo-Transformation Products in a Water/Sediment Test. *Chemosphere* 148, 518–525. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.01.049.
- Sun, C., Ping, H., Zhang, M., Li, H., Guan, F. (2011). Spectroscopic Studies on the Lanthanide Sensitized Luminescence and Chemiluminescence Properties of Fluoroquinolone with Different

- Structure. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 82 (1), 375–382. DOI: 10.1016/j.saa.2011.07.065.
- Szymańska, U., Wiergowski, M., Sołtyszewski, I., Kuzemko, J., Wiergowska, G., Woźniak, M. K. (2019). Presence of Antibiotics in the Aquatic Environment in Europe and Their Analytical Monitoring: Recent Trends and Perspectives. *Microchemical Journal* 147, 729–740. DOI: 10.1016/j.microc.2019.04.003.
- Thaqi, B. S. (14.01.23). “Untersuchungen zum Einfluss der Konzentration an Antibiotika auf die Verbreitung von Antibiotika Resistenzen”. Masterarbeit. Karlsruhe: Karlsruher Institut für Technologie.
- Thermo Scientific (2020). *Dionex ASE 350 Accelerated Solvent Extractor Operator's Manual, Revision 05*. URL: <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FCMD%2Fmanuals%2FMan-ASE-ASE350-Operators-Nov2020-DOC065220-05.pdf> (besucht am 31. 01. 2023).
- Thiebault, T., Alliot, F., Berthe, T., Blanchoud, H., Petit, F., Guigon, E. (2021). Record of Trace Organic Contaminants in a River Sediment Core: From Historical Wastewater Management to Historical Use. *Science of The Total Environment* 773, 145694. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.145694.
- Thiele-Bruhn, S., Seibicke, T., Schulten, H.-R., Leinweber, P. (2004). Sorption of Sulfonamide Pharmaceutical Antibiotics on Whole Soils and Particle-Size Fractions. *Journal of Environmental Quality* 33 (4), 1331–1342. DOI: 10.2134/jeq2004.1331.
- Tiefbauamt, S. K. (2010). *Die Stadtentwässerung in Karlsruhe*. URL: <https://www.karlsruhe.de/umwelt-klima/gewaesser-stadtentwaesserung/klaerwerk> (besucht am 14. 02. 2020).
- Timme, L. (2018). Arzneimittelwirkstoffe. Umweltbundesamt. URL: <https://www.umweltbundesamt.de/themen/wasser/fluesse/zustand/arzneimittelwirkstoffe> (besucht am 28. 03. 2023).
- Tolls, J. (2001). Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review. *Environmental Science & Technology* 35 (17), 3397–3406. DOI: 10.1021/es0003021.
- Tozar, T., Boni, M., Staicu, A., Pascu, M. L. (2021). Optical Characterization of Ciprofloxacin Photolytic Degradation by UV-Pulsed Laser Radiation. *Molecules* 26 (8), 2324. DOI: 10.3390/molecules26082324.
- U. S. Environmental Protection Agency (2007). *Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS*. URL: <https://www.epa.gov/cwa-methods/contaminants-emerging-concern-methods-documents> (besucht am 13. 08. 2019).
- Udalova, A. Yu., Dmitrienko, S. G., Apyari, V. V. (2015). Methods for the Separation, Preconcentration, and Determination of Tetracycline Antibiotics. *Journal of Analytical Chemistry* 70 (6), 661–676. DOI: 10.1134/S1061934815060180.

- Uluseker, C., Kaster, K. M., Thorsen, K., Basiry, D., Shobana, S., Jain, M., Kumar, G., Kommedal, R., Pala-Ozkok, I. (2021). A Review on Occurrence and Spread of Antibiotic Resistance in Wastewaters and in Wastewater Treatment Plants: Mechanisms and Perspectives. *Frontiers in Microbiology* 12.
- Van Doorslaer, X., Dewulf, J., Van Langenhove, H., Demeestere, K. (2014). Fluoroquinolone Antibiotics: An Emerging Class of Environmental Micropollutants. *Science of The Total Environment* 500–501, 250–269. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.08.075.
- Vane, C. H., Kim, A. W., Lopes dos Santos, R. A., Moss-Hayes, V. (2022). Contrasting Sewage, Emerging and Persistent Organic Pollutants in Sediment Cores from the River Thames Estuary, London, England, UK. *Marine Pollution Bulletin* 175, 113340. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2022.113340.
- Vasudevan, D., Bruland, G. L., Torrance, B. S., Upchurch, V. G., MacKay, A. A. (2009). pH-dependent Ciprofloxacin Sorption to Soils: Interaction Mechanisms and Soil Factors Influencing Sorption. *Geoderma* 151 (3), 68–76. DOI: 10.1016/j.geoderma.2009.03.007.
- Vazquez-Roig, P., Segarra, R., Blasco, C., Andreu, V., Picó, Y. (2010). Determination of Pharmaceuticals in Soils and Sediments by Pressurized Liquid Extraction and Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A. Extraction Techniques* 1217 (16), 2471–2483. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.11.033.
- Walters, E., McClellan, K., Halden, R. U. (2010). Occurrence and Loss over Three Years of 72 Pharmaceuticals and Personal Care Products from Biosolids–Soil Mixtures in Outdoor Mesocosms. *Water Research* 44 (20), 6011–6020. DOI: 10.1016/j.watres.2010.07.051.
- Waters Corporation (2011). *Oasis-Produkte für die Probenextraktion, Empfindlichkeit in reinster Form*. URL: <https://www.waters.com/nextgen/de/de/library/library-details.html?documentid=720001692&t=waters-OasisSPEBrochure-720001692> (besucht am 19.02.2020).
- Waters Corporation (2017). *Taking the complexity out of SPE method development*. URL: <https://www.waters.com/waters/downloadFile.htm?lid=134896063&id=134896062&fileName=Download+PDF&fileUrl=%2Fwebassets%2Fcms%2Flibrary%2Fdocs%2F720005685en.pdf> (besucht am 27.03.2020).
- Wegst-Uhrich, S. R., Navarro, D. A., Zimmerman, L., Aga, D. S. (2014). Assessing Antibiotic Sorption in Soil: A Literature Review and New Case Studies on Sulfonamides and Macrolides. *Chemistry Central Journal* 8 (1), 5. DOI: 10.1186/1752-153X-8-5.
- Wenzel, A., Schlich, K., Shemotyuk, L., Nendza, M. (2014). Revision der Umweltqualitätsnormen der Bundes-Oberflächengewässerverordnung nach Ende der Übergangsfrist für Richtlinie 2006/11/EG und Fortschreibung der europäischen Umweltqualitätsziele für prioritäre Stoffe. 47/2015, URL: <http://webetox.uba.de/webETOX/public/basics/literatur.do?id=24195> (besucht am 24.03.2023).

- Wissenschaftliches Institut der AOK (2023). PharMaAnalyst. PharMaAnalyst. URL: <https://arzneimittel.wido.de/PharMaAnalyst/;jsessionid=F6419205AC8108A20959945C1FDADF74?0> (besucht am 06. 03. 2023).
- World Health Organization (2020). WHO Antibiotics Portal. AWaRe Portal. URL: <https://aware.essentialmeds.org/groups> (besucht am 19. 04. 2023).
- World Health Organization (2021). World Health Organization Model List of Essential Medicines – 22nd List. WHO/MHP/HPS/EML/2021.01. Geneva: WHO, URL: <https://www.who.int/groups/expert-committee-on-selection-and-use-of-essential-medicines/essential-medicines-lists> (besucht am 28. 03. 2023).
- Wright, G. D. (2007). The Antibiotic Resistome: The Nexus of Chemical and Genetic Diversity. *Nature Reviews Microbiology* 5 (3), 175–186. DOI: 10.1038/nrmicro1614.
- Wright, G. D. (2010). Q&A: Antibiotic Resistance: Where Does It Come from and What Can We Do about It? *BMC Biology* 8 (1), 123. DOI: 10.1186/1741-7007-8-123.
- Wünnemann, H., Weiß, K., Arndt, D., Baumann, M., Weiß, R., Ferling, H., Scholz-Göppel, K., Bucher, K., Feick, C., Hartmann, G., Kitzing, P., Szyja, M., Schwaiger, J. (2020). Umweltqualitätsnormen für Binnengewässer Überprüfung der Gefährlichkeit neuer bzw. prioritärer Substanzen. 233/2020, URL: <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/umweltqualitaetsnormen-fuer-binnengewasser> (besucht am 24. 03. 2023).
- Xiao, K., Abbt-Braun, G., Borowska, E., Thomagkini, X., Horn, H. (2022). Solid–Liquid Distribution of Ciprofloxacin during Sludge Dewatering after Fe(II)-Activated Peroxymonosulfate Treatment: Focusing on the Role of Dissolved Organic Components. *ACS ES&T Engineering* 2 (5), 863–873. DOI: 10.1021/acsestengg.1c00402.
- Xu, B., Mao, D., Luo, Y., Xu, L. (2011). Sulfamethoxazole Biodegradation and Biotransformation in the Water–Sediment System of a Natural River. *Bioresource Technology* 102 (14), 7069–7076. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.04.086.
- Xu, W. H., Zhang, G., Wai, O. W. H., Zou, S. C., Li, X. D. (2009). Transport and Adsorption of Antibiotics by Marine Sediments in a Dynamic Environment. *Journal of Soils and Sediments* 9 (4), 364–373. DOI: 10.1007/s11368-009-0091-z.
- Yang, J.-F., Ying, G.-G., Zhao, J.-L., Tao, R., Su, H.-C., Chen, F. (2010). Simultaneous Determination of Four Classes of Antibiotics in Sediments of the Pearl Rivers Using RRLC–MS/MS. *Science of The Total Environment* 408 (16), 3424–3432. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.03.049.
- Yang, S., Carlson, K. H. (2004a). Solid-Phase Extraction–High-Performance Liquid Chromatography–Ion Trap Mass Spectrometry for Analysis of Trace Concentrations of Macrolide Antibiotics in Natural and Waste Water Matrices. *Journal of Chromatography A* 1038 (1-2), 141–155. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.02.084.

- Yang, S., Cha, J., Carlson, K. (2004b). Quantitative Determination of Trace Concentrations of Tetracycline and Sulfonamide Antibiotics in Surface Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Ion Trap Tandem Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 18 (18), 2131–2145. DOI: 10.1002/rcm.1598.
- Zhang, Y., Xu, J., Zhong, Z., Guo, C., Li, L., He, Y., Fan, W., Chen, Y. (2013). Degradation of Sulfonamides Antibiotics in Lake Water and Sediment. *Environmental Science and Pollution Research* 20 (4), 2372–2380. DOI: 10.1007/s11356-012-1121-8.
- Zhang, Z., Sun, K., Gao, B., Zhang, G., Liu, X., Zhao, Y. (2011). Adsorption of Tetracycline on Soil and Sediment: Effects of pH and the Presence of Cu(II). *Journal of Hazardous Materials* 190 (1-3), 856–862. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.017.
- Zhou, J. L., Maskaoui, K., Lufadeju, A. (2012). Optimization of Antibiotic Analysis in Water by Solid-Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 731, 32–39. DOI: 10.1016/j.aca.2012.04.021.
- Zhou, L.-J., Ying, G.-G., Zhao, J.-L., Yang, J.-F., Wang, L., Yang, B., Liu, S. (2011). Trends in the Occurrence of Human and Veterinary Antibiotics in the Sediments of the Yellow River, Hai River and Liao River in Northern China. *Environmental Pollution* 159 (7), 1877–1885. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.03.034.

A. Abbildungen

A.1 Strukturformel der Antibiotika

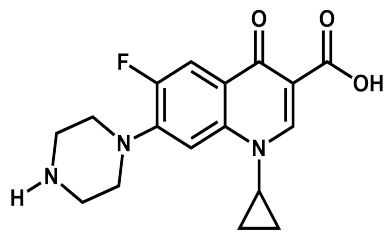


Abbildung A.1: Strukturformel Ciprofloxacin (CFC).

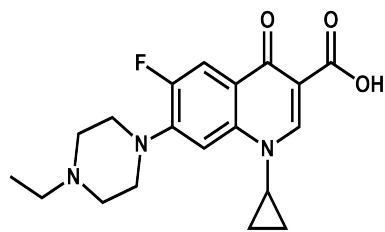


Abbildung A.2: Strukturformel Enrofloxacin (EFC).

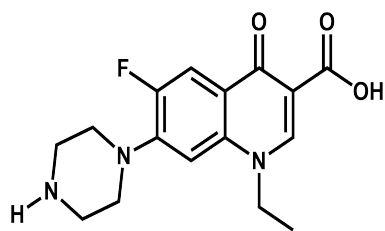


Abbildung A.3: Strukturformel Norfloxacin (NFC).

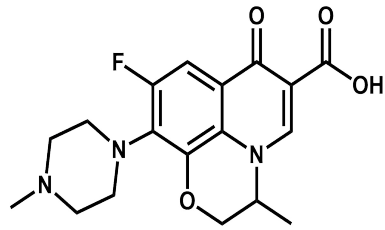


Abbildung A.4: Strukturformel Ofloxacin (OFC).

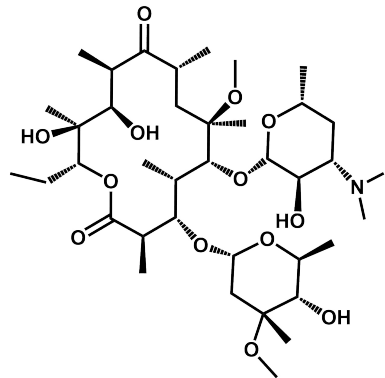


Abbildung A.5: Strukturformel Clarithromycin (CTM).

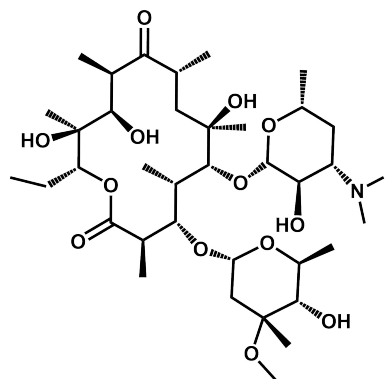


Abbildung A.6: Strukturformel Erythromycin (ETM).

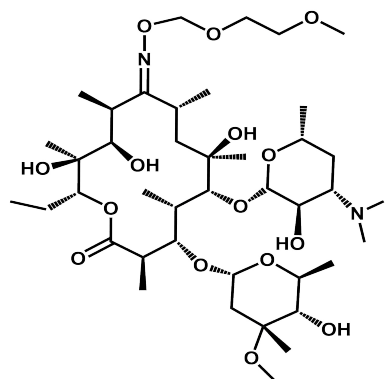


Abbildung A.7: Strukturformel Roxithromycin (RTM).

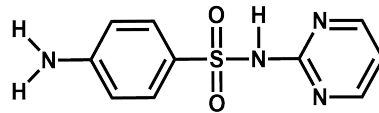


Abbildung A.8: Strukturformel Sulfadiazin (SDZ).

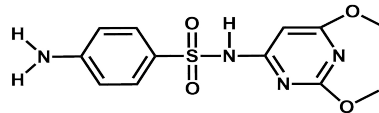


Abbildung A.9: Strukturformel Sulfadimethoxin (SDM).

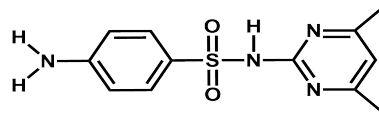


Abbildung A.10: Strukturformel Sulfamethazin (SMZ).

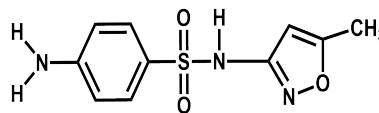


Abbildung A.11: Strukturformel Sulfamethoxazol (SMX).

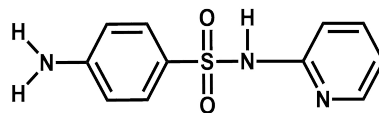


Abbildung A.12: Strukturformel Sulfapyridin (SPD).

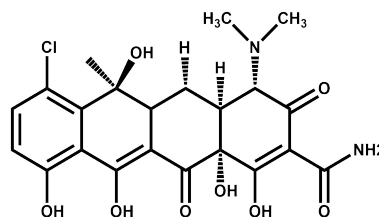


Abbildung A.13: Strukturformel Chlortetracyclin (CTC).

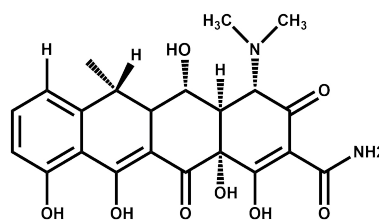


Abbildung A.14: Strukturformel Doxycyclin (DXC).

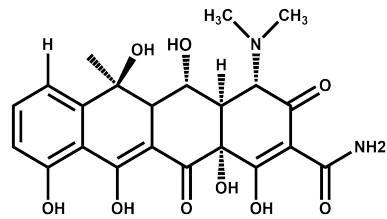


Abbildung A.15: Strukturformel Oxytetracyclin (OTC).

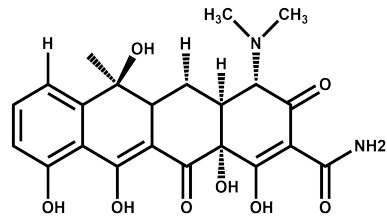


Abbildung A.16: Strukturformel Tetracyclin (TCT).

Tautomerie Tetracycline

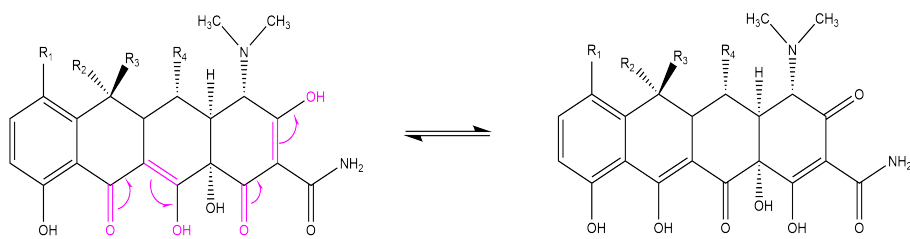


Abbildung A.17: Keto-Enol-Tautomerie der Tetracycline.

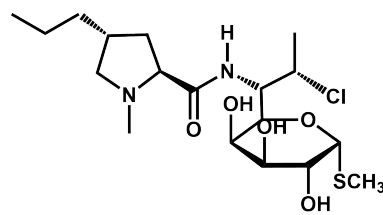


Abbildung A.18: Strukturformel Clindamycin (CDC).

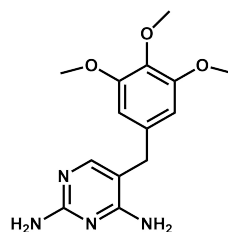


Abbildung A.19: Strukturformel Trimethoprim (TMP).

A.2 Abgabemenge für die ABs in der Veterinärmedizin

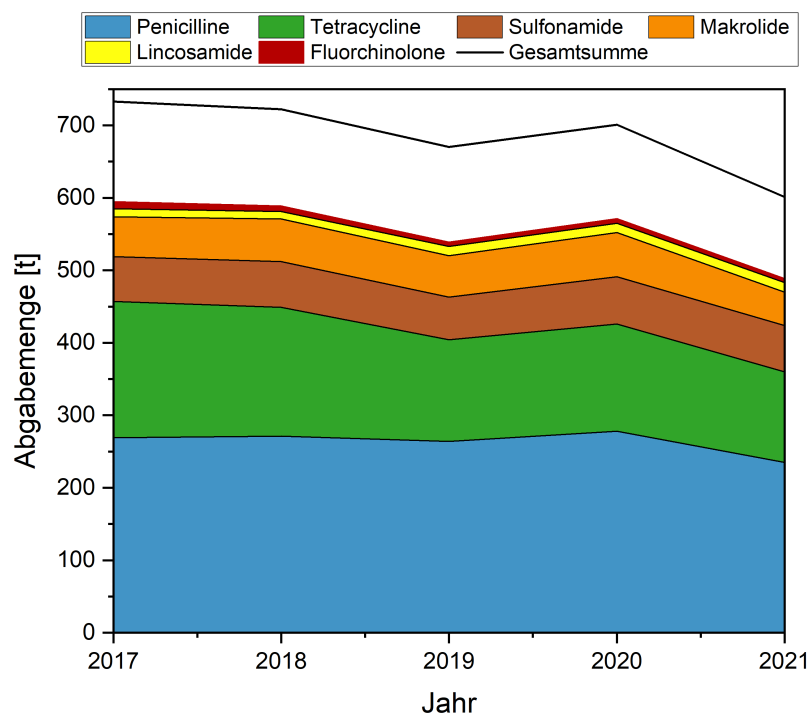


Abbildung A.20: Abgabemenge für ABs-Klassen in der Veterinärmedizin in Deutschland für den Zeitraum 2017 bis 2021. Die Gesamtsumme wurde aus allen ABs-Klassen erstellt, jedoch sind nur für diese Arbeit relevante Klassen dargestellt. Daten zusammengestellt vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL 2022).

A.3 Methodenentwicklung für die PLE

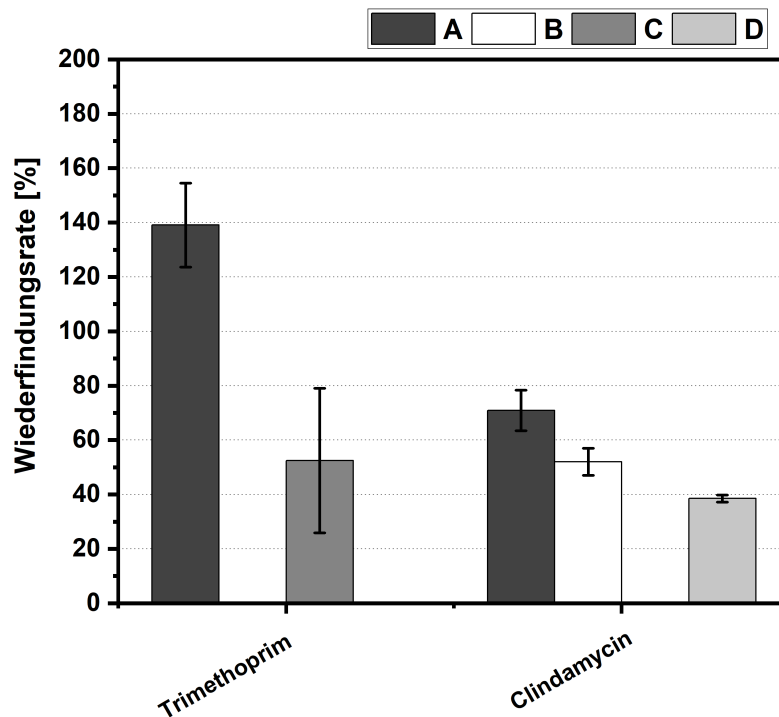


Abbildung A.21: Wiederfindungsraten für die Protokolle A bis D von Trimethoprim und Clindamycin. PLE-Protokolle wurden nach Golet u. a. (A), Salvia u. a. (B), Kerrigan u. a. (C) und Senta u. a. (D) modifiziert. Graphik adaptiert nach (Chabilan u. a. 2021).

A.4 Mesokosmos-Versuch

Änderung der Konzentrationsverhältnisse c/c_0 gegen die Zeit in Tage (d). RX - Angabe des Mesokosmos $X = 1$ bis 3, NR - nicht lineare Regression mit der Gleichung $\beta(AB) = \beta(AB)_0 \cdot \exp^{-k_n t}$.

A.4.1 Fluorchinolone

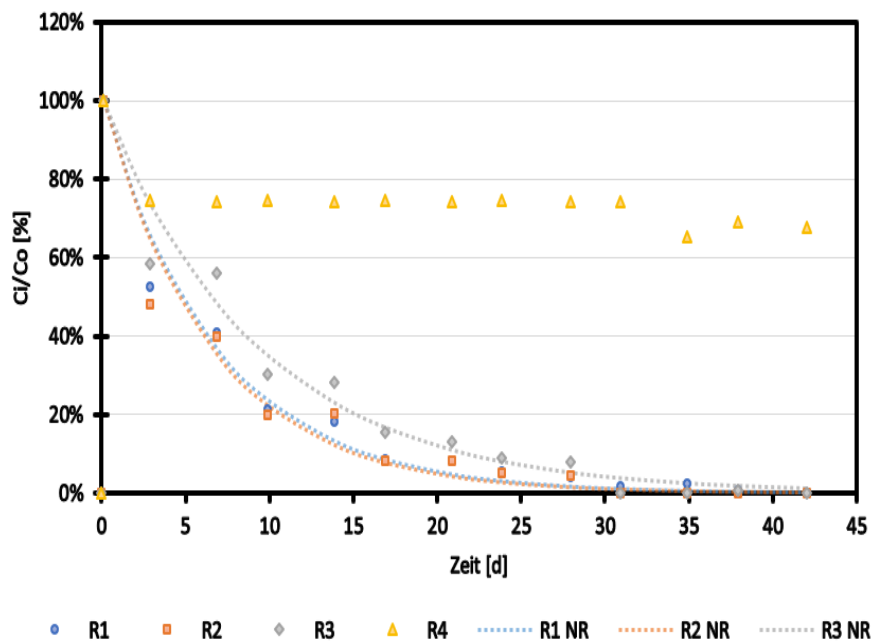


Abbildung A.22: Ciprofloxacin.

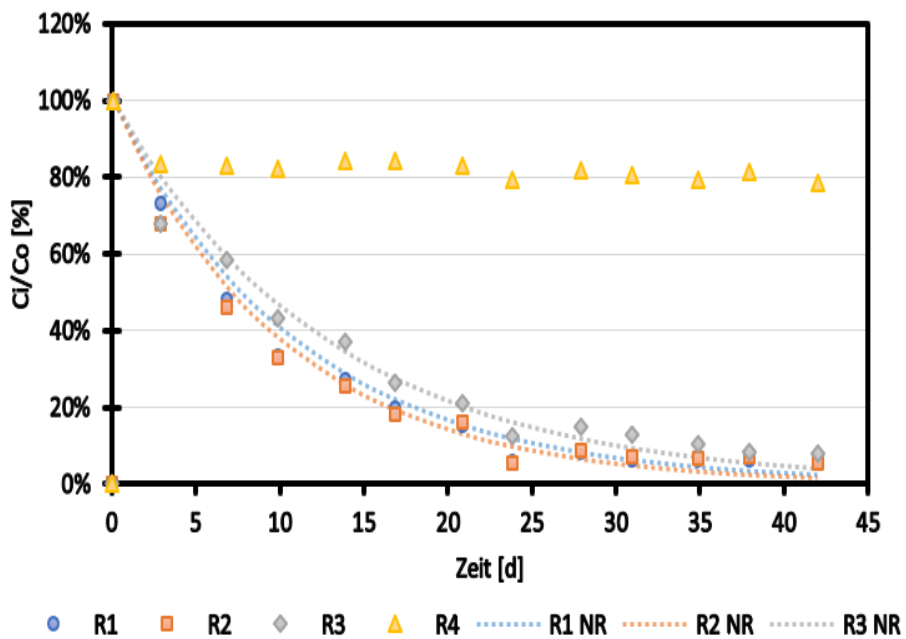


Abbildung A.23: Enrofloxacin.

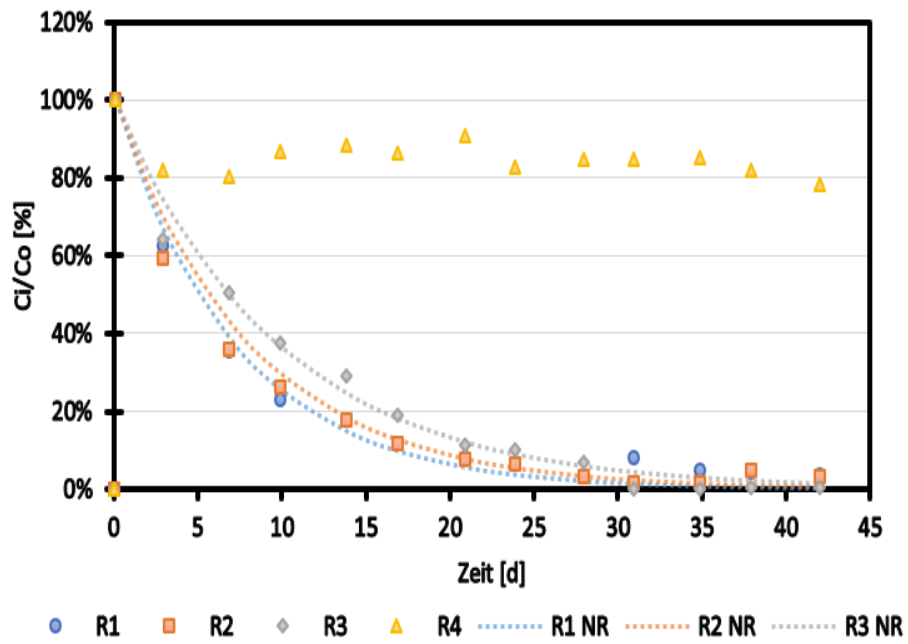


Abbildung A.24: Norfloxacin.

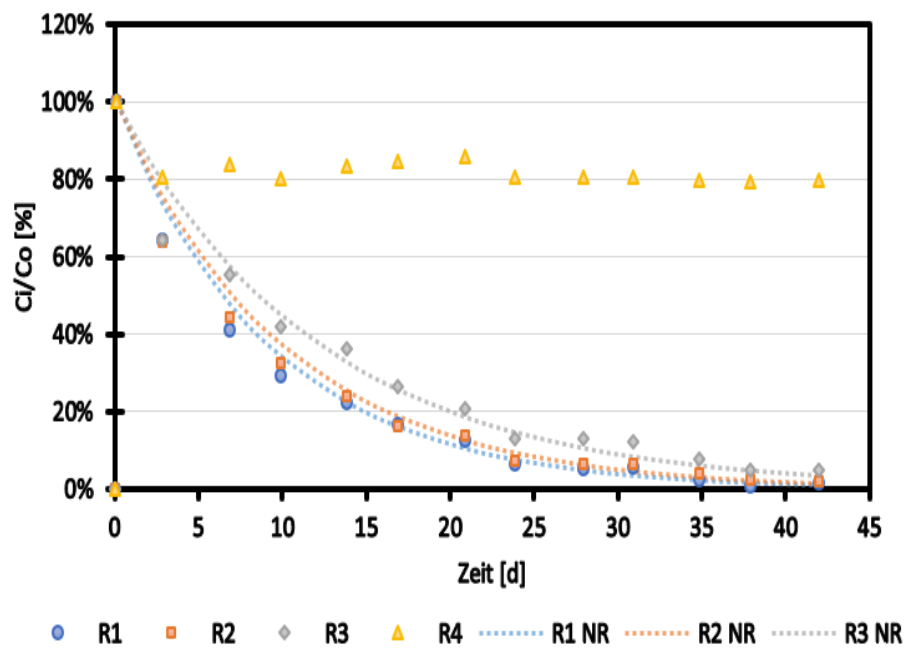


Abbildung A.25: Ofloxacin.

A.4.2 Sulfonamide

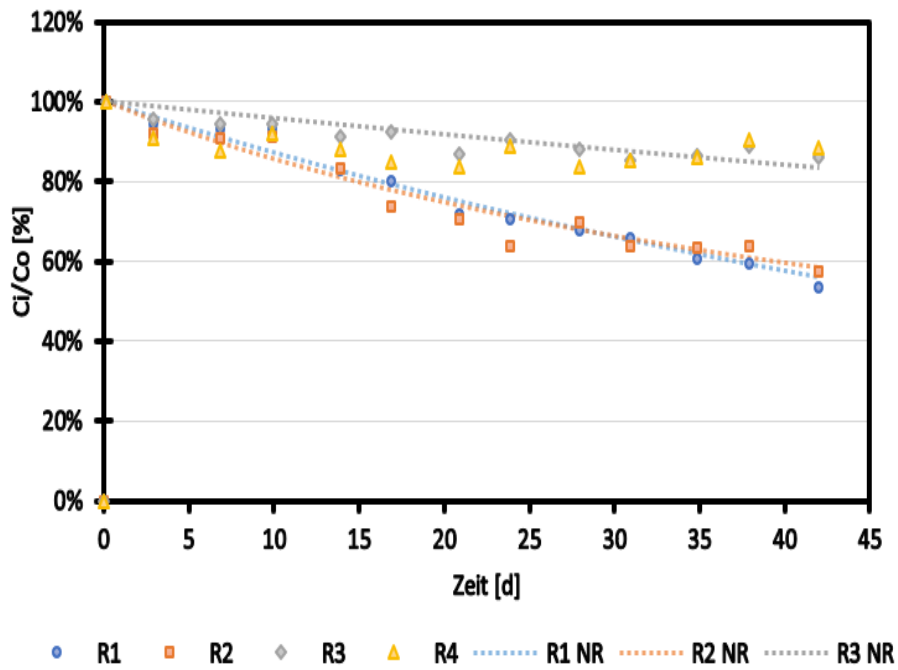


Abbildung A.26: Sulfadiazin.

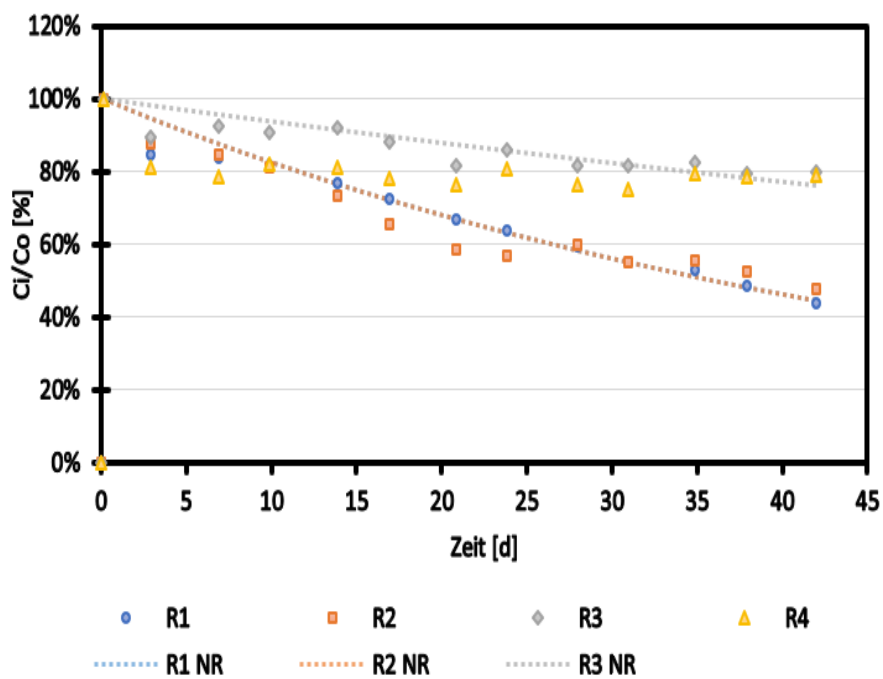


Abbildung A.27: Sulfadimethoxin.

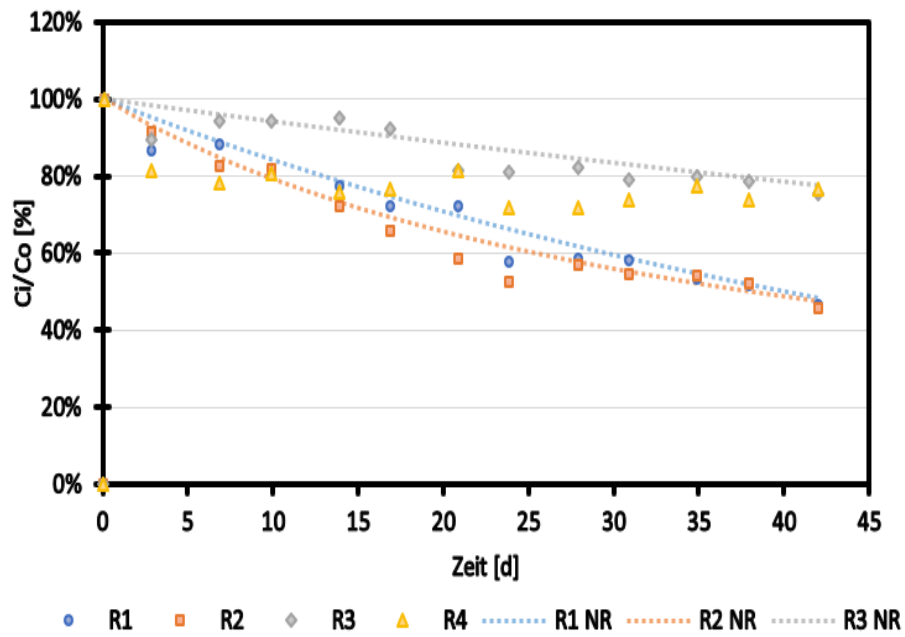


Abbildung A.28: Sulfamethoxazol.

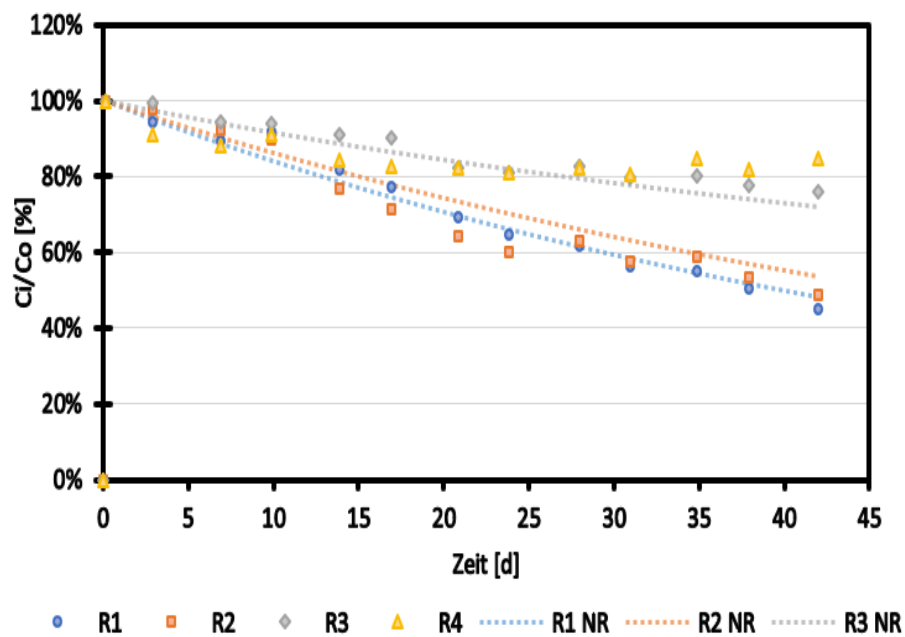


Abbildung A.29: Sulfamethazin.

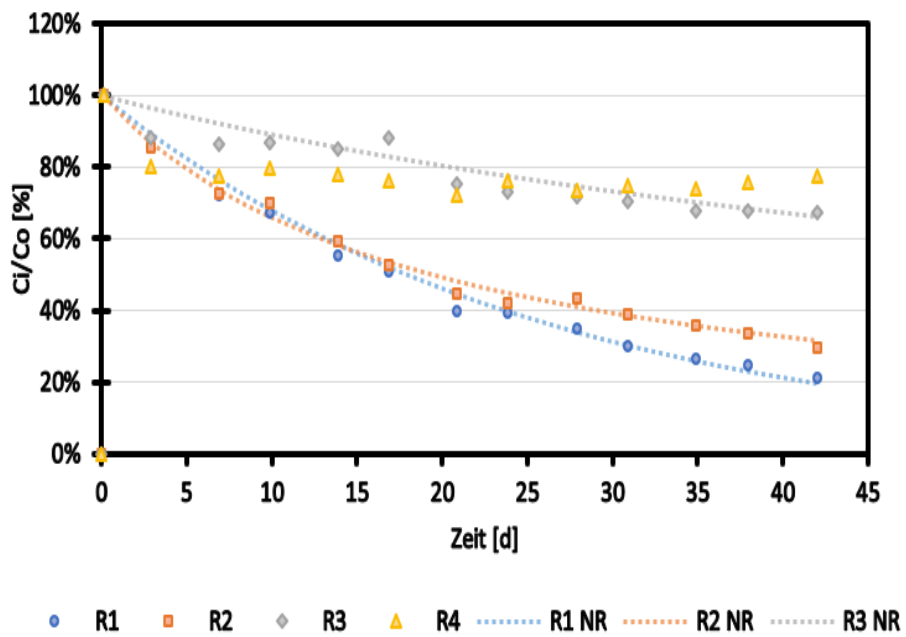


Abbildung A.30: Sulfapyridin.

A.4.3 Tetracycline

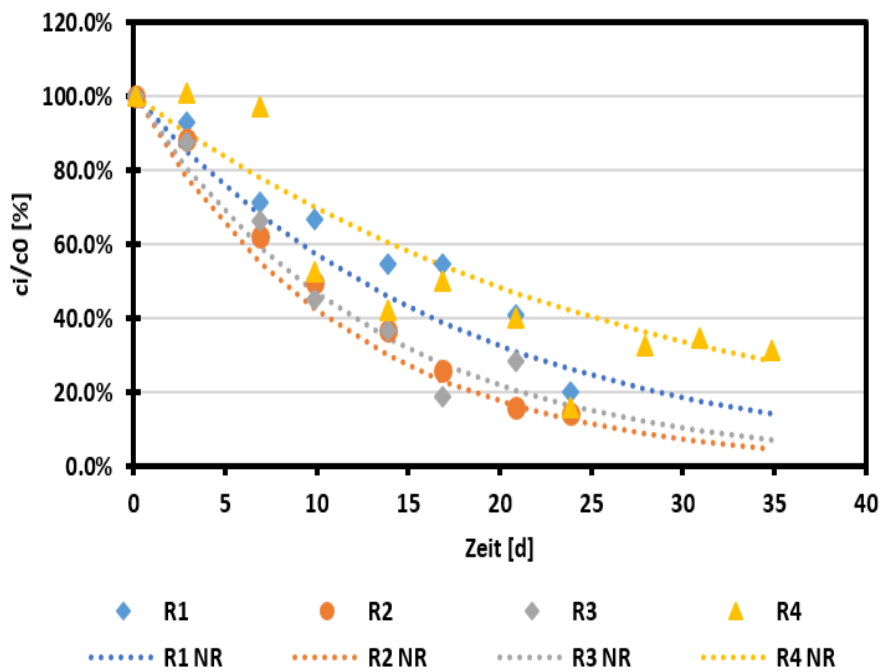


Abbildung A.31: Chlorotetracyclin.

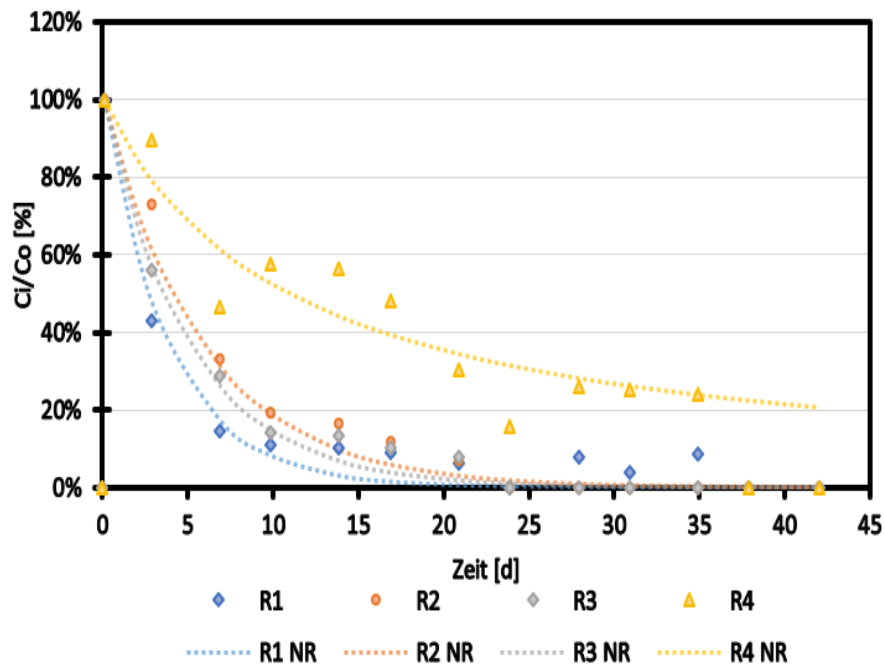


Abbildung A.32: Doxytetracyclin.

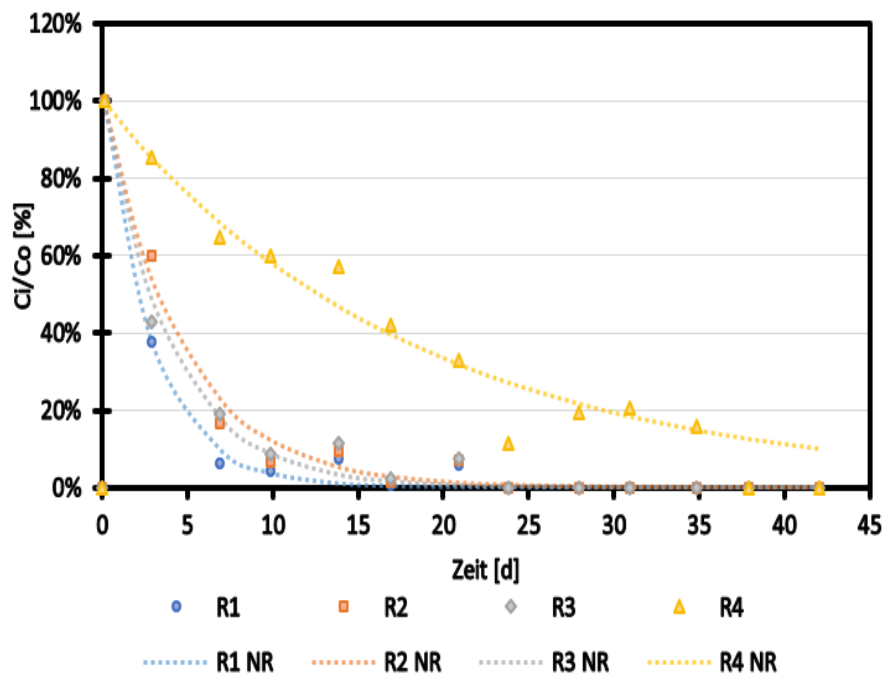


Abbildung A.33: Oxytetracyclin.

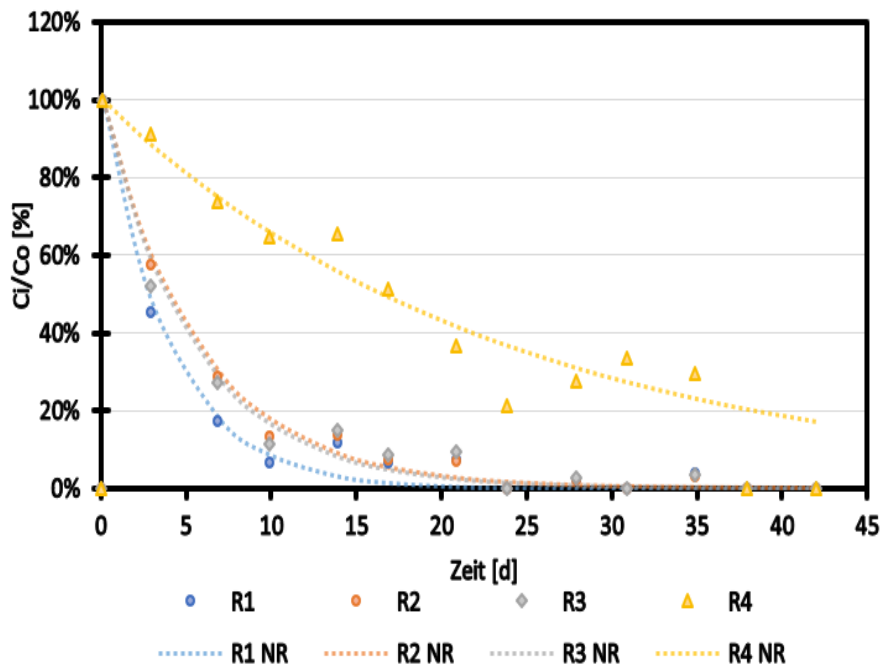


Abbildung A.34: Tetracyclin.

A.4.4 Andere

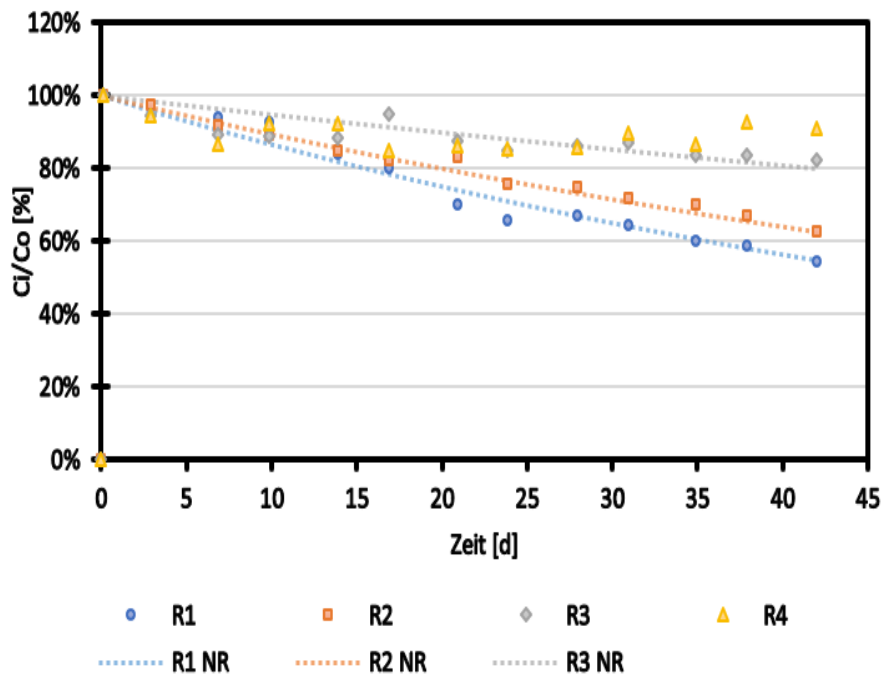


Abbildung A.35: Clindamycin.

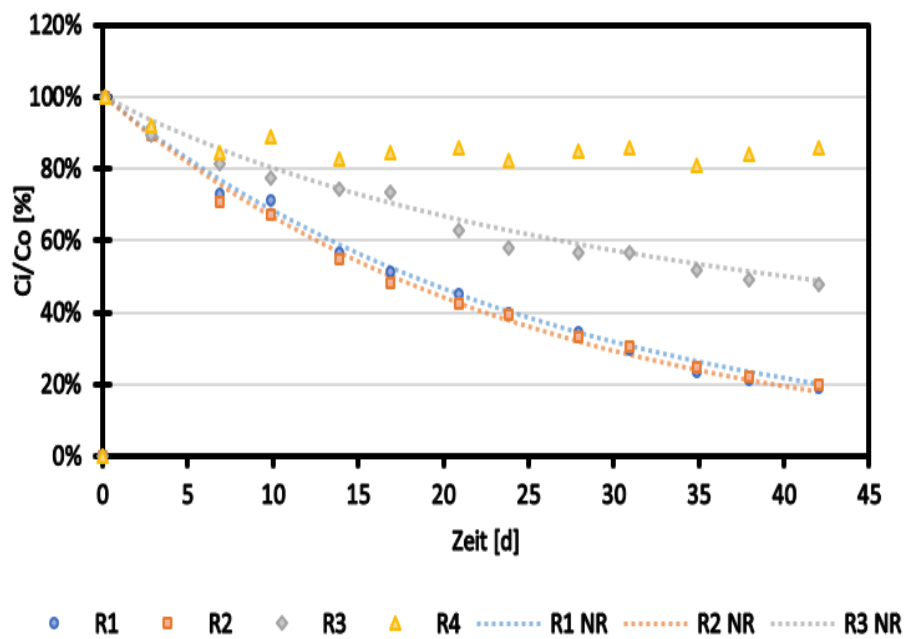


Abbildung A.36: Trimethoprim.

A.5 Feldstudie

Konzentration an AB in der Sediment- und Oberflächenwasserphase für die Probenahmepunkte nach Einleitung des Kläranlagenablaufs in die Alb (D1 bis D11). Linke y-Achse Massenanteil im Sediment (schwarz), rechte y-Achse Massenkonzentration im Oberflächenwasser der Alb (blau).

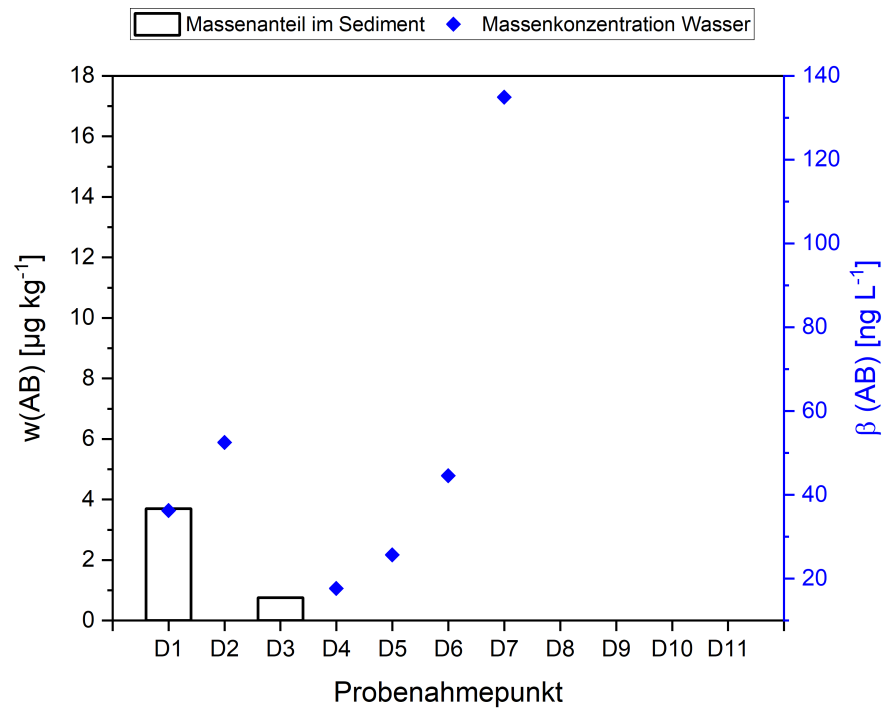


Abbildung A.37: Konzentration an Ciprofloxacin.

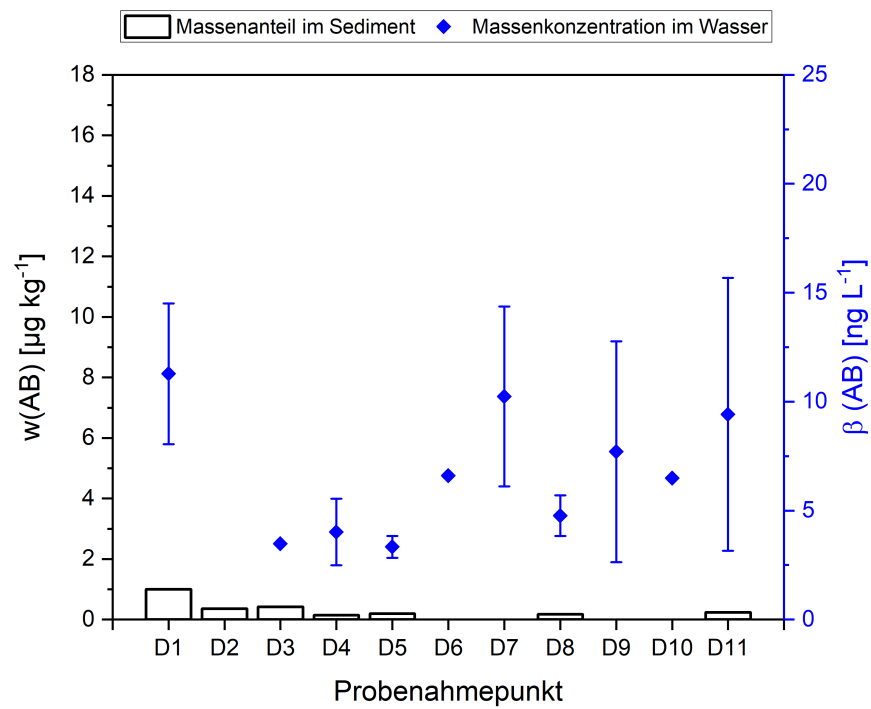


Abbildung A.38: Konzentration an Oxifloxacin.

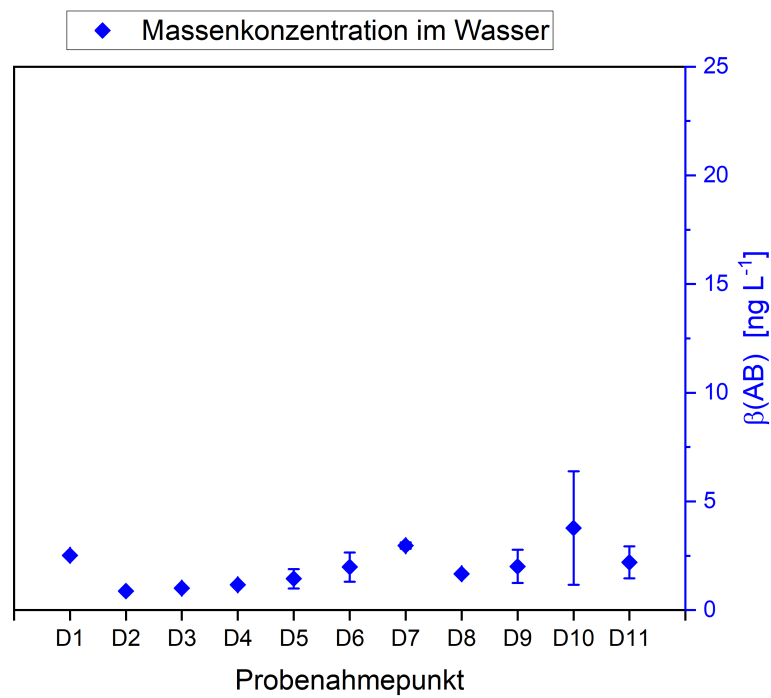


Abbildung A.39: Konzentration an Clarithromycin.

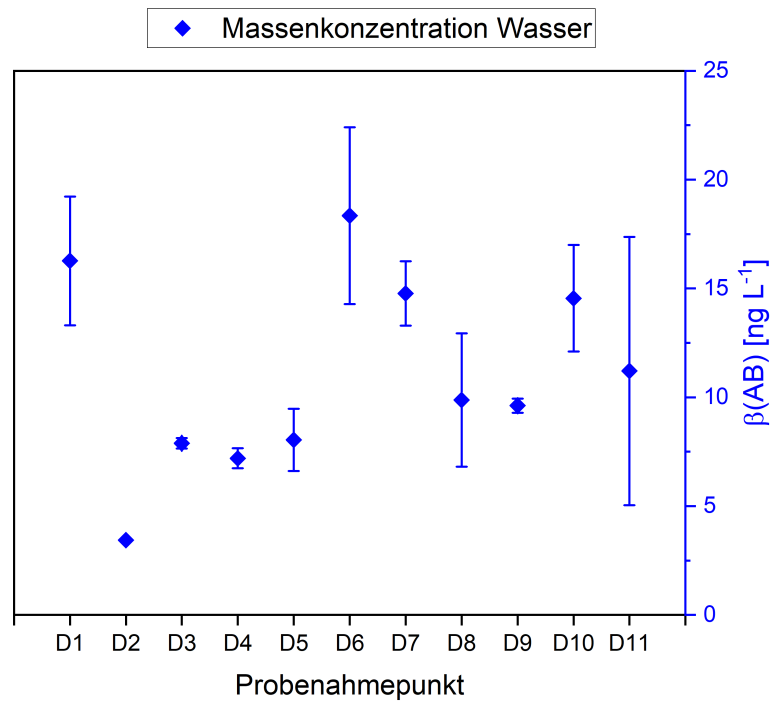


Abbildung A.40: Konzentration an Erythromycin.

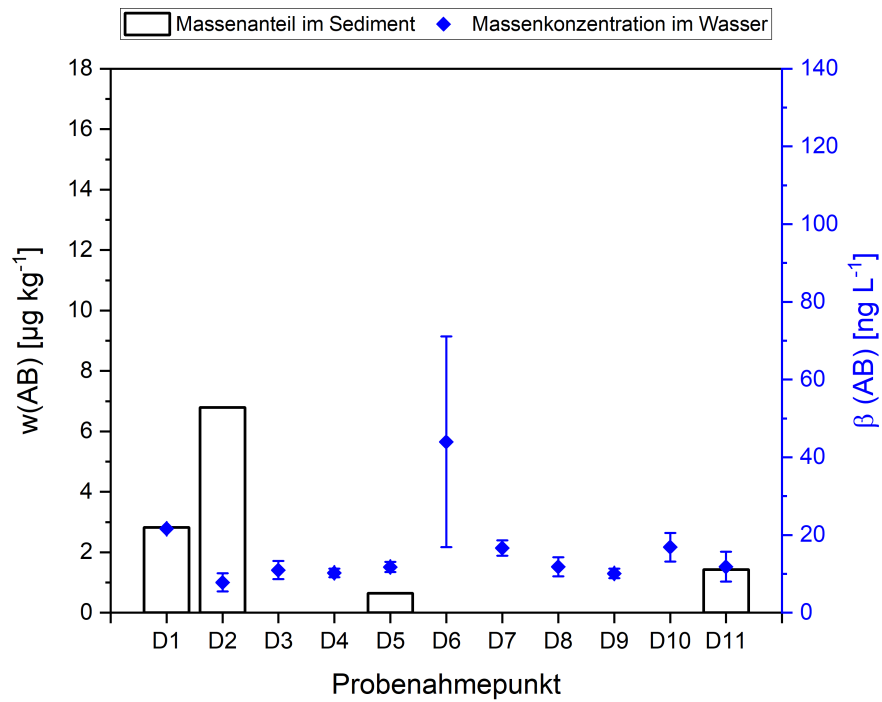


Abbildung A.41: Konzentration an Erythromicin-dehydrato.

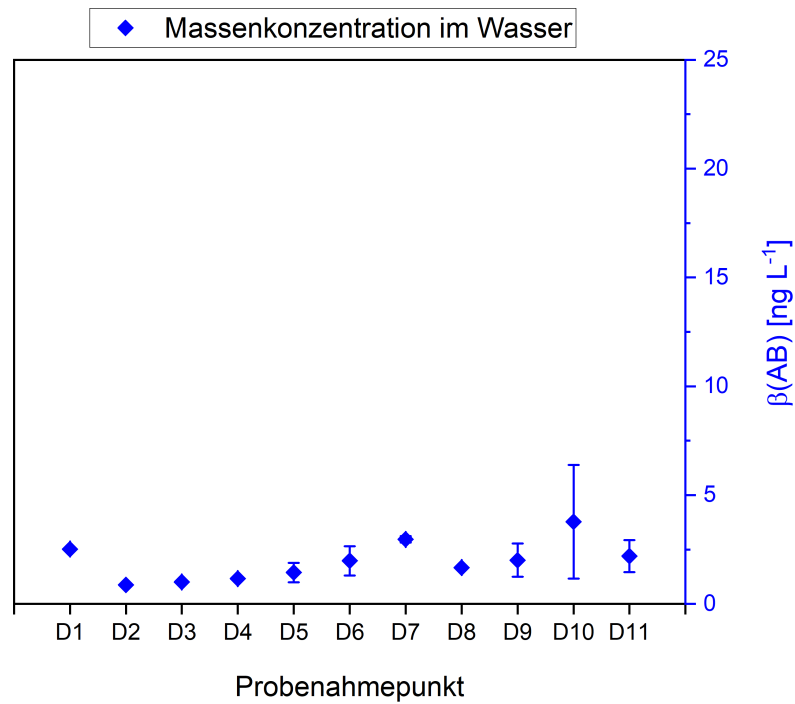


Abbildung A.42: Konzentration an Roxithromycin.

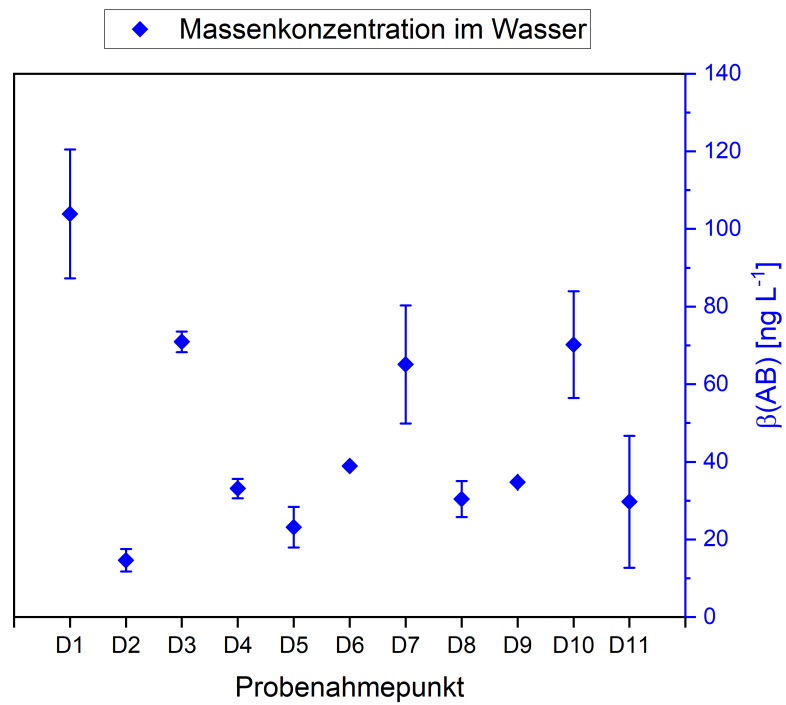


Abbildung A.43: Konzentration an Sulfamethoxazol.

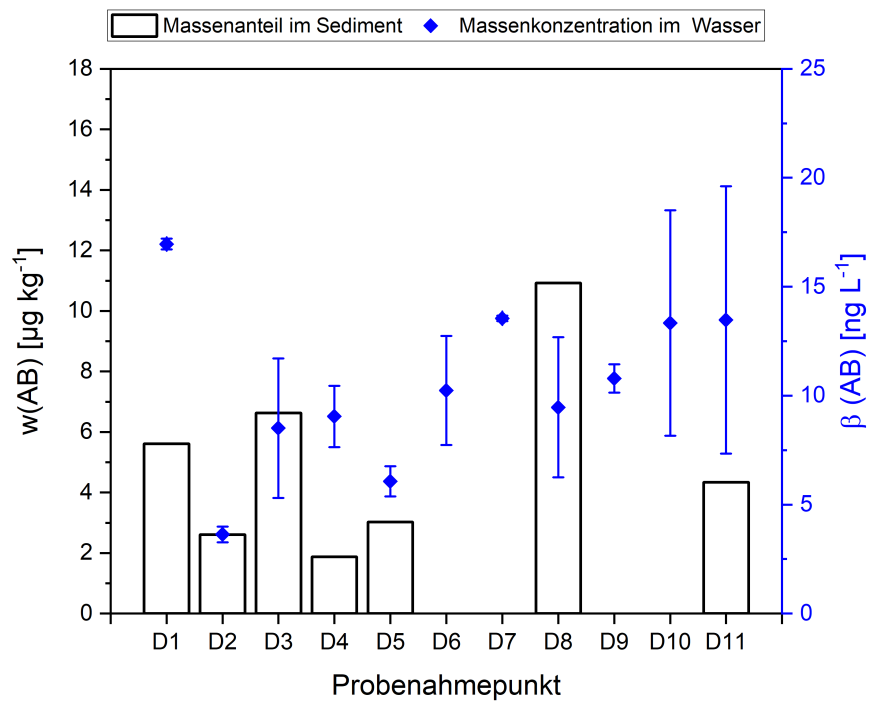


Abbildung A.44: Konzentration an Sulfapyridin.

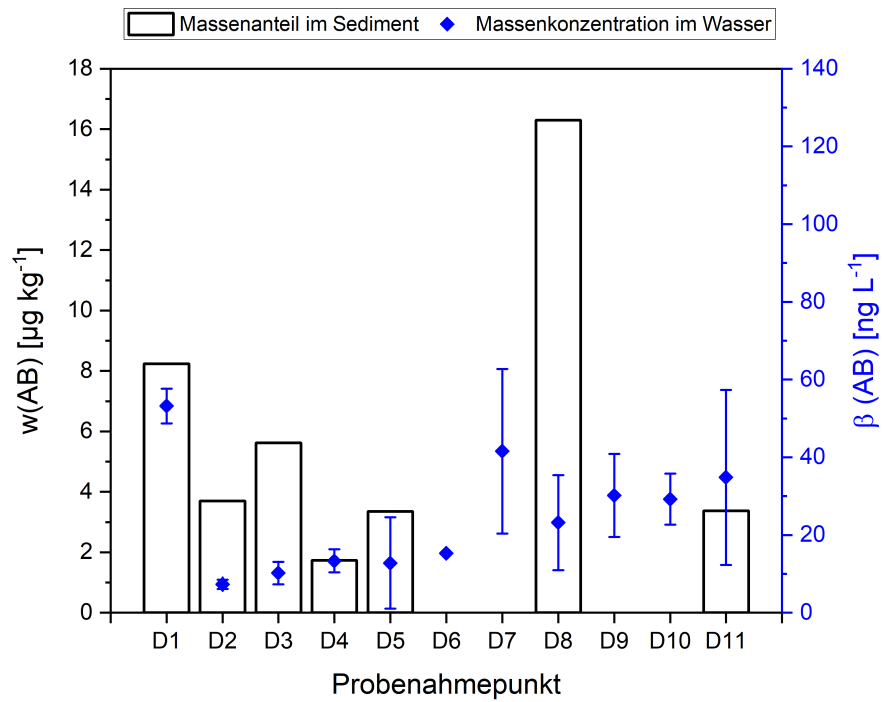


Abbildung A.45: Konzentration an Clindamycin.

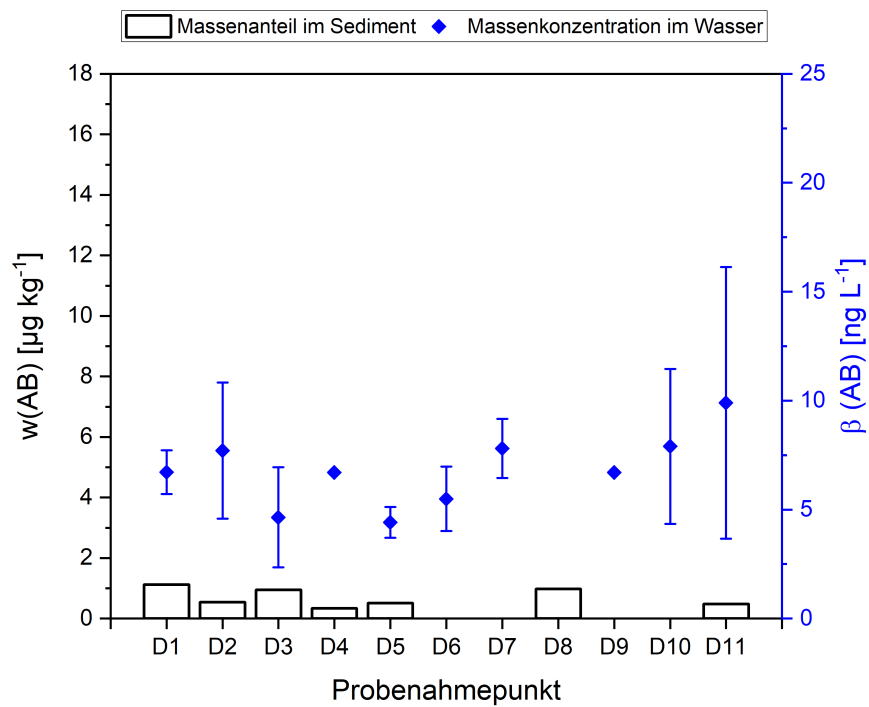


Abbildung A.46: Konzentration an Trimethoprim.

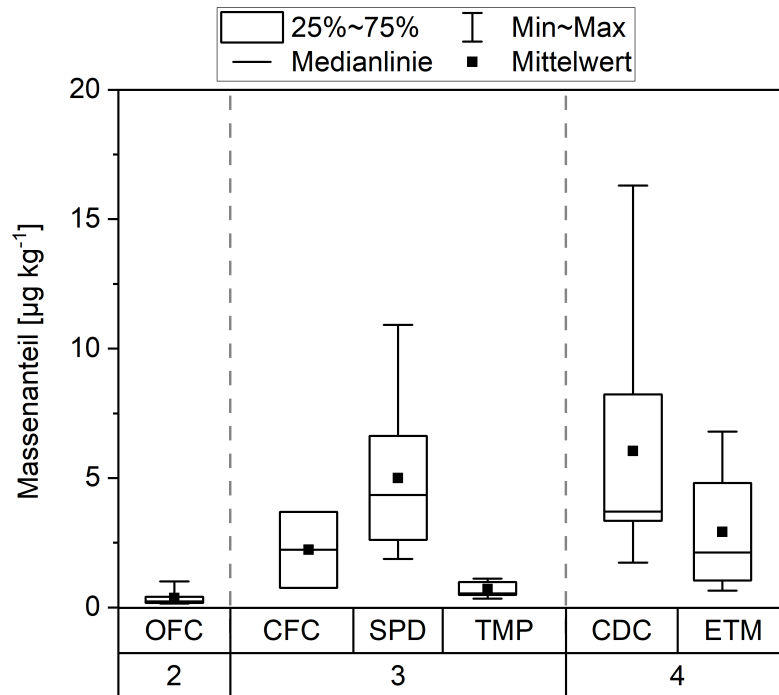


Abbildung A.47: Massenanteil AB in der Sedimentphase flussabwärts nach Einleitung des Kläranlagenablaufs, ABs sortiert nach $\log(K_{OW})$ -Gruppen.

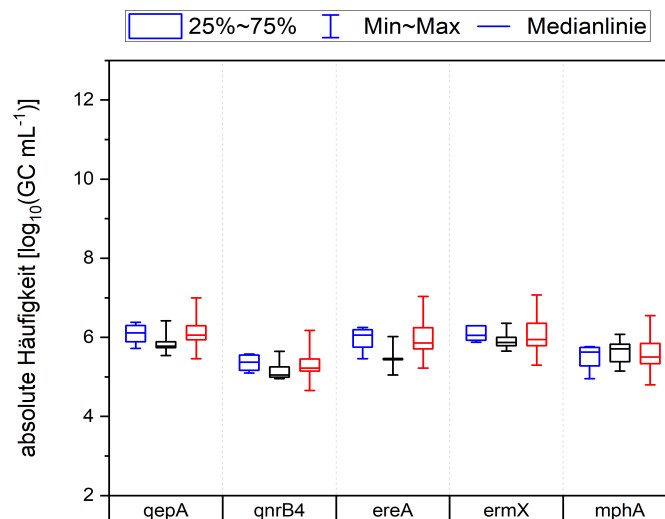


Abbildung A.48: ARGs der Fluorchinolone (qepA, qnrB4) und Makrolide (ereA, ermX₂, mphA) in der Wasserphase der Alb vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3, blau), im Kläranlagenablauf (schwarz, E1 bis E3) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11, rot).

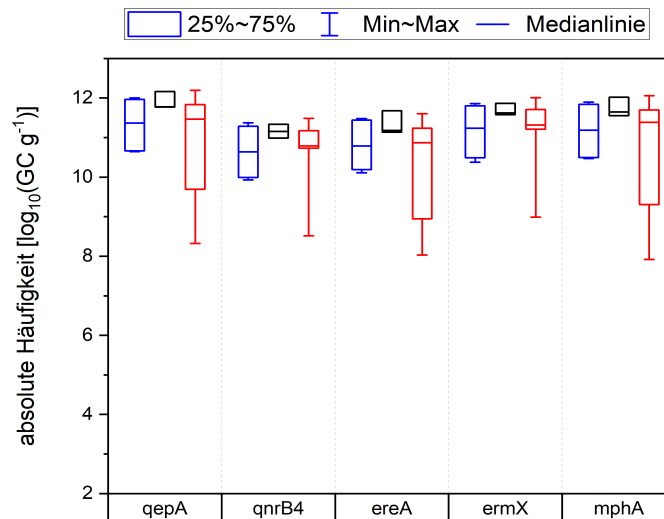


Abbildung A.49: ARGs der Fluorchinolone (qepA, qnrB4) und Makrolide (ereA, ermX₂, mphA) in der Sedimentphase der Alb vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3, blau), im Kläranlagenablauf (schwarz, E1 bis E3) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11, rot).

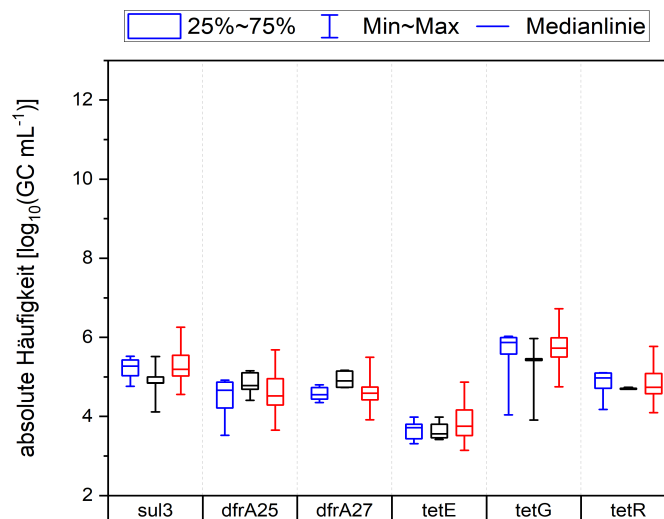


Abbildung A.50: ARGs der Sulfonamide (sul3), Trimethoprim (dfrA25, A27) und Tetracycline (TetE, G, R) in der Wasserphase der Alb vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3, blau), im Kläranlagenablauf (schwarz, E1 bis E3) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11, rot).

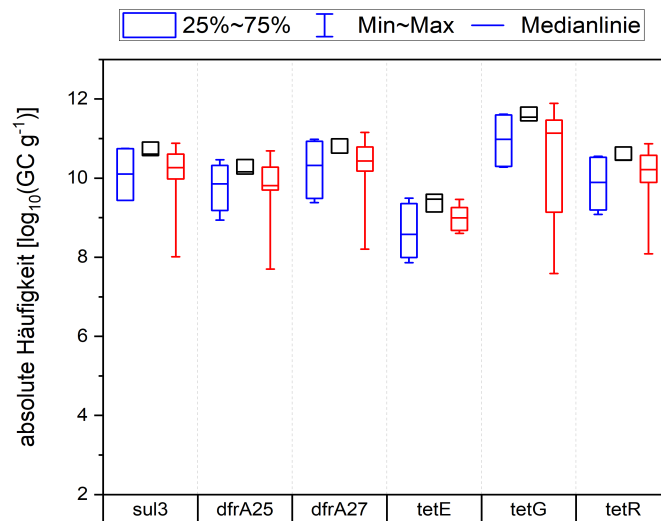


Abbildung A.51: ARGs der Sulfonamide (sul3), Trimethoprim (dfrA25, A27) und Tetracycline (tetE, G, R) in der Sedimentphase der Alb vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3, blau), im Kläranlagenablauf (E1 bis E3, schwarz) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11, rot).

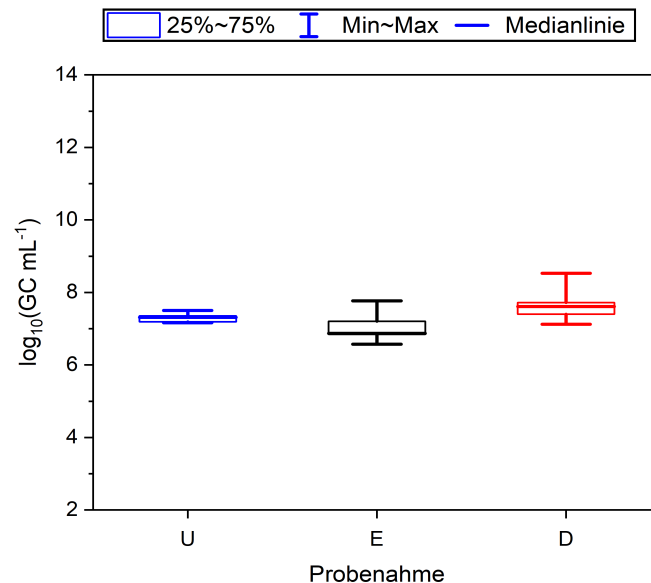


Abbildung A.52: 16S rRNA in der Wasserphase der Alb vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3, blau), im Kläranlagenablauf (E1 bis E3, schwarz) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11, rot).

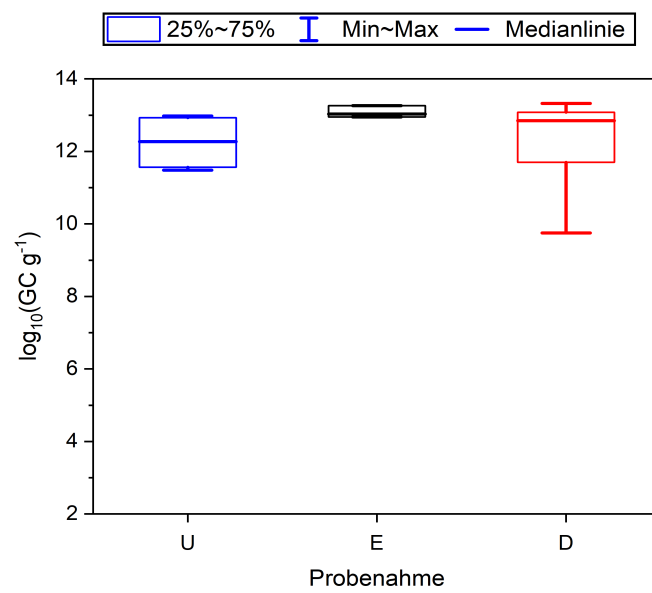


Abbildung A.53: 16S rRNA in der Sedimentphase der Alb vor Einleitung des Kläranlagenablaufs (U1 bis U3, blau), im Kläranlagenablauf (E1 bis E3, schwarz) und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D11, rot).

B. Tabellen

B.1 Einleitung

Tabelle B.1: Weitere Informationen zur Herkunft, Wirkung, Anwendung der ABs. Außerdem wurde aufgelistet, ob Vertreter der ABs-Klassen auf der Überwachungsliste der EU aufgeführt werden. Die letzte Spalte bezieht sich auf die Angaben zur Einteilung der ABs nach den Kriterien der Weltgesundheitsorganisation (world health organisation, WHO).

ABs-Klasse	Natürliches oder synthetisches AB ^[a]	Bakterizid oder Bakteriostatisch ^[a,b]	Wirkung gegen Bakterien Typen ^[b,c]	Anwendungsbereich	Beobachtungsliste EU und Jahr ^[d]	WHO Liste der essentiellen Medikamente und ABs Gruppe* ^[e]
Clindamycin	Halb synthetisch ^[f]	Bakteriostatisch bis bakterizid ^[g]	Breitspektrum AB ^[g]	HM und VM ^[g]	2022	Access Group
Fluorchinolone	halb synthetisch	Bakterizid	Breitspektrum AB	HM: CFC, NFC, OFC VM:EF	OFC (2022), CFC seit (2018 und 2020)	Watch Group: CFC, NFC, OFC
Makrolide	ETM: Naturstoff CTM, RTM: halb synthetisch	Bakteriostatisch	Breitspektrum AB	HM: ERM, RTM und CTM ^[h] VM: ETM ^[i]	CTM und ETM (2015 und 2018)	Watch Group: ETM, ETM, RTM,
Sulfonamide	Synthetisch	bakteriostatisch	Breitspektrum AB bzw. grampositive Bakterien	HM: SMX ^[j] VM: SMZ, SDZ, SDM ^[k]	SMX (2018 und 2022)	Access Group: SDZ, SMX, SPD, SDM

ABs-Klasse	Natürliches oder synthetisches AB ^[a]	Bakterizid oder Bakteriostatisch ^[a,b]	Wirkung gegen Bakterien Typen ^[b,c]	Anwendungsbereich	Beobachtungsliste EU und Jahr ^[d]	WHO Liste der essentiellen Medikamente und ABs Gruppe* ^[e]
Tetracycline	Naturstoffe DXC: Halb-synthetisch	bakteriostatisch	Breitspektrum AB	HM und VM ^[b]	Nicht aufgeführt	Watch Group: CTC, OTC Access Group: DCX, TCT
Trimethoprim	k. A.	Bakterizid	k. A.	HM ^[f]	2020 und 2022	Access Group

Einteilung nach der WHO. Unterteilung der ABs in drei Gruppen: "Access Group" (Zugangsguppe): erste und zweite Wahl, stellt den besten therapeutischen Nutzen dar bei gleichzeitiger Minimierung für eine mögliche Resistenzbildung; „Watch Group“ (Überwachungsgruppe): nur für eingeschränkten Kreis an ausgewiesenen Erkrankungen, spezifischen Syndromen, anfälliger für AR und sollten bei Monitoring-Programm priorisiert werden; „Reserve Group“ (Reserve Gruppe: Reserve AB) nur für ausgewählte Patienten mit Infektionen mit multi-resistenten Bakterien, Überwachung, ob Wirkung noch gegeben ist. Abkürzungen: Human- (HM) und oder Veterinärmedizin (VM), Breitspektrum AB umfasst gram positive und negative Bakterien, Abkürzung für ABs siehe Tabelle 1.1 ;keine Angabe (k. A.).

Quellen: [a] (Brown u. a. 2016), [b] (Küster u. a. 2013), [c] (Lewis 2013), [d] (European Commission 2015) (European Commission 2018) (European Commission 2020) (European Commission 2022), [e] (World Health Organization 2020) (World Health Organization 2021), [f] (PubChem 2022), [g] (Wünnemann u. a. 2020), [h] (Van Doorslaer u. a. 2014), [i] (Kerrigan u. a. 2018a), [j] (Märtlbauer 2011a), [k] (Baran u. a. 2011), [l] (Märtlbauer 2011c)

B.2 Material und Methoden

Tabelle B.2: Angaben zur Reinheit und Hersteller der verwendeten Antibiotika.

Bezeichnung	CAS-Nummer	Reinheit [%]	Hersteller und Land
Erythromycin hydrat	114-07-8	96,0	Sigma Aldrich (Deutschland)
Roxithromycin	80214-83-1	95,3	Sigma Aldrich (Deutschland)
Chlortetracyclin Hydrochlorid	64-72-2	81,7	Sigma Aldrich (Deutschland)
Oxytetracyclin HCl	2058-46-0	98,3	Sigma Aldrich (Deutschland)
Meclocyclin Sulfosalicylat	73816-42-9	99,0	Sigma Aldrich (Deutschland)
Ciprofloxacin	85721-33-1	99,9	Sigma Aldrich (Deutschland)
Sulfadimethoxin	122-11-2	98,5	Sigma Aldrich (Deutschland)
Sulfachloropyridazin	80320	Rein	Sigma Aldrich (Deutschland)
Sulfapyridin	144-83-2	99,0	Sigma Aldrich (Deutschland)
Clarithromycin	81103-11-9	98,4	Alfa Aesar (Deutschland)
Clindamycin HCl	58207-19-5	Rein	Alfa Aesar (Deutschland)
Tetracyclin HCl	64-75-5	99,1	Alfa Aesar (Deutschland)
Doxycyclin Hyclate	24390-14-5	1,8 % Wasser; 5,4 % Ethanol	Alfa Aesar (Deutschland)
Demeclocycline	127-33-3	93,2	Alfa Aesar (Deutschland)
Enrofloxacin	93106-60-6	98,0	Alfa Aesar (Deutschland)
Ofloxacin	82419-36-1	>98,5	Alfa Aesar (Deutschland)
Norfloxacin	70458-96-7	99,4	Alfa Aesar (Deutschland)
Sulfadiazin	68-35-9	99,8	Alfa Aesar (Deutschland)
Sulfamethazin	57-68-1	99,7	Alfa Aesar (Deutschland)
Sulfamethoxazol	723-46-6	98,0	Alfa Aesar (Deutschland)
Trimethoprim	738-70-5	99,8	Alfa Aesar (Deutschland)
Clinafloxacin	105956-97-6		Cayman Chemical Company (USA)

Tabelle B.3: Angaben zur Herstellung der Stammlösung der Antibiotika. Zielkonzentration 1 g L^{-1} in 10 mL (Maßkolben).

ABs	Abkürzung	Volumenanteil Methanol [%]	Volumenanteil H ₂ O [%]	Zugabe Säure oder Base
Erythromycin hydrat	ETM	50	50	
Roxithromycin	RTM	50	50	
Clarithromycin	CTM	50	50	HCl (37 %), 1 Tropfen
Chlortetracycline · hydrochloride	CTC	50	50	
Oxytetracycline · HCl	OTC	50	50	
Tetracycline · HCl	TCC	50	50	
Doxycycline hyclate	DXC	50	50	
Ciprofloxacin	CFC	50	50	1 Tropfen HCl (37 %)
Enrofloxacin	EFC	50	50	1 Tropfen HCl (37 %)
Norfloxacin	NFC	50	50	1 Tropfen HCl (37 %)
Ofloxacin	OFC	50	50	1 Tropfen HCl (37 %)
Sulfadiazine	SDZ	50	50	5 mL 1 M NaOH
Sulfadimethoxine	SDM	100	0	1 Tropfen NH ₃ (fl)
Sulfamethazine or Sulfadimidine	SMZ	80	20	
Sulfamethoxazole	SMX	80	20	
Sulfachloropyridazine	SCP	80	20	
Sulfapyridine	SPD	100	0	2 Tropfen 1 M NaOH
Trimethoprim	TMP	50	50	
Clindamycin · HCl	CDC	50	50	

Tabelle B.4: Chromatographische Bedingungen zur Quantifizierung der ausgewählten Antibiotika.

Eluent A:	0.05 % Ameisensäure in HPLC Wasser	
Eluent B:	0.05 % Ameisensäure in Acetonitril	
Fluss:	300 $\mu\text{L min}^{-1}$	
Injektionsvolumen:	50 μL	
Post-Zeit	2.0 min	
Zeit [min]	A [%]	B [%]
0	95	5
0.2	95	5
4.2	5	95
6	5	95

Tabelle B.5: Quellenparameter für die Quantifikation der ABs mittels LC-MS/MS.

Quellenparameter	Wert	Einheit
Gas Temperatur	230	$^{\circ}\text{C}$
Gas Fluss	8	L min^{-1}
Nebulisator	40	psi
Temperatur des Mantelgas	400	$^{\circ}\text{C}$
Spannung der Kapillare	Positive: 3500	V
	Negative: 3500	V

Tabelle B.6: Surrogate und interner Standard für die Methodenentwicklung von SPE und PLE sowie für die Quantifizierung der ABs in den Sedimentproben. Die Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze (LOD und LOQ) beziehen sich nur auf die LC-MS/MS Methode.

ABs-Klasse	Name	Abk.	LOD [ng L ⁻¹]	LOQ [ng L ⁻¹]	Interner Standard	Abk.	Surrogat
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	CFC	5.0	10.0	Ciprofloxacin-d8	CFC-d8	
	Clinafloxacin	CLF	100.0	250.0	Enrofloxacin-d5		
	Enrofloxacin	EFC	25.0	50.0	Enrofloxacin-d5	EFC-d5	Clinafloxacin
	Norfloxacin	NFC	100.0	250.0	Norfloxacin-d5	NFC-d5	
	Ofloxacin	OFC	50.0	75.0	Ofloxacin-d3	OFC-d3	
Makrolide	Clarithromycin	CTM	10.0	25.0	Clarithromycin-d3	CTM-d3	
	Erythromycin	ETM	10.0	25.0	Erythromycin-d3	ETM-d3	Olean-
	Erythromycin-H ₂ O	ETM-H ₂ O	10.0	25.0	Erythromycin-d3	ETM-d3	domycin-
	Roxithromycin	RTM	10.0	25.0	Roxithromycin-d7	RTM-d7	triacetat
	Oleandomycin-triacetat	ODL	10.0	25.0	Clarithromycin-d3		
Andere	Clindamycin	CDC	2.5	5.0	Clindamycin-d3	CDC-d3	Sulfachloro-
	Trimethoprim	TMP	5.0	7.5	Trimethoprim-d3	TMP-d3	pyridazin

Tabelle B.7: Fortsetzung der Surrogate und internen Standards für die Methodenentwicklung von SPE und PLE sowie für die Quantifizierung der AB in den Sedimentproben. Die Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze (LOD und LOQ) beziehen sich nur auf die LC-MS/MS Methode.

ABs-Klasse	Name	Abk.	LOD [ng L ⁻¹]	LOQ [ng L ⁻¹]	Interner Standard	Abk.	Surrogat
Sulfonamide	Sulfadiazin	SDZ	2.5	5.0	Sulfadiazin-d4	SDZ-d4	
	Sulfadimethoxin	SDM	2.5	5.0	Sulfadimethoxin-d6	SDM-d6	
	Sulfamethazin	SMZ	5.0	7.5	Sulfamethazin-d4	SMZ-d4	Sulfachloro- pyridazin
	Sulfamethoxazol	SMX	5.0	7.5	Sulfamethoxazol-d4	SMX-d4	
	Sulfapyridin	SPD	2.5	5.0	Sulfapyridin-d4	SPD-d4	
	Sulfachloropyridazin	SCP	5.0	7.5	Sulfadiazin-d4		
Tetracycline	Chlortetracyclin	CTC	50.0	75.0	Demeclocyclin	DMC	
	Doxycyclin	DCX	50.0	75.0	Doxycyclin-d3	DCX-d3	
	Oxytetracyclin	OTC	50.0	75.0	Demeclocyclin	DMC	Meclocyclin
	Meclocyclin	MCC	10.0	50.0	Demeclocyclin	DMC	
	Tetracyclin	TCT	50.0	75.0	Demeclocyclin	DMC	

Tabelle B.8: Parameter des Triple-Quadrupolmassenspektrometers für die Quantifikation der ABs.

ABs-Klasse	AB	Retentionszeit [min]	Precursor Ion [m z ⁻¹]	Quantifier [m z ⁻¹]	Qualifier [m z ⁻¹]	Fragmentor [V]	Kollisionsenergie [V]
Sulfonamide	Sulfadiazin	2.5	251.1	155.9	108	110	12
	Sulfadiazin-d4	2.5	255.1	159.9	112	120	16
	Sulfamethoxazol	3.33	254.1	155.9	92	105	16
	Sulfamethoxazol-d4	3.32	258.1	159.9	96	90	12
	Sulfapyridin	2.7	250.1	155.9	108	120	16
	Sulfapyridin-d4	2.7	254.1	159.9	112	115	16
	Sulfadimethoxin	3.6	311.1	155.9	92	145	20
	Sulfadimethoxin-d6	3.64	317.1	162	65	145	24
	Sulfamethazin	3.01	279.1	185.9	148.9	120	16
	Sulfamethazin-d4	3.01	283.1	185.9	124	125	16
Andere	Sulfachloropyridazin	3.23	285	155.9	92	105	12
	Trimethoprim	2.74	291.2	261	230	150	28
	Trimethoprim-d3	2.74	294.2	230	123	160	28
	Clindamycin	3.17	425.2	126	69.7	155	28
	Clindamycin-d3	3.1	428.2	129	45.1	160	32

Tabelle B.9: Fortsetzung der Parameter des Triple-Quadrupolmassenspektrometers für die Quantifikation der ABs.

ABs-Klasse	AB	Retentionszeit [min]	Precursor Ion [m z ⁻¹]	Quantifier [m z ⁻¹]	Qualifier [m z ⁻¹]	Fragmentor [M]	Kollisionsenergie [V]
Fluor- chinolone	Ciprofloxacin	2.75	332.1	314.1	288.1	120	20
	Ciprofloxacin-d8	2.75	340.2	322.2	296.3	130	20
	Ofloxacin	2.76	362.2	344.1	318.1	150	20
	Ofloxacin-d3	2.76	365.2	321.1	261	150	20
	Norfloxacin	2.82	320.1	302.1	276	145	20
	Norfloxacin-d5	2.85	325.2	307.1	281.1	145	20
	Enrofloxacin	2.91	360.2	342.1	316.1	155	20
	Enrofloxacin-d5	2.82	365.2	321.2	245	145	20
	Clinafloxacin	2.97	366.1	348.1	305.1	135	20
Tetracycline	Tetracyclin	2.86	445.2	410.1	153.9	125	20
	Oxytetracyclin	2.76	461.2	426.1	200.9	130	20
	Chlortetracyclin	2.96	479.1	462	444	140	20
	Doxycycline	3.19	445.2	428.1	267	130	16
	Doxycyclin-d3	3.2	448.2	431.1	154.9	145	20
	Meclocyclin	3.37	477.1	460	234.9	140	16
	Demeclocyclin	3	465.1	448	430	145	16

Tabelle B.10: Fortsetzung der Parameter des Triple-Quadrupolmassenspektrometers für die Quantifikation der ABs.

ABs-Klasse	AB	Retentionszeit [min]	Precursor Ion [m z ⁻¹]	Quantifier [m z ⁻¹]	Qualifier [m z ⁻¹]	Fragmentor [V]	Kollisionsenergie [V]
Makrolide	Erythromycin	3.05	734.5	576.3	158	175	20
	Erythromycin-H ₂ O	3.69	716.5	558.3	158	165	12
	Erythromycin-d3	3.49	737.5	579.4	161	170	20
	Roxithromycin	3.7	837.5	679.4	158	175	20
	Roxithromycin-d7	3.69	844.6	686.5	158	185	20
	Clarithromycin	3.77	748.5	590.3	158	175	16
	Clarithromycin-d3	3.76	751.5	593.3	161	175	20
	Oleandomycin-triacetat	3.88	814.5	200	98.1	185	24

Tabelle B.11: Surrogate und interne Standards für die Quantifizierung der AB in Oberflächenwasser im Rahmen der Feldstudie. Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze (LOD und LOQ) beziehen sich nur auf die LC-MS/MS Methode.

ABs-Klasse	Name	Abk.	LOD [ng L ⁻¹]	LOQ [ng L ⁻¹]	Surrogat	Abk.	Interner Standard
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	CFC	5.0	10.0	Ciprofloxacin-d8	CFC-d8	
	Clinafloxacin	CLF	100.0	250.0	Enrofloxacin-d5		
	Enrofloxacin	EFC	25.0	50.0	Enrofloxacin-d5	EFC-d5	Clinafloxacin
	Norfloxacin	NFC	100.0	250.0	Norfloxacin-d5	NFC-d5	
	Ofloxacin	OFC	50.0	75.0	Ofloxacin-d3	OFC-d3	
Makrolide	Clarithromycin	CTM	10.0	25.0	Clarithromycin-d3	CTM-d3	
	Erythromycin	ETM	10.0	25.0	Erythromycin-d3	ETM-d3	Olean-
	Erythromycin-H ₂ O	ETM-H ₂ O	10.0	25.0	Erythromycin-d3	ETM-d3	domycin-
	Roxithromycin	RTM	10.0	25.0	Roxithromycin-d7	RTM-d7	triacetat
	Oleandomycin-triacetat	ODL	10.0	25.0	Clarithromycin-d3		
Andere	Clindamycin	CDC	2.5	5.0	Clindamycin-d3	CDC-d3	Sulfachloro-
	Trimethoprim	TMP	5.0	7.5	Trimethoprim-d3	TMP-d3	pyridazin

Tabelle B.12: Fortsetzung Surrogate und interne Standards für die Quantifizierung der AB in Oberflächenwasser im Rahmen der Feldstudie. Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze (LOD und LOQ) beziehen sich nur auf die LC-MS/MS Methode.

ABs-Klasse	Name	Abk.	LOD [ng L ⁻¹]	LOQ [ng L ⁻¹]	Surrogat	Abk.	Interner Standard
Sulfonamide	Sulfadiazin	SDZ	2.5	5.0	Sulfadiazin-d4	SDZ-d4	
	Sulfadimethoxin	SDM	2.5	5.0	Sulfadimethoxin-d6	SDM-d6	
	Sulfamethazin	SMZ	5.0	7.5	Sulfamethazin-d4	SMZ-d4	Sulfachloro- pyridazin
	Sulfamethoxazol	SMX	5.0	7.5	Sulfamethoxazol-d4	SMX-d4	
	Sulfapyridin	SPD	2.5	5.0	Sulfapyridin-d4	SPD-d4	
	Sulfachloropyridazin	SCP	5.0	7.5	Sulfadiazin-d4		
Tetracycline	Chlortetracyclin	CTC	50.0	75.0	Demeclocyclin	DMC	
	Doxycyclin	DCX	50.0	75.0	Doxycyclin-d3	DCX-d3	
	Oxytetracyclin	OTC	50.0	75.0	Demeclocyclin	DMC	Meclocyclin
	Meclocyclin	MCC	10.0	50.0	Demeclocyclin	DMC	
	Tetracyclin	TCT	50.0	75.0	Demeclocyclin	DMC	

Tabelle B.13: ARGs Primer für Hochdurchsatz PCR.

ARGs	Vorwärts Primer	Rückwärts Primer
qepA	GGGCATCGCGCTGTTC	GCGCATCGGTGAAGCC
qnrS	TCCCGAGCAAACCTTTGCCAA	GGTGAGTCCCTATCCAGCGA
qnrA	AGGATTTCTCACGCCAGGATT	CCGCTTTCAATGAAACTGCAA
qnrB	GCGACGTTTCAGTGGTTCAGA	GCTGCTCGCCAGTTCGAA
qnrB-4	TCACCACCCGCACCTG	GGATATCTAAATCGCCCAGTTCC
ereA	GATAATTCTGCTGGCGCACA	GCAGGCGTGGTCACAAC
ermB	GAACACTAGGGTTGTTCTTGCA	CTGGAACATCTGTGGTATGGC
ermX	GCTCAGTGGTCCCATGGT	ATCCCCCGTCAACGTTT
mphA	TCAGCGGGATGATCGACTG	GAGGGCGTAGAGGGCGTA
msrE	CGGCAGATGGTCTGAGCTTAAA	CGCACTCTTCCTGCATAAAGGA
sul1	GCCGATGAGATCAGACGTATTG	CGCATAGCGCTGGGTTTC
sul2	TCATCTGCCAACTCGTCGTTA	GTCAAAGAACGCCGCAATGT
sul3	TCCGTTTCAGCGAATTGGTGCAG	TTCGTTTCACGCCTTACACCAGC
tetG	TCAACCATTGCCGATTCGA	TGGCCCGGCAATCATG
tetM	TGGCAAGACGAGTTTGACTGA	GATCGCTCCACTTCAGCGATAA
tetD	AATTGCACTGCCTGCATTGC	GACAGATTGCCAGCAGCAGA
tetE	TTGGCGCTGTATGCAATGAT	CGACGACCTATGCGATCTGA
tetR	CCGTCAATGCGCTGATGAC	GCCAATCCATCGACAATCACC
dfrA27	GCCGCTCAGGATCGGTA	GTCGAGATATGTAGCGTGTGCG
dfrA25	TCAAACCTGGACAGCGGCTA	GTCGATTGTGACACATGCA
Intl1	CGAACGAGTGGCGGAGGGTG	TACCCGAGAGCTTGGCACCCA

B.3 Methodenentwicklung

Tabelle B.14: Zusammenstellung der Wiederfindungsraten in % für die verschiedenen SPE-Kartuschen. Wiederfindungsraten, die das Kriterium 80 % oder höher erfüllten, und eine geringe Spannweite für eine ABs-Klasse aufwiesen, sind **fett** hervorgehoben.

Nummer des Protokolls	I	II	III	IV
Kartuschentype	HLB (einzeln)	MCX (einzeln)	MAX (einzeln)	HLB-MCX (kombiniert)
ABs-Klasse				
Sulfonamide	56-69	59-110	9-70	61-116
Fluorchinolone	98-149	112-245	24-94	82-135
	NFC: 23			
Tetracycline	18-28	17-23	4-9	80-152
Makrolide	100-163	27-45	78-85	111-202
		ETM 137		
Andere	80; 149	99; 110	45; 94	13; 201

HLB - hydrophilen-lipophilen Umkehrphasen-Sorbens, MCX - Mixed-Mode Kationenaustauscher Sorbens

MAX - Mixed-Mode Anionenaustauscher Sorbens, NFC-Norfloxacin, ETM- Erythromycin

Tabelle B.15: Berechnete Matrixfaktoren für das MCX-Protokoll, relativ response (RR) entspricht dem Signal des Analyten durch das Signal des internen Standards, * für die Tetracycline wurden keine Korrekturen durch den internen Standard durchgeführt und deshalb keine RR berechnet. Die angegebenen Matrixfaktoren beziehen sich auf die Fläche. Nachweis- und Bestimmungsgrenze der Methode (MLOD, MLOQ). Berechnung der Matrixfaktoren, MLOD und MLOQ nach Formel 2.3, 2.4 und 2.6.

ABs-Klasse	AB Name	Abk.	Matrixfaktor bezogen auf RR	Matrixfaktor bezogen auf RR	Matrixfaktor bezogen auf RR	Matrixfaktor bezogen auf die Fläche	MLOD [ng L ⁻¹]	MLOQ [ng L ⁻¹]
Sulfonamide	Sulfapyridin	SPD	1.04	1.07	1.07	0.15	16.45	32.9
	Sulfadiazin	SDZ	1.03	1.28	1.28	0.25	10.07	20.15
	Sulfamethoxazol	SMX	0.98	1.03	1.03	0.07	67.14	100.72
	Sulfamethazin	SMZ	0.96	1.02	1.02	0.17	29.66	44.49
	Sulfadimethoxin	SDM	0.97	1.01	1.01	0.2	12.66	25.31
Fluorchinolone	Norfloxacin	NFC	0.62	1.6	1.6	0.18	557.7	1394.24
	Ciprofloxacin	CFC	0.65	1.63	1.63	0.17	28.93	57.85
	Enrofloxacin	EFC	1.15	1.67	1.67	0.19	133.08	266.16
	Ofloxacin	OFC	1.25	1.92	1.92	0.22	231.83	347.74

Tabelle B.16: Fortsetzung Berechnete Matrixfaktoren für das MCX-Protokoll, relativ response (RR) entspricht dem Signal des Analyten durch das Signal des internen Standards, * für die Tetracycline wurden keine Korrekturen durch den internen Standard durchgeführt und deshalb keine RR berechnet. Die angegebenen Matrixfaktoren beziehen sich auf die Fläche. Nachweis- und Bestimmungsgrenze der Methode (MLOD, MLOQ). Berechnung der Matrixfaktoren, MLOD und MLOQ nach Formel 2.3, 2.4 und 2.6.

ABs-Klasse	AB Name	Abk.	Matrixfaktor bezogen auf RR	Matrixfaktor bezogen auf RR	Matrixfaktor bezogen auf die Fläche	MLOD [ng L ⁻¹]	MLOQ [ng L ⁻¹]
Tetracycline*	Tetracyclin	TCT	0.43	0.31	0.31	159.83	239.75
	Doxycyclin	DXC	0.32	0.1	0.1	506.66	759.98
	Oxytetracyclin	OTC	0.36	0.27	0.27	187.15	280.73
	Chlortetracyclin	CTC	0.31	0.2	0.2	246.92	370.37
Macrolide	Erythromycin-H ₂ O	ETM-	1.37	1.34	0.59	17.02	42.55
	Erythromycin	ETM	1.22	1.1	0.47	21.14	52.84
	Clarithromycin	CTM	1.51	1.73	0.93	10.77	26.93
	Roxithromycin	RTM	2.01	2.16	1.94	5.16	12.89
	Clindamycin	CDC	0.39	0.98	0.32	7.72	15.44
Andere	Trimethoprim	TMP	1.17	1.07	0.37	13.63	20.45

Tabelle B.17: WFRn für die getesteten EDTA Konzentrationen von 1000, 100 und 50 mg L⁻¹ sortiert nach ABs-Klassen. Probenahmeort bezieht sich auf vor oder nach Einleitung des Kläranlagenablaufs.

β(EDTA) [mg L ⁻¹]	1000		1000		100		100		50	
	vor Einleitung	nach Einleitung	vor Einleitung	nach Einleitung	vor Einleitung	nach Einleitung	vor Einleitung	nach Einleitung	vor Einleitung	nach Einleitung
AB Name	n = 2	n = 2	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
Norfloxacin	110.54	81.88	230.69	166.35	168.61	188.17				
Ciprofloxacin	114.94	116.21	113.21	93.67	85.3	0				
Enrofloxacin	98.27	135.45	80.72	64.98	78.63	78.65				
Ofloxacin	76.33	97.42	79.48	59.29	67.36	52.18				
Erythromycin-H ₂ O	102.15	110.86	85.35	81.44	78.2	134.44				
Erythromycin	169.31	201.6	130.69	117.13	136.02	289.01				
Clarithromycin	146.84	176.06	121.16	113.76	110.64	179.23				
Roxithromycin	182.12	180.53	131.46	121.54	113.59	178.13				
Trimethoprim	104.92	200.92	96.49	113.11	100.12	176.97				
Clindamycin	7.17	12.95	11.01	10.08	12.1	13.6				

Tabelle B.18: Fortsetzung der WFRn für die getesteten EDTA Konzentrationen von 1000, 100 und 50 mg L⁻¹ sortiert nach ABs-Klassen. Probenahmeort bezieht sich auf vor oder nach Einleitung des Kläranlagenablaufs.

β(EDTA) [mg L ⁻¹]	1000 vor Einleitung	1000 nach Einleitung	100 vor Einleitung	100 nach Einleitung	50 vor Einleitung	50 nach Einleitung
AB Name	n = 2	n = 2	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1
Sulfapyridin	69.67	69.34	59.94	61.77	48.17	123.23
Sulfadiazin	71.56	116.02	76.44	68.36	149.29	86.3
Sulfamethazol	67.44	86.44	61.49	70.05	47.09	135.35
Sulfamethazin	63.88	74.71	62.22	55.09	46.55	95.82
Sulfachloropyridin	60.36	56.12	45	55.32	35.6	84.08
Sulfadimethoxin	58.74	61.11	51	50.21	37.8	77.67
Tetracyclin	153.33	144.19	104.07	61.77	99.95	67.31
Doxycyclin	201.96	151.54	117.14	115.71	131.59	135.23
Oxytetracyclin	108.22	79.93	78.25	61.29	75.93	47.67
Chlortetracyclin	188.97	136.15	126.69	135.05	144.79	156.37

Tabelle B.19: ABs gruppiert nach den vier definierten $\log(K_{ow})$ -Gruppen.

Gruppe	AB Name	$\log(K_{ow})$
1: $\log(K_{ow}) \leq -1$	Norfloxacin	-1.03
	Tetracyclin	-1.37
2: $-1 < \log(K_{ow}) \leq 0$	Doxycyclin	-0.02
	Sulfadiazin	-0.09
	Ofloxacin	-0.39
	Chlortetracyclin	-0.62
	Oxytetracyclin	-0.9
3: $0 < \log(K_{ow}) \leq 1$	Trimethoprim	0.91
	Sulfamethoxazol	0.89
	Sulfamethazin	0.89
	Enrofloxacin	0.7
	Sulfapyridin	0.35
	Ciprofloxacin	0.28
	Demeclocyclin	0.2
4: $\log(K_{ow}) > 1$	Sulfadimethoxin	1.63
	Roxithromycin	1.7
	Clindamycin	2.16
	Erythromycin	3.06
	Clarithromycin	3.16

Tabelle B.20: Wiederfindungsraten für das Tandem-SPE-Protokoll für das PLE-Protokoll G (Anzahl der Zyklen betrug jedoch 4 statt 2), Extrakte wurden nach der Extraktion dotiert auf eine Konzentration von $1,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ und das Tandem-SPE-Protokoll angewendet. Zwei verschiedene Reihenfolgen der SPE-Kartusche wurden getestet: einmal HLB gefolgt von MCX und MCX gefolgt von HLB.

AB-Klasse	AB	Abk.	HLB-MCX	HLB-MCX	MCX-HLB	MCX-HLB
			n = 2	SD	n= 2	SD
Sulfonamide	Sulfadiazin	SDZ	4.47	0.14	8.65	3.67
	Sulfadimethoxin	SDM	39.41	0.88	57.04	14.1
	Sulfamethazin	SMZ	25.85	5.38	26.18	5.51
	Sulfamethoxazol	SMX	24.66	0.64	43.33	11.57
	Sulfapyridin	SPD	48.12	6.42	41.62	10.19
	Sulfachloropyridazin		28.5	4.48	38.3	4.1
Makrolide	Erythromycin	ETM	7.47	-	14.97	2.57
	Erythromycin-H ₂ O	ETM- H ₂ O	33.18	7.66	16.93	4.12
	Roxithromycin	RTM	52.01	1.55	17.62	2.22
	Clarithromycin	CTM	48.56	2.83	16.55	1.72
	Olendomycin-triacetat		2.54	0.06	1.06	1.5
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	CFC	1.05	0.05	S/N < 10	-
	Enrofloxacin	EFC	4.23	0.8	1.02	0.15
	Norfloxacin	NFC	0.69	0.22	S/N < 10	-
	Ofloxacin	OFC	2.76	0.56	0.84	0.12
	Clinafloxacin		n.d.		n.d.	-
Tetracycline	Chlortetracyclin	CTC	5.12	0.67	4.32	0.73
	Oxytetracyclin	OTC	29.56	9.43	24.5	7.23
	Tetracyclin	TCT	36.63	4.4	28.12	6.76
	Doxycyclin	DCX	32.34	1.68	18.69	2.01
	Meclocycline		S/N < 10	-	4.15	0.09
Andere Antibiotika	Trimethoprim	TMP	69.15	0.4	59.43	-
	Clindamycin · HCl	CDC	62.12	1.5	49.35	-

Tabelle B.21: Berechnete Parameter der Methodvalidierung für das PLE-Protokoll G. Es wurden jeweils fünf Sedimentproben mit 50 und 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dotiert.

Klasse	Name	Richtigkeit		Präzision				MLOD [$\mu\text{g kg}^{-1}$]	MLOQ [$\mu\text{g kg}^{-1}$]	Selektivität Matrix- effekt
		WFR [%] (50 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	WFR [%] (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	Rel. Standard- abweichung (50 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	Rel. Standard- abweichung (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	CV [%] (50 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	CV [%] (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$)			
FQ	Ciprofloxacin	1.9	0.8	1.1	0.1	61	15	0.2	0.4	0.25
	Clinafloxacin	-	-	-	-	-	-	58	144.9	0.01
	Enrofloxacin	1.8	1.4	0.2	0.3	11	20	2.9	5.7	0.08
	Norfloxacin	1.1	1.1	-	0.2	-	16	3.4	8.5	0.42
	Ofloxacacin	0.2	0.3	0.1	0.3	55	80	4.9	7.3	0.08
MC	Clarithromycin	25.9	14	8.9	5.2	34	38	0.2	0.5	0.4
	Erythromycin	14.3	11	2.6	-	18	-	0.1	0.3	0.95
	Erythromycin-H ₂ O	30.9	31	8.8	5.3	29	17	0.6	1.5	0.2
	Olendomycin- triacetat	3.8	3.3	2.1	1.3	56	38	0.2	0.4	0.49
	Roxithromycin	29.2	15	8	7	27	48	0.1	0.3	0.66

Tabelle B.22: Berechnete Parameter der Methodenvalidierung für das PLE-Protokoll G. Es wurden jeweils fünf Sedimentproben mit 50 und 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dotiert.

Klasse	Name	Richtigkeit		Präzision				MLOD [$\mu\text{g kg}^{-1}$]	MLOQ [$\mu\text{g kg}^{-1}$]	Selektivität Matrix- effekt
		WFR [%] (50 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	WFR [%] (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	Rel. Standard- abweichung (50 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	Rel. Standard- abweichung (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	CV [%] (50 $\mu\text{g kg}^{-1}$)	CV [%] (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$)			
SAs	Sulfachloropyridazin	8.7	18.8	2.3	3.4	27	18	0.7	1.1	0.07
	Sulfadiazin	21.3	22	3.7	0.9	17	4	0.3	0.6	0.09
	Sulfadimethoxin	13.5	19	2.4	2.5	18	14	0.6	1.1	0.03
	Sulfamethazin	28.2	33	4.8	2.4	17	7	0.5	0.8	0.07
	Sulfamethoxazol	16.1	21	2.8	2.2	17	11	0.6	0.9	0.04
	Sulfapyridin	22.3	27	3.2	2.1	14	8	0.3	0.5	0.07
TCs	Chlortetracyclin	-	-	-	-	-	-	0.6	1	0.77
	Doxycyclin	26.3	-	5.1	-	19	-	1.6	2.4	0.26
	Meclocyclin	4.3	5	1.4	1.7	32	35	13.6	27.1	0.12
	Oxytetracyclin	7.2	5	1.8	2.4	25	44	0.7	1	0.83
	Tetracyclin	10.6	4	3.3	1.3	32	32	0.7	1	0.83
Andere	Clindamycin	48.8	45	10.4	8.1	21	-	0.1	0.1	0.38
	Trimethoprim	64.8	59	12.8	9.6	20	16	0.1	0.2	0.29

B.4 Mesokosmos-Versuch

Tabelle B.23: Ergebnisse der Wiederholung der Mesokosmos-Studie für die Fluorchinolone: Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau. Außerdem die Anteile der vier Prozesse am Verbleib der Fluorchinolone in der aquatischen Umwelt und die Regressionskoeffizienten für die lineare Regression nach Gleichung 2.7.

Parameter	Einheit	Ciprofloxacin	Enrofloxacin	Norfloxacin	Ofloxacin
Geschwindigkeitskonstanten (k)					
R1	d ⁻¹	0.210 ± 0.015	0.111 ± 0.007	0.235 ± 0.014	0.122 ± 0.007
R2	d ⁻¹	0.140 ± 0.007	0.099 ± 0.005	0.140 ± 0.010	0.104 ± 0.008
R3	d ⁻¹	0.110 ± 0.013	0.084 ± 0.010	0.148 ± 0.014	0.091 ± 0.008
R4	d ⁻¹	-	-	-	-
Adsorption	d ⁻¹	0.110 ± 0.013	0.084 ± 0.010	0.148 ± 0.014	0.091 ± 0.008
biologischer Abbau	d ⁻¹	0.029 ± 0.015	0.015 ± 0.011	<0	0.014 ± 0.011
Hydrolyse	d ⁻¹	-	-	-	-
Photoabbau	d ⁻¹	0.070 ± 0.016	0.012 ± 0.008	0.094 ± 0.017	0.018 ± 0.011
Halbwertszeiten ($t_{1/2}$)					
R1	d	3	6	3	6
R2	d	5	7	5	7
R3	d	6	8	5	8
R4	d	-	-	-	-
Adsorption	d	6	8	5	8
biologischer Abbau	d	24	46	-	51
Hydrolyse	d	-	-	-	-
Photoabbau	d	10	57	7	38
Anteile					
Adsorption	%	52.67	75.41	61.03	74.04
biologischer Abbau	%	14.06	13.68	-	11.21

Parameter	Einheit	Ciprofloxacin	Enrofloxacin	Norfloxacin	Ofloxacin
Hydrolyse	%	-	-	-	-
Photoabbau	%	33.27	10.91	38.97	14.75
R^2					
R1		0.99	0.98	1.00	0.98
R2		0.99	0.99	0.98	0.97
R3		0.92	0.94	0.97	0.94

Tabelle B.24: Ergebnisse für die Sulfonamide bei der Wiederholung der Mesokosmos-Studie: Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau. Außerdem die Anteile der vier Prozesse am Verbleib der Sulfonamide in der aquatischen Umwelt und die Regressionskoeffizienten für die lineare Regression nach Gleichung 2.7.

Parameter	Einheit	SDZ	SDM	SMX	SMZ	SPD
Geschwindigkeitskonstanten (k)						
R1	d^{-1}	0.016 ± 0.002	0.016 ± 0.003	0.015 ± 0.002	0.022 ± 0.002	0.041 ± 0.002
R2	d^{-1}	0.017 ± 0.003	0.019 ± 0.004	0.021 ± 0.004	0.019 ± 0.003	0.028 ± 0.003
R3	d^{-1}	0.008 ± 0.003	0.009 ± 0.003	0.009 ± 0.003	0.010 ± 0.003	0.013 ± 0.004
R4	d^{-1}	-	-	-	-	-
Adsorption	d^{-1}	0.008 ± 0.003	0.009 ± 0.003	0.009 ± 0.003	0.010 ± 0.003	0.013 ± 0.004
biologischer Abbau	d^{-1}	0.010 ± 0.004	0.010 ± 0.005	0.012 ± 0.005	0.009 ± 0.004	0.015 ± 0.005
Hydrolyse	d^{-1}	-	-	-	-	-
Photoabbau	d^{-1}	<0	<0	<0	<0	0.013 ± 0.003
Halbwertszeiten ($t_{1/2}$)						
R1	d	42	44	46	31	17

Parameter	Einheit	SDZ	SDM	SMX	SMZ	SPD
R2	d	40	36	33	37	25
R3	d	90	80	80	70	53
R4	d	-	-	-	-	-
Adsorption	d	90	80	80	70	53
biologischer Abbau	d	72	66	57	80	47
Hydrolyse	d	-	-	-	-	-
Photoabbau	d	-	-	-	-	54
Anteile						
Adsorption	%	44.28	45.23	41.75	53.13	32.06
biologischer Abbau	%	55.72	54.77	58.25	46.87	36.49
Hydrolyse	%	-	-	-	-	-
Photoabbau	%	-	-	-	-	31.46
R^2						
R1		0.88	0.79	0.83	0.93	0.98
R2		0.75	0.73	0.74	0.84	0.91
R3		0.68	0.77	0.77	0.77	0.82

Tabelle B.25: Ergebnisse für Trimethoprim und Clindamycin bei der Wiederholung der Mesokosmos-Studie: Geschwindigkeitskonstanten (k) und Halbwertszeiten für die Mesokosmen R1 bis R4 und für die vier Prozesse Adsorption, biologischer Abbau, Hydrolyse und Photoabbau. Außerdem die Anteile der vier Prozesse am Verbleib für Trimethoprim und Clindamycin in der aquatischen Umwelt und die Regressionskoeffizienten für die lineare Regression nach Gleichung 2.7.

Parameter	Einheit	TMP	CDC
Geschwindigkeitskonstanten (k)			
R1	d^{-1}	0.039 ± 0.003	0.025 ± 0.003
R2	d^{-1}	0.037 ± 0.003	0.019 ± 0.003
R3	d^{-1}	0.026 ± 0.003	0.009 ± 0.002
R4	d^{-1}	-	-

Parameter	Einheit	TMP	CDC
Adsorption	d ⁻¹	0.026 ± 0.003	0.009 ± 0.002
biologischer Abbau	d ⁻¹	0.011 ± 0.004	0.010 ± 0.004
Hydrolyse	d ⁻¹	-	-
Photoabbau	d ⁻¹	0.001 ± 0.004	0.005 ± 0.004
Halbwertszeiten (t _{1/2})			
R1	d	18	28
R2	d	19	36
R3	d	27	75
R4	d	-	-
Adsorption	d	27	75
biologischer Abbau	d	61	68
Hydrolyse	d	-	-
Photoabbau	d	593	135
Anteile			
Adsorption	%	67.71	37.70
biologischer Abbau	%	29.27	41.41
Hydrolyse	%	-	-
Photoabbau	%	3.03	20.89
R ²			
R1		0.96	0.86
R2		0.95	0.71
R3		0.94	0.83

Tabelle B.26: Gemessene und berechnete Massenanteile der ABs in der Sedimentphase der Mesokosmen R1 bis R3 nach 35 d. Der berechnete Massenanteil bezieht sich nur auf den Beitrag der Adsorption mit ein.

Reaktor AB	R1		R2		R3	
	gemessen	berechnet	gemessen	berechnet	gemessen	berechnet
CFC	6.8	58.3	4.4	56.9	4.5	86.3
EFC	7.3	43.0	1.0	40.9	1.9	60.7
NFC	5.6	50.2	<LOQ	45.2	2.0	67.7
OFC	10.7	40.9	<LOQ	41.3	1.7	61.8
SDZ	1.7	3.8	2.2	3.1	2.4	11.5
SDM	5.2	3.6	4.2	3.3	6.5	10.3
SMX	2.4	5.4	<LOQ	4.8	<LOQ	12.0
SMZ	10.6	7.6	10.5	6.3	13.9	8.1
SPD	10.7	6.8	11.2	5.3	15.9	16.6
CTC	<LOQ	8.3	<LOQ	20.9	<LOQ	39.9
OTC	<LOQ	10.1	<LOQ	7.2	<LOQ	30.0
TCC	<LOQ	12.8	<LOQ	15.5	<LOQ	31.4
DXC	<LOQ	8.7	<LOQ	9.2	<LOQ	26.3
TMP	14.9	11.4	17.4	10.2	25.9	24.3
CDC	8.4	4.7	9.3	3.1	14.7	12.8

Tabelle B.27: Korrelationskoeffizienten für die Mesokosmen R1 bis R4 für die lineare Regression mit Gleichung 2.7 für die Mesokosmos-Studie I.
MC - Makrolide

AB-Klasse	Fluorchinolone				Sulfonamide				Tetracycline				Andere		MC		
	Reaktor	CFC	EFC	NFC	OFC	SDZ	SDM	SMX	SMZ	SPD	CTC	OTC	TCC	DXC		TMP	CDC
Nu-mer	R1	0.96	0.99	0.99	0.98	0.98	0.98	0.97	0.99	0.99	0.86	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97	0.72
	R2	0.94	0.98	0.99	0.99	0.92	0.93	0.92	0.96	0.97	0.99	1.00	1.00	0.98	1.00	0.99	-
	R3	0.97	0.96	0.99	0.97	0.80	0.82	0.83	0.94	0.91	0.87	0.99	0.99	1.00	0.97	0.73	-
	R4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.85	0.98	0.94	0.89	-	-	-

B.5 Feldstudie

Tabelle B.28: Chemisch-physikalische Charakterisierung der Wasserprobe der Feldstudie. Abfiltrierbare Stoffe (TSS), gesamt organischer Kohlenstoff (TOC), gelöst organischer Kohlenstoff (DOC), chemischer Sauerstoffbedarf (CSB). Kläranlagenablauf (KA), flussabwärts (flab), flussaufwärts (flauf).

Bezeichnung der Proben- nahmestelle	Probe- nahme- stelle	TSS [mg L ⁻¹]	Nitrat [mg L ⁻¹]	Sulfat [mg L ⁻¹]	Phosphat [mg L ⁻¹]	TOC [mg L ⁻¹]	DOC [mg L ⁻¹]	TN [mg L ⁻¹]	CSB [mg L ⁻¹]	pH- Wert	Leit- fähig- keit [$\mu\text{S cm}^{-1}$]	Ca [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Mg [$\mu\text{g L}^{-1}$]
KA	E2 & E3	29.2	54.00	95.90	< 1	5.56	5.69	13.40	21.67	8.17	2530.00	83896.44	10952.12
flauf, vor Einleitung KA	U1- U3	2.05	2.50	24.20	< 1	1.94	2.07	1.01	9.52	8.05	710.00	38758.95	6441.78
flab, direkt nach Einleitung KA	D1- D2	2.97	7.00	29.70	< 1	2.36	2.22	2.00	10.70	8.46	860.00	43416.00	6871.60
flab, Mitte beprobter Abschnitt	D5- D6	2.55	16.40	41.20	< 1	2.86	2.88	4.04	12.30	8.96	1170.00	51485.94	7620.24
flab, Ende beprobter Abschnitt	D11	2.46	16.90	42.10	< 1	2.87	2.96	4.13	11.93	8.59	1210.00	51768.19	7610.45

Tabelle B.29: ABs Verbrauch in der Humanmedizin aufgeteilt in Verbrauch im stationären und ambulanten Bereich. Daten für den Verbrauch im stationären Bereich stammen von der Datenbank des Robert Koch Instituts (AVS, <http://avs.rki.de>, Datenstand: 25.10.22). Die Daten für den ambulanten Bereich wurden der Datenbank PharMaAnalyst des Wissenschaftlichen Instituts der AOK entnommen und umfassen nur die Daten der gesetzlichen Krankenkassen in Deutschland. Legende: * Angaben beziehen sich auf SMX und TMP, da Wirkstoffe als Kombination verschrieben werden, # keine Angaben von Daten, PT = Patiententage, n.d. – nicht detektiert. Quellen: (a) aus der Robert Koch-Institut: AVS, <http://avs.rki.de>, Datenstand: 25.10.22. (b) PharMaAnalyst, <https://arzneimittel.wido.de/PharMaAnalyst/>; jsessionid=F6419205AC8108A20959945C1FDADF7470 aufgerufen am 6.3.23.

ABs-Klasse	Antibiotikum	ATC Code	Konzentrationsbereich im KA	Verbrauch im Krankenhausbereich im Jahr 2020				Verbrauch im ambulanten Bereich im Jahr 2020	
				Mittelwert [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Median [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Min [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Max [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Verordnungen [Anzahl an Packungen] ^(b)	Verbrauch [DDD] ^(b)
FC	Ciprofloxacin	J01MA02	Mittelwert E1 bis E3 [ng L ⁻¹] 89,28	1,64	1,49	0,23	4,71	1377,9	7.892,90
FC	Ofloxacin		13,77	<0,001	0	0	0,04	72,00	366,00
MC	Clarithromycin	J01FA09	14,20	2,73	2,22	0,19	12,76	638,40	7.537,60
MC	Erythromycin	J01FA01	25,60	0,21	0,16	0	1,12	69,80	526,70
MC	Roxithromycin	J01FA06	4,65	0,37	0	0	8,57	410,20	3.309,20

Tabelle B.30: ABs Verbrauch in der Humanmedizin aufgeteilt in Verbrauch im stationären und ambulanten Bereich. Fortsetzung der vorherigen Tabelle.

ABs-Klasse	Antibiotikum	ATC Code	Konzentrationsbereich im KA	Verbrauch im Krankenhausbereich im Jahr 2020				Verbrauch im ambulanten Bereich im Jahr 2020	
				Mittelwert [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Median [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Min [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Max [DDD 100 PT ⁻¹] ^(a)	Verordnungen [Anzahl an Packungen] ^(b)	Verbrauch [DDD] ^(b)
SA	Sulfapyridine		Mittelwert E1 bis E3 [ng L ⁻¹]		-	-		#	#
SA	Sulfamethoxazole	J01EE01	222,59	1,07	0,89*	0	4,16*	1322,00	10.007,00
Andere	Trimthoprim	J01EE01	9,48		0,89*	0	4,16*		
TC	Doxycycline	J01AA02	n. d.	0,76	0,59	0	8,53	1480,40	35.340,80
	Minocyclin	J01AA08	n. d.					172,90	2.904,70
Andere	Clindamycin	J01FF01	96,25	1,79	1,50	0,13	11,03	1704,30	14.188,80

Tabelle B.31: Verteilung der Korngröße des Flusssediments nach den drei Kategorien Sand, Schluff und Ton, Bestimmung mittels Sieben und Sedimentation nach der Pipette-Methode. Die Einteilung erfolgte nach der Bodenart des Feinbodens und der Food and Agriculture Organization (FAO) und der World Reference Base.

Name	Sand (63 – 2000 µm) [%]	Schluff (2 – 63 µm) [%]	Ton (< 2 µm) [%]	Fehler [%]	Zuordnung nach FAO und World Reference Base	Zuordnung nach Bodenarten des Feinbodens
S D1D2 Char	54	28	18	-0.09	Loam	Lehm sandig
S D3D4 Char	52	28	20	0.11	Loam	Lehm sandig
S D5D6 Char	23	55	22	-0.11	silt loam	Lehm schluffig
S D7D8 Char	47	32	21	-0.44	Loam	Lehm sandig
S D9D10 Char	15	56	29	-1.67	silt clay loam	Lehm schluffig
S D11D12 Char	25	56	19	-1.75	silt loam	Lehm schluffig
S U3 Char	30	49	21	-1.54	loam bis silt loam	Lehm sandig
Mesokosmos-Studie 1	39	35	26	-2	Loam	Lehm tonig
Mesokosmos-Studie 2	26	48	26	-1	Loam	Lehm tonig

Tabelle B.32: Physikalisch-chemische Eigenschaften der Sedimentproben gesamter anorganischer Kohlenstoff (TIC), gesamter Kohlenstoff (TC), gesamter organischer Kohlenstoff (TOC), gesamter Stickstoff (TN), effektive Kationenaustauschkapazität (KAK).

Name	pH in H ₂ O	Carbonate als CaCO ₃ [%]	TIC [%]	TC [%]	TOC [%]	TN [%]	effektive KAK [mmolc kg ⁻¹]	Basensättigung [%]
S D1D2 Char	7.10	1.08	0.13	4.54	4.41	0.35	219.26	99.34
S D3D4 Char	7.10	0.61	0.07	6.18	6.11	0.52	276.48	99.49
S D5D6 Char	7.15	10.25	1.23	8.95	7.72	0.67	421.30	99.66
S D7D8 Char	7.03	2.03	0.24	7.71	7.47	0.61	356.15	99.51
S D9D10 Char	6.59	1.45	0.17	10.78	10.61	0.91	417.49	99.48
S D11D12 Char	7.26	9.50	1.14	7.65	6.51	0.54	385.51	99.60
S U3 Char	7.20	4.38	0.53	8.58	8.06	0.61	423.48	99.64
Mesokosmos- Studie 1	7.14	3.88	0.47	10.00	9.54	0.64	420.71	99.04
Mesokosmos- Studie 2	7.27	5.38	0.65	9.26	8.62	0.64	427.98	99.61

Tabelle B.33: Massenanteile und Massenkonzentrationen in der Sediment- und Wasserphase der Alb sowie der Mesokosmos-Studie. Für die Mesokosmos-Studie sind die Ergebnisse aus Reaktor 1, in dem alle vier untersuchten Prozesse abliefen, dargestellt. Die Angaben der Feldstudie beziehen sich auf die Probenahmestellen direkt nach der Einleitung des Kläranlagenablaufs (D1 bis D3). Pro Probenahmestelle wurde eine Doppelbestimmung ($n=2$) durchgeführt. Angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung. Für die Mesokosmos-Studie war die Berechnung einer Standardabweichung nicht möglich, da nur eine Probe pro Reaktor und Probenahme genommen wurde. Diese war jedoch eine Mischprobe.

Antibiotikum	Mesokosmos-Studie		Feldstudie		
	w(AB)	β (AB)	Probenahmestelle	w(AB)	β (AB)
Einheiten	$\mu\text{g kg}^{-1}$	ng L^{-1}		$\mu\text{g kg}^{-1}$	ng L^{-1}
Ciprofloxacin	6,77	1400	D1	$3,70 \pm 1,08$	36,25
			D3	-	52,54
Ofloxacin	10,72	1200	D1	$1,00 \pm 0,35$	$11,28 \pm 3,23$
			D2	$0,36 \pm 0,09$	-
			D3	$0,42 \pm 0,10$	3,49
Sulfapyridin	10,67	1400	D1	$5,61 \pm 2,01$	$16,96 \pm 0,24$
			D2	$2,61 \pm 0,54$	$3,63 \pm 0,36$
			D3	$6,63 \pm 2,51$	$8,51 \pm 3,20$
Trimethoprim	14,85	1480	D1	$1,12 \pm 3,91$	$6,72 \pm 1,01$
			D2	0,54	$7,71 \pm 3,12$
			D3	0,95	$4,65 \pm 2,29$
Clindamycin	8,39	2430	D1	$8,23 \pm 0,52$	$53,18 \pm 4,45$
			D2	$3,70 \pm 1,54$	$7,31 \pm 1,19$
			D3	$5,62 \pm 2,43$	$10,21 \pm 2,88$

C. Text

C.1 Material und Methoden

C.1.1 Interne Standards und Surrogate

Erythromycin-d3 (Rein), Roxithromycin-d7 (Rein), Doxycyclin-d3 Hyclate (rein), Ciprofloxacin-d8 (rein), Enfloxacin-d5 (rein), Norfloxacin-d5 (rein), Sulfadiazin-d4 (rein), Sulfamethazin-d4 (rein), Sulfamethoxazol-d4 (rein), Sulfapyridin-d4 (rein), Clindamycin-d3 · HCl (rein) wurden von Toronto Research Chemikalien (TRC, Kanada) bezogen. Clarithromycin-d3 ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$), Oleandomycin-Triacetat ($100 \mu\text{g mL}^{-1} \mu\text{g/mL}$) wurden bei Neochema (Deutschland) erworben. Dehydrato-Erythromycin (Erythromycin- H_2O) wurde selber nach der Anleitung von McArdell u. a. (McArdell u. a. 2003) hergestellt.

C.1.2 Chemikalien

Acetonitril ($\geq 99.9 \%$), Methanol ($\geq 99.9 \%$), Salzsäure (37 %), Phosphorsäure ($>85 \%$), HPLC LC-MS Reinstwasser, Natriumhydroxid (for analysis), Ameisensäure (99 %), Natriumazid ($\geq 99 \%$), Natriumnitrat ($\geq 99 \%$) und Ethylendiamintetraessigsäure Dinatriumsalz Dihydrat ($\geq 99 \%$) wurden von VWR (Deutschland) geliefert. Aceton ($\geq 99.8 \%$), Ethylacetat ($\geq 99.8 \%$), Natriumtriphosphat tribasisch Dodecahydrat ($\geq 98 \%$) and Ammoniak-Lösung ($> 25 \%$) wurden von Merck (Deutschland) bezogen. Zitronensäure ($\geq 99.5 \%$) wurde von Carl Roth GmbH + Co. KG (Deutschland) erhalten. Ottawa Sand (Korngröße 0.595-0.841 mm) mit unspezifischer Reinheit wurde bei Fisher Scientific (Groß-Britannien) erworben und Seesand von Supelco (Korngröße 0.1-0.315 mm) wurde von Sigma Aldrich/Merck (Deutschland)

geliefert. Reinstwasser (18,2 M Ω cm) wurde tagesfrisch an der Aufbereitungsanlage (Purelab flex, ELGA LabWater, Veolia Water Technologies, Deutschland) am Institut abgefüllt.

C.1.3 DNA-Extraktion für die Bestimmung der Antibiotikaresistenzgene

Wie bereits für die Wasserproben beschrieben, wurden 500 bis 1000 mL Oberflächenwasser auf einem sterilen Membranfilter (0,2 μ m, Cellulose-Acetat-Membranfilter, \varnothing = 47 mm, Sartorius, Deutschland) angereichert. Die DNA wurde mit dem DNeasy[®] PowerWater[®] Kit (Qiagen, Deutschland) nach dem Herstellerprotokoll extrahiert. Die DNA wurde in 100 μ L Reinstwasser eluiert und bei -18°C gelagert. Als Qualitätskontrolle wurde Reinstwasser filtriert und der Filter ebenfalls extrahiert.

Für die Sedimentproben wurden ca. 300 mg nasses Sediment in das Extraktionsgefäß (PowerBead Pro Tubes) des DNeasy[®]PowerSoil[®]Kit (Qiagen, Deutschland) eingewogen. Zuvor wurde das Leergewicht des PowerBead Pro Tubes ermittelt. Die weiteren Schritte der Extraktion erfolgten wie im Protokoll des Herstellers beschrieben. Die DNA wurde ebenfalls in 100 μ L Reinstwasser eluiert. Um die exakte Trockenmasse des extrahierten Sediments zu bestimmen, wurden nach der Extraktion die PowerBead Pro Tubes bei 100°C im Trockenschrank getrocknet und erneut ausgewogen. Die Sedimentmasse wurde zur Berechnung der absoluten Häufigkeit des ARGs pro Gramm Sediment benötigt. Als Blindwert wurde Sand (Merck See Sand) extrahiert.

Die Bestimmung der Konzentration der extrahierten DNA und deren Reinheit (in Form des Verhältnisses der Wellenlängen 260 zu 280 nm) erfolgte für beide Probentypen mit dem NanoDrop[®] (NanoDrop[®] 2000, Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Deutschland). Da die NanoDrop[®] Messung jedoch durch mitextrahierte Huminstoffe gestört wird, wurde die Konzentration im Anschluss mit dem Qubit[®]-Kit (1X Doppelstrange DNA (dsDNA) High Sensitive (HS) Assay Kit, Invitrogen[®], Thermo Fisher Scientific, Deutschland) nach der Anleitung des Herstellers mit einem Qubit[®] 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Deutschland) bestimmt.

C.1.4 Quantifizierung der Antibiotikaresistenzgene

Die Quantifizierung der ARGs in den Extrakten erfolgte mit der Hochdurchsatz-quantitative-Polymerase-Kettenreaktion (HT-qPCR) durch die Firma Resistomap (Helsinki, Finland). Dabei

wurde eine SmartChip Real-Time PCR der Firma Takara Bio (Mountain View, USA) verwendet. Das SmartChip System weist 5184 Reaktionseinheiten mit einem Fassungsvermögen von 100 nL auf. Die Reaktionslösung setzte sich aus SmartChip TB Green Gene Expression Master Mix (Takara Bio, USA), Nuklease freiem PCR Wasser, 300 nM jedes Primers und 2 ng μL^{-1} Proben DNA zusammen. Die Befüllung der Reaktionseinheiten erfolgte mit einem SmartChip Multi-sample Nanodispenser (Takara Bio, Mountain View, USA) (Majlander u. a. 2021).

Für die Berechnung der Anzahl an Genkopien in der Probe wurde die computergestützte (in-silico) Analyse zwischen DNA-Strang und Primerset, die Masse der genomischen DNA pro Reaktion pro bekanntem DNA-Strang und die Genomgröße jedes Strangs genutzt (Stedtfeld u. a. 2018).

Insgesamt wurden 21 ARGs (siehe Tabelle C.1) ausgewählt, deren vorwärts und rückwärts Primer sich in der Tabelle B.11 befinden. Um unterschiedliche Variationen des Genes zu berücksichtigen, stellt die Firma Resistomap verschiedene Primersets für dasselbe ARG zu Verfügung. Die mit Unterstrich verbundene Zahl gibt an, welcher Primerset für dieses ARG ausgewählt wurde. Der Firma Resistomap wurden Proben mit DNA-Konzentrationen von 10 ng μL^{-1} in einem Gesamtvolumen von 50 μL (Reinstwasser) zugesendet. Davon wurden 20 nL Probenlösung bzw. 2 ng μL^{-1} für die HT-qPCR eingesetzt.

Tabelle C.1: AB-Klasse und ausgewählte ARGs für die Quantifizierung in der Wasser- und Sedimentphase der Alb.

AB-Klasse	ARGs
Fluorchinolone	qnrA, qepA, qnrB, qnrB ₄ , qnrS
Makrolide-Lincosamide-Streptogramine B	ereA, ermB, ermX, mphA, msrE
Sulfonamide	sul1, sul2, sul3
Trimethoprim	dfrA25, dfrA27
Tetracycline	tetD, tetE, tetG, tetM, tetR
Andere	intl1

Die Berechnung der absoluten Häufigkeit des ARGs in der entsprechenden Probe erfolgte unter Einbeziehung aller Aufkonzentrierung und Verdünnung während der Probenvorbereitung. Dabei teilte die Firma Resistomap die Anzahl an Genkopien (GC), die im eingesetzten Volumen für die HT-qPCR quantifiziert wurden, mit. Anschließend wurde für die Wasserproben F_W und für die Sedimentproben F_S ermittelt. Details dazu sind in Abbildung C.1.4 im Anhang zusammengefasst. Die Genkopien in den Ausgangsproben wurde nach Formel C.1 in GC per

mL und C.2 in GC per g (Trockenmasse) berechnet. Für die graphische Darstellung wurden die Daten logarithmiert.

$$GC(Probe, Wasser) = GC(HT - qPCR) \cdot F_W \quad (C.1)$$

$$GC(Probe, Sediment) = GC(HT - qPCR) \cdot F_S \quad (C.2)$$

Um zu prüfen, ob ein signifikanter Unterschied zwischen vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs für die ARGs vorlag, wurde der Mann-Whitney Test verwendet. Der statistische Test vergleicht zwei Stichproben, die nicht normalverteilt und unabhängig voneinander sind. Der Test wurde mit Origin 2019 durchgeführt und das Signifikanzniveau lag bei 0,05.

Berechnung der Faktoren für Probenvorbereitung der Antibiotikaresistentengene

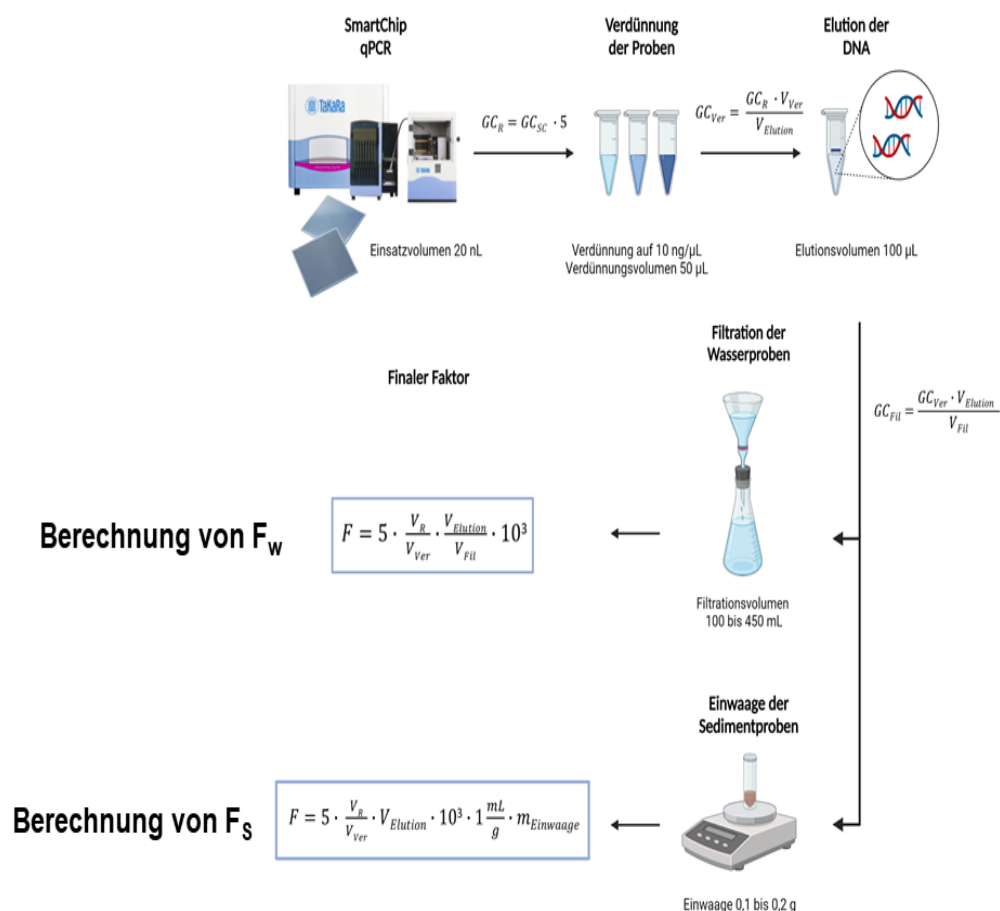


Abbildung C.1: Schema zu den Verdünnungs- und Konzentrationsfaktoren für die Probenvorbereitung der ARGs in Form der DNA-Extraktion adaptiert nach (Thaqi 14.01.23).

Legende:

GC_R = Genkopien in der Resistomap zugeschickten Probe

GC_{SC} = gemessene Genkopien in 20 nL bzw. 2 ng L^{-1} der Probe mittels HT-qPCR (SC = SmartChip)

GC_{Ver} = Genkopien in den unverdünnten Proben, nach der DNA-Extraktion

GC_{Fil} = Genkopien im Filtrationsvolumen

V_{Ver} = Eingesetztes Volumen für die Verdünnung auf $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ in $100 \mu\text{L}$

$V_{Elution}$ = Elutionsvolumen des DNA-Extraktionskits ($100 \mu\text{L}$)

V_{Fil} = filtriertes Volumen der Wasserprobe

V_R = Gesamtvolumen der Probe, die zu Resistomap geschickt wurde, $100 \mu\text{L}$

Die zugesendete Probe an Resistomap wies eine Konzentration von $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ in einem Gesamtvolumen von $100 \mu\text{L}$ auf. Von dieser Probe wurde 20 nL für die SmartChip qPCR eingesetzt. Die Endkonzentration in der qPCR betrug $2 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Folglich wurde $1/5$ der DNA-Konzentration der Probe für die SmartChip qPCR eingesetzt. Dadurch ergab sich der Faktor 5.

Für F_w : der Faktor 10^3 wird benötigt, um die GC pro μL in GC pro mL umzurechnen.

Für F_S : der Faktor 10^3 wird benötigt, um die GC pro μL in GC pro mL umzurechnen. Zur Umrechnung GC pro mL in GC pro g wird die Dichte der Lösung verwendet, in der die DNA am Ende gelagert wird. Diese beträgt laut Hersteller 1 g mL^{-1} .

$m_{Einwaage}$: Trockenmasse des Flusssediments, das für die Extraktion eingesetzt wurde

C.1.5 Berechnung der Konzentration an ABs in der Wasserphase

$$FW = \frac{V(\text{Probe})}{V(\text{SPE Elution})} \cdot \frac{V(\text{SPE Elution})}{V(\text{Einengung})} \cdot \frac{V(\text{SPE Probe})}{V(\text{tot Vial})} \quad (\text{C.3})$$

Legende:

$V(\text{Probe})$ = Volumen der Probe (z. B. 1 L oder $0,5 \text{ L}$)

$V(\text{SPE Elution})$ = Volumen, das von der SPE Kartusche eluiert wird (z. B. 10 mL)

$V(\text{Einengung})$ = Volumen nach der Einengung (z. B. 1 mL)

$V(\text{SPE Probe})$ = Aliquot der eingengten SPE Probe für die LC-MS/MS-Messung

$V(\text{tot Vial})$ = Gesamtvolumen der Lösung im Vial für die LC-MS/MS-Messung z. B. 1 mL

C.1.6 Risikoquotient

Für die Berechnung des Risikoquotienten (RQ) in Kapitel 3.4.2 wurde die minimale bzw. maximale Konzentration im Oberflächenwasser nach Einleitung des Kläranlagenablaufs durch die vorausgesagte Konzentration ohne Wirkung (Predicted No Effect Concentration, PNEC) oder den vorgeschlagenen Umweltqualitätsstandard (UQS) (Formel C.4 und C.5) geteilt.

$$RQ = \frac{\beta_{min}(AB)}{UQS/PNEC} \quad (C.4)$$

$$RQ = \frac{\beta_{max}(AB)}{UQS/PNEC} \quad (C.5)$$

C.1.7 Berechnung des Massenanteils des ABs in der Sedimentprobe

$$F(Sed) = F_0 \times F_1 \times F_2 \times F_3 \quad (C.6)$$

$$w_{ABs-Sed} = \frac{w_{LC-MS/MS}}{F(Sed)} \quad (C.7)$$

Legende:

$w_{LC-MS/MS}$: Massenanteil des ABs in der LC-MS/MS Probe bestimmt durch die LC-MS/MS Messung in ng kg^{-1}

$w_{ABs-Sed}$: Massenanteil des ABs in der Ausgangs-Sedimentprobe in ng kg^{-1}

F_x : Konzentrations- bzw. Verdünnungsfaktoren für den jeweiligen Schritt der Probenvorbereitung, $x = 0$ bis 3, zur Berechnung siehe Formel in der Abbildung C.2

C.1.8 Berechnung des theoretischen Massenanteils des ABs im Sediment nach der Dotierung

$$w_{ABs\ theoretisch} = \frac{m_{Sed-AB}}{m_{Sed}} \quad (C.8)$$

$$m_{Sed-AB} = m_{AB-Lsg.} \times w_{Dotierungslsg.} \quad (C.9)$$

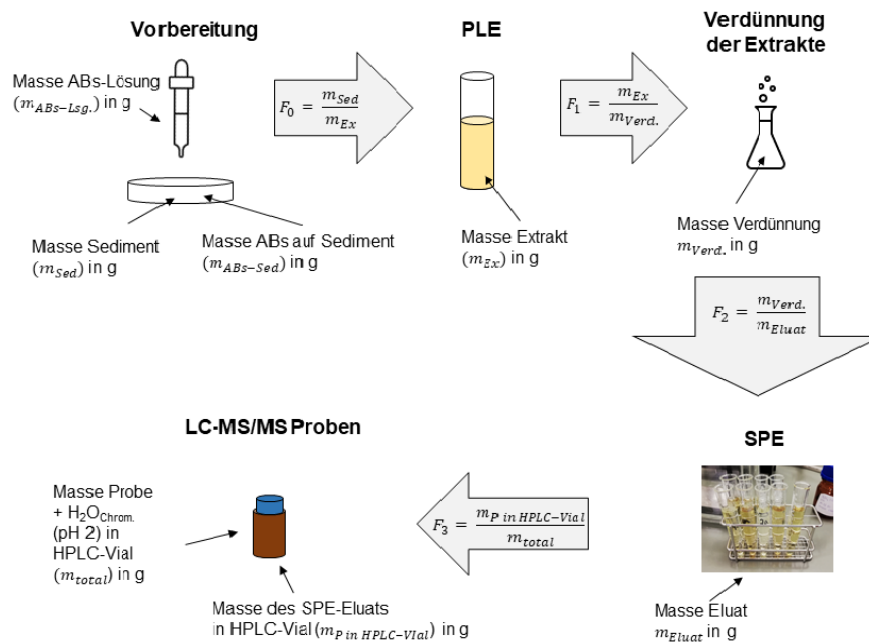


Abbildung C.2: Schema mit den Verdünnungs- und Konzentrationsfaktoren zur Berechnung des Massenanteils des AB in der Sedimentprobe für die Methodenentwicklung und Umweltproben angepasst nach N. Landwehr, 2021 (Landwehr 2021).

Legende:

$w_{AB \text{ theoretisch}}$: theoretischer Massenanteil des ABs im Sediment nach der Dotierung

m_{Sed-AB} : Masse des ABs, die durch die Dotierungslösung zugegeben wurde

$m_{AB-Lsg.}$: Masse der Lösung, die auf das Sediment dotiert wurde

$w_{Dotierungslsg.}$: Massenanteil (Konzentration) der Dotierungslösung

Für die Methodenentwicklung wurde bei der Vorbereitung alle ABs auf das Sediment dotiert.

Bei den Umweltproben wurden nur die Surrogate (siehe Tabelle B.6 und B.7) dazu gegeben.

C.1.9 Bestimmung der Dichte des Sediments

Ein tariertes Messzylinder wurde mit der nassen Sedimentprobe befüllt, nach einer Absetzzeit von 30 Min wurde das Volumen bestimmt (Anlehnung an Imhoff Trichter für Bestimmung Schlammvolumen).

$$\rho(\text{Sediment, nass}) = \frac{m(\text{Sediment})}{V(\text{Sediment})} \quad (\text{C.10})$$

$$m(\text{Sediment}, \text{Mesokosmos}) = V(\text{Sediment}, \text{Mesokosmos}) \cdot \rho(\text{Sediment}, \text{nass}) \quad (\text{C.11})$$

Wasseranteil ($w(\text{H}_2\text{O})$) belief sich auf 51,2 %.

$$m(\text{Sediment}, \text{trocken}) = m(\text{Sediment}, \text{nass}) \cdot (1 - w(\text{H}_2\text{O})) \quad (\text{C.12})$$

C.2 Ergebnisse

C.2.1 Antibiotika in der Wasserphase der Alb

Vergleich mit den Abgabemengen

Im Folgenden werden die Konzentrationen im Kläranlagenablauf mit dem Verbrauch in Deutschland im ambulanten und stationärem Bereich verglichen (ausführliche Daten in Tabelle B.29 und B.30 im Anhang). Die Verbrauchsdaten stammen aus der Datenbank PharMaAnalyst, die vom Wissenschaftlichen Institut der AOK (WIdO) bereit gestellt wurden (Wissenschaftliches Institut der AOK 2023). Die Angaben in der Datenbank beziehen sich auf die verschriebenen Arzneimittel im ambulanten Bereich für die gesetzlichen Krankenversicherungen. Jedoch stehen nur Daten für die Wirkstoffe oder Wirkstoffgruppen der 3000 verordnungs- bzw. umsatzstärksten Arzneimittel des Vorjahres zur Verfügung. Z. B. konnten in der Datenbank keine Verbrauchsdaten für Sulfapyridin abgerufen werden. Der Verbrauch wird in Tagesdosen (engl. defined daily doses, DDD) angegeben. Die definierte Tagesdosis ist eine rechnerische Einheit für den Arzneimittelverbrauch und standardisiert. Sie gibt an, welche Menge des Wirkstoffes bzw. Arzneimittels pro Tag bei Erwachsenen angewendet wird. Die definierte Tagesdosis wird für jede Packung einzeln berechnet. Die Summe der Tagesdosis berücksichtigt folglich auch unterschiedliche Packungsgrößen und Stärken. Über die Datenbank des Robert-Koch-Instituts (RKI) „Antibiotika Verbrauch Surveillance“ (AVS) (Robert Koch Institut 2023a) können Daten für den Verbrauch von ABs in Krankenhäuser abgerufen werden. Diese werden jedoch in Tagesdosen (DDD) pro 100 Patiententage angegeben. Durch die unterschiedlichen Einheiten des Verbrauchs im ambulanten und stationären Bereich war ein Vergleich mit dem Gesamtverbrauch nicht möglich. Das Europäische Zentrum für Prävention und Kontrolle von Krankheiten (ECDC) veröffentlicht jährlich einen Bericht über den ABs Verbrauch in der europäischen Union, indem die drei Kategorien Gesamtverbrauch und Verbrauch für den ambulanten und

stationären Bereich unterschieden werden. Für Deutschland werden im Bericht nur Daten für den ambulanten Bereich angegeben (ECDC 2022a).

Abbildung C.3 stellt den ABs-Verbrauch (linke y-Achse, blaue Balken) im Jahr 2020 in Tagesdosen den Konzentrationen (Mittelwert) an ABs im Kläranlagenablauf (rechte y-Achse, Routen) gegenüber. Für ABs mit einem geringeren Verbrauch im Jahr 2020 wurden ebenfalls geringere Konzentrationen im Kläranlagenablauf erfasst. Der Verbrauch von Ofloxacin, Erythromycin und Roxithromycin lag bei 336 bis 3309 DDD und fielen damit geringer aus als für die anderen ABs (7538 – 14189 DDD). Die Konzentration der drei ABs im Kläranlagenablauf waren ebenfalls deutlich niedriger (4,7 – 25,6 ng L⁻¹). Die verbrauchsstärksten ABs Ciprofloxacin, Clindamycin und Sulfamethoxazol in Kombination mit Trimethoprim (7893 – 14189 DDD) wurden auch mit den höchsten Konzentrationen im Kläranlagenablauf quantifiziert (89,3 – 222,6 ng L⁻¹). Der Kläranlagenablauf spiegelte somit ebenfalls den Verbrauch an ABs in der Gesellschaft wieder. Für die Verbrauchsdaten aus der Datenbank des RKI konnte der gleiche Trend ermittelt werden. Die Gegenüberstellung des ABs-Verbrauchs im stationären Bereich (z. B. Krankenhäuser) ist in Abbildung C.4 zu finden.

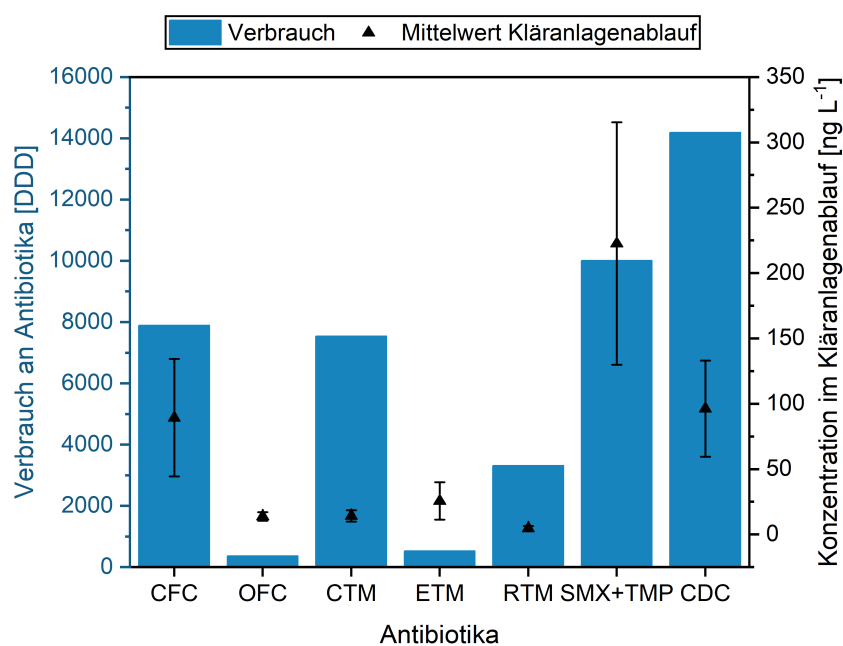


Abbildung C.3: Verbrauch an AB im ambulanten Bereich in Tagesdosen (DDD) (linke y-Achse) und Mittelwert der Konzentration im Kläranlagenablauf (E1 – E3) sowie Standardabweichung (rechte y-Achse) für Ciprofloxacin (CFC), Ofloxacin (OFC), Clarithromycin (CTM), Erythromycin und Dehydrato-Erythromycin (ETM), Roxithromycin (RTM), Sulfamethoxazol und Trimethoprim (SMX+TMP) und Clindamycin (CDC).

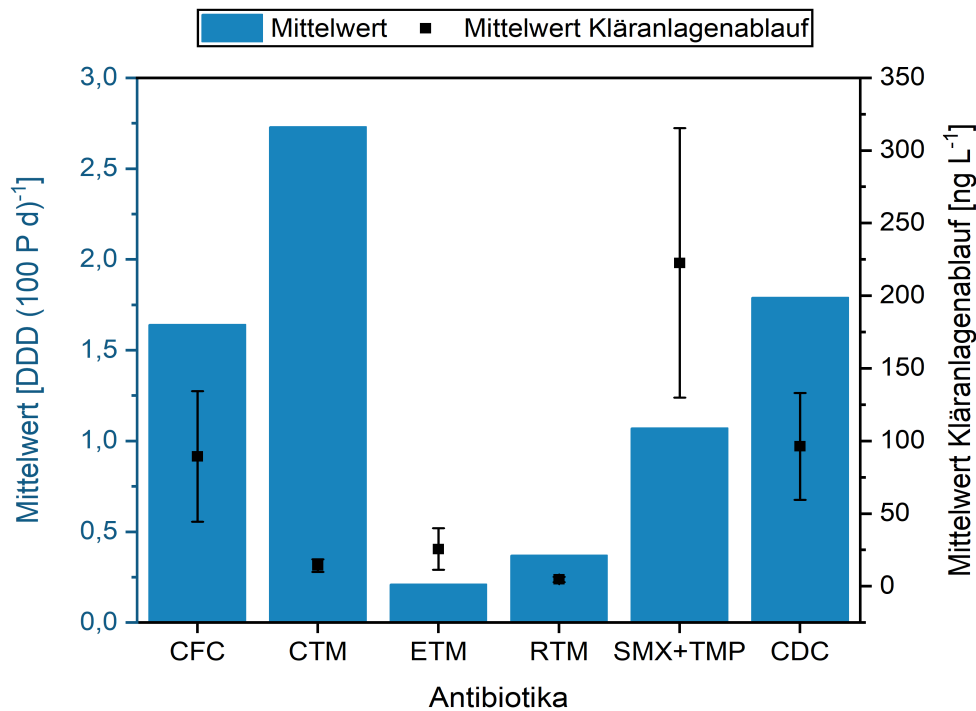


Abbildung C.4: Gegenüberstellung vom Mittelwert des ABs-Verbrauchs im Krankenhaus entnommen aus der Datenbank des Robert-Koch-Instituts „Antibiotika Verbrauch Surveillance“ (AVS) (linke Achse) und des Mittelwerts und Standardabweichung des Kläranlagenablaufs (rechte Achse, Quadrat).

Beim Vergleich der Verbrauchsdaten der ABs im ambulanten und stationären Bereich fiel auf, dass das Tetracycline Doxycyclin einen hohen Verbrauch hatte (35340,8 DDD im Jahr 2020 für den stationären Bereich, siehe Tabelle B.29 und B.30). Jedoch konnte in dieser Studie im Kläranlagenablauf kein Vertreter der Tetracycline quantifiziert werden. Von den anderen vier ABs-Klassen (Fluorchinolone, Makrolide, Sulfonamide und Andere) wurde mindestens ein AB jeder Klasse im Kläranlagenablauf bestimmt.

Risikobewertung

ABs können einen direkten und indirekten Effekt auf die Mikroorganismen des untersuchten Systems haben. Beim Auftreten in hohen Konzentrationen wirken ABs bakteriostatisch (Hemmung des Wachstums, jedoch nicht abtöten) und/oder bakterizid (töten Bakterien ab). In der Umwelt kann dieser direkte Effekt zur Hemmung bzw. Absterben bestimmter Mikroorganismen und zur Reduzierung der mikrobiologischen Diversität führen. Bei niedrigen Konzentrationen unterhalb minimaler Hemmkonzentrationen können indirekte Effekte in der Form von Ausbildung von Resistenzen gegen ABs, genetische oder phänotypische Änderungen auftreten

(Grenni u. a. 2018). Deswegen war eine differenzielle Bewertung der Umweltkonzentrationen von ABs notwendig. Dazu wurden die Konzentrationen an ABs in der Alb nach Einleitung des Kläranlagenablaufs mit zwei Grenzwerten verglichen:

1. „Predicted non-effect concentration (PNEC)“ zur Selektion von AR (PNEC-R). Der PNEC-Wert gibt die vorausgesagte Konzentration eines Stoffes in der Umwelt an, die ohne beobachtete Wirkung ist. In diesem speziellen Fall gibt dieser Wert an, bis zu welcher Konzentration keine Selektion von AR vorhergesagt wird (Bengtsson-Palme u. a. 2016) (Abschätzung des indirekten Effekts).
2. Die vorgeschlagenen Umweltqualitätsstandards (UQS) bzw. PNEC, die aus aquatischen Wirkungsdaten berechnet wurden (Details siehe (Kovalakova u. a. 2020)). Die UQS dienen dazu, Umweltqualitätsnormen (UQN) zu definieren. UQN sind für prioritäre Schadstoffe im Anhang 6 der Oberflächengewässerverordnung definiert (Bundesregierung Deutschland 2016). Die Einführung der UQN erfolgte mit der Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union (European Parliament 2000). In diesem Zusammenhang wurde die bereits erwähnte Beobachtungsliste der EU etabliert, um für geplante prioritäre Stoffe weitere Daten zu sammeln (European Commission 2018, 2022). Da die Beobachtungsliste auch ABs enthielt, wurde in diesem Zusammenhang Vorschläge für UQS erarbeitet (Wenzel u. a. 2014; Wünnemann u. a. 2020). Das Umweltbundesamt hat im Mai 2020 UQN für fünf ABs vorgeschlagen (Clarithromycin, Erythromycin, Ciprofloxacin und Sulfamethoxazol, Details siehe Tabelle C.2 und (Timme 2018)).

In Tabelle C.2 sind die Konzentrationen für die Proben D1 bis D11 (nach Einleitung des Kläranlagenablaufs) und die aus der Literatur entnommenen PNEC-R-Werte zusammengestellt. Die PNEC-R-Werte lagen im Bereich von 0,004 bis 12500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Bengtsson-Palme u. a. 2016; Murray u. a. 2021). Nur für Ciprofloxacin wird der PNEC-R überschritten.

Außer für Ofloxacin und Trimethoprim wurden für alle anderen ABs Vorschläge von UQS aus der Literatur entnommen. Diese lagen im Bereich von 0,044 bis 0,600 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Loos u. a. 2013; Sahlin u. a. 2018; Wenzel u. a. 2014; Wünnemann u. a. 2020). Für die ABs Clindamycin (Alb 0,053 $\mu\text{g L}^{-1}$; UQS 0,044 $\mu\text{g L}^{-1}$) und Ciprofloxacin (Alb 0,134 $\mu\text{g L}^{-1}$; UQS 0,100 $\mu\text{g L}^{-1}$) überschritten die maximal bestimmten Konzentrationen in der Alb die vorgeschlagenen UQS-Werte (siehe Tabelle C.2). Für die anderen ABs lagen die Konzentrationen unterhalb der UQS-Werte.

Tabelle C.2: Vergleich der Konzentration in der Alb nach Einleitung des Kläranlagenablaufs mit den Predict-non-effect-concentration für Resistenzselektion (PNEC-R) sowie den Umweltqualitätsstandards (UQS). Risikoquotienten wurden berechnet nach Formel C.4 und C.5.

Antibiotika	Konzentrationsbereich von D1 – D11 min – max [$\mu\text{g L}^{-1}$]	PNEC-R [$\mu\text{g L}^{-1}$]	UQS bzw. PNEC [$\mu\text{g L}^{-1}$]	RQ mit PNEC-R min – max	RQ mit PNEC min – max
Ciprofloxacin	0,018 – 0,135	0,064 ^[a] 0,004 ^[b] 10,770 ^[b]	0,100 ^{[c]*} 0,089 ^[d] 1,200 ^[a]	0,01 – 4,43	0,110 – 0,220
Ofloxacin	0,001 – 0,014	0,500 ^[a]	–	< 0,01	–
Clarithromycin	0,001 – 0,006	0,250 ^[a] 50,000 ^[b] 250,000 ^[b]	0,040 ^[a] 0,120 ^{[d]*}	< 0,01 – 0,02	0,020 – 0,048
Erythromycin, Erythromycin- H ₂ O	0,003 – 0,044	1,000 ^[a] 50,000 ^[b] 12500,000 ^[b]	0,200 ^{[d,e]*} 0,103 ^[a]	< 0,01 – 0,08	0,079 – 0,220
Roxithromycin	0,001 – 0,006	1,000 ^[a]	0,047 ^{[a,e]*}	< 0,01 – 0,02	0,020 – 0,130
Sulfamethoxazole	0,015 – 0,104	16,000 ^[a]	0,600 ^{[e]*} 0,590 ^[a]	0,02 – 0,01	0,020 – 0,180
Clindamycin	0,007 – 0,053	1,000 ^[a]	0,044 ^{[f]*}	0,05 – 0,07	0,166 – 1,209
Trimethoprim	0,003 – 0,014	0,500 ^[a] 1,000 ^[b] 42,700 ^[b]	56 ^[a]	< 0,01 – 0,01	< 0,01

[a] (Bengtsson-Palme u. a. 2016), [b] (Murray u. a. 2021), [c] (Sahlin u. a. 2018), [d] (Lettieri u. a. 2018), [e] (Wenzel u. a. 2014), [f] (Wünnemann u. a. 2020)

* vom Umweltbundesamt als UQN vorgeschlagen.

Die Europäische Arzneimittel-Agentur (European Medicines Agency, EMA) verlangt die Erstellung einer Umweltrisikobewertung von Arzneimitteln. Dazu werden Risikoquotienten (RQ, siehe Formel C.4 und C.5) für Oberflächenwasser berechnet. Die berechneten RQ-Werte befinden sich ebenfalls in der Tabelle C.2. Dabei wurden RQ getrennt für PNEC-R (RQR) und PNEC berechnet. In den Leitlinien der EMA wird bei einem $RQ < 1$ davon ausgegangen, dass kein Risiko für die aquatische Umwelt besteht. Bei $RQ > 1$ müssen entsprechende Maßnahmen vorgeschlagen werden (European Medicines Agency 2018). Andere Autoren schlugen eine strengere dreistufige Einteilung vor: für $RQ \leq 0,1$ bestand ein geringes Umweltrisiko, für $0,1 < RQ \leq 1$ war das Umweltrisiko moderat und für $RQ > 1$ wurde von einem hohen Umweltrisiko ausgegangen (Kovalakova u. a. 2020; Rodriguez-Mozaz u. a. 2020).

Da Ciprofloxacin den geringsten PNEC-R-Wert ($0,004 \mu\text{g L}^{-1}$) aufwies und mit Konzentrationen bis zu $0,135 \mu\text{g L}^{-1}$ quantifiziert wurde, lag der RQ bei maximal 4,43 (siehe Tabelle C.2). Damit ging von Ciprofloxacin ein erhöhtes Risiko zur Selektion von AR in der aquatischen Umwelt aus. Für alle weiteren ABs war der berechnete $RQ \leq 0,1$. Damit bestand ein geringes Risiko zur Selektion von AR. Murray u. a. kamen in ihrer Review zur Umweltrisikobewertung von ABs für Ciprofloxacin zur gleichen Schlussfolgerung (Murray u. a. 2021). Für Ciprofloxacin wurde in zwei weiteren Studien die Daten aus sieben europäischen Ländern bzw. Frankreich verwendet, ebenfalls ein moderates bis erhöhtes Risiko ermittelt (Haenni u. a. 2022; Rodriguez-Mozaz u. a. 2020).

Für Trimethoprim wurde ebenfalls von einem erhöhten Risiko ausgegangen, dass mit den Daten dieser Arbeit nicht belegt werden konnte (Murray u. a. 2021). Für die Makrolide geben Murray u. a. ein geringes Risiko zur Selektion von Resistenzen in der Umwelt an, da die PNEC-R-Werte bei $50,000 - 12500,000 \mu\text{g L}^{-1}$ lagen. Bengtsson-Palme und Larsson geben geringere PNEC-R-Werte von $0,250 - 1,000 \mu\text{g L}^{-1}$ für die Makrolide an (Bengtsson-Palme u. a. 2016). Die RQ mit den PNEC-R-Werten aus beiden Quellen waren $\leq 0,1$ (siehe Tabelle C.2). Somit kann die Aussage von Murray u. a. bestätigt werden. Murray u. a. wiesen darüber hinaus darauf hin, dass für Tetracycline und Sulfonamide nicht ausreichend oder keine Daten zu den PNEC-R-Werten vorlagen. Um ein abschließendes Urteil zu fällen, wären weitere Studien zur Bestimmung der PNEC-R notwendig (Murray u. a. 2021).

Die Berechnung des RQ wurde ebenfalls für die PNEC- bzw. UQS-Werte vorgenommen. Da die UQS niedriger ausfielen ($0,04 - 56 \mu\text{g L}^{-1}$) als die PNEC-R ($0,004$ bis $12500 \mu\text{g L}^{-1}$, siehe Tabelle C.2), wurden für fünf ABs RQ-Werte von 0,020 bis 1,209 bestimmt. Somit

ist von einem moderaten bis hohem Umweltrisiko im Bezug auf die aquatischen Organismen auszugehen. Nur für Clarithromycin und Trimethoprim wurden $RQ < 0,1$ berechnet, sodass von einem geringen Umweltrisiko ausgegangen werden konnte. Deo u. a. berechneten RQ im Rahmen der Zusammenstellung von Literaturdaten von Arzneimittel in Oberflächenwasser in den USA. Die verwendeten PNEC-Werte waren deutlich höher ($220 - 2,2 \times 10^6 \mu\text{g L}^{-1}$), wodurch RQ von $< 0,01$ bis $0,30$ bestimmt wurden (Deo 2014). Für die Risikoabschätzung werden folglich fundierte PNEC-Werte benötigt.

Die Zusammenstellung der Daten zeigte aber auch, dass für die PNEC-R-Werte die Konzentrationen höher lagen, als für die UQS-Werte. Wie Murray u. a. bereits bemerkten, bestand für die PNEC-R noch eine Datenlücke, die geschlossen werden muss (Murray u. a. 2021). Desweiteren sollte geprüft werden, ob die UQS ebenfalls eine Ausbildung von AR bewirken könnten. Bei der Umweltrisikobewertung wurden nur einzelne ABs bewertet. Jedoch treten ABs in der aquatischen Umwelt in Kombination mit anderen ABs oder Chemikalien auf, die zur Körperpflege oder Haushaltsreinigung eingesetzt werden. Die Risikobewertung sollte die toxische Wirkung von Chemikalienmischungen ebenfalls umfassen (Kovalakova u. a. 2020). Die hier durchgeführte Bewertung der Umweltkonzentrationen war dadurch limitiert, dass nur einmalig Proben genommen wurden und eine Datenlücke bei den PNEC-R-Werte bzw. UQS bestand.

C.2.2 Antibiotikaresistenzen in der Wasser- und Sedimentphase der Alb

Im Rahmen der Feldstudie wurden 21 ARGs in der Wasser- und Sedimentphase der Alb analysiert. Um zu prüfen, ob ein signifikanter Unterschied zwischen vor (U1 – U3) und nach (D1 – D11) der Einleitung des Kläranlagenablaufs vorlag, wurden die Mediane der beiden Probenahmestellen verglichen. Dafür wurde der Mann-Whitney Test angewendet. Basierend auf den Ergebnissen wurden die ARGs in drei Gruppen eingeteilt. Für die ARGs der Gruppe 1 ergab der Mann-Whitney-Test einen signifikanten Unterschied zwischen vor und nach der Einleitung des Kläranlagenablaufs. Für Gruppe 2 konnte der Mann-Whitney-Test nicht durchgeführt werden, da vor Einleitung des Kläranlagenablaufs das ARG nicht detektiert wurde (z. B. qnrA) oder der Datenumfang zu klein war (einer statt neun Messwerte, z. B. ermB). Außerdem wurden in diese Gruppe ARGs einsortiert, für die ein Unterschied zwischen vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs bestand, dieser aber nicht signifikant war. Im Allgemeinen lagen die Differenzen der Mediane für diese Gruppe zwischen vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs

zwischen 0,2 bis 0,7. Für ARGs der Gruppe 3 bestand kein Unterschied zwischen vor und nach Einleitung des Kläranlagenablaufs. Die Differenz ihrer Mediane war kleiner als 0,2. Die Einteilung der ARGs für die Wasser- und Sedimentphase ist in Tabelle C.3 zusammengefasst.

Tabelle C.3: Einteilung der ARGs der Wasser- und Sedimentphase in drei Gruppen. Für Gruppe 1 besteht ein signifikanter Unterschied nach dem Mann-Whitney Test. Für Gruppe 2 besteht ein Unterschied, dieser fiel jedoch nicht signifikant aus ($0,2 < \text{Differenz der Mediane} < 0,7$). Für Gruppe 3 bestand kein Unterschied ($\text{Differenz der Mediane} < 0,2$).

Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Wasserphase		
	qnrA	qepA, qnrB, qnrB ₄
msrE	ermB	mphA, ermX, ereA
sul1		sul2 und 3
	tetM	tetD, tetE, tetG, tetR dfrA25, dfrA27, intl1
Sedimentphase		
		qepA, qnrB, qnrB ₄
	msrE, ermB, mphA	ermX, ereA
sul1	sul2	sul3
	tetM, tetE, tetR	tetD, tetG dfrA25, dfrA27, intl1

Für die Wasserphase wiesen fünf ARGs einen höheren Median nach Einleitung des Kläranlagenablaufs auf als davor (siehe Tabelle C.3, Gruppe 1 und 2). Für die ARGs msrE und sul1 bestand ein signifikanter Unterschied zwischen vor und nach der Einleitung des Kläranlagenablaufs. Für die Sedimentphase bestand bei acht ARGs ein Unterschied zwischen vor und nach der Einleitung des Kläranlagenablaufs. Jedoch war dieser nur bei sul1 signifikant. qnrA wurde an keiner der drei Probenahmestellen im Sediment quantifiziert. Für ermB und msrE lagen nicht ausreichend Daten für die Sedimentphase vor, damit ein statistischer Test durchgeführt werden konnte. Wie bereits für die ABs, stellte der Kläranlagenablauf für die ARGs der Gruppe 1 und 2 eine anthropogene Eintragsquelle dar. Diese fünf (Wasserphase) bis acht (Sedimentphase) ARGs eigneten sich folglich für weitere Untersuchungen bzw. Monitoring-Programme, um den Eintrag von ARGs in die aquatische Umwelt zu erfassen. Die anderen untersuchten ARGs traten in der aquatischen Umwelt vor Einleitung des Kläranlagenablaufs mit vergleichbaren absoluten Häufigkeiten wie nach Einleitung des Kläranlagenablaufs auf. Die Differenz der

Mediane lagen für die Wasserphase zwischen -0,3 und 0,2 und für die Sedimentphase betrug die Differenzen $< -0,1$ bis 0,2.

Die Abbildung C.5 und C.6 stellen für jede ARGs-Klasse die Ergebnisse von zwei ARGs in der Wasser- und Sedimentphase dar. Zu sehen sind die logarithmierten Konzentrationen in Genkopien (GC) pro mL bzw. g für vor (U1 – U3, blau) und nach (D1 – D11, rot) Einleitung des Kläranlagenablaufs sowie der Abwasserkanal (E1 – E3, schwarz). Die Abbildungen für die weiteren ARGs befinden sich im Anhang (Abbildung A.48 bis A.53). Im weiteren Verlauf werden die Einheiten für die ARGs folgendermaßen abgekürzt:

$$\log_{10}(GC \text{ mL}^{-1}) = \lg GC \text{ mL}^{-1} \quad \log_{10}(GC \text{ g}^{-1}) = \lg GC \text{ g}^{-1}$$

Die zuvor vorgenommene Einteilung der ARGs in die drei Gruppen spiegelte sich ebenfalls in der graphischen Darstellung wieder. Für die ARGs qnrA, msrE, ermB, sul1 und tetM war in der Wasser- und Sedimentphase ein deutlicher Unterschied zwischen den Medianen vor (3,1 – 3,7 $\lg GC \text{ mL}^{-1}$ bzw. n.d. – 9,1 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) und nach (3,7 – 4,4 $\lg GC \text{ mL}^{-1}$ bzw. 9,0 – 9,8 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) der Einleitung des Kläranlagenablaufs erkennbar (siehe Abbildung C.5 und C.6). Hingegen wurde für qnrB und tetD (Gruppe 3) weder in der Wasser- (3,8 und 5,6 – 5,9 $\lg GC \text{ mL}^{-1}$) noch in der Sedimentphase (9,0 – 9,4 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) ein Unterschied zwischen den Medianen ermittelt.

Der Vergleich der Sediment- und Wasserphase ergab, dass ARGs mit erhöhter Konzentration in der Wasserphase ebenfalls mit erhöhter Konzentration in der Sedimentphase auftraten. Z. B. waren die Spannweiten von msrE (3,4 – 6,5 $\lg GC \text{ mL}^{-1}$; 7,4 – 10,5 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) bzw. tetD (4,9 – 6,6 $\lg GC \text{ mL}^{-1}$; 8,2 – 11,6 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) in beiden Phasen höher als für ermB (3,1 – 3,8 $\lg GC \text{ mL}^{-1}$; 7,8 – 9,9 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) und tetM (2,9 – 4,6 $\lg GC \text{ mL}^{-1}$; 7,6 – 9,7 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) (siehe Abbildung C.5 und C.6). Die Sedimentproben des Abwasserkanals (E2 und E3) wiesen die höchsten Spannweiten der absoluten Häufigkeiten (9,2 – 12,2 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) im Vergleich zu vor bzw. nach der Einleitung des Kläranlagenablaufs auf (7,4 – 12,2 $\lg GC \text{ g}^{-1}$) (siehe Abbildung C.5b und C.6b). Brown u. a. zeigten in ihrer Studie, dass absetzbare partikuläre Bestandteile des Abwassers einen höheren Anteil an ARGs aufwiesen als der gelöste Anteil (Brown u. a. 2019). Durch Sedimentation der Partikel im Abwasserkanal reicherten sich dort die ARGs an und waren damit eine mögliche Erklärung für die höhere absolute Häufigkeit in der Sedimentphase.

Für Ciprofloxacin wurde eine Überschreitung des PNEC-R-Werts festgestellt (siehe Abschnitt 3.4.2). Jedoch konnten keine höheren absoluten Häufigkeiten für die ARGs der Klasse der Fluorchinolo-

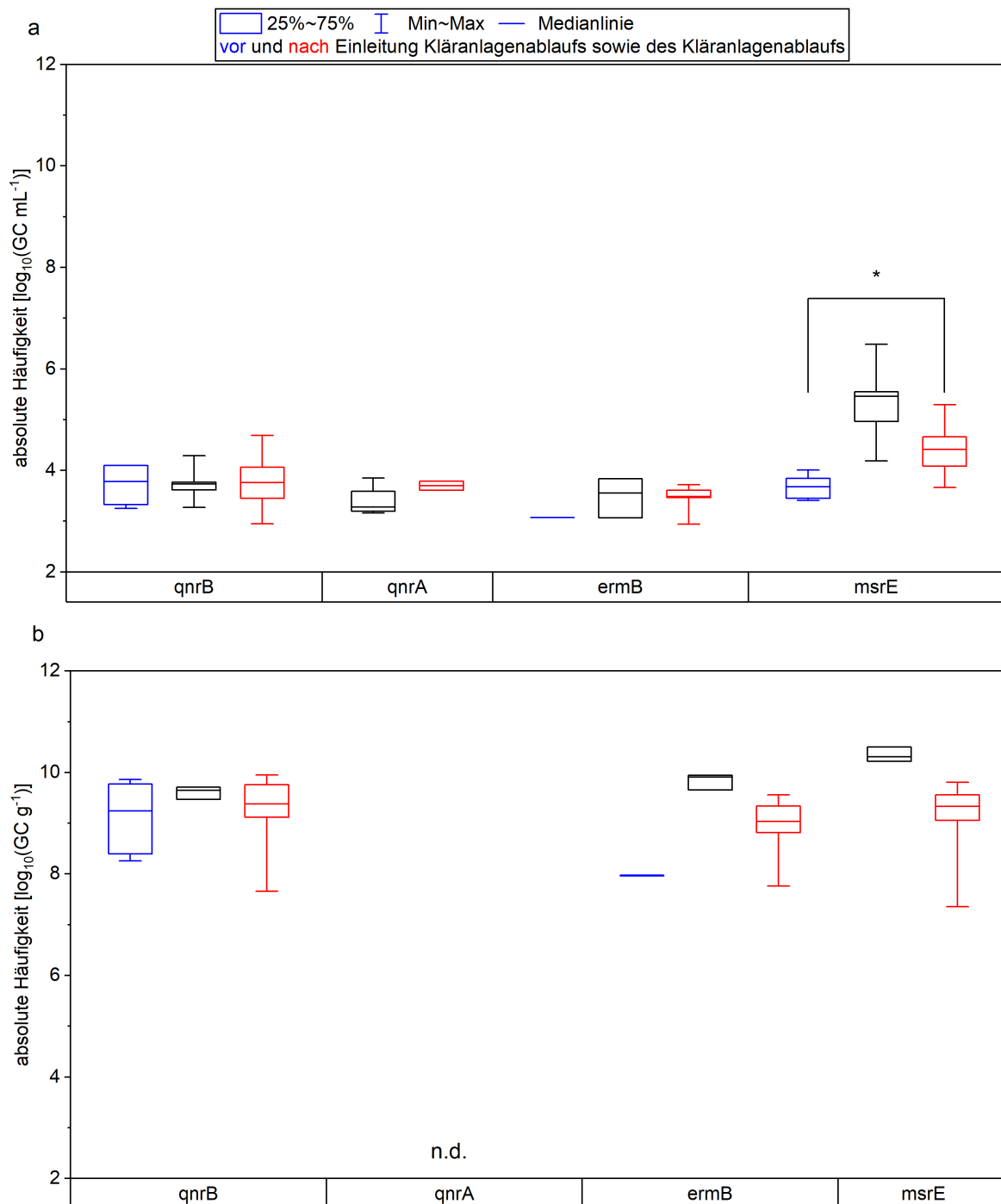


Abbildung C.5: ARGs der Fluorchinolone und Makrolide in der Wasserphase (a) und Sedi-
 mentphase (b) vor (U1-U3, blau) und nach (D1-D11, rot) Einleitung des Kläranlagenablaufs
 sowie des Abwasserkanals (E1-E3, schwarz), n.d. – nicht detektiert. Der Stern (*) weist auf
 einen signifikanten Unterschied nach dem Mann-Whitney Test zwischen den lgGC mL^{-1} vor
 und nach Einleitung des geklärten Abwassers in die Alb hin.

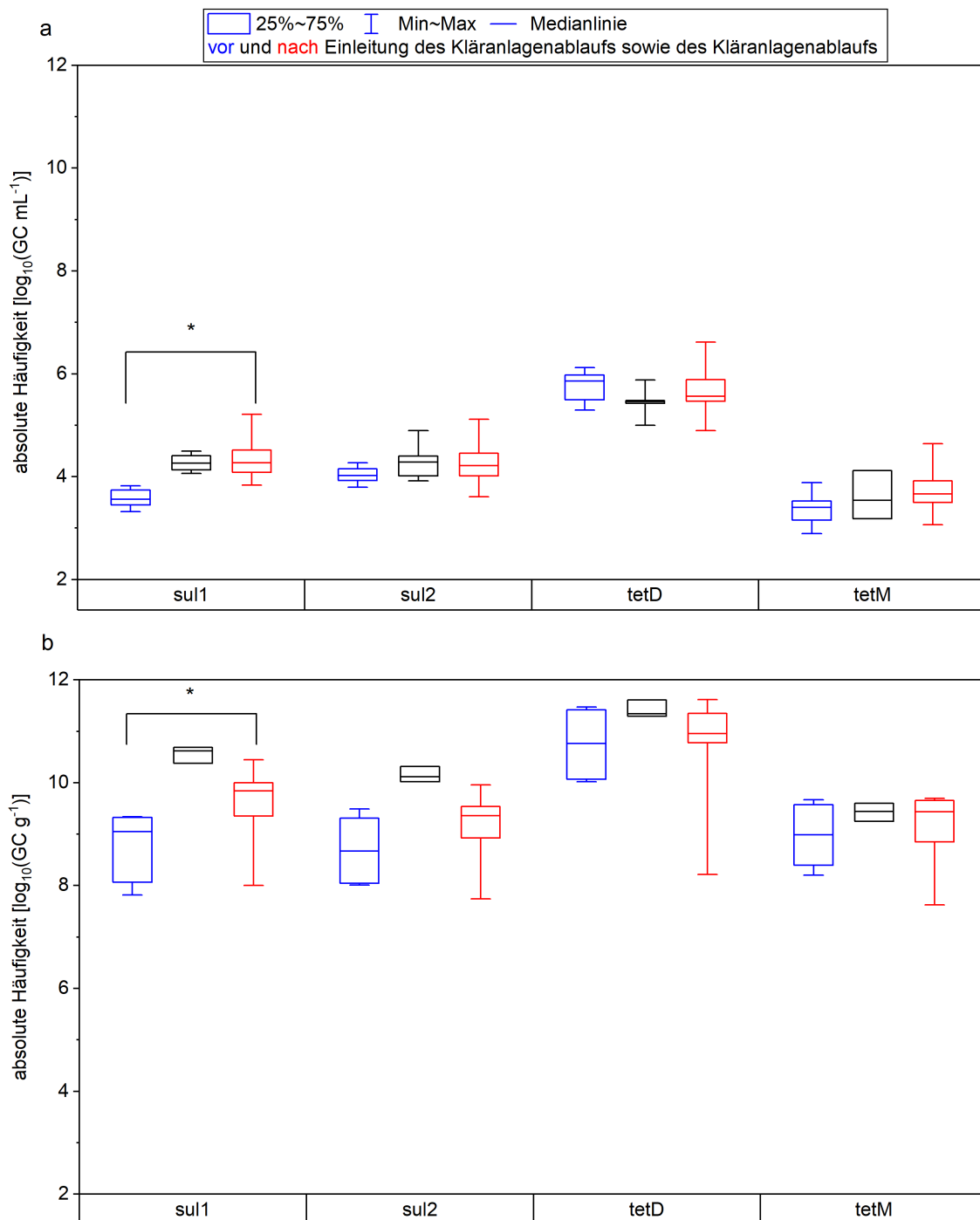


Abbildung C.6: ARGs der Sulfonamide und Tetracycline für die Wasser- (a) und Sedimentphase (b) vor (U1 – U3, blau) und nach (D1 – D11, rot) Einleitung des Kläranlagenablaufs sowie des Abwasserkanals (E1 – E3, schwarz). Der Stern (*) weist auf einen signifikanten Unterschied nach dem Mann-Whitney Test zwischen den lgGC mL^{-1} vor und nach Einleitung des geklärten Abwassers in die Alb hin.

ne ($3,0 - 7,0 \text{ IgGC mL}^{-1}$; $7,7 - 12,2 \text{ IgGC g}^{-1}$) im Vergleich zu den andere ARGs-Klassen ermittelt werden ($2,9 - 7,1 \text{ IgGC mL}^{-1}$; $7,4 - 21,1 \text{ IgGC g}^{-1}$). Eine Korrelation der AB-Konzentration im Sediment und der absoluten Häufigkeit des korrespondierenden ARGs wurde für Sulfapyridin und sul1 exemplarisch getestet. Es konnte kein Zusammenhang festgestellt werden (siehe Abbildung C.7 und C.8, Anhang). Ob der Massenanteil an ABs im Sediment einen Selektionsdruck zur Ausbildung von AR ausübte, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht belegt werden. Dafür wären weitere Untersuchungen der Sedimentphase über einen längeren Zeitraum notwendig. Z. B. in Form eines Mesokosmos-Experiments.

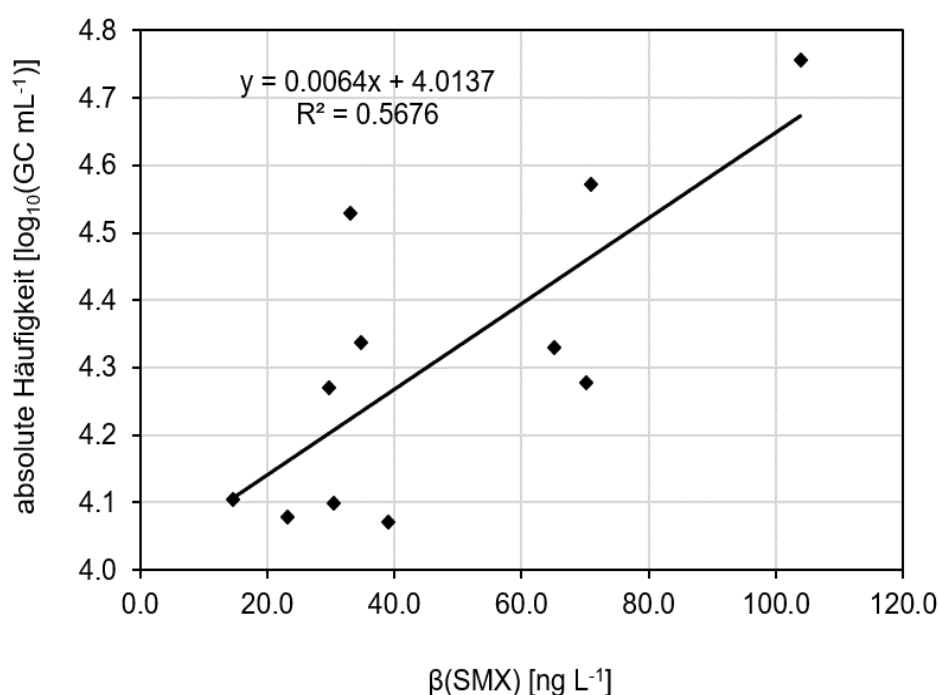


Abbildung C.7: Prüfung einer Korrelation der Konzentration an Sulfamethoxazol (SMX) in der Wasserphase der Alb gegenübergestellt mit der absoluten Häufigkeit des ARG sul1 in der Wasserphase der Alb nach Einteilung des Kläranlagenablaufs.

Abschließende Beurteilung der ARGs

Im Gegensatz zu den ABs gibt es für die ARGs noch keine standardisierten analytischen Methoden oder Listen für Target-Gene, die für Feldstudien angewendet werden können. Hinzu kommt, dass für HT-qPCR Daten noch kein Leitfaden zur Dateninterpretation erstellt wurde (Berendonk u. a. 2015; Liguori u. a. 2022). Somit bleibt der Vergleich von Ergebnissen aus unterschiedlichen Studien schwierig. Darüber hinaus fehlten für ARGs „Grenzwerte“, ab de-

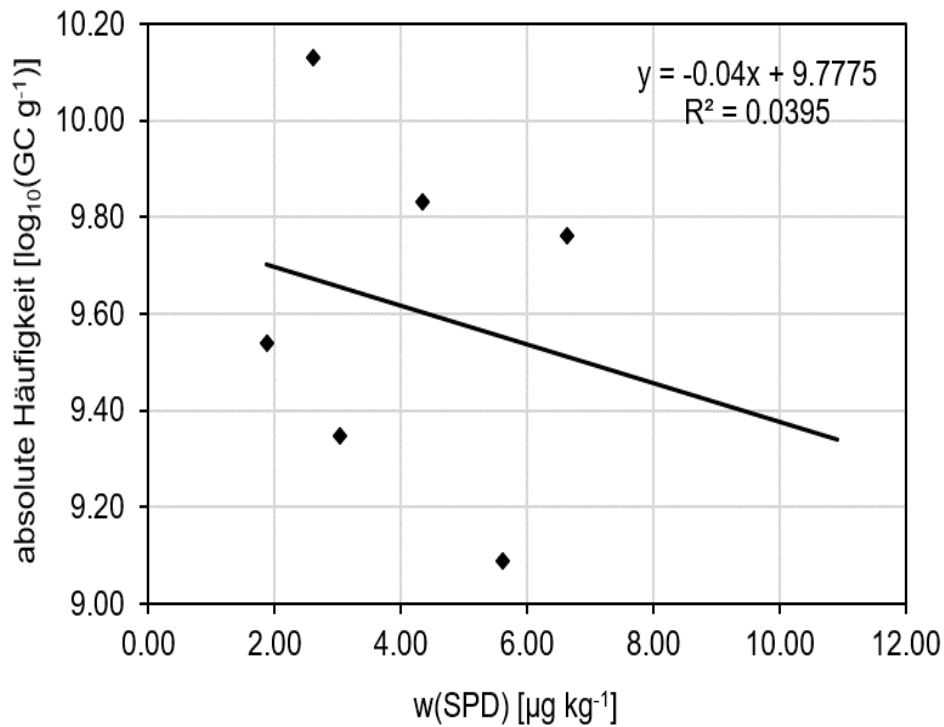


Abbildung C.8: Prüfung einer Korrelation der Konzentration an Sulfapyridin (SPD) in der Sedimentphase der Alb gegenübergestellt mit der absoluten Häufigkeit des ARG sul1 in der Sedimentphase der Alb nach Einteilung des Kläranlagenablaufs.

nen von einem erhöhten Risiko für den Menschen auszugehen ist (Liguori u. a. 2022). Eine abschließende Bewertung der erhobenen ARGs Daten war deshalb nicht möglich.