

Endbericht

Konzentrationen und Umweltverhalten von Transformationsprodukten bedeutsamer Pharmazeutika und von Coffein in der Wietze

Dr. Wolf-Ulrich Palm[†], Dr. Mario Schaffer[‡], Prof. Dr. Klaus Kümmerer[†]

[†] Leuphana Universität Lüneburg, Institut für Nachhaltige Chemie und Umweltchemie
Universitätsallee 1, 21335 Lüneburg

[‡] NLWKN – Betriebsstelle Hannover-Hildesheim, Aufgabenbereich: Oberirdische Gewässer
An der Scharlake 39, 31135 Hildesheim

Version vom 1. Dezember 2021

Antragsteller: Leuphana Universität Lüneburg,
Fakultät Nachhaltigkeitswissenschaften
Institut für Nachhaltige Chemie und Umweltchemie

Anschrift: Universitätsallee 1, 21335 Lüneburg

Tel.: 04131-677 2874 / 2893
Fax: 04131-677 2822 / 2848
E-Mail: palm@uni.leuphana.de
klaus.kuemmerer@leuphana.de

Laufzeit: 1.7.2019 - 30.06.2021

Inhalt

1	Einleitung	4
2	Experimentelles	5
3	Ergebnisse und Diskussion	7
3.1	Besonderheiten zu den einzelnen Verbindungen und den Messstellen.....	8
3.1.1	Substanzen.....	8
3.1.2	Messstellen	9
3.2	Gesamtübersicht der gefundenen Konzentrationen.....	9
3.3	Beispielhafte Konzentrationsverläufe in der Wietze.....	11
3.4	Spezielle Themen	14
3.4.1	Sommerekampagne Juni 2021	14
3.4.2	4-Hydroxyantipyrin.....	16
3.4.3	Konzentrationen in der Wulbeck.....	18
	Danksagung	20
4	Literatur	20

Zusammenfassung

In dem Ende Juli 2021 beendeten Projekt wurden die Konzentrationen von fünf Arzneimittelwirkstoffen und ausgewählten Transformationsprodukten dieser Pharmazeutika bzw. des Coffeins in der Wietze untersucht. Insgesamt wurden in zehn Messkampagnen 14 Probemessstellen in der Wietze und an Zuflüssen die Konzentrationen für insgesamt 33 Verbindungen analysiert. Diese Messungen wurden von Laboruntersuchungen zum Abbau und Verhalten der Verbindungen begleitet.

Alle acht im Vorfeld erwarteten Transformationsprodukte des Carbamazepins wurden in der Wietze gefunden, vom Diclofenac nur das photochemisch zu 100 % gebildete erste Photoprodukt (8-Chlorcarbazol-1-essigsäure), vom Sulfamethoxazol ein photochemisch gebildetes Oxazolderivat, vom Antipyrin (Phenazon) das wahrscheinlich als Konjugat vorliegende 4-Hydroantipyrin und alle vom Coffein abgeleiteten acht untersuchten Xanthinderivate. Nur vom Trimethoprim konnten die beiden gesuchten Produkte nicht gefunden werden. Insgesamt konnten von den gesuchten Produkten zwölf Verbindungen nicht detektiert werden.

Die Analytik der Verbindungen erfolgte nach sequenzieller Anreicherung über zwei SPE-Phasen mittels LC-MS/MS. Die instrumentellen Bestimmungsgrenzen (BG) lagen im Bereich einiger $\mu\text{g/L}$ und in den Realproben im Bereich von 10 ng/L , da der Anreicherungsfaktor bei 500 lag.

Diclofenac, trans-Dihydroxycarbamazepin und Carbamazepin wurden in den Oberflächengewässern (Wietze, Mühlengraben und Hengstbeeke) im Einzugsgebiet der Wietze mit maximalen Konzentrationen von 1000 – 3500 ng/L gefunden. Das maximale Konzentrationsniveau aller anderen detektierten Verbindungen lag im Bereich 10 – 600 ng/L . Pharmazeutika und ihre Produkte werden vollständig durch Kläranlagen in die Oberflächengewässer eingetragen und die Konzentrationen lassen sich vollständig durch Verdünnungen im Gewässer erklären. Dagegen zeigen die Xanthinderivate ein abweichendes Konzentrationsmuster mit diffusen Einträgen, z.B. über den Niederschlag.

Von keinen der untersuchten Pharmazeutika und deren Produkten konnte auf der etwa 40 km langen Fließstrecke in der Wietze in einem Zeitbereich von ca. 1 Tag eine merkliche Reduktion der Gewässerfracht bis zur Mündung in die Aller nachgewiesen werden.

1 Einleitung

In Fortführung eines 2018 abgeschlossenen Projektes [1] wurden die Konzentrationen der fünf Pharmazeutika Carbamazepin (CBZ), Diclofenac (DCF), Phenazon (PNZ), Sulfamethoxazol (SMX), Trimethoprim (TMP) sowie des Alkaloids Coffein (COF) im Ablauf der größten Kläranlage im Wietzegebiet¹ und im gesamten Flussverlauf der Wietze von der Quelle bis zur Mündung analysiert.

Im Zentrum des Projektes stand ab Juli 2019 die Untersuchung potentieller Abbauprodukte aller sechs im ersten Teil bearbeiteten Verbindungen im Oberflächengewässer der Wietze. Messungen dieser Art wurden bisher noch nicht in diesem Umfang durchgeführt und die meisten der Produkte bisher noch nicht im norddeutschen Raum in Umweltproben analysiert. Mithilfe der Messungen sollten erstmalig potentielle Produkte bedeutsamer Pharmazeutika und des Coffeins in einem typischen norddeutschen Oberflächengewässer mit hoher Abwasserbelastung untersucht werden.

- Da zu den Produkten in Umweltproben bisher nur sehr wenig Informationen vorlagen, wurde die erste Phase im Projekt (Juli 2019 – Juli 2020) genutzt, die Bedeutung der im Vorfeld nur aufgrund von Literaturangaben ausgewählten Produkte zu überprüfen. Neben einigen Probekampagnen und der Entwicklung der Analytik wurden drei Kampagnen an der Wietze (jeweils 14 Messstellen) am 19.11.2019, 17.2.2020 und am 8.6.2020, diverse Testkampagnen und eine Regenkampagne durchgeführt.
- Aufgrund der Coronapandemie ab März 2020 konnten einige ab diesem Zeitraum geplante Messungen sowohl mit Realproben als auch mit artifiziellen Proben im Labor nur unter erschwerten Bedingungen bzw. gar nicht durchgeführt werden. Diese fehlenden Messungen und Kampagnen wurden im Zeitraum 1.1.2021 – 13.9.2021 nachgeholt.
- Auch in der zweiten Phase des Projektes wurden fünf Bachelorarbeiten durchgeführt, im Speziellen zur Thematik der photochemischen Produkte zum Sulfamethoxazol [2], des Diclofenacs [3] und zu Xanthin und den Methylxanthinen als potentielle Produkte des Coffeins [4]. Weiterhin wurde die Konzentration des 4-Hydroxyphenazons, dem Hauptmetabolit des Phenazons [5] und der Einfluss von Eisen(III) auf den photochemischen Abbau in der Wulbeck [6] untersucht.

¹ Auf Wunsch des Betreibers wird die größte Kläranlage im Wietzegebiet in Langenhagen als KA bezeichnet und in allen Veröffentlichungen entsprechend anonymisiert.

2 Experimentelles

Die Messstellen an der Wietze wurden analog zu den vorherigen Untersuchungen verwendet [1]. Eine Karte der Messstellen ist in Abbildung 1 dargestellt, weitere Karten und konkrete Positionen zu den Messstellen sowie grundlegende Eigenschaften und Herkunft der Substanzen sind im Supplement zum Endbericht zusammengefasst.

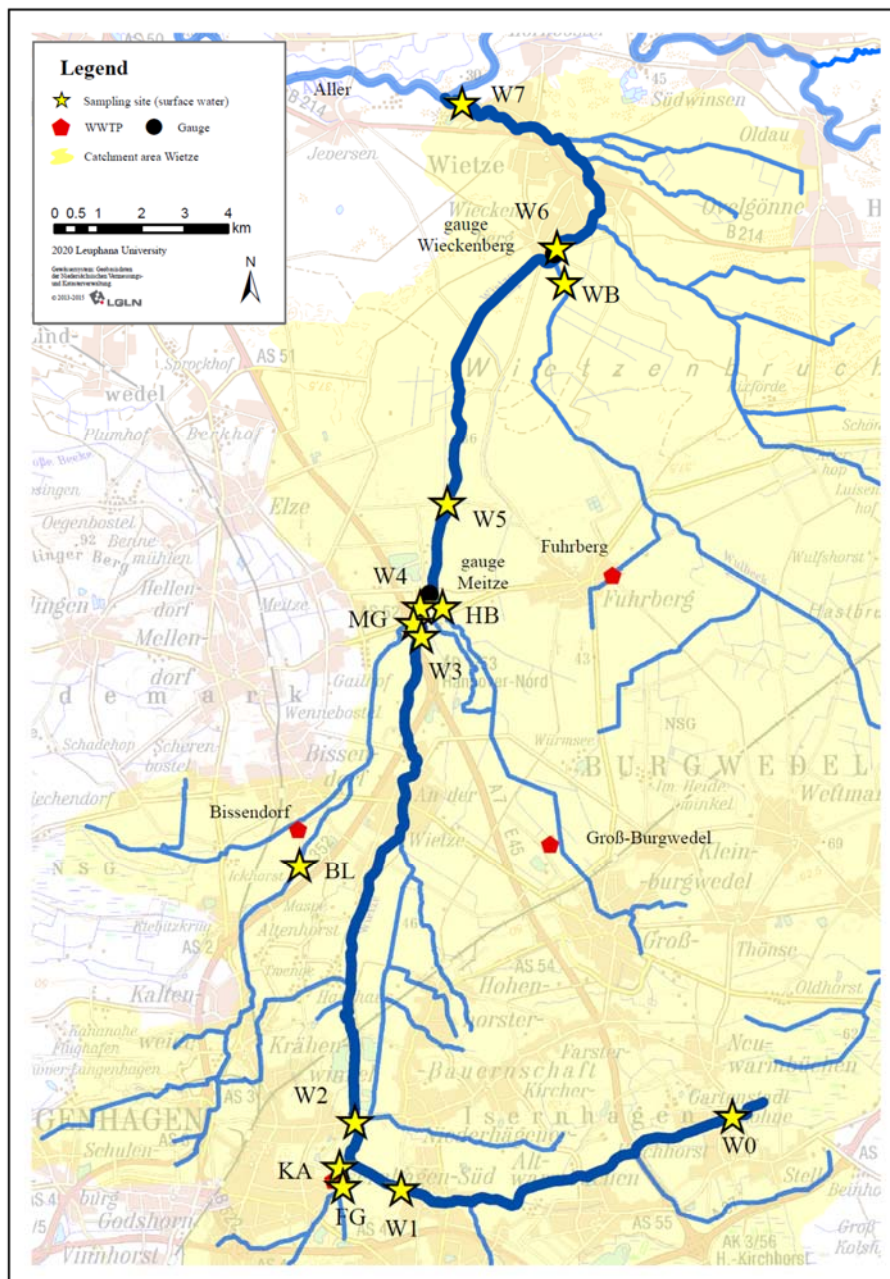


Abbildung 1: Messstellen entlang der Wietze und ihren Zuflüssen.

Zu Beginn wurden Testproben entsprechend der ersten Untersuchungen [1] aufgearbeitet (SPE mit HRX-Material). Mit diesem Aufbau ergaben sich jedoch zu Beginn erhebliche Probleme in

der Anreicherung, so waren z.B. Xanthin und die Mono- bzw. Dimethylxanthine sowie einige polare Abbauprodukte des Sulfamethoxazols nicht anzureichern. Deshalb wurde eine Methode von He et al. adaptiert [7] mit einem Aufbau mit zwei übereinander gesteckten SPE-Kartuschen (HLB und HR-XC). Alle Details zum Aufbau, der Aufbereitung der Realproben, die Analytik mittels LC-MS/MS, die Bestimmungsgrenzen und Wiederfindungen sind im Supplement dargestellt, für die Xanthine liegt zudem eine ausführliche Publikation zu den in der Wietze gefundenen Konzentrationen vor [8].

Insgesamt wurden jeweils 33 Analyten (+ 11 isotopenmarkierte Standards) in über 100 Proben im Zeitraum zwischen September 2019 – September 2021 analysiert. Die Probenahmezeitpunkte für die Kampagnen sind in Tabelle 1, die untersuchten Substanzen in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 1: Durchgeführte Messkampagnen.

Datum	Ort	Schwerpunkt der Messung
11.09.2019	Umgebung KA und Zufluss in die Aller	Testmessung 1
19.11.2019	Quelle Wietze bis Zufluss in die Aller und Zuflüsse in die Wietze	Testmessung 2
17.02.2020	Quelle Wietze bis Zufluss in die Aller und Zuflüsse in die Wietze, Zulauf KA, Regensammler aufgestellt	Gesamtmessung Wietze
08.06.2020	Wiederfindung, Quelle Wietze bis Zufluss in die Aller und Zuflüsse in die Wietze	Gesamtmessung Wietze
31.08.2020	Quelle Wietze bis Zufluss in die Aller und Zuflüsse in die Wietze	Gesamtmessung Wietze
08.12.2020	Umgebung KA	Untersuchungen zum 4-Hydroxyphenazon
01.03.2021	Quelle Wietze bis Zufluss in Aller und Zuflüsse in die Wietze	Gesamtmessung Wietze
02.06.2021	KA Fuhrberg, Wulbeck	Einfluss Fe(III) auf Abbau
28.06.2021	Zwischen Pegel Meitze und Pegel Wieckenberg	Stabilität der Verbindungen, UV-Abbau
13.09.2021	Quelle Wietze bis Zufluss in Aller und Zuflüsse in die Wietze	Gesamtmessung Wietze

Tabelle 2: Untersuchtes Substanzspektrum.

Nr	Substanz	Nr	Substanz
C0	Carbamazepin	S0	Sulfamethoxazol
C1	10,11-Dihydro-10-hydroxy Carbamazepin	S1	Iso-Sulfamethoxazol
C2	Oxcarbamazepin	S2	3-Amino-5-methylisoxazol (AMI)
C3	Carbamazepin-10,11-epoxide	S3	2-Amino-5-methyloxazol (AMO)
C4	cis-10,11-Dihydro-10,11-Dihydroxy Carbamazepin	S4	Sulfanilsäure
C5	rac trans-10,11-Dihydro-10,11-Dihydroxy Carbamazepin	T0	Trimethoprim
C6	Acridin-9-carbonsäure	T1	5-(3,4,5-Trimethoxybenzoyl)-2,4-pyrimidindiamin
C7	Acridin	T2	α -Hydroxy-Trimethoprim
C8	9-Acridinaldehyd	X7	Coffein
D0	Diclofenac	X0	Xanthin
D1	8-Chlorocarbazol-1-essigsäure	X1	1-Methylxanthin
D2	Carbazol-1-essigsäure	X2	3-Methylxanthin
D3	2-[(2-Chlorophenyl)amino]-benzaldehyd	X3	7-Methylxanthin
P0	Phenazon	X4	Theophyllin
P1	4-Hydroxyantipyrin	X5	Paraxanthin
P2	Propionanilid	X6	Theobromin
		X8	Isocoffein

3 Ergebnisse und Diskussion

Die Messergebnisse aller Proben sind tabellarisch im Supplement zusammengefasst. Aus dem analysierten Substanzspektrum der untersuchten 33 Verbindungen werden im Folgenden zwölf Verbindungen nicht in die Betrachtung einbezogen.

- Das Produkt C8 (9-Acridinaldehyd) ist ein Vorläufermolekül des Acridins und wurde zwar in einer speziellen Messung in der Wietze gefunden [9], ist photochemisch jedoch außerordentlich reaktiv und sehr kurzlebig und wurde deshalb in diesem Projekt nicht weiter analysiert.
- Die Verbindungen D2 und D3 (Produkte von Diclofenac), P2 (Produkt von Phenazon) und T1 und T2 (Produkte vom Trimethoprim) wurden nicht bzw. nur in sehr wenigen Ausnahmefällen oberhalb der BG gefunden
- P1 (OH-Antipyrin), S4 (Sulfanilsäure) und X0 (Xanthin) konnten nicht angereichert werden oder lieferten Probleme im Standard (P1).

3.1 Besonderheiten zu einzelnen Verbindungen und Messstellen

3.1.1 Substanzen

- Vom **Trimethoprim** wurden die ausgesuchten Produkte nicht detektiert. Das kann durch die hohe Persistenz des Trimethoprim und das geringe Konzentrationsniveau des Trimethoprim selbst erklärt werden.
- **Propionanilid** und **Produkt 2 bzw. Produkt 3 des Diclofenacs** konnten in keiner Probe nachgewiesen werden.
- **Sulfanilsäure** als Produkt des Sulfamethoxazol ist in Realproben mit den verwendeten Methoden nicht anzureichern. Deshalb wurde Sulfanilsäure aus dem Programm für Realproben (!) entfernt.
- Das Produkt **AMI** des **Sulfamethoxazols** wurde in der Wietze in der Juni-Kampagne 2020 zwar detektiert, konnte jedoch bisher nicht quantifiziert werden. Das **Isomer des Sulfamethoxazols** wurde zwar in der eigens dafür konzipierten Sommerkampagne im August 2021 quantifiziert, die Konzentrationsniveaus in den Proben im Allgemeinen sind jedoch entweder sehr gering oder < BG. Dies kann durch die schnelle Weiterreaktion des Isomers erklärt werden [2].
- Das freie **4-Hydroxyphenazon** (bzw. 4-Hydroxyantipyrin) ist empfindlich mittels LC-MS/MS zu messen, liegt in Realproben jedoch auch als Konjugat vor. Einige Aspekte zur Analytik werden im Abschnitt 3.4.2 diskutiert.
- **trans-Dihydroxycarbamazepin** ist das vorherrschende Abbauprodukt des Carbamazepins [10] und wurde mit maximalen Konzentrationen im Bereich von 2000 ng/L im Oberflächengewässer der Wietze gefunden. Dagegen spielt **cis-Dihydroxycarbamazepin** eine geringe Rolle mit maximalen Konzentrationen mindestens einen Faktor 10 niedriger als trans-Dihydroxycarbamazepin
- Im sauren pH-Bereich ist das **Epoxid des Carbamazepins** instabil und wird bei Raumtemperatur nach ungefähr 2 Tagen vollständig abgebaut. Dabei wird ca. 50 % trans-Dihydroxycarbamazepin gebildet. Umgekehrt entsteht im ESI-Kopf des Massenspektrometers zum Teil aus trans-Dihydroxycarbamazepin das Oxcarbamazepin und nicht das Epoxid (Ergebnisse aus quantenmechanischen Rechnungen von Prof. S. Grimme der Universität Bonn).
- Alle untersuchten **Methylxanthine** werden in der größten Kläranlage an der Wietze sehr gut eliminiert. Messungen des Zu- und Ablaufs lieferten eine Eliminationsrate von mehr als 99 % für alle Verbindungen [4, 7, 8]. Alle in 1-, 3- und 7-Position substituierten **Methylxanthine** wurden erstmalig in einem Oberflächengewässer untersucht (und gefunden). Im Gegensatz zum Literaturverfahren [7] konnte **Xanthin** selbst als außerordentlich polares Molekül mit den gewählten Anreicherungsphasen nicht angereichert

werden. Aus diesem Grund wurde ein Additionsverfahren für die direkte Analytik des Xanthins ohne Anreicherung entwickelt und Xanthin exemplarisch in einigen wenigen Fällen quantifiziert.

- Für **Coffein** und erstmalig für die Methylxanthine wurden weiterhin Regenmessungen fortgesetzt. Auch in diesen Proben wurde in allen Fällen Coffein $> BG$ und ausnahmslos oberhalb der ermittelten Blankkonzentrationen gefunden. Diverse nun vorliegende Blankkonzentrationen ($N=30$) der letzten 3 Jahre führen für Coffein zu Konzentrationen im Bereich von $c(\text{Blank}) = 8 \pm 9 \mu\text{g/L}$. Wie Coffein in den Regen eingetragen wird ist jedoch bisher nicht bekannt. **Isocoffein** wird nur an Messstellen gefunden, die durch eine Kläranlage beeinflusst sind. Auch in Regenproben wird Isocoffein nicht gefunden. Dieses Konzentrationsmuster ist mindestens in Teilen anders als für Coffein.

3.1.2 Messstellen

- An den Messstellen in der Wietze sind die gefundenen Konzentrationen für die pharmazeutischen Wirkstoffe und deren Produkte allein durch den Eintrag aus den Kläranlagen zu erklären. In einigen sehr wenigen Fällen werden an der Blind-Messstelle Pharmazeutika in sehr geringen Konzentrationen gefunden.
- In der Wulbeck kurz vor der Mündung in die Wietze werden zu allen Zeitpunkten praktisch keine der untersuchten Verbindungen gefunden. Mindestens dieser Teil der Wulbeck ist stark verockert, einige spezielle Aspekte werden im Abschnitt 3.4.3 dargestellt.
- Eine zweite ungewöhnliche Messstelle ist der Flussgraben. Der Flussgraben steht im Oberlauf unseres Wissens mit keiner Kläranlage in Kontakt, dennoch wird eine relativ hohe Konzentration an Phenazon und in einigen Fällen jedoch geringere Mengen von z.B. Diclofenac und Carbamazepin gemessen. Diese Messstelle wurde jedoch nicht näher untersucht.

3.2 Gesamtübersicht der gefundenen Konzentrationen

Die Qualität der ermittelten Konzentrationen ist in der Abbildung 2 dargestellt. Dabei liefert eine einfache Massenbilanz (Details in [1] und [11]) neben ansonsten nicht zugänglichen Volumenströmen in der Wietze einen Vergleich gemessener und aus den Zusammenflüssen berechneter Konzentrationen, dargestellt mit den vorliegenden Konzentrationen in der Abbildung 2.

Neben den in allen Fällen verwendeten Leitfähigkeiten und den Konzentrationen für DIC, Chlorid, Nitrat und Sulfat wurden die organischen Verbindungen mit Konzentrationen $> BG$ verwendet. Realistische Fehler in den bestimmten Konzentrationen der Realproben liegen danach

im Bereich um 30 %, weitergehende Details zu Fehlern in Mehrfachmessungen sind im Rahmen der kurzen Diskussion einer Sommerkampagne im August 2019 im Abschnitt 3.4 dargestellt.

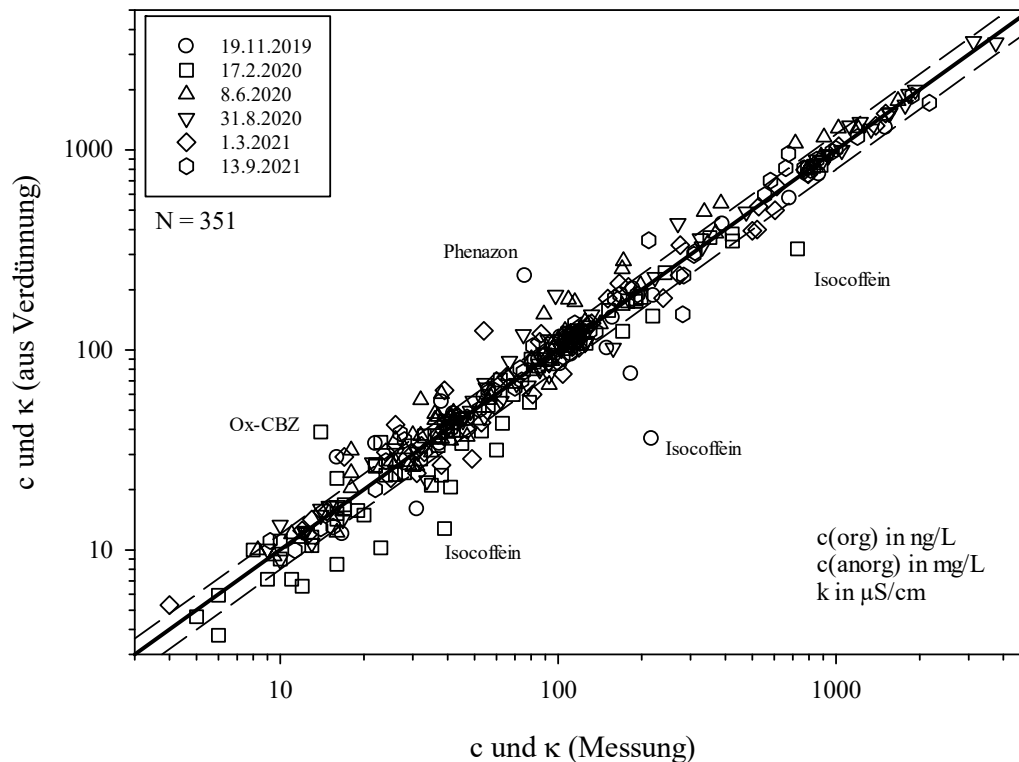


Abbildung 2: Für die Zusammenflüsse (a) W1/FG/KA/W2, (b) W3/MG/W4 und (c) W4/HB/W5 gemessene Konzentrationen an den Stellen W2, W4, W5 (Abszisse, zur Lage der Messstellen siehe Abbildung 1, jeweils Leitfähigkeit, DIC, Chlorid, Nitrat, Sulfat und aufgrund der vorliegenden Konzentrationen geeignete organische Verbindungen, $N = 351$) und die aus Verdünnungsrechnungen entsprechend berechneten Konzentrationen (Werte an der Ordinate). Einige offensichtliche Ausreißer sind separat angegeben. Die Verdünnungsrechnungen sind im Detail in [1] und in [11] dargestellt. Aus dem Fit wird eine 1:1 Korrelation angepasst (durchgezogene Linie). Eine Abweichung von $\pm 20\%$ von dieser idealen, perfekten Übereinstimmung ist in Form der beiden gestrichelten Geraden dargestellt.

Die gefundenen Konzentrationsniveaus sind höchst variabel und liegen zwischen 3 ng/L bis zu einigen 1000 ng/L (siehe auch tabellarische Zusammenfassung der Konzentrationen im Supplement). Die maximal gefundenen Konzentrationsniveaus der 21 quantifizierbaren organischen Verbindungen sind in der Abbildung 3 zusammengestellt.

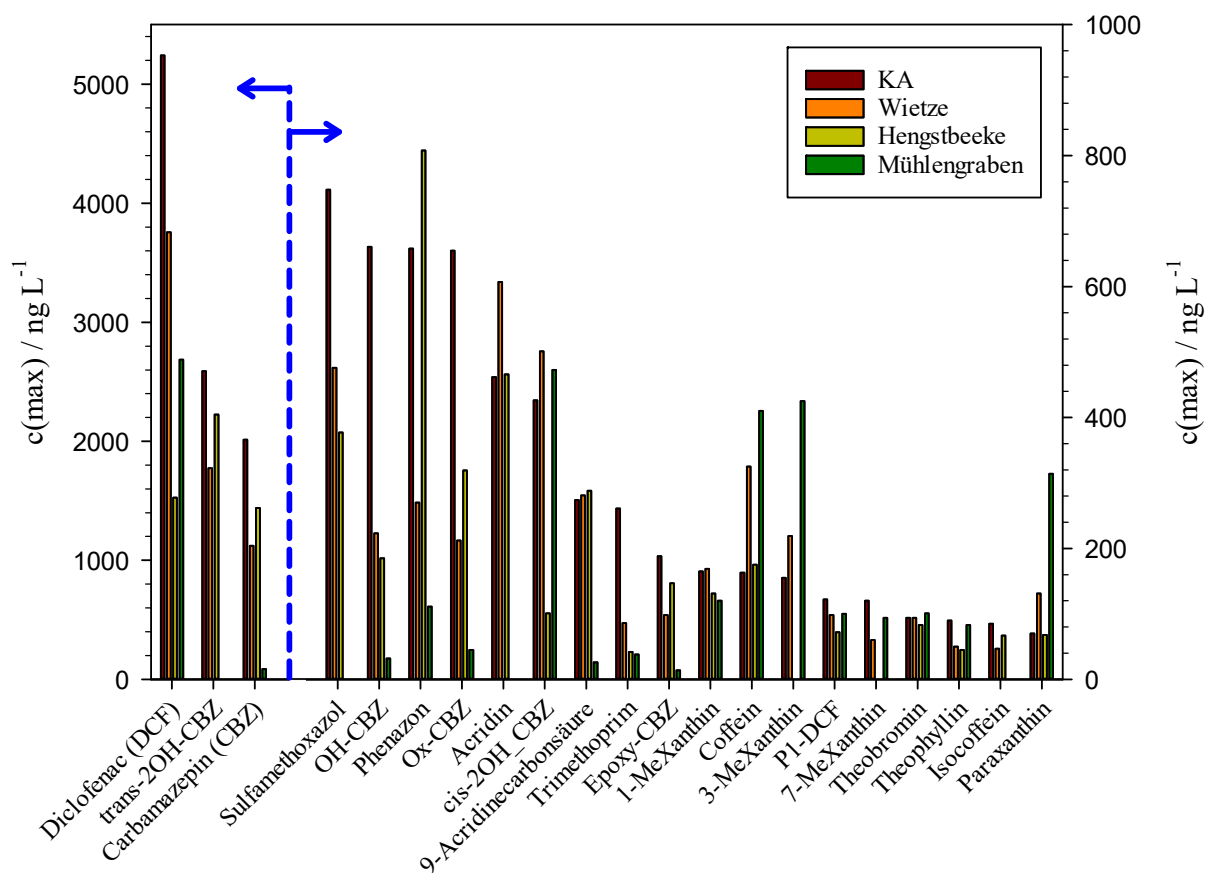


Abbildung 3: Maximale Konzentrationen der 21 quantifizierbaren organischen Verbindungen (siehe Diskussion ab Seite 7) in den 6 Wietzekampagnen zwischen September 2019 – September 2021 im Ablauf der KA, allen Wietzemesststellen und im Zufluss des Mühlengrabens und der Hengstbeeke in die Wietze. Die Daten sind von links nach rechts mit absteigenden Konzentrationen in der Kläranlage KA geordnet. Für DCF, trans-2OH-CBZ und CBZ gilt die linke Ordinate, für alle anderen Verbindungen die rechte Ordinate.

3.3 Beispielhafte Konzentrationsverläufe in der Wietze

In der Abbildung 4 und der Abbildung 5 sind beispielhafte Konzentrationsverläufe der Methylxanthine und der Pharmazeutika mit einigen Produkten an den Messstellen dargestellt. Für die Methylxanthine werden in höheren Konzentrationen 1- und 3-Methylxanthin und Coffein gefunden, alle anderen methylierten Xanthine liegen normalerweise in geringeren Konzentrationen vor. Isocoffein verhält sich wie die Pharmazeutika und wird nur an Stellen mit Kläranlageneinfluss gefunden.

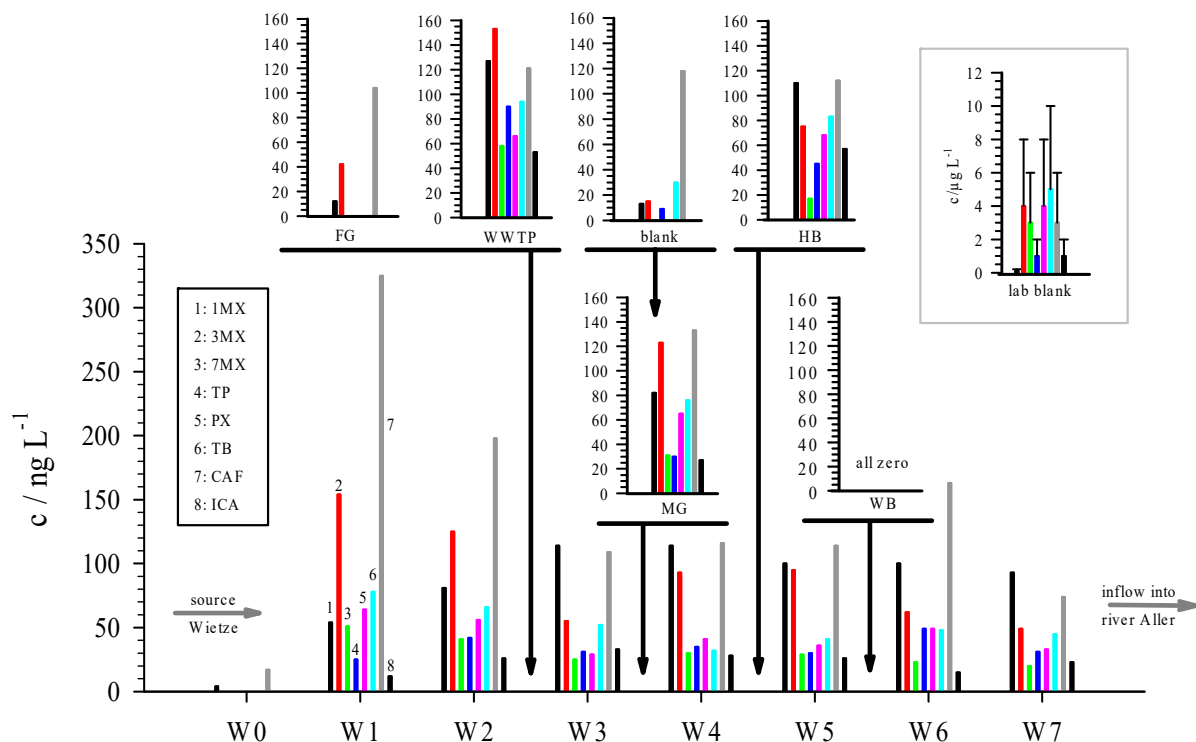


Abbildung 4: Beispielhafte Konzentrationen der Methylxanthine in der Kampagne vom 8.6.2020 an den Wietzemesststellen W0 – W7 und den Zuflüssen. Dargestellt sind auch die Konzentrationen der Blindproben im Labor (lab blank, mit der Standardabweichung). Diese Blankwerte werden hier als formale Werte angegeben, liegen häufig jedoch $< \text{BG}$.

Qualitativ ist das Muster der Methylxanthine an den einzelnen Messstellen wesentlich variabler als für die Pharmazeutika (siehe Abbildung 5). Die Pharmazeutika und ihre Produkte zeigen ähnliche Muster an den Messstellen und werden durch Kläranlagenzuflüsse und den daraufhin folgenden Verdünnungen bestimmt.

Die Konzentration an der quellenahen Messstelle W0 ist für alle Verbindungen praktisch immer $< \text{BG}$, d.h. alle Verbindungen werden wahrscheinlich nicht im Grundwasser gefunden.

Dies gilt auch für die Pharmazeutika und z.B. auch für Isocoffein an der Blindmessstelle (Stelle BL) im Wietzegebiet, nicht jedoch für die meisten anderen Xanthinderivate, wie auch schon für Coffein in den Messungen 2018 gefunden [1]. Dieser Befund deckt sich mit weiteren Regenproben (genommen im Bereich der Kläranlage KA und hier nicht dargestellt), in denen ausnahmslos immer Coffein gefunden wird, in allen Fällen aber niemals die Pharmazeutika oder deren Produkte. Auch aus diesen bisher vorliegenden Messungen und in Bestätigung der Messungen 2018 wird Coffein (und einige andere Xanthinderivate) sicher nicht ausschließlich durch Kläranlagen in die Wietze eingetragen und ist deshalb als Tracer für einen anthropogenen

Einfluss in Oberflächengewässer durch Kläranlagen nicht geeignet. Dies gilt jedoch nicht für Isocoffein.

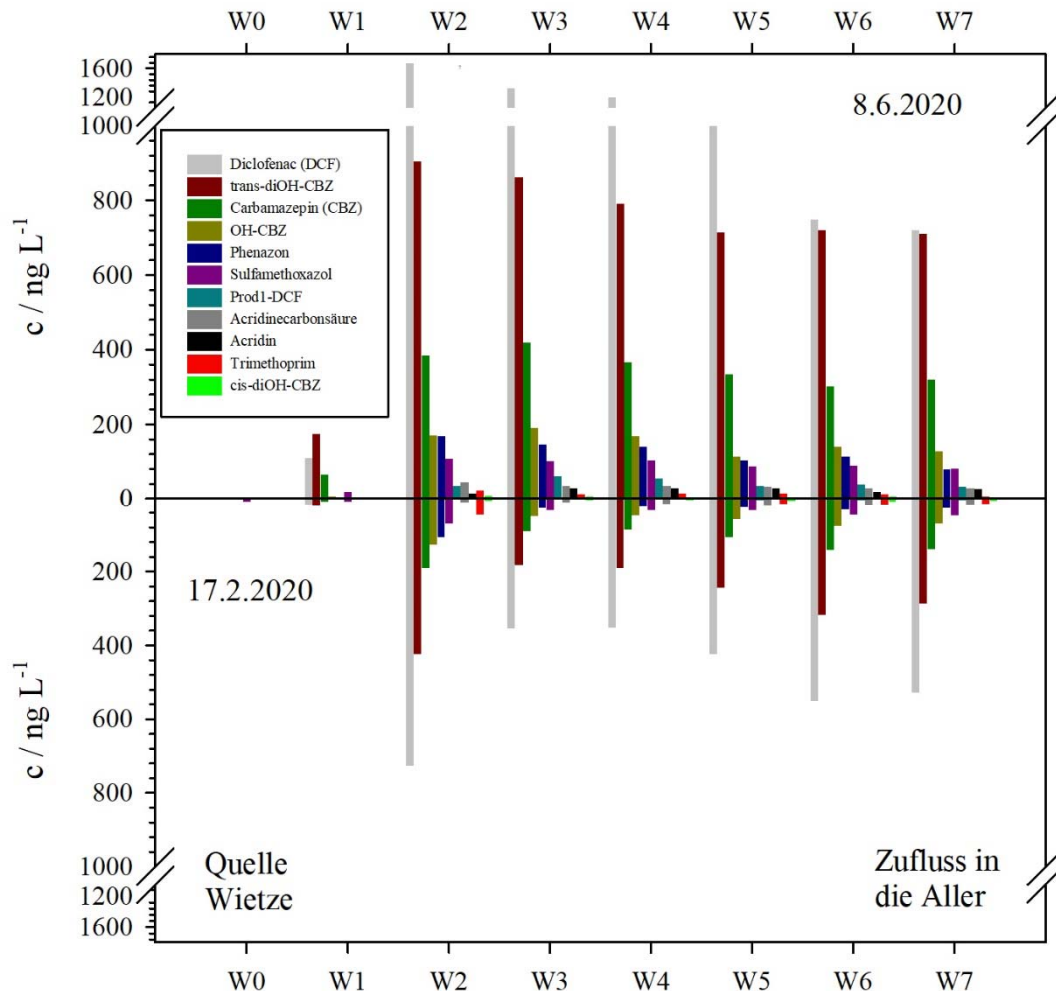


Abbildung 5: Konzentrationen der Pharmazeutika und der Produkte mit den höchsten Konzentrationen an den Wietze-Messstellen (ohne Coffein und Methylxanthine) gemessen am 17.2.2020 und am 8.6.2020. Die Substanzen sind geordnet mit fallender Konzentration am 8.6.2020 an der Stelle W2.

Erste Ergebnisse zu Frachten der Pharmazeutika sind schon im ersten Teil beschrieben worden [1]. Als letztes Beispiel soll eine erste Berechnung der Beladungen der Methylxanthine im Bereich der Kläranlage KA angesprochen werden (siehe Abbildung 6). Alle Beladungen an den einzelnen Messstellen sind individuelle Werte als Produkt der gemessenen Konzentrationen und den aus Verdünnungsrechnungen erhaltenen Volumenströmen. Umso überraschender ist die überwiegend sehr gute Übereinstimmung der Beladung an der Messstelle W2 und der Summe der Beladungen an W1, FG und KA. Hier wiederum sichtbar ist der geringe Beitrag

des Coffeins aus dem Kläranlagenablauf und das sehr heterogene Muster an den unterschiedlichen Messstellen. Die Summe der Beladungen der Methylxanthine an W2 liegt im Bereich von 20-30 g/Tag.

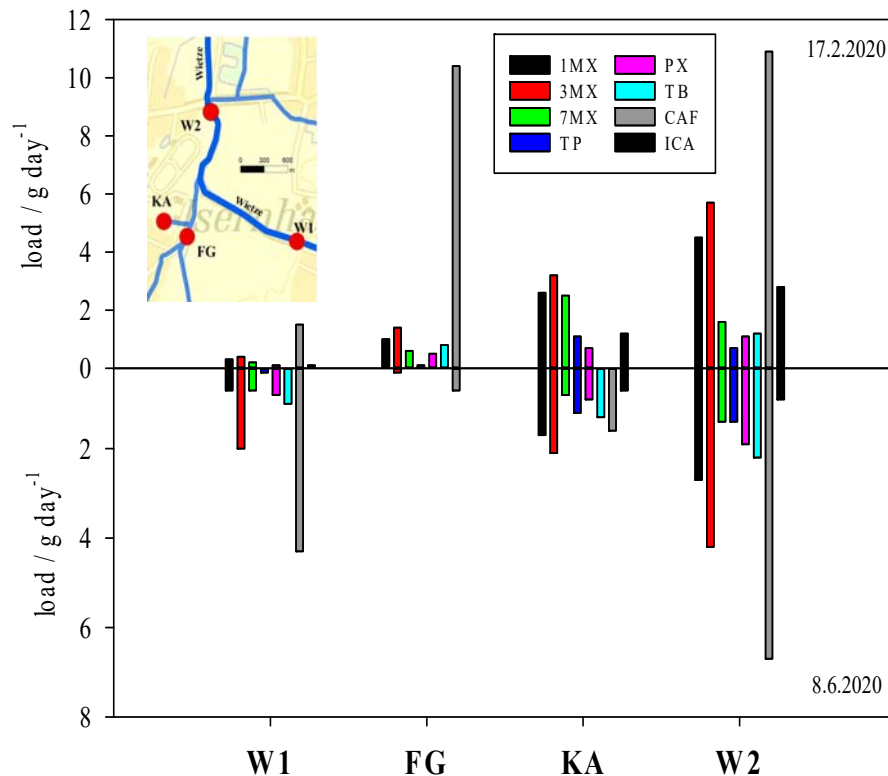


Abbildung 6: Vergleich der Beladungen der Methylxanthine um die Messstellen der Kläranlage KA. Die Lage der Messstellen ist im Kartenausschnitt dargestellt, die Volumenströme Q verhalten sich demnach zu: $Q_{W2} = Q_{W1} + Q_{FG} + Q_{KA}$.

3.4 Spezielle Messungen

3.4.1 Sommerkampagne Juni 2021

Am 28.6.2021 wurde eine spezielle Kampagne mit 10 Probenahmestellen zwischen den Pegeln Meitze und Wieckenberg durchgeführt. Einige Beispiele gefundener Konzentrationen sind in der Abbildung 7 dargestellt, Details sind im Supplement zusammengestellt. Die Kampagne wurde im Besonderen durchgeführt, da in diesem Abschnitt häufig starke Versickerungsphänomene stattfinden, deren Auswirkungen auf die Konzentrationen der analysierten Verbindungen untersucht werden sollte. Tatsächlich gilt für den 28.6.2021 der Volumenstrom für Meitze $Q_M = 0.67 \text{ m}^3/\text{s}$ und für Wieckenberg $Q_W = 0.51 \text{ m}^3/\text{s}$, d.h. der Volumenstrom ist am flussabwärts gelegenen Pegel Wieckenberg 24 % geringer verglichen mit dem flussaufwärts gelegenen Pegel Meitze.

Eine Versickerung oder auch eine Entnahme von Wasser aus der Wietze sollte die Konzentration nicht verändern. Tatsächlich wird innerhalb der Fehler der Analytik in einigen Verbindungen eher eine geringe Zunahme gemessen.

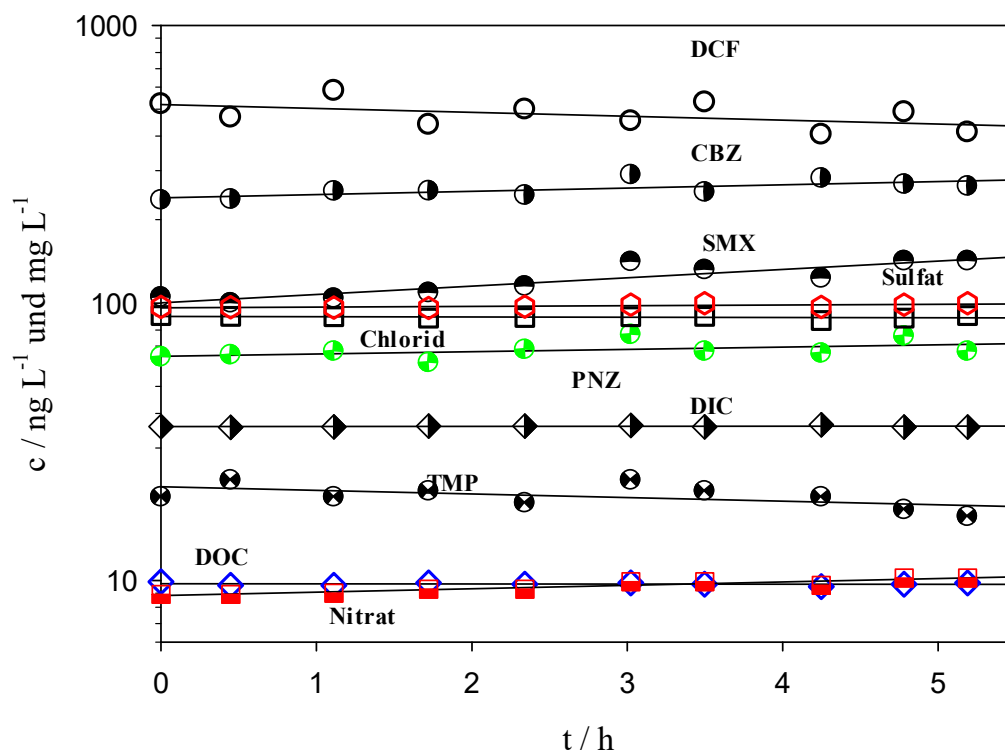


Abbildung 7: Beispielhafte Konzentrationsänderungen am 28.6.2021 einiger organischer und anorganischer Komponenten zwischen den Pegeln Meitze und Wieckenberg. Hier dargestellt sind alle 10 gemessenen Punkte, verwendet in den Korrelationen wurden jedoch nicht die Punkte 3 und 7 (Probleme in der Anreicherung und Siedeverzüge in der Aufbereitung der Proben). Die genaue Zuordnung der Einheiten ist aus den Tabellen der gefundenen Konzentrationen im Supplement zu entnehmen. Die Zeiten ergeben sich aus den Entfernungen zwischen den Messstellen und einer generischen Fließgeschwindigkeit von $v = 0.5 \text{ m/s}$.

Einige beispielhafte Konzentrationsverläufe sind in der Abbildung 7 für alle zehn Messstellen dargestellt. Aufgrund einiger Probleme in der Aufbereitung der Proben an den Messstellen 3 und 7 wurden Mittelwerte und Standardabweichungen ohne die Konzentrationen an diesen Messstellen berechnet. Unter der Annahme eines konstanten Verlaufs in den Konzentrationen wurde von allen auswertbaren organischen Verbindungen (d.h. für Substanzen mit Konzentrationen $> \text{BG}$) und den anorganischen Vorort-Parametern der Mittelwert und der relative Fehler aus der Standardabweichung in der Abbildung 8 dargestellt. Nicht ganz unerwartet ist der Fehler der anorganischen Parameter und der mittleren Konzentrationen mit absolut großen Werten eher gering ($< 10 \%$), überwiegend alle anderen Fehler liegen im Bereich von $10 - 30 \%$ (siehe auch Abbildung 2). Der Fehler im Mittelwert der Konzentrationen der organischen Verbindun-

gen liegt damit im Rahmen der erwarteten Fehler. Innerhalb der Fehler in der Analytik ist demnach ein Gang in den Werten nicht abzulesen (bis auf die Temperatur als Ausnahme, die stetig und mit hoher linearer Korrelation im Laufe des Tages zunahm).

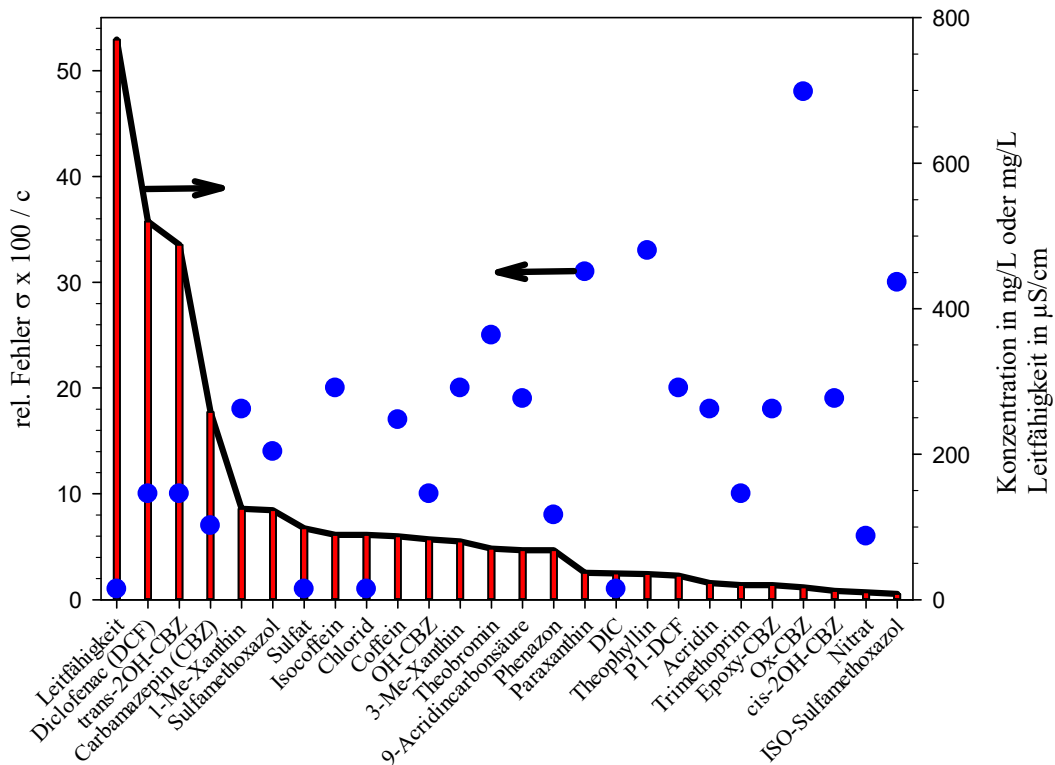


Abbildung 8: In der Kampagne am 28.6.2021 zwischen den Pegeln Meitze und Wieckenberg gemessene mittlere Konzentrationen (rote mit einer Linie verbundene Balken und Werte an der rechten Ordinate) und relative Standardabweichungen (ausgefüllte blaue Kreise, Werte linke Ordinate). Jeweils 8 Werte wurden auf einer Fließstrecke von 9.3 km gemittelt.

3.4.2 4-Hydroxyantipyrim

Ein Hauptmetabolit vom Antipyrim (Phenazon) ist das in der Phase I-Metabolisierung gebildete 4-Hydroxyantipyrim (4HyA) [12]. 4HyA wird im zweiten Schritt (Phase II Metabolisierung) in Form von Konjugaten als Sulfat- und/oder Glucuronid-Derivaten ausgeschieden (siehe Abbildung 9) [12, 13, 14, 15]. 4HyA selbst ist in sauerstoffhaltigen Lösungen instabil (siehe Abbildung 10) und reagiert u.a. weiter zum 4,4'-Dihydroxyantipyrim [16] (ein Produkt mit entsprechender Summenformel konnte auch im Projekt über hochauflösende Massenspektroskopie bestätigt werden). Im Projekt wurden komplexe, jedoch nicht weiter untersuchte Abhängigkeiten z.B. von der Startkonzentration und dem pH-Wert gefunden. Wiederfindung in aufgestockten Realwasserproben nach Anreicherung und/oder in Kalibrierproben ist praktisch nicht möglich. Dieser Effekt ist in der Literatur bekannt [17] und wurde auch im Projekt durch Zugabe

eines Reduktionsmittels (Natriumsulfit oder auch Natriumdisulfit) in exemplarischen Messungen in Teilen behoben.

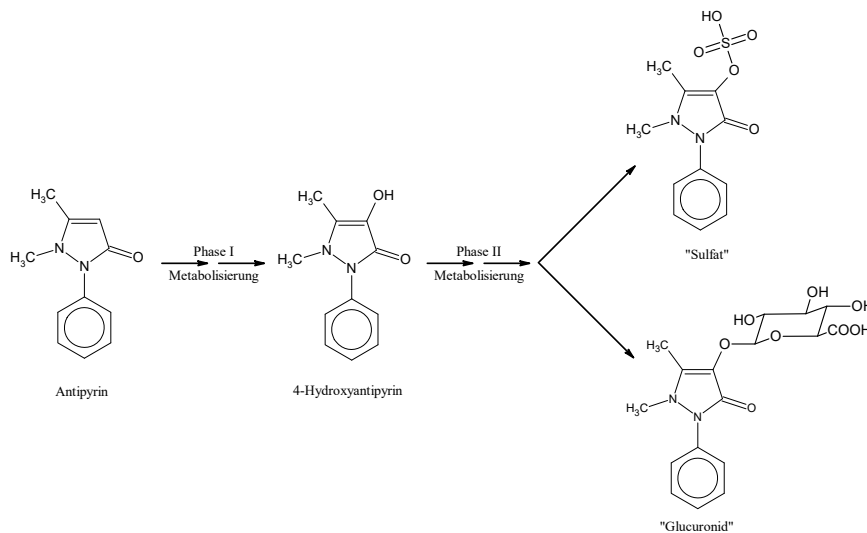


Abbildung 9: 4-Hydroxyantipyrin als Phase I Metabolit des Antipyrins und Strukturen der entsprechenden Konjugate in der Phase II Metabolisierung als Sulfat- und Glucuronid-Derivate.

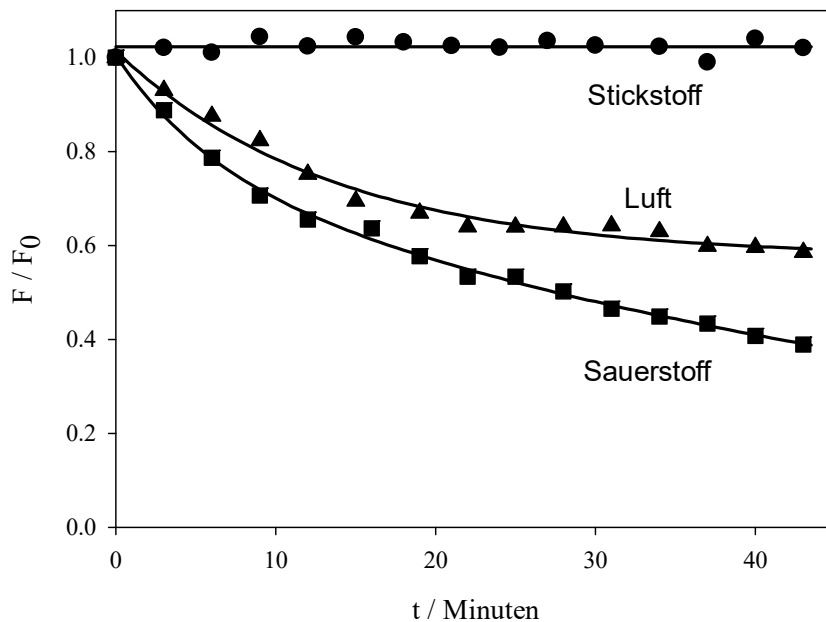


Abbildung 10: Zeitabhängigkeit der relativen Flächen (Analytik über LC-MS/MS) von 4-Hydroxyantipyrin (jeweils $c = 500 \mu\text{g/L}$) bei $T = 20^\circ\text{C}$ in mit Stickstoff, Luft und Sauerstoff gesättigten wässrigen Proben [5]. Die Kurven sind berechnet aus monoexponentiellen Modellen.

Obwohl in allen Laborversuchen (als isotopenmarkierter, interner Standard oder in Wiederfindungsversuchen) 4HyA nur über frisch hergestellte Proben innerhalb weniger Stunden zu quantifizieren war (auch die Zugabe von Sulfat zur Stabilisierung lieferte einen Abbau, wahrscheinlich durch Bildung des Sulfats, siehe Abbildung 9) wurde 4HyA in einigen Flussproben in wahrscheinlich sehr hohen Konzentrationen gefunden. Die Erklärung für diesen scheinbaren Widerspruch liegt im Vorliegen der Konjugate in natürlichen Proben, die im LC-MSMS Verfahren im stark sauren Milieu auf der LC-Säule gespalten und damit messbar werden. Eine singuläre Messung von 4-Hydroxyphenazon in Umweltproben ist uns nur in einer Publikation bekannt mit Konzentrationen im Bereich von maximal 2 µg/L [18].

Zwei Messungen am 8.6.20 und 31.8.20 mit vollständiger Aufbereitung über das SPE-Verfahren wurden nachträglich über eine externe Kalibrierung Anfang des Jahres 2021 mit CBZ-D10 als interner Standard ausgewertet, die Daten sind in Tabelle 3 dargestellt. Die Konzentrationen sind wahrscheinlich höher, da hier eine Wiederfindung von 100 % angenommen wurde.

Tabelle 3: Über eine externe Kalibrierung über CBZ-D10 als interner Standard nachträglich ausgewertete Konzentrationen von 4-Hydroxyantipyrin in zwei Wietzekampagnen am 8.6.2020 und 31.8.2020. * = offensichtliche Fehlmessung.

Messstelle	08.06.2020	31.08.2020	Messstelle	08.06.2020	31.08.2020
c in ng/L			c in ng/L		
Labor Blank	9	9	Mühlengraben	1011	261
Wietze W0	0	0	Wietze W4	1149	56*
Wietze W1	0	0	Hengstbecke	999	701
Flussgraben	0	0	Wietze W5	504	1857
KA Ablauf	2535	4641	Wulbeck	0	0
Wietze W2	0*	2866	Wietze W6	470	1460
Blind	0	0	Wietze W7	853	669
Wietze W3	927	2037			

3.4.3 Konzentrationen in der Wulbeck

Die (kleine) Kläranlage Fuhrberg leitet in den Klintsgraben ein, der wiederum in die Wulbeck mündet. Tatsächlich jedoch wurden in den letzten Jahren in der Wulbeck nur sehr geringe Konzentrationen der analysierten organischen Verbindungen gefunden (siehe Tabelle 4). An der Messstelle in der Wulbeck liegt eine hohe Eisenkonzentration vor (Messdaten siehe Supplement) verbunden mit einer in vielen Fällen geringen Sauerstoffkonzentration, erklärbar durch die Bildung von Eisen(III). Eine These zur Erklärung der geringen Konzentrationen der organischen Verbindungen in der Wulbeck ist eine schnelle photochemische Reaktion über Eisen(III)salze. Eine Kampagne am 2.6.2021 lieferte wie erwartet hohe Konzentrationen aller organischen Verbindungen direkt am Ablauf der Kläranlage Fuhrberg im Klintsgraben.

Tabelle 4: Anorganische Parameter (LF = Leitfähigkeit) und Konzentrationen der organischen Grundverbindungen (CBZ = Carbamazepin, DCF = Diclofenac, PNZ = Phenazon, SMX = Sulfamethoxazol, TMP = Trimethoprim, CAF = Coffein) in einem Zeitraum von 6 Jahren in der Wulbeck an der Messstelle WB vor dem Zufluss in die Wietze. n.a. = nicht analysiert, <BG = kleiner Bestimmungsgrenze, wurde zu Null gesetzt in der Berechnung der Mittelwerte

Datum	Zeit	T	pH	LF	O ₂	DOC	DIC	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	SPM	CBZ	DCF	PNZ	SMX	TMP	CAF
		°C		µS / cm	mg/L							ng/L					
29.05.2015	13:07	11.6	8.03	431	4.77	15.9	n.d.	31.0	2.9	63.9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
29.09.2015	15:05	11.9	6.81	446	4.28	16.8	47.5	35.4	3.8	61.8	14.11	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
24.11.2015	14:24	5.5	6.99	450	7.94	22.31	35.7	34.0	11.7	78.2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
26.06.2017	14:27	15.5	6.92	421	5.8	19.0	25.4	27.2	1.5	54.8	38.4	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	24
01.11.2017	14:17	10.7	7.66	668	8.9	15.5	28.4	67.4	14.0	87.5	5.2	4	26	<BG	4	<BG	<BG
10.01.2018	10:15	3.5	6.50	351	11.6	40.7	10.9	30.8	8.9	54.8	19.2	8.0	28.5	<BG	<BG	3.5	37.5
13.03.2018	13:25	7.6	7.59	380	12.8	24.9	13.0	28.8	9.4	60.6	27.3	7.9	25.9	2.4	<BG	<BG	61.7
09.05.2018	15:56	16.7	7.3	391	7.3	20.1	15.1	31.3	5.6	64.9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
28.05.2018	16:41	19.8	7.06	390	5.7	18.5	18.3	31.3	4.5	59.9	10.8	<BG	23.8	5.3	<BG	<BG	19.3
24.08.2018	09:39	14.3	7.04	417	2.8	18.9	29.2	27.6	2.1	47.0	16.2	1	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
17.02.2020	13:55	8.0	7.60	477	7.2	22.5	26.2	32.4	13.9	90.7	n.a.	<BG	10	<BG	<BG	<BG	<BG
08.06.2020	14:56	13.6	6.87	419	5.0	18.8	27.5	28.9	1.1	51.6	n.a.	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
31.08.2020	14:40	17.6	6.90	924	6.3	19.3	28.1	31.1	0.9	45.3	n.a.	<BG	<BG	<BG	<BG	3	<BG
01.03.2021	14:30	9.2	6.96	417	3.6	18.9	27.1	33.5	4.0	64.8	n.a.	<BG	<BG	41	<BG	<BG	70
02.06.2021	12:10	14.3	6.87	409	3.5	18.5	27.7	28.3	1.2	49.8	16.9	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	24
Mittelwerte		12	7.1	466	7	21	26	33	6	62	19	2	10	4	0	1	22
±σ		5	0.4	146	3	6	9	10	5	14	10	3	13	12	1	1	26

Diclofenac und Sulfamethoxazol wurden im $\mu\text{g/L}$ -Bereich, Carbamazepin dagegen mit eher überraschend geringen Konzentrationen von $c=180\text{ ng/L}$ gefunden. Diese hohen Konzentrationen wurden jedoch an keiner der weiteren beprobten Messstellen in der Wulbeck gefunden, im Besonderen nicht wie an allen anderen Kampagnentagen (siehe Tabelle 4) in der Wulbeck vor dem Zufluss in die Wietze. In Laborexperimenten in dest. Wasser wurden diverse Eisen(III)salze als äußerst effektiv im photochemischen Abbau der 6 Pharmazeutika gefunden, weniger gut jedoch im Realwasser der Wulbeck selbst. Diese experimentellen Befunde legen nahe, dass die Konzentrationen in der Wulbeck nicht aufgrund von abiotischen Abbaureaktionen gering sind, sondern weil die Verbindungen die Wulbeck gar nicht erreichen, sondern vorher z.B. über Versickerungsprozesse aus dem Oberflächenwasser entfernt werden.

Danksagung

Das Projekt wurde vom Niedersächsischen Ministerium für Umwelt, Energie, Bauen und Klimaschutz finanziert (Förderkennzeichen 54711/1552-72/2019-2.5) und vom NLWKN begleitet. Daten zum Pegel Wieckenberg wurden freundlicherweise von Herrn Ulrich Neubauer (NLWKN, Betriebsstelle Verden), Daten zum Pegel Meitze von Frau Susanne Aurich (NLWKN, Betriebsstelle Hildesheim), Daten zur Kläranlage KA von Herrn Christoph Kormann (Leitung Kläranlage) zur Verfügung gestellt.

4 Literatur

- [1] W.-U. Palm, M. Schaffer und K. Kümmerer. *Endbericht zum Projekt: "Konzentrationen, Quellen und Senken ausgewählter Mikroverunreinigungen im Oberflächengewässer der Wietze"*. Leuphana Universität, Lüneburg, 19.3.2019.
- [2] N. Schmidt. *Experimentelle Untersuchungen zum Mechanismus und der Kinetik in der photochemischen Isomerisierung von Sulfamethoxazol*. Bachelor Thesis, Leuphana University, Lüneburg, 2020.
- [3] M. J. Mock. *Experimentelle Untersuchungen zur Photochemie von Diclofenac in Oberflächengewässern am Beispiel des Einzugsgebiets der Wietze*. Bachelorarbeit, Leuphana Universität, Lüneburg, 2021.
- [4] F. Löher. *Analytics and sources of caffeine and methylxanthines in surface water on the example of the river Wietze*. Bachelor Thesis, Leuphana University, Lüneburg, 2020.
- [5] M. Hilger. *Zur Analyse von 4-Hydroxyantipyrin durch LC-MS/MS in Oberflächengewässern am Beispiel der Wietze*. Bachelorarbeit, Leuphana Universität, Lüneburg, 2021.
- [6] L. Oskamp. *Experimental studies on the indirect photolytic degradation of different pharmaceuticals by iron(III) in surface water exemplary for the stream Wulbeck*. Bachelorarbeit, Leuphana Universität, Lüneburg, 2021.

- [7] K. He, S. Echigo, Y. Asada und S. Itoh. Determination of caffeine and its metabolites in wastewater treatment plants using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analyt. Sci.*, 34 (2018) 349–354.
- [8] F. Löher, W.-U. Palm, M. Schaffer und O. Olsson. Concentrations and sources of methylxanthines in a Northern German river system. *Science of The Total Environment*, 775 (2021) 145898.
- [9] W.-U. Palm. Photochemistry of 9-acridinecarboxaldehyde in aqueous media. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 17 (2018) 964–974.
- [10] M. Leclercq, O. Mathieu, E. Gomez, C. Casellas, H. Fenet und D. Hillaire-Buys. Presence and Fate of Carbamazepine, Oxcarbazepine, and Seven of Their Metabolites at Wastewater Treatment Plants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 56 (2009) 408–415.
- [11] A. K. Siemers, W.-U. Palm, C. Faubel, J. S. Mänz, D. Steffen und W. K. L. Ruck. Sources of nitrogen heterocyclic PAHs (N-HETs) along a riverine course. *Sci. Total Environ.*, 590-591 (2017) 69–79.
- [12] Y. Ohkawa, M. Matsumura, Y. Kurosaki, M. Kurumi, K. Sasaki und T. Nakayama. Effects of 4-hydroxyantipyrine and its 4-O-sulfate on antipyrine as biodistribution promoter. *Biol. Pharm. Bull.*, 24 (2001) 529–534.
- [13] J. Böttcher, H. Bassmann und R. Schüppel. Identification of sulfates in antipyrine metabolism in man, rat, and rabbit. *Drug Metab. Disp.*, 10 (1982) 90–91.
- [14] K. Krohn und C. Stenns. Chemical synthesis of phase-I- and phase-II-metabolites of antipyrine. *Arch. Pharm.*, 322 (1989) 351–354.
- [15] C. Palette, F. Dubor, V. Rovei und C. Advenier. Determination of antipyrine sulphoconjugates in isolated cultured rat hepatocytes. *Xenobiotica*, 23 , 181–191.
- [16] H. Bässmann, J. Böttcher und R. Schüppel. 4,4'-Dihydroxyphenazone as an urinary metabolite of phenazone in different species including man. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 309 (1979) 201–205.
- [17] M. A. Sarkar, C. March und H. T. Karnes. Solid phase extraction and simultaneous high performance liquid chromatographic determination of antipyrine and its major metabolites in urine. *Biomed. Chrom.*, 6 (1992) 300–304.
- [18] R. Schmidt und R. Brockmeyer. Vorkommen und Verhalten von Expektorantien, Analgetika, Xylometazolin und deren Metaboliten in Gewässern und bei der Uferfiltration. *Vom Wasser*, 98 (2002) 37–54.