

LUIS

Info

Inhalt

Dokumentation zum Thema Gewässerschutz

Lysimeterstudie- Verhalten
von Antibiotikawirkstoffen
im Sickerwasser und Boden

GA 01-09





Lysimeterstudie- Verhalten von Antibiotikawirkstoffen im Sickerwasser und Boden

GA 01-09

Amt der Steiermärkischen Landesregierung
Fachabteilung 17C
A-8010 Graz, Landhausgasse 7, Tel. Nr. +43/(0)316/877-2955

Leiter der Fachabteilung:
Dr. Gerhard SEMMELROCK



Dieser Bericht entstand unter Mitarbeit folgender Personen:

Für den Inhalt verantwortlich	Mag. Barbara Friehs Dipl.-Ing. Heimo Stadlbauer
Erstellt von	Dr. Oliver Gans, Umweltbundesamt Dipl.-Ing. Heimo Stadlbauer
Probenahmen Sickerwasser und Vegetation	Dipl.-Ing. Heimo Stadlbauer, Petra Zrim Barbara Zirngast, Joanneum Research
Spezial-Untersuchungen auf Antibiotikawirkstoffe	Umweltbundesamt, Akkreditierte Prüfstelle für Umwelt-, GVO- und Treibstoffanalytik Leitung Dr. Sigrid Scharf
Untersuchungen auf Bromid	Joanneum Research
Landwirtschaftliche Betreuung	Dir. Johannes Robier, FS Grottenhof-Hardt Ing. Georg Fastl, LFS Silberberg
Betreuung der Lysimeterstation	Leitung Dr. Johann Fank, Joanneum Research
Fotos: Fachabteilung 17 C	

Herausgeber

Amt der Steiermärkischen Landesregierung
Fachabteilung 17C - Technische Umweltkontrolle
Referat Gewässeraufsicht
Landhausgasse 7
A-8010 Graz

Telefon: +43 (0) 316/877-2955 (Fax: +43 (0) 316/877-3392)
E-Mail: fa17c@stmk.gv.at
Informationen im Internet: <http://www.umwelt.steiermark.at>

© Mai 2009

Bei Weitergabe unserer Ergebnisse ersuchen wir um Quellenangabe.
Es wird darauf hingewiesen, dass alle Angaben trotz sorgfältiger Bearbeitung
ohne Gewähr erfolgen und eine Haftung der Autoren oder des Herausgebers ausgeschlossen ist.



Inhaltsverzeichnis

Inhalt	3
Tabellenverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	4
Abkürzungen	4
Zusammenfassung	5
1 Einleitung	7
1.1 Grundlagen zu Antibiotika	8
1.2 Literaturstudie: Eintragungsmengen der ausgewählten Substanzen sowie deren Verhalten in der Umwelt	9
2 Projektdurchführung	11
3 Methodenbeschreibung	17
3.1 Analysenverfahren für Gülle	17
3.2 Analysenverfahren für Boden	17
3.3 Analysenverfahren für Wasser	17
3.4 Analysenverfahren für Vegetationsproben	17
4 Ergebnisse	18
4.1 Gülleproben	18
4.2 Sickerwasserproben	22
4.3 Bodenproben	25
4.4 Aufnahme in Pflanzen	30
5 Literatur	31

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verbrauch an Veterinärpharmaka in der Region Weser-Ems im Jahr 1997	9
Tabelle 2: Ergebnisse der undotierten Gülle im ersten Jahr	18
Tabelle 3: Ergebnisse der dotierten Gülle im ersten Jahr	19
Tabelle 4: Vergleich von IST und SOLL der dotierten Gülle (1. Jahr)	19
Tabelle 5: Ergebnisse der undotierten Gülle im zweiten Jahr	20
Tabelle 6: Ergebnisse der dotierten Gülle im zweiten Versuchsjahr	20
Tabelle 7: Vergleich von IST und SOLL der dotierten Gülle (2. Jahr)	21
Tabelle 8: Sickerwasserkonzentrationen im mit undotierter Gülle beauftragten Lysimeter, 18.04. bis 04.12.2006	23



Tabelle 9: Sickerwasserkonzentrationen im mit undotierter Gülle beauftragten Lysimeter, 02.01. bis 29.10.2007	23
Tabelle 10: Sickerwasserkonzentrationen im mit dotierter Gülle beauftragten Lysimeter, 18.04. bis 04.12.2006.....	24
Tabelle 11: Sickerwasserkonzentrationen im mit dotierter Gülle beauftragten Lysimeter, 02.01. bis 29.10.2007	24
Tabelle 12: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm.....	25
Tabelle 13: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10 –30 cm.....	25
Tabelle 14: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm im Jahr 2007.....	26
Tabelle 15: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10 –30 cm im Jahr 2007.....	26
Tabelle 16: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm.....	27
Tabelle 17: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10 –30 cm.....	27
Tabelle 18: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm im Jahr 2007.....	28
Tabelle 19: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10 –30 cm im Jahr 2007.....	28

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vergleich der Monatssummen des Niederschlags, März 2006 bis September 2007.....	16
Abbildung 2: Sickerwasseruntersuchungen für Chlortetracyclin.....	22
Abbildung 3: Konzentrationsverlauf mit der Zeit für Lysimeter MAIS (OTC, CTC) [in µg/kg TM]	29

Abkürzungen

BG	Bestimmungsgrenze
CTC	Chlortetracyclin
n.a.	nicht analysierbar
n.n.	nicht nachweisbar
OTC	Oxytetracyclin
SDM	Sulfadimidin
SDO	Sulfadoxin
SDZ	Sulfadiazin
SMZ	Sulfamethoazol
STZ	Sulfathiazol
TC	Tetracyclin
TM	Trockenmasse
TMP	Trimethoprim



Zusammenfassung

Arzneimittelwirkstoffe, insbesondere Antibiotika, werden in der Nutztierhaltung in beachtenswerten Mengen eingesetzt. Über den Wirtschaftsdünger wie Gülle, Jauche oder Festmist gelangen die Antibiotika bzw. deren Abbauprodukte in die Umwelt. Werden landwirtschaftliche Nutzflächen mit diesen Wirtschaftsdüngern behandelt, erreichen diese Wirkstoffe bzw. deren Metaboliten zuerst die oberste Bodenschicht, wo sie sich, je nach Abbauverhalten und Persistenz, anreichern können. Über Versickerung und Abschwemmung besteht die Möglichkeit, dass sie weiter ins Grundwasser bzw. in Oberflächengewässer gelangen.

Ziel dieses Kooperationsprojektes zwischen dem Umweltbundesamt mit der Fachabteilung 17C – Referat Gewässeraufsicht und der Fachabteilung 17A – Referat Landes-Umwelt-Information Steiermark des Amtes der Steiermärkischen Landesregierung war, den Verbleib von Antibiotikarückständen, die über Wirtschaftsdünger in den Boden gebracht werden, zu untersuchen. Nach erfolgter Düngung mit kontaminierten Wirtschaftsdüngern wurde das Verhalten von ausgewählten Antibiotika im Boden sowie die Versickerung ins Grundwasser untersucht. Des Weiteren soll die Aufnahme in Pflanzen betrachtet werden. Zu diesem Zwecke wurden zwei Gefäßlysimeter der Lysimeterstation Wagna mit Gülle gedüngt, wobei bei einem Lysimeter Gülle aus einem Schweinemastbetrieb verwendet wurde. Der andere Gefäßlysimeter wurde mit der gleichen Gülle beschickt, bei der aber zusätzlich sechs ausgewählte Antibiotika (Tetracyclin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin, Sulfadimidin, Sulfadiazin und Sulfamethoxazol) dotiert wurden.

In einem österreichischen Pilotprojekt „TETSO(I)L“ wurden bereits Veterinärsantibiotika in Wirtschaftsdünger untersucht, wobei Chlortetracyclin, Oxytetracyclin, Tetracyclin und Sulfadimidin in der Schweinegülle und Sulfadiazin bzw. Trimethoprim in Hühner- und Putenmistproben in nennenswerten Konzentrationen gefunden wurden [SATTELBERGER et al., 2005].

Im ersten Versuchsjahr wurden in der Gülle hohe Mengen an Oxytetracyclin detektiert (62 mg/kg TM). Der Wirtschaftsdünger im zweiten Jahr war kaum noch mit den ausgewählten Substanzen belastet.

Im Boden wurde im ersten Versuchsjahr Oxytetracyclin mit bis zu 100 µg/kg TM nachgewiesen, wobei die Maximalwerte unmittelbar nach der Düngung auftraten. Auch zwei Monate nach erfolgter Düngung war Oxytetracyclin noch im Boden messbar. Chlortetracyclin wurde speziell im Boden des zweiten Lysimeters, bei dem dotierte Gülle aufgetragen wurde, bestimmt.

Im zweiten Versuchsjahr gingen die Konzentrationen an Oxytetracyclin zurück, weil auch die Gehalte in der Gülle abnahmen. Hingegen wurde Chlortetracyclin in ähnlichen Konzentrationsniveaus wie im ersten Versuchsjahr gefunden. Die Ergebnisse zeigten, dass Tetracycline im Gegensatz zu Sulfonamiden im Boden persistent sind.

Insgesamt wurden 36 Sickerwasserproben über einen Zeitraum von knapp zwei Jahren bei den zwei Gefäßlysimetern analysiert. Wie aus der Literatur bekannt ist, sind Verlagerungen ins Grundwasser eher selten zu beobachten [WEISS et al., 2006]. Starkregenereignisse kurz nach erfolgter Düngung mit Gülle sowie Grobporrenabfluss sind neben Eigenschaften des Bodens die Hauptgründe für Verlagerungen ins Grundwasser. Trotzdem wird international angenommen, dass der Großteil der aufgebrauchten Arzneimittelwirkstoffe (im speziellen Tetracycline und Sulfonamide) im Boden verankert bleibt.

Eine Verlagerung der untersuchten Antibiotikawirkstoffe in das Sickerwasser konnte nur, wenn überhaupt, für Chlortetracyclin festgestellt werden. Chlortetracyclin wurde insgesamt zwar dreimal nachgewiesen, in zwei Fällen lagen sie jedoch unterhalb der Bestimmungsgrenze.

Der Zeitpunkt des erstmaligen Nachweises von Chlortetracyclin in Sickerwasser war ident mit dem ersten Auftreten von Bromid aus dem zeitgleich mit der Eingabe gestarteten Tracerversuch.



Aufgrund der nur sehr geringen Anzahl an positiven Befunden ist jedoch eine Dateninterpretation schwierig. Eine Verfrachtung des Wirkstoffes Chlortetracyclin in extrem geringen Konzentrationen mit dem Sickerwasserfluss könnte ein möglicher Grund sein. Inwiefern dies auf Randflusseffekte beim Lysimeter zurückgeführt werden muss, kann jedoch nicht beurteilt werden.

Eine Verlagerung in die Pflanzen konnte nicht nachgewiesen werden. Ein möglicher Grund könnten die geringen Bodenkonzentrationen dieser Substanzen sein. Der Boden wurde lange Zeit vor der Versuchsdurchführung nicht begüht, wodurch der Boden nicht mit Antibiotika vorbelastet war.

Die Art der Pflanze sowie Niederschlagsereignisse während der Düngung sowie bei Wachstum der Pflanzen haben auch entscheidenden Einfluss auf den Boden-Pflanzen Transfer der Antibiotika.



1. Einleitung

In vielen Bereichen der Steiermark ist man auf die Trinkwasserversorgung aus dem Grundwasser angewiesen. Allerdings ist der Schutz der Grundwasservorkommen meist schwierig, denn als Gefährdungspotential ergeben sich die ständige Zunahme der Siedlungsdichte, Ausbau von Verkehrswegen, Ansiedelung von Gewerbebetrieben, Abwässer, Deponien, Nass- und Trockenbaggerungen und Intensivierung der Landwirtschaft.

Die Wirtschafts- und Lebensform in der Landwirtschaft hat sich in den letzten Jahrzehnten wesentlich geändert. Dies bewirkte Änderungen bei der Bodenbewirtschaftung, eine Intensivierung der tierischen Produktion mit vermehrtem Wirtschaftsdüngeranfall und in weiterer Folge entstanden durch die intensive landwirtschaftliche Produktion (Maismonokulturen) anfänglich nicht erkannte Gefahren für das Grundwasser.

Seit dem Nachweis des Lipidsenkermetaboliten Clofibrinsäure im Berliner Trinkwasser im Jahre 1994 gelten Arzneimittelwirkstoffe als potenzielle Umweltschadstoffe. Etwa 150 Arzneimittelwirkstoffe haben Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen mittlerweile in Oberflächengewässern, Sedimenten, Grundwasser und Böden nachgewiesen. Unterschiede im Vorkommen der Human- und Tierarzneimitteln sind vor allem auf die unterschiedlichen Eintragspfade in die Umwelt zurückzuführen. Arzneimittel für den Menschen gelangen über die Kanalisation und die Klärwerke in Oberflächengewässer. Die meisten Tierarzneimittel erreichen mit Gülle und Mist aus der intensiven Tierproduktion landwirtschaftliche Flächen.

Basierend auf der Erkenntnis, dass ein Schlüssel zur Erfassung der Prozesse, die zum Nitratproblem im Leibnitzer Feld geführt hatten, in der wasserungesättigten Zone zu suchen sei, wurde am landwirtschaftlichen Versuchsfeld in Wagna im Jahr 1991 eine Forschungsstation errichtet. Diese erlaubt es, die Vorgänge der Wasserbewegung und des Stofftransportes von der Atmosphäre über den Boden, die ungesättigten Sande und Kiese der quartären Tal-füllung bis in das Grundwasser zu untersuchen. Die wohl wichtigste Funktion der Anlage war die Möglichkeit der Erkundung der Wasserbewegung und des Stofftransportes in der ungesättigten Zone bis in das Grundwasser auf der Basis von hydrochemischen und isopenhydrologischen Analyseergebnissen auf der Grundlage natürlicher Landbewirtschaftung. An zwei, in die Forschungsstation integrierten Gefäßlysimetern wird die Sickerwassermenge mit einer hydrologischen Wippe automatisch in einem Zeitintervall von 10 Minuten registriert.

Das Sickerwasser wird zur Gänze in Containern gesammelt, die einmal wöchentlich entleert werden. Aus diesen Sammelproben werden auch die Proben für die hydrochemische und isopenhydrologische Analytik gezogen. Durch die Integration in die Lysimeterstation und die Sammlung der Sickerwässer sind die beiden Gefäßlysimeter vollständig vom natürlichen Grundwassersystem getrennt, was die experimentelle Anwendung von wassergefährdenden Stoffen zur Untersuchung von Transporteigenschaften erlaubt. Die beiden Schwerkraftlysimeter mit einer quadratischen Oberfläche von 1 m² und einer Tiefe von 1,5 m wurden mit Boden aus dem nahegelegenen Areal einer Fahrgasse zwischen zwei bewirtschafteten Versuchspartellen im Jahre 1991 gestört unter Berücksichtigung der Lagerungsdichte und der Horizontabfolge befüllt. Die feldbodenkundliche Aufnahme der Profile der Herkunftsflächen im Zuge der Errichtung der Anlage erbrachte folgende Ergebnisse:

Fruchtfolgeparzelle, Messstellenbezeichnungen FF (linke Seite):

- Ahp 0-30 cm, lehmiger Sand mit mäßigem Kies- und Schottergehalt, mittelhumos (Mull)
- AB 30-60 cm, stark lehmiger Sand mit geringem Kies- und Schottergehalt, schwach humos (Mull)
- B1 60-85 cm, stark lehmiger Sand, schwach humos (Humus in Wurmröhren und an Aggregatoberflächen)
- B2 85-100 cm, lehmiger Sand
- D ab 100 cm, Grobsand mit sehr hohem Anteil an Kies und Schotter (bis 10 cm Ø).

Maismonokulturparzelle, Messstellenbezeichnung MAIS (rechte Seite):

- Ahp 0-30 cm, stark lehmiger Sand mit geringem Kies und Schottergehalt, mittelhumos (Mull)
- AB 30-50 cm, sandiger Lehm mit geringem Kies- und Schottergehalt, schwach humos (Mull)
- B 50-100 cm, lehmiger Sand mit geringem Kiesgehalt
- D ab 100 cm, Grobsand mit sehr hohem Anteil an Kies und Schotter



Die Bewirtschaftung der Gefäßlysimeter erfolgte von 1992 bis 2005 an der Messstelle MAIS in Form einer Maismonokultur mit winterharter Gründেকে, an der Messstelle FF durch eine vierschlägige Fruchtfolge mit Kürbis (bis 1997 Raps), Mais, Mais, Wintergerste mit dauernder Winterbegrünung in der gleichen Form wie die anschließenden Versuchspartellen; im Gegensatz zu diesen war naturgemäß nur eine händische Bodenbearbeitung und eine manuelle Verteilung der Düngegaben möglich. Das Düngenniveau orientierte sich an den Richtlinien für sachgerechte Düngung bzw. an die geltenden Schongebietsverordnungen für das westliche Leibnitzer Feld.



Auf die beschriebenen Gefäßlysimeter, die vom Joanneum Research, Graz betreut werden, wurde Wirtschaftsdünger aufgetragen, um das Verhalten von Veterinärantibiotika, insbesondere die Versickerung ins Grundwasser sowie der Transfer zu Pflanzen, zu untersuchen.

Bild 1: Gefäßlysimeter der Lysimeteranlage in Wagana

1.1 Grundlagen zu Antibiotika

Antibiotika sind Substanzen, die zur Chemotherapie von Infektionskrankheiten eingesetzt werden. Antibiotika werden in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung nicht nur zur Therapie sondern auch prophylaktisch eingesetzt. Sie sind natürliche Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen (Schimmelpilze, Bakterien) bzw. deren synthetische Nachbildung. Sie wirken gegen krankheitserregende Bakterien, entweder bakterizid (abtötend) oder bakteriostatisch (hemmend auf das Wachstum).

Die wesentlichen Angriffspunkte der Antibiotika im Stoffwechsel von Mikroorganismen sind:

- Hemmung der Zellwandsynthese (z. B. β -Lactame)
- Hemmung der Proteinsynthese (z. B. Tetracycline, Makrolide)
- Hemmung der Nucleinsäuresynthese (z. B. Sulfonamide, Gyrasehemmer)
- Beeinflussung der Permeabilität der Zytoplasmamembran (Polypeptid-Antibiotika)

Für das Projekt wurden Leitsubstanzen ausgewählt. Die Auswahl basierte auf Ergebnissen des Forschungsprojekts TETSO(I)I [SATTELBERGER et al., 2005].

- Tetracycline: (Tetracyclin, Oxytetracyclin und Chlortetracyclin)

Es handelt sich um Breitspektrum-Antibiotika mit einheitlicher chemischer Grundstruktur aus vier Sechseringen. Sie wirken bakteriostatisch, indem sie die Proteinsynthese hemmen.

- Sulfonamide (Sulfadimidin, Sulfadiazin, Sulfadoxin, Sulfathiazol und Trimethoprim)

Sulfonamide, Amide der Sulfanilsäure, sind für Säuger weitgehend untoxisch und sind bakteriostatische Breitbandantibiotika, die meist in Kombination mit dem Synergisten Trimethoprim eingesetzt werden. Aufgrund der Zunahme resistenter Erregerstämme ist jedoch die humanmedizinische Anwendung dieser Substanzen rückläufig.



1.2 Literaturstudie:

Eintragungsmengen der ausgewählten Substanzen Eintragungsmengen der ausgewählten Substanzen sowie deren Verhalten in der Umwelt

Abschätzung des Verbrauchs an Veterinärarzneimittel

Bundesweite Erhebungen zu Verkaufsmengen von Veterinärarzneimitteln in Österreich liegen nicht vor. Daten wurden speziell für Deutschland und die Schweiz erhoben. Es ist anzunehmen, dass die Verschreibungspraxis in Österreich sich nur unwesentlich von den Nachbarländern unterscheidet.

Europaweit liegen abgesetzte Wirkstoffmengen aus dem Jahr 1997 vor [FEDESA, 1999]. So sind die Tetracycline mit 2.294 t (=66 %) die mengenmäßig mit Abstand am häufigsten eingesetzte Antibiotikagruppe in der Veterinärmedizin, gefolgt von den Makroliden (12 %), β -Lactamen (9 %), Aminoglykoside (4,5 %). Nach dieser Aufstellung kommen europaweit nur 75 t Sulfonamide (inkl. Trimethoprim) (=2,1 %) in der Veterinärmedizin zum Einsatz. Im Gegensatz zu diesen veröffentlichten Daten ermittelten WINCKLER & GRAFE (2000) allein in sechs ausgewählten Landkreisen in Deutschland für 1997 einen Verbrauch von 14 t Sulfonamiden. Die beiden Autoren versuchen über Stichprobenbefragungen bei Tierärzten und Landwirten eingesetzte Wirkstoffmengen abzuschätzen. Folgende Mengen wurden dabei ermittelt:

Substanz	Weser-Ems
Tetracycline	39.852 kg (52 %)
Tetracyclin	14.072 kg
Oxytetracyclin	1.630 kg
Chlortetracyclin	24.130 kg
Sulfonamide	13.166 kg (17 %)
Sulfadiazin	6.218 kg
Sulfadimidin	5.863 kg
Trimethoprim	1.264 kg
Aminoglykoside	7.080 kg (9 %)
β-Lactame	3.768 kg (4,9 %)

Tabelle 1:
Verbrauch an Veterinärpharmaka,
Region Weser-Ems, 1997

Auf ähnliche Mengen kamen auch LINKE & KRATZ (2001) bei ihren Abschätzungen für das Bundesland Brandenburg für die Jahre 1998/1999 basierend auf tierärztliche Herstellungsaufträge. Die Tetracycline (Tetracyclin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin) sind mit nahezu 50 % (4.600 kg) die mit Abstand mengenmäßig relevanteste Wirkstoffgruppe, gefolgt von den Sulfonamiden mit ca. 10 % (900 kg). THIELE-BRUHN (2003) erhob die relativen Anteile des Sulfonamideinsatzes am gesamten veterinärmedizinischen Antibiotikaeinsatz in verschiedenen europäischen Ländern. Die Werte lagen zwischen 11 und 23 % für Frankreich, Schweden, Dänemark, Schweiz und Großbritannien. Für Schleswig Holstein wurden für das Jahr 1998 Herstellungsaufträge und Verschreibungen ausgewertet [WHO, 2001]. Die Auswertung ergab, dass für Schweine 22.772 kg Arzneimittel hergestellt wurden, wovon 14.493 kg auf Tetracycline (64 %), 4.290 kg auf Sulfonamide (19 %), 830 kg auf Aminoglykoside (3,6 %) und 681 kg auf Beta-Lactame entfielen (3 %).

Wie unsicher die Datenlage bezüglich der Einsatzmengen ist, zeigt ein Vergleich der Abschätzungen zur abgegebenen Menge von Veterinärarzneimittelpräparaten. Kommen WINCKLER & GRAFE (2000) bei einer Hochrechnung der in den sechs Landkreisen der Weser/Ems-Studie erfassten Wirkstoffe auf den gesamten landwirtschaftlichen Nutztierbestand in Deutschland nur zu einer Gesamtmenge von 795 t/a, führten Untersuchungen des deutschen Umweltbundesamtes [KLEIN-GOEDICKE, 2005] zur einer Gesamtmenge von 2.316 t/a.



Vorkommen von Veterinärsantibiotika in der Umwelt

Konzentrationen im Wirtschaftsdünger

Im Projekt „TETSO(I)L“ wurden Wirtschaftsdünger auf Veterinärsantibiotika analysiert. Die Maximalkonzentration betrug für Chlortetracyclin in Schweinegülle 46 mg/kg TM und für Sulfadiazin in Hühnermist 91 mg/kg TM. Die Fluorquinolone Enrofloxacin und dessen Metabolit Ciprofloxacin fanden sich vor allem in Hühner- und Putenmistproben mit bis zu 8,3 mg/kg TM [SATTELBERGER et al., 2005].

In einer Screeninguntersuchung an 181 Schweinegülleproben [BLAC, 2003] wurde in knapp einem Viertel der Proben ein Tetracyclinegehalt von mehr als 0,6 mg/L Gülle gefunden, der Mittelwert der Positivbefunde lag bei 11,4 mg/L, im Maximum wurden 66 mg/L gemessen. Bei Umrechnung auf Trockensubstanz muss mit mindestens 10-fach höheren Werten gerechnet werden. In einem weiteren Screening auf Tetracycline sowie Sulfadiazin und Sulfadimidin in Deutschland wurden insgesamt 176 Schweinegülleproben analysiert [WINCKLER et al., 2004]. In 87 (49,4 %) von 176 untersuchten Schweinegülleproben konnte Tetracyclin oberhalb der Bestimmungsgrenze von 0,8 mg/kg nachgewiesen werden. Die mittlere Konzentration betrug 9,7 mg/kg (0,9 – 43,1 mg/kg). Oxytetracyclin und Chlortetracyclin lagen in 9 (5,1 %) bzw. 18 (10,2 %) der 176 Schweinegülleproben vor (1,6 bis 136,2 mg/kg bzw. 1,1 bis 25,7 mg/kg). Bei Sulfadimidin waren 48,3 % der Proben belastet, wobei ein Maximalwert von 167 mg/kg festgestellt werden konnte. Interessant waren auch die Ergebnisse des Sulfadiazin, das in Österreich nie in Schweinegülle gefunden wurde. In dieser Studie aber waren knapp 50 % aller Proben mit diesem Antibiotikawirkstoff kontaminiert (0,7 – 35,3 mg/kg).

Antibiotika im Boden

In Österreich wurde im Rahmen von TETSO(I)L mehrere Böden, die mit Wirtschaftsdünger gedüngt wurden, auf Antibiotikawirkstoffe untersucht [SATTELBERGER et al., 2005]. Es zeigte sich, dass vor allem Tetracycline (Chlortetracyclin) und Fluorchinolone (Enrofloxacin) persistent im Boden verblieben. So waren 5 bzw. 7 von 30 Bodenproben mit Enrofloxacin sowie Chlortetracyclin mit einer maximalen Konzentration von 0,81 mg/kg TM kontaminiert. Im Jahr 1999 zeigte sich in der BLAC Studie (2003), dass in Böden ohne organische Düngung keines der untersuchten Antibiotika zu finden war. Die höchsten Gehalte von bis zu 85 µg/kg TM Tetracyclin wurden in einem nachweislich mit Schweinegülle gedüngten Boden gemessen. In einer deutlich erkennbaren, mehrere Millimeter dicken Güllekruste, die auf Bodenaggregaten angetrocknet war, wurden sogar Werte von 349 µg/kg TM Tetracyclin und 1.435 µg/kg TM Chlortetracyclin gemessen [HAMSCHEER et al., 2002].

Von HAMSCHEER et al. (2001) wurden mit Schweinegülle gedüngte Böden über 12 Monate untersucht. Der Tetracyclinegehalt der Gülle betrug 4 mg/kg TM (April 2000) und 3,2 mg/kg TM (November 2000). Die Bodenproben wurden im Mai 2000, November 2000 und Mai 2001 entnommen und es konnte Tetracyclin bis in eine Tiefe von 30 cm nachgewiesen werden. Die Konzentrationen lagen dabei im Schnitt bei ca. 0,1 mg/kg TM.

Konzentrationen in Grundwasser

In einer groß angelegten Schweizer Studie über Arzneimittelwirkstoffe im Grundwasser war Sulfamethoxazol das am häufigsten auftretende Antibiotikum. Dabei wurden 100 Messstellen analysiert, wobei bei jeder fünften Messstelle ein positiver Wert gefunden wurde. Die Konzentrationen waren jedoch eher als gering einzustufen und lagen unter 35 ng/L [HANKE, 2007].

In der gleichen Studie wurde auch Sulfadimidin, das häufig in der Schweinemast verschrieben wird, an fünf Messstellen nachgewiesen, wobei nur zwei von den fünf Befunden über der Bestimmungsgrenze lagen. Eine Messstelle war aber mit über 100 ng/L kontaminiert. Das Veterinärsantibiotikum Enrofloxacin wurde in vier Proben in Konzentrationen zwischen 24 und 80 ng/L quantifiziert.

SACHER et al. (2001) konnten 0,049 µg/L Erythromycin als Maximalkonzentration in Grundwasser bestimmen. Innerhalb der BLAC Studie (2003) wurden unter anderem 164 repräsentative Grundwasserproben aus 120 repräsentativen Messstellen untersucht. Die Proben waren weitgehend unbelastet, bei einigen wenigen Messstellen wurden die Antibiotika Clarithromycin, Erythromycin, Roxithromycin, Sulfamethoxazol sowie Trimethoprim mit bis zu 0,7 µg/L nachgewiesen.



Aufnahme von Arzneimittelwirkstoffen in Pflanzen

Insgesamt liegen in der Literatur nur sehr wenige Informationen darüber vor. MIGLIORE et al. (1995, 1996, 1997) konnten in verschiedenen Laborversuchen mit den Wirkstoffen Sulfadimethoxin und Flumequin deren Aufnahme in Pflanzenmaterial nachweisen. Die Aufnahme erfolgte über Nährmedien unter hohen Dotierkonzentrationen. Auch GROTE et al. (2005) stellte in Nährlösungsversuchen mit dem Wirkstoff Chlortetracyclin inklusive der Metabolite sowie Sulfadiazin positive Zusammenhänge zwischen Wirkstoffkonzentrationen (1,25 – 10 mg/L) in der Nährlösung und Wirkstoffkonzentrationen in Testpflanzen (Feldsalat, Winterweizen, Karotten) fest. Es ist allerdings festzuhalten, dass diese Untersuchungen mit Wirkstoffkonzentrationen im Nährmedium, die deutlich oberhalb der in Böden nachgewiesenen bzw. zu erwartenden Konzentrationen liegen, beruhen.

Die Aufnahme von Arzneimittelwirkstoffen durch Pflanzen aus Böden konnten bereits Langhammer et al. (1990) mittels Gefäßversuchen mit ¹⁴C-markierten Sulfadimidin nachweisen. Bei Konzentrationen von 1,7 mg Sulfadimidin/kg TM wurden 15 % der Radioaktivität durch Pflanzenwurzeln aus Mais aufgenommen (oder adsorbiert), wenn der Wirkstoff frisch in den Boden eingebracht war. Bei 32 Tagen „Alterung“ im Boden konnte nur noch 3 % der Radioaktivität aufgenommen werden. Hier sind auch die Untersuchungen von STAMM et al. (2002) zu erwähnen, die bei Laborversuchen gezeigt haben, dass die Mobilität der Sulfonamide kurz nach Ausbringung von Gülle aufgrund des höheren pH-Wertes am höchsten ist. In einem Gefäßversuch im Gewächshaus untersuchten KUMAR et al. (2005) die Aufnahme von Chlortetracyclin und Tylosin in Zwiebeln und Weißkohl. Die dotierten Konzentrationen auf den mit lehmigem Sandboden gefüllten 1 l Gefäß waren mit ca. 1 µg Wirkstoff/Gefäß deutlich geringer als in den anderen Versuchsansätzen. Dennoch wurde auch in diesen Versuchen Chlortetracyclin sowohl in Zwiebeln als auch in Weißkohl in Konzentrationen von ca. 10 – 15 µg/kg FS (ganze Pflanze ohne Wurzeln) nachgewiesen. Tylosin war hingegen nicht messbar.

GROTE et al. (2006) untersuchte die Aufnahme von Chlortetracyclin in Feldsalat und Winterweizen unter praxisnahen Bedingungen. Die Befunde zeigen, dass Rückstände von Veterinärpharmaka aus den Gülle-beaufschlagten Versuchsfeldern von Nutzpflanzen über die Wurzel aufgenommen und in der Pflanze transportiert werden. Im Feldsalat war Chlortetracyclin mit maximal 0,06 mg/kg TM quantifizierbar, aber nicht mehr in den erntereifen Pflanzen. Beim Winterweizen wurden über die Wachstumszeit Veränderungen der extrahierbaren Gehalte in Wurzeln, Grünanteil und Körner festgestellt. In den Wurzeln wurden Chlortetracyclin (bis 1 mg/kg TM) und Sulfadiazin (bis 0,5 mg/kg TM) gefunden. In Grünanteilen wurde Chlortetracyclin mit bis zu 0,82 mg/kg festgestellt sowie im Korn mit immerhin noch beachtlichen 43 µg/kg TM nachgewiesen.

2. Projektdurchführung

Für diese Studie wurden zwei Gefäßlysimeter (je 1 m² Fläche) eingesetzt, die vom Joanneum Research in der Südsteiermark (Wagna) betrieben werden. Das Projekt gliederte sich in drei relevante Fragestellungen:

Verhalten von ausgewählten Tierantibiotika (Tetracycline u. Sulfonamide) im Boden.

Es sollte eingehend untersucht werden, inwieweit sich die Konzentrationen der Antibiotika nach Gülleauftrag mit der Zeit im Boden verändern und ob eine eventuelle Verlagerung in tiefere Bodenschichten festzustellen ist. Daher wurden Bodenproben aus den Tiefen 0–10 cm und 10–30 cm gezogen. Die Zeitpunkte der Probenahmen waren vor dem Aufbringen der Gülle (Referenzprobe), unmittelbar nach dem Aufbringen, sowie 14 Tage und 42 Tage nach dem Aufbringen.

Versickerung und Verlagerung ins Grundwasser

Es wurden monatliche Sickerwasserproben gezogen. Am Anfang des Lysimeterversuches wurde Bromid als Tracer hinzugefügt.



Aufnahme von Antibiotika in Pflanzen

Es wurde jeweils im Frühjahr Mais auf den Gefäßlysimeter gepflanzt, um eine Verlagerung der Veterinärpharmaka in Pflanzenteile bestimmen zu können. Der Mais wurde im Herbst geerntet und getrennt nach Maiskörnern, Grünpflanze und Wurzeln auf die ausgewählten Wirkstoffe analysiert. Zusätzlich zu den Maispflanzen wurde die Gründecke der beiden Lysimeter beprobt und der Analyse unterworfen.

Die Gefäßlysimeter, die zum Einsatz kamen, sind im Bild 1 dargestellt. Am 31.03.2006 wurde der Feldversuch gestartet, indem die Probenahme der Böden, die als Referenz dienten, durchgeführt wurde. Diese Böden sollten idealerweise noch nicht mit Antibiotika belastet sein, da nach Angaben des Joanneum Research die beiden Gefäßlysimeter schon mehrere Jahre davor nicht mit Gülle und/oder Klärschlamm gedüngt wurden. Es wurde die Bodentiefe 0-10 cm und 10-30 cm beprobt.

10 L Gülle wurden von einem landwirtschaftlichen Betrieb mit Schweinezucht aus der Güllegrube entnommen. Diese Probe wurde vorort zu jeweils 5 L geteilt, wobei ein Teil mit ca. 250 µg absolut je zugesetzten Antibiotika dotiert wurde. Sechs Antibiotika (Tetracyclin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin, Sulfamethoxazol, Sulfadimidin und Sulfadiazin) wurden für die Zugabe ausgewählt. Die Auswahl der zugesetzten Antibiotika erfolgte aufgrund der Ergebnisse von TETSO(I)L. In der Schweinemast werden vor allem Antibiotika der Gruppe der Tetracycline und die Sulfonamide Sulfadimidin und Sulfamethoxazol eingesetzt. Trimethoprim wird als Antagonist häufig bei Behandlung mit Sulfonamiden eingesetzt, ist aber in Schweinegülle nicht stabil. Sulfadiazin war das Antibiotikum, das am häufigsten in der Geflügelmast eingesetzt wurde.

Bild 2: Entnahme von Erdproben mit Handbohrstock



Bild 4: Setzen der Maiskörner

Bild 3: Aufbringung von Gülle





Am 24.04.2006 wurden beide Lysimeter mit Schweinegülle gedüngt, die von einem örtlichen Schweinemastbetrieb stammt und die auch bei den danebenliegenden Versuchsflächen zur Düngung verwendet wurde. Aus den Aufzeichnungen des Stallbuches ging hervor, dass vor allem Oxytetracyclin prophylaktisch bei diesem Schweinebetrieb in der Vergangenheit verabreicht wurde. Insgesamt wurden 10 L Schweinegülle entnommen und homogenisiert. Die Hälfte der Gülle (5 L) wurde mit sechs ausgewählten Veterinärantibiotika (Tetracyclin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin, Sulfamethoxazol, Sulfadiazin und Sulfadimidin) zusätzlich versetzt. Die für die Dotierung nötige Lösung der Antibiotika wurde am Umweltbundesamt hergestellt. Für die Düngung beider Lysimeter wurden jeweils 3 L verwendet, wobei auf einen Boden normal belastete Gülle aufgebracht wurde und bei dem anderen Boden der mit den sechs Substanzen zusätzlich versetzte Wirtschaftsdünger verwendet wurde.

Die zweite Bodenprobenahme erfolgte gleich nach der Gülledüngung und Vermischung mit dem Boden (händische Pflügung des Bodens). Die nächsten Probenahmen erfolgten 16 Tage (10.05.2006) sowie 44 Tage (06.06.2006) nach der Gülledüngung. Die Menge einer Bodenprobe lag jeweils bei 30-50 g.

Auch bei den Sickerwasserproben wurde eine Referenzprobe vor dem eigentlichen Versuch der Gülleaufbringung entnommen (18.04.2006). Die Wasserproben wurden ca. monatlich entnommen und bis zur weiteren Analyse eingefroren. Der Tracer Bromid sowie die Gülle wurden am 24.04.2006 auf die zwei Böden aufgebracht. Die Messungen auf Bromid wurden durch das Joanneum Research durchgeführt.

Zeitgleich mit der Düngung wurde Mais an beiden Gefäßlysimetern angepflanzt. Der angepflanzte Mais wurde im Oktober 2006 geerntet und bis zur weiteren Analyse tiefgefroren. Aufgrund der starken Regenereignisse und der dadurch nassen Pflanzen waren die Pflanzen teilweise verschimmelt. Das Pflanzenmaterial wurde in weiterer Folge gefriergetrocknet und der Analyse zugeführt. Nach der Ernte des Mais wuchs auf den Böden des Gefäßlysimeters Gras, das im April 2007 geschnitten und anschließend auf die Leitsubstanzen untersucht wurde.

Bild 5: Gülleausbringung auf der Parzelle „Mais-Monokultur“





Im April 2007 erfolgte eine weitere Düngung der beiden Gefäßlysimeter. Vor der Aufbringung der Gülle wurden am 10.04.2007 die Referenzbodenproben bei beiden Lysimetern entnommen. Sechs Tage später wurde Wirtschaftsdünger auf den Boden ausgebracht, wobei die gleiche Vorgangsweise gewählt wurde wie ein Jahr davor. Anzumerken ist, dass aufgrund von organisatorischen Gegebenheiten, Schweinegülle von einem anderen landwirtschaftlichen Betrieb verwendet werden musste. Es wurde aber wie im ersten Jahr ein Teil der Gülle mit sechs ausgewählten Antibiotikawirkstoffen zusätzlich dotiert. Die Düngung der Böden erfolgte am 16.04.2007.



Bild 6: Mais nach ca. sieben Wochen

Nach direkter, anschließender Einarbeitung des Wirtschaftsdüngers wurden Bodenproben entnommen. Die nächsten Bodenprobennahmen erfolgten 30.04.2007 und am 21.05.2007. Die Entnahmetiefen betragen jeweils 0 bis 10 cm und 10 bis 30 cm.

Auch im zweiten Jahr wurde Mais als Kulturpflanze angebaut, die Ernte war im September 2007. Die Pflanzen wurden in Wurzelmaterial, Grünanteil und Maiskolben unterteilt und auf Rückstände der Leitsubstanzen untersucht.

Bild 7: Mais nach ca. elf Wochen



Bild 8: Maisernte, September 2007





Bild 9: Winterharte Gründecke, April 2007



Bild 10: Ernte Maiskolben, Mais-Monokulturseite, September 2007



Bild 11: Maiskolben vor Ernte, Fruchtfolgesseite, September 2007



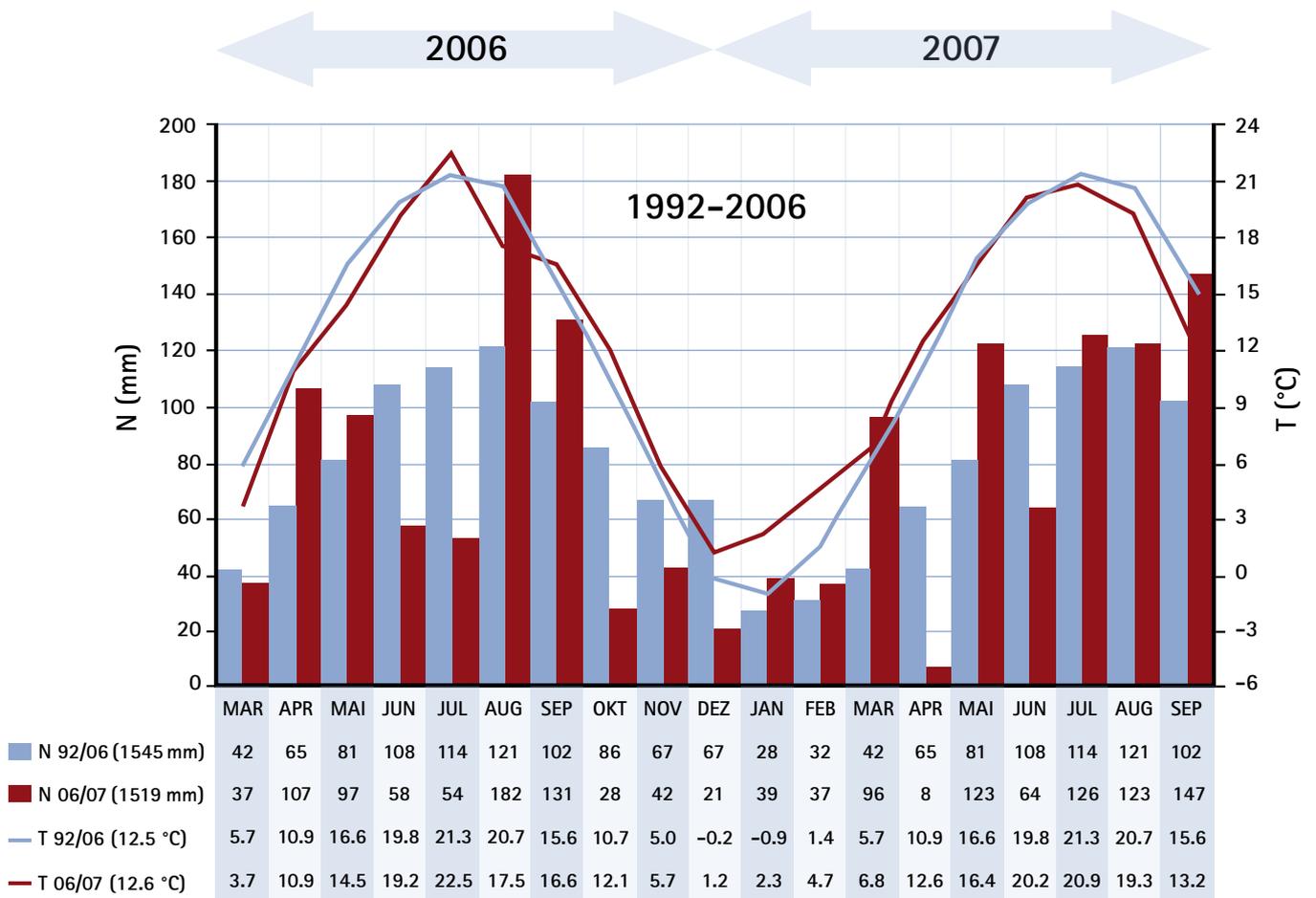
Im Vergleich zum 15jährigen Mittelwert (1992 – 2006) waren die Niederschläge der Periode März 2006 bis September 2007 mit 1519 mm etwas niedriger (1545 mm). Der Temperaturvergleich dieser beiden Reihen zeigt hinsichtlich des Mittelwertes mit 12.5 bzw. 12.6 °C praktisch idente Werte.

Die Niederschlagsverteilung zeigt in den Monaten Juni und Juli 2006 deutliche Defizite, die aber durch die Überschüsse der Monate August und September 2006 kompensiert werden. Die Monate Oktober, November und Dezember 2006 zeigen deutlich niedrigere Niederschlagssummen als im mehrjährigen Mittel zu erwarten gewesen wären. Im Jahr 2007 folgt auf einen sehr feuchten März ein außerordentlich trockener April. Auch der Juni 2007 muss als eher trocken angesprochen werden.

Die Temperaturverteilung der Monatsmittelwerte zeigt im Winter 2006/2007 signifikant höhere Werte als in diesen Monaten im 15jährigen Mittel gemessen wurde. Mit Ausnahme des August 2006, der etwas kälter als im Mittel war, liegen die übrigen Monatsmittel der Lufttemperatur durchaus in vergleichbarer Höhe wie im Mittel der Jahre 1992 bis 2006.

Abbildung 1:

Vergleich der Monatssummen des Niederschlags und der Monatsmittelwerte der Lufttemperatur von März 2006 bis September 2007 mit den jeweiligen Monatssummen des Niederschlags und der Monatsmittelwerte der Lufttemperatur der Periode 1992 bis 2006 an der Forschungsstation Wagner





3. Methodenbeschreibung

3.1 Analysenverfahren für Gülle

Eine ausführliche Methodenbeschreibung zur Analytik von Antibiotikawirkstoffen in Wirtschaftsdünger findet sich in Environmental Pollution [MARTÍNEZ et al., 2007]. Nach Zugabe von einem Surrogate Standard (Sulfamethoxazol-C13 und Sulfadimidin-C13) wurden die Proben mit Acetonitril versetzt mit Acetatpuffer mehrmals extrahiert und anschließend über Faltenfilter filtriert. Jede Gülleprobe wurde zumindest zwei Mal extrahiert, wobei eine Aufarbeitung nach Zugabe aller Leitsubstanzen erfolgte, um mögliche Matrixeffekte bei jeder Probe beachten zu können. Die Reinigung der Extrakte erfolgte mit n-Hexan. Nach einem Lösungsmittelwechsel wurden die Leitsubstanzen mittels LC-MS/MS bestimmt.

3.2 Analysenverfahren für Boden

Auch dieses Analysenverfahren ist in MARTÍNEZ et al. (2007) detailliert beschrieben. Auch hier wurden alle Proben zwei Mal aufgearbeitet, um mögliche auftretende Matrixeffekte korrigieren zu können. Zusätzlich wurden alle Proben mit einem Surrogate Standard (siehe oben) versetzt. Die Bodenproben wurden mit Methanol unter Zugabe von einem EDTA-McIlvaine Puffer mit einem pH von 6 mehrmals extrahiert. Nach Filtration der Extrakte wurden die Antibiotika auf einer Festphase aufkonzentriert und anschließend mit 0,01 M Oxalsäure in Methanol eluiert. Die Extrakte der Bodenproben sowie die Gülleproben wurden mittels LC-MS/MS gemessen.

3.3 Analysenverfahren für Wasser

Ca. 1000 ml homogenisierte Wasserprobe wurden mit einem sauren NH₄Ac Puffer versetzt, sodass der pH-Wert auf ca. pH 4,5 eingestellt wurde. Nach Dotation der Proben mit Surrogatelösung (siehe Kapitel 3.1) und Zugabe von einer EDTA Lösung erfolgte die Extraktion der Analyten mit Festphasenkartuschen (IST Isolute 101 SPE Columns) unter der Verwendung eines automatischen Festphasenextraktionssystems AutoTrace SPE Workstation (Zymark). Die Festphasensäulchen wurden mit Methanol und Milli-Q-Wasser konditioniert. Nach erfolgter Extraktion der Wasserproben wurden die Säulchen getrocknet und mit Methanol und saurem Methanol (mit Eisessig versetzt) eluiert. Danach wurden die Extrakte im Stickstoffkonzentrator unter Zugabe von Acetonitril auf ca. 0,5 mL eingengt. Die Extrakte wurden in 1 mL-Messkolben überführt und vor der LC/MS-Analyse mit Acetonitril/Wasser – Gemisch (1+9) auf 1 mL aufgefüllt.

3.4 Analysenverfahren für Vegetationsproben

Wie bei den Boden- und Gülleproben wurde jede Pflanzenprobe als qualitätssicherende Maßnahme zumindest zwei Mal aufgearbeitet. Dabei wurden jeweils 2 g Probe nach Zugabe eines Surrogatestandards mit 30 mL saurem Methanol (saure Extraktion bzw. alkalischem ACN (basische Extraktion)) je 30 min. im Ultraschallbad extrahiert. Nach Zentrifugation wurde das Lösungsmittel mittels Stickstoff bei 40°C und 0,5-1 bar eingengt und auf HPLC-Wasser getauscht. Nach Zugabe eines Internen Standards erfolgte die Messung mittels LC-MS.



4. Ergebnisse

4.1 Gülleproben

Die entnommene und eingesetzte Gülle wurde auf die Wirkstoffe analysiert. Nachfolgend sind die Ergebnisse der Gülleanalysen dargestellt.

Tabelle 2: Ergebnisse der undotierten Gülle im ersten Jahr (2006).

	mg/kg TM	BG mg/kg TM	NG mg/kg TM
Tetracyclin	2,1	0,034	0,016
Chlortetracyclin	0,97	0,19	0,096
Oxytetracyclin	62	0,017	0,0087
Trimethoprim	n.n.	0,0028	0,0013
Sulfadimidin	n.n.	0,019	0,0095
Sulfadoxin	n.n.	0,0063	0,0031
Sulfathiazol	n.n.	0,017	0,0082
Sulfamethoxazol	n.n.	0,038	0,018
Sulfadiazin	n.n.	0,014	0,007

Um die Analysenergebnisse der verschiedenen Güllen vergleichbarer zu machen, werden die Ergebnisse international häufig auf die Trockenmasse bezogen.

Auffallend waren die hohen Ergebnisse von Oxytetracyclin, das im beprobten Schweinebetrieb verabreicht wurde. Mit 62 mg/kg TM Oxytetracyclin war die untersuchte Gülle höher belastet als die Schweinegülle im Projekt TETSO(I)L. Wie im Projekt TETSO(I)L waren geringe Spuren der anderen Vertreter der Tetracycline (Tetracyclin und Chlortetracyclin) in der Probe zu finden.



Tabelle 3: Ergebnisse der dotierten Gülle im ersten Jahr (2006).

	mg/kg TM	BG mg/kg TM	NG mg/kg TM
Tetracyclin	4,6	0,034	0,016
Chlortetracyclin	1,8	0,19	0,096
Oxytetracyclin	76	0,017	0,0087
Trimethoprim	n.n.	0,0028	0,0013
Sulfadimidin	2,9	0,019	0,0095
Sulfadoxin	n.n.	0,0063	0,0031
Sulfathiazol	n.n.	0,017	0,0082
Sulfamethoxazol	1,4	0,038	0,018
Sulfadiazin	2,9	0,014	0,007

Tabelle 4: Vergleich von IST und SOLL der dotierten Gülle (2006).

	SOLL µg/L	IST µg/L
Tetracyclin	108	120
Chlortetracyclin	76	47
Oxytetracyclin	1850	2000
Sulfadimidin	50	76
Sulfadiazin	52	78
Sulfamethoxazol	50	36

Zur leichteren Nachvollziehbarkeit der Sollwerte wurde auf die Umrechnung in µg/kg TM beim Vergleich von IST und SOLL der dotierten Gülle verzichtet. Die sechs Antibiotika, die zur Schweinegülle zugesetzt wurden, konnten annähernd in den entsprechenden Konzentrationen bestimmt werden.

Im zweiten Jahr wurde Gülle von einem anderen landwirtschaftlichen Betrieb entnommen. Über den Einsatz von Arzneimittelwirkstoffen bei diesem Betrieb lagen keine Unterlagen vor.



Tabelle 5: Ergebnisse der undotierten Gülle im zweiten Jahr (2007).

	mg/kg TM	BG mg/kg TM	NG mg/kg TM
Tetracyclin	< 0,13	0,13	0,033
Chlortetracyclin	1,3	0,27	0,071
Oxytetracyclin	1,0	0,37	0,095
Trimethoprim	n.n.	0,03	0,0091
Sulfadimidin	n.n.	0,061	0,015
Sulfadoxin	n.n.	0,15	0,045
Sulfathiazol	n.n.	0,14	0,03
Sulfamethoxazol	n.n.	0,091	0,03
Sulfadiazin	n.n.	0,29	0,076

Der Wirtschaftsdünger im zweiten Jahr war kaum mit den ausgewählten Substanzen belastet. Es wurden Antibiotika der Gruppe der Tetracycline gefunden, wobei die Konzentrationen signifikant geringer waren als im ersten Jahr. Außerdem zeichnete sich diese Gülle durch einen sehr niedrigen Trockenmasseanteil aus (< 1 %).

Wie im ersten Versuchsjahr wurde ein Teil der Gülle mit 250 µg von den sechs ausgewählten Antibiotika vor der Düngung auf den Boden dotiert. Tabelle 6 und 7 fassen die Ergebnisse zusammen.

Tabelle 6: Ergebnisse der dotierten Gülle im zweiten Versuchsjahr (2007).

	mg/kg TM	BG mg/kg TM	NG mg/kg TM
Tetracyclin	6,9	0,13	0,033
Chlortetracyclin	6,3	0,27	0,071
Oxytetracyclin	10	0,37	0,095
Trimethoprim	n.n.	0,03	0,0091
Sulfadimidin	6,8	0,061	0,015
Sulfadoxin	n.n.	0,15	0,045
Sulfathiazol	n.n.	0,14	0,03
Sulfamethoxazol	6,4	0,091	0,03
Sulfadiazin	6,3	0,29	0,076



Tabelle 7: Vergleich von IST und SOLL der dotierten Gülle (2007).

	SOLL µg/L	IST µg/L
Tetracyclin	51	46
Chlortetracyclin	59	41
Oxytetracyclin	57	68
Sulfadimidin	50	45
Sulfadiazin	50	41
Sulfamethoxazol	50	42

Es ist ersichtlich, dass die vorort zugegebenen Antibiotikamengen nahezu quantitativ wieder gefunden wurden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass speziell im ersten Versuchsjahr der Wirtschaftsdünger vor allem mit Oxytetracyclin belastet war. Die zweite verwendete Gülle war im Gegensatz dazu kaum bis schwach belastet. In keiner der beiden Güllen konnten Sulfonamide nachgewiesen werden.

Die dazu gegebenen Antibiotika in Teilen der verwendeten Gülle für den zweiten Lysimeter konnten in beiden Jahren nahezu quantitativ bestimmt werden.



4.2 Sickerwasserproben

Insgesamt wurden 36 Sickerwasserproben über einen Zeitraum von knapp zwei Jahren bei den zwei Gefäßlysime-tern analysiert. Wie aus der Literatur bekannt ist, sind Verlagerungen ins Grundwasser eher selten zu beobachten [WEISS et al., 2006]. Starkregenereignisse kurz nach erfolgter Düngung mit Gülle sowie Grobporenabfluss sind neben Eigenschaften des Bodens die Hauptgründe für Verlagerungen ins Grundwasser. Trotzdem wird international angenommen, dass der Großteil der aufgetragenen Arzneimittelwirkstoffe (im speziellen Tetracycline und Sulfonamide) im Boden verankert bleibt.

Im Sickerwasser des Lysimeters, der mit der dotierten Gülle gedüngt wurde, konnten weder die Sulfonamide noch die Tetracycline nachgewiesen werden. Die Gehalte blieben immer unterhalb der Nachweisgrenze, die je nach Substanz und aufgearbeiteten Volumen zwischen < 1 und 20 ng/L schwankte.

Im Sickerwasser des zweiten Lysimeter wurden die Sulfonamide auch nicht nachgewiesen. Auch die Antibiotika Oxytetracyclin (das zumindest im ersten Versuchsjahr am häufigst vorkommende Antibiotikum) und Tetracyclin konnten in keiner Probe bestimmt werden. Chlortetracyclin wurde insgesamt zwar dreimal nachgewiesen, wobei jedoch in zwei Fällen die Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen. Einmal wurde Chlortetracyclin knapp oberhalb der Bestimmungsgrenze quantifiziert (siehe Abbildung 2). Der erste Nachweis stammt vom 03.07.2006, der zweite aus der darauf folgenden Probe vom 01.08.2006. Diese Zeitpunkte sind ident mit dem ersten Auftreten von Bromid aus dem zeitgleich mit der Eingabe gestarteten Tracerversuch. Überraschend ist dieses Ergebnis insofern, da in diesem Lysimeter die geringen Gehalte an Pharmaka aufgegeben wurden. Eine Interpretation gestaltet sich aufgrund der nur sehr geringen Anzahl an positiven Befunden naturgemäß schwierig. Eine Verfrachtung des Wirkstoffes Chlortetracyclin in extrem geringen Konzentrationen mit dem Sickerwasserfluss kann nicht ausgeschlossen werden. Inwiefern dies auf Randflusseffekte beim Lysimeter zurückgeführt werden muss, kann nicht beurteilt werden.

Abbildung 2: Sickerwasseruntersuchungen für Chlortetracyclin

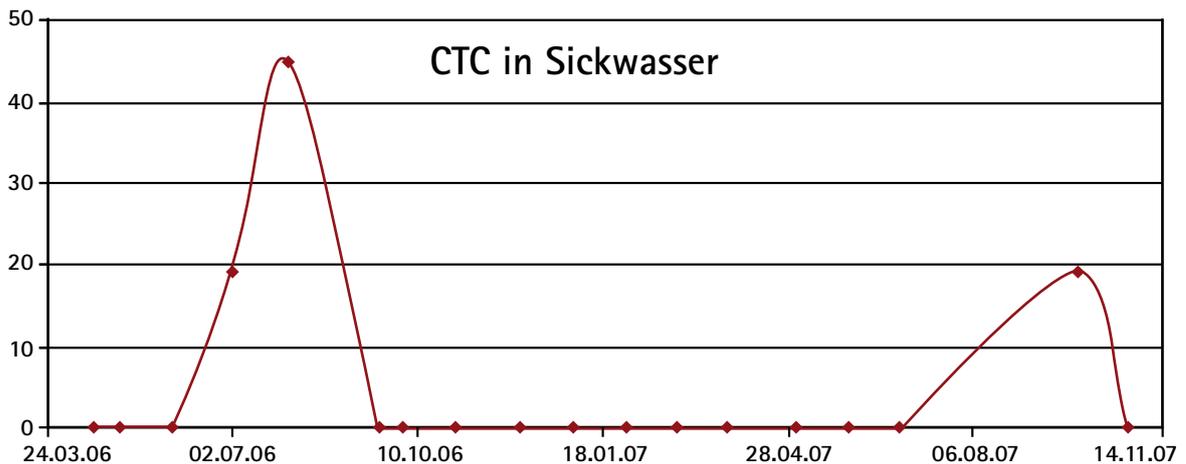




Tabelle 8: Sickerwasserkonzentrationen im mit undotierter Gülle beauftragten Lysimeter von 18.04. bis 04.12.2006

	18.04	02.05	30.05	03.07	01.08	19.09	02.10	30.10	04.12
SDM	n.n.								
SDZ	n.n.								
SMZ	n.n.								
SDO	n.n.								
TMP	n.n.								
STZ	n.n.								
TC	n.n.								
CTC	n.n.	n.n.	n.n.	<38	45	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
OTC	n.n.								

Tabelle 9: Sickerwasserkonzentrationen im mit undotierter Gülle beauftragten Lysimeter von 02.01. bis 29.10.2007

	02.01	31.01	27.02	26.03	02.05	31.05	27.06	01.10	29.10
SDM	n.n.								
SDZ	n.n.								
SMZ	n.n.								
SDO	n.n.								
TMP	n.n.								
STZ	n.n.								
TC	n.n.								
CTC	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.a.	n.a.	n.n.	<39	n.n.
OTC	n.n.								



Tabelle 10: Sickerwasserkonzentrationen im mit dotierter Gülle beauftragten Lysimeter von 18.04. bis 04.12.2006

	18.04	02.05	30.05	03.07	01.08	19.09	02.10	30.10	04.12
SDM	n.n.								
SDZ	n.n.								
SMZ	n.n.								
SDO	n.n.								
TMP	n.n.								
STZ	n.n.								
TC	n.n.								
CTC	n.n.								
OTC	n.n.								

Tabelle 11: Sickerwasserkonzentrationen im mit dotierter Gülle beauftragten Lysimeter von 02.01. bis 29.10.2007

	02.01	31.01	27.02	26.03	02.05	31.05	27.06	01.10	29.10
SDM	n.n.								
SDZ	n.n.								
SMZ	n.n.								
SDO	n.n.								
TMP	n.n.								
STZ	n.n.								
TC	n.n.								
CTC	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.a.	n.a.	n.n.	n.n.	n.n.
OTC	n.n.								

In beiden Jahren wurde im April gedüngt, wobei im ersten Versuchsjahr Chlortetracyclin schon im Juli im Sickerwasser zu detektieren war. Im zweiten Jahr wurde einmalig CTC erst im September gemessen (siehe Tabelle 9).



4.3 Bodenproben

Die Bodenproben wurden bei beiden Gefäßlysimetern aus den Tiefen 0–10 cm und 10–30 cm gezogen, um eine mögliche Verlagerung in tiefere Bodenschichten abschätzen zu können.

Lysimeter mit undotierter Gülleaufbringung

Tabellen 12 – 13 fassen die Ergebnisse zusammen.

Tabelle 12: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm

	31.03.2006	24.04.2006	10.05.2006	06.06.2006
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Chlortetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Oxytetracyclin	<10	43	16	75

Tabelle 13: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10–30 cm

	31.03.2006	24.04.2006	10.05.2006	06.06.2006
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Chlortetracyclin	n.n.	<10	<10	n.n.
Oxytetracyclin	<10	60	20	10



Die Referenzbodenprobe war bis auf Spuren von Oxytetracyclin unbelastet. Oxytetracyclin konnte nach der Düngung in Konzentrationen bis 75 µg/kg TM bestimmt werden, wobei beide Bodentiefen kontaminiert waren. Oxytetracyclin war auch das Antibiotikum, das die höchsten Konzentrationen in der Gülle aufwies. In der Bodentiefe 10-30 cm wurde auch zwei Mal Chlortetracyclin unterhalb der Bestimmungsgrenze nachgewiesen. Alle anderen untersuchten Leitsubstanzen konnten in keinem Fall nachgewiesen werden, da auch der eingesetzte Wirtschaftsdünger frei von den Antibiotikawirkstoffen oder nur sehr gering belastet (Tetracyclin) war. Die detektierten Gehalte lagen im Bereich von Literaturwerten [BLAC, 2003], obwohl ein Vergleich durch die nur einmalige Düngung schwer erscheint.

Bei der Aufbringung des Wirtschaftsdüngers im zweiten Versuchsjahr wurde eine Gülle verwendet, die wenig bis kaum mit Antibiotika belastet war (siehe Ergebnisse der Gülleproben). In den Tabellen 14 bis 15 werden die Ergebnisse dargestellt.

Tabelle 14: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm im Jahr 2007

	10.04.2007	16.04.2007	30.04.2007	21.05.2007
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Chlortetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Oxytetracyclin	n.n.	n.n.	14	18

Tabelle 15: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10–30 cm im Jahr 2007

	10.04.2007	16.04.2007	30.04.2007	21.05.2007
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	<10	n.n.
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Chlortetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	90
Oxytetracyclin	n.n.	n.n.	37	14



Vor der zweiten Düngung mit Gülle wurde der Boden auf Rückstände untersucht, wobei keine Antibiotika mehr nachgewiesen werden konnten. Trotz der sehr geringen Gehalte an Oxy- und Chlortetracyclin in der Gülle war der Boden belastet. Oxytetracyclin wurde in insgesamt vier Bodenproben knapp über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen. Chlortetracyclin konnte nur in einer Probe gemessen werden, wenn auch in einer etwas höheren Konzentration (90 µg/kg TM). Generell kann aber festgehalten werden, dass aufgrund der niedrigeren Gehalte in der Gülle die Bodenbelastung im zweiten Versuchsjahr abnahm. Positive Werte wurden nur bei der Gruppe der Tetracycline festgestellt (der einmalige Nachweis des Sulfamethoxazol unterhalb der Bestimmungsgrenze muss hier als Ausreißer betrachtet werden).

Lysimeter mit dotierter Gülleaufbringung

Dieser Lysimeter wurde mit Gülle gedüngt, die mit sechs Antibiotikawirkstoffen zusätzlich dotiert war. Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen.

Tabelle 16: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm

	31.03.2006	24.04.2006	10.05.2006	06.06.2006
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	<10	n.n.	n.n.	n.n.
Chlortetracyclin	n.n.	<10	<10	n.n.
Oxytetracyclin	<10	100	54	85

Tabelle 17: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10–30 cm

	31.03.2006	24.04.2006	10.05.2006	06.06.2006
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	<10
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	n.n.	n.n.	<10	<10
Chlortetracyclin	19	12	<10	n.n.
Oxytetracyclin	18	41	24	13



Die Referenzprobe zeigte schon wie beim anderen Lysimeter Spuren von Oxytetracyclin und Chlortetracyclin. Deutlich ist auch der Anstieg bei Oxytetracyclin nach der Düngung zu beobachten, wobei die Bodenschicht zwischen 0 – 10 cm deutlich höhere Werte aufweist. Auch Chlortetracyclin war in Spuren zu finden.

Tabelle 18: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 0–10 cm im Jahr 2007

	10.04.2007	16.04.2007	30.04.2007	21.05.2007
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	n.n.	<10
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	n.n.	n.n.	<10	n.n.
Chlortetracyclin	n.n.	n.n.	64	19
Oxytetracyclin	n.n.	n.n.	29	35

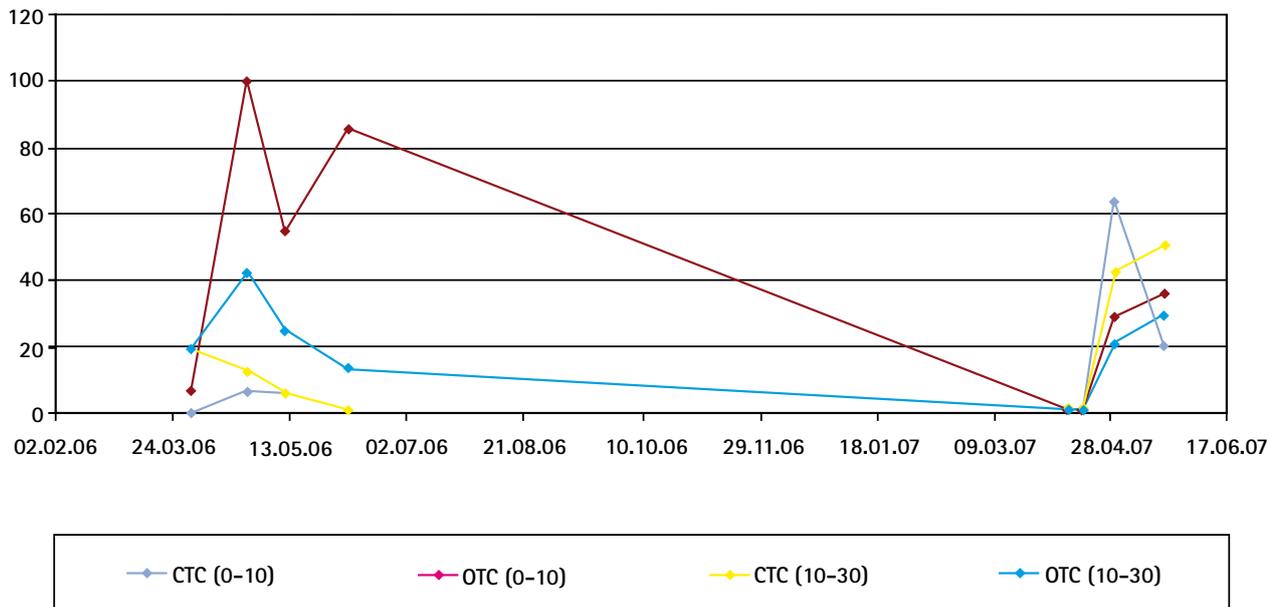
Tabelle 19: Bodenkonzentrationen [in µg/kg TM] – Bodentiefe 10–30 cm im Jahr 2007

	10.04.2007	16.04.2007	30.04.2007	21.05.2007
Sulfadimidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfadiazin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfamethoxazol	n.n.	n.n.	<10	n.n.
Sulfadoxin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Trimethoprim	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Sulfathiazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Tetracyclin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Chlortetracyclin	n.n.	n.n.	42	51
Oxytetracyclin	n.n.	n.n.	20	29



Die Referenzbodenprobe und die Bodenprobe direkt nach der Gülleaufbringung war wie bei den Proben des Lysimeter mit der undotierten Gülle unbelastet. In weiterer Folge zeigten sich aber ähnliche Konzentrationen an Oxy- sowie Chlortetracyclin. Abbildung 3 zeigt einen Vergleich der Konzentrationen mit der Bodentiefe sowie mit der Zeit für den Lysimeter, auf den dotierte Gülle aufgebracht wurde.

Abbildung 3: Konzentrationsverlauf mit der Zeit für Lysimeter MAIS (OTC, CTC) [in $\mu\text{g}/\text{kg TM}$]



Speziell im ersten Versuchsjahr wies Oxytetracyclin in beiden Bodenschichten die höchsten Konzentrationen auf. Dies ist auf die mit OTC belastete Gülle zurückzuführen. Im zweiten Versuchsjahr waren die Gehalte an Chlortetracyclin höher, was auf dessen Persistenz schließen lässt. Die Konzentration an Oxytetracyclin im Boden ging zurück, weil auch die Gehalte an Oxytetracyclin in der eingesetzten Gülle geringer waren.



4.4 Aufnahme in Pflanzen

Auf beiden Lysimetern wurde zweimal Mais angepflanzt, um eine mögliche Aufnahme von Antibiotika in Pflanzen untersuchen zu können. Die geernteten Maispflanzen wurden in Wurzeln, in Grünteile sowie in Maiskolben unterteilt. Zusätzlich wurde die Gründecke (Gras), die zwischen den beiden Anbauversuchen wuchs, beprobt. Insgesamt wurden 14 Pflanzenproben (jeweils 7 pro Lysimeter) aufgearbeitet und analysiert. Nach Gefrierdrying und Homogenisierung der Proben wurden die ausgewählten Leitsubstanzen in den Pflanzenproben bestimmt. Dabei konnten keine Wirkstoffe in den Pflanzen nachgewiesen werden. Ein möglicher Grund könnte auf die doch eher geringeren Konzentrationen im Boden zurückzuführen sein. Der Boden wurde lange Zeit vor der Versuchsdurchführung nicht begüht, wodurch der Boden nicht mit Antibiotika vorbelastet war. Es wurden zwar kurz nach der Düngung mit dem Wirtschaftsdünger die Wirkstoffe nachgewiesen, aber die Konzentrationen waren doch geringer als im (inter)nationalen Vergleich [HAMSCHER, 2002; SATTELBERGER, 2005]. Aufgrund der nur zweimaligen Düngung mit Gülle konnte es zu keinem Aufstockungseffekt kommen.

Des Weiteren wurde auch festgestellt, dass der Anteil der extrahierbaren Gehalte an Arzneimittelwirkstoffen mit der Wachstumszeit Veränderungen unterliegt [GROTE, 2005]. Die Art der Pflanze sowie Niederschlagsereignisse während der Düngung sowie bei Wachstum der Pflanzen haben auch entscheidenden Einfluss auf den Boden-Pflanzen Transfer der Antibiotika.



5. Literatur

- BLAC – Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit (2003): Arzneimittel in der Umwelt – Auswertung der Untersuchungsergebnisse. Bericht an die 61. Umweltministerkonferenz in Hamburg.. www.hu.hamburg.de
- BOXALL, A. B. A.; KOLPIN, D. W.; HALLING-SÖRENSEN, B.; TOLLS, J. (2003): Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environmental Science & Technology* August 1, 2003, 287 A-294 A.
- EMEA (1996): Note for guidance: environmental risk assessment for veterinary medicinal products other than GMO-containing and immunological products. EMEA/CVMP/055/96-final. London. www.emea.eu.int.
- FEDESA (1999): Antibiotics for animals: A FEDESA perspective on antibiotics, animal health and the resistance debate. www.fedesa.be
- GROTE, M.; (2005): Antiinfektivaeinträge aus der Tierproduktion in terrestrische und aquatische Kompartimente. Abschlussbericht zum Forschungsauftrag II A 5 – 2038.060601 – B/T 2/01, Fachhochschule Südwestfalen, Abtlg. Soest, FB Agrarwirtschaft, Paderborn
- GROTE, M.; SCHWAKE-ANDUSCH, C.; STEVENS, H.; MICHEL, R.; BETSCHE, T.; FREITAG, M. (2006): Antibiotika-Aufnahme von Nutzpflanzen aus Gülleedüngten Böden – Ergebnisse eines Modellversuchs. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 1, 38 – 50
- KÜMMERER K, ed. (2001): *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*. 1st ed. Berlin:Springer.
- KUMAR, K.; GUPTA, S. C.; BAIDOO, S. K.; CHANDER, Y. and ROSEN, C. J. (2005): Antibiotic Uptake by Plants from Soil Fertilized with Animal Manure. *J. Environ. Qual.* 34:2082–2085
- LINKE, I.; KRATZ, W.; (2001): Tierarzneimittel in der Umwelt. In: *Studien und Tagungsberichte, Schriftenreihe des Landesumweltamtes Brandenburg, Landesumweltamt Brandenburg (Hrsg.)*, Band 29, Potsdam, 1–35
- MIGLIORE, L.; BRAMBILLA, G.; CASORIA, P.; CIVITAREALE, C.; GAUDIO, L.; (1996): Effect of antimicrobial for agriculture as environmental pollutants. *Fresenius Environ. Bull.* 5, 735 – 739
- MIGLIORE, L.; BRAMBILLA, G.; COZZOLINO, S.; GAUDIO, L.; (1995): Effects on plants of sulfadimethoxine used in intensive farming (*Panicum miliaceum*, *Pisum sativum*, and *Zea mays*). *Agric Ecosys Environ* 52: 103 – 110
- MIGLIORE, L.; CIVITAREALE, C.; BRAMBILLA, G.; COZZOLINO, S.; CASORIA, P.; GAUDIO, L.; (1997): Effect of sulfadimethoxine on cosmopolitan weeds (*Amaranthus retroflexus* L., *Plantago major* L., and *Rumex acetosella* L.). *Agric Ecosys Environ*, 66: 163-168
- STAMM, C.; SERMET, R.; LEUENBERGER, J.; WUNDERLI, H.; WYDLER, H.; FLÜHLER, H.; GEHRE, M.; (2002): Multiple tracing of fast transport in a drained grassland soil. *Geoderma* 109, 245-268
- SATTELBERGER, R.; GANS, O.; MARTÍNEZ, E.; (2005): Veterinärantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. Umweltbundesamt, Berichte, Band 272
- THIELE-BRUHN, S. (2003): Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* 166, 145-167.
- WEISS, K.; SCHÜSSLER, W. & PORZELT, M. (2006): Quantifizierung von Sulfadimidin im Sickerwasser nach Beregnung gedüngter Flächen. *Vom Wasser* 104, 12-16
- WETZSTEIN, H.-G, SSSCHNEIDER, J.; KARL, W. (2002): Kinetics of the biotransformation of Enrofloxacin in aging cattle dung. Poster Q-70. 102nd General Meeting of the American Society for Microbiology, Salt Lake City.
- WINCKLER, C.; GRAFE A. (2000): Charakterisierung und Verwertung von Abfällen aus der Massentierhaltung unter Berücksichtigung verschiedener Böden. In: *Umweltbundesamt (Hrsg.)*, UBA Texte 44/00, Berlin
- WINCKLER, C.; ENGELS, H.; HUND-RINKE, K.; LUCKOW, T.; SIMON, M.; STEFFENS, G.; (2004): Verhalten von Tetracyclinen und anderen Veterinärantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. In: *Forschungsbericht 297 33 911*. Umweltbundesamt (Hrsg.), Berlin, Band 44/00