



Der Transport des Antibiotikums Sulfadiazin in Böden: Welchen Effekt hat die Gülle?

M. Unold (m.unold@fz-juelich.de), R. Kasteel (r.kasteel@fz-juelich.de), J. Groeneweg (j.groeneweg@fz-juelich.de), H. Vereecken (h.vereecken@fz-juelich.de); alle Forschungszentrum Jülich

Zusammenfassung

Der Einfluss von Gülle auf das Transportverhalten des Antibiotikums Sulfadiazin wurde in gepackten Bodensäulen untersucht. Dazu wurden entweder Schweinegülle mit Sulfadiazin und seinen Metaboliten Acetyl-Sulfadiazin und Hydroxy-Sulfadiazin oder eine reine Sulfadiazin-Lösung in die Bodensäulen eingearbeitet. Durchbruchkurven von Sulfadiazin und seinen Metaboliten und Konzentrationsprofile wurden gemessen. Unter den Versuchsbedingungen erwies sich Sulfadiazin als mobil. Die Gülle wirkte sich hemmend auf den Transport aus, was vor allem auf eine Anreicherung von Sulfadiazin in den oberen Säulenschichten zurückzuführen ist. Auch die Metabolite erwiesen sich als mobil und teilweise als stabil. Daher sollten sie bei der Einschätzung des Umweltverhaltens von Sulfadiazin mit berücksichtigt werden.

1. Einleitung

Antibiotika wie Sulfadiazin (SDZ) werden in der Tiermedizin in großen Mengen eingesetzt und können nach ihrer Ausscheidung vor allem durch die Ausbringung von Gülle in landwirtschaftliche Böden gelangen [1]. In den letzten Jahren zeigten zahlreiche Studien die Ausbreitung von Antibiotika in der Umwelt. So wurden Vertreter der Gruppe der Sulfonamide, zu denen auch das SDZ gehört, in Grundwasser [2], Oberflächengewässern [3, 4] und Böden [5,6] nachgewiesen. Dies ist, neben möglichen negativen Effekten für die Bodenorganismen, vor allem hinsichtlich der möglichen Entwicklung und Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen als problematisch einzuschätzen [7].

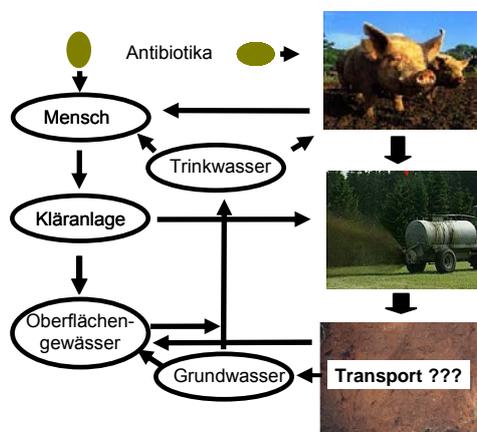


Abb. 1: Mögliche Wege für Antibiotika in der Umwelt (Homepage Forschungszentrum Jülich, Agrosphäre)

Ein möglicher Eintragspfad von Stoffen in die Nahrungskette ist der Transport durch Böden ins Grundwasser wie Abbildung

1, auf der der mögliche Kreislauf für Antibiotika in der Umwelt abgebildet ist, zeigt. Um die Gefährdung eines Eintrages von SDZ ins Grundwasser einschätzen zu können, sind Kenntnisse über das Abbau-, Sorptions- und Transportverhalten wichtig. Bisherige Untersuchungen zeigten für die Gruppe der Sulfonamide eine nichtlineare Sorption und ergaben einen relativ niedrigen Sorptionskoeffizienten, der auf eine hohe Wasserlöslichkeit und eine damit verbundene Auswaschungsgefahr hinweist [8]. Durch das Vorhandensein von zwei ionisierbaren Gruppen (pK_{a1} : 2,49; pK_{a2} : 6,5) ist das Sorptionsverhalten pH-abhängig [9].

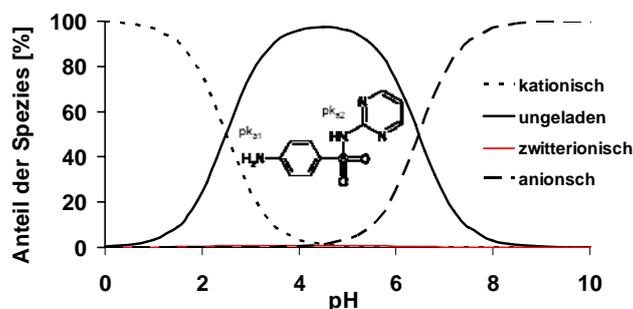


Abb. 2: Anteil der SDZ-species in Abhängigkeit vom pH-Wert [10]

Im Unterschied zu anderen Schadstoffgruppen wie z.B. den Pestiziden, werden Antibiotika unbeabsichtigt zusammen mit Gülle ausgebracht. Dabei können einerseits die Bestandteile der Gülle den Transport beeinflussen, andererseits sind neben der Ausgangssubstanz auch Metabolite in der Gülle vorhanden. Im Rahmen der DFG-Forschergruppe „Veterinary Medicines in Soils - Basic Research for Risk Analysis“, die sich mit dem Umweltverhalten von Sulfadiazin beschäftigt, wurde ein Fütterungsversuch mit ^{14}C -SDZ an Schweinen durchgeführt. Dabei wurden insgesamt 96% der verabreichten Radioaktivität wieder ausgeschieden. Acetyl-SDZ und Hydroxy-SDZ wurden als Hauptmetabolite in der Schweinegülle identifiziert [11]. Das Auftreten der Metabolite ist in diesem Fall nicht mit einem Wegfall des Risikos gleichzusetzen, da Hydroxy-SDZ noch antibakteriell aktiv ist [12] und Acetyl-SDZ zur Ausgangssubstanz zurückreagieren kann [13]. Daher ist es wichtig, sie bei der Abschätzung des Umweltrisikos von SDZ zu berücksichtigen. Das Ziel der folgenden, im Rahmen der oben genannten Forschergruppe durchgeführten Untersuchung war, den Einfluss der Schweinegülle auf den Transport von SDZ zu ermitteln und gleichzeitig den Transport der Metabolite zu untersuchen [14].

2. Experimentelles

Der Transport von ^{14}C -SDZ (IUPAC: 4-amino-N-pyrimidin-2-yl-benzensulfonamid) und seinen Hauptmetaboliten in Schweinegülle, ^{14}C -Hydroxy-SDZ (N^1 -2-(4-hydroxypyrimidinyl-benzensulfanilamid) und ^{14}C -Acetyl-SDZ (N^4 -Acetyl- N^1 -2-pyrimidinylsulfanilamid), wurde in zwei repräsentativen Ackerböden für Nordrhein-Westfalen (lehmiger Sand und schluffiger Lehm, klassifiziert nach FAO) in gepackten Bodensäulen mit einer Höhe von 10 cm und einem Durchmesser von 8 cm untersucht [14]. Die Eigenschaften der Böden sind in Tabelle 1 dargestellt.

		Sand	Lehm
Ton	[Gew.-%]	4,9	15,4
Schluff	[Gew.-%]	26,7	78,7
Sand	[Gew.-%]	68,5	5,9
pH*		6,8	7,4
Corg	[Gew.-%]	1,07	1,24
KAK [15]	[cmol _c kg ⁻¹]	7,8	11,4

* gemessen in den Proben der Durchbruchskurven

Tab. 1: Eigenschaften der untersuchten Böden

Es wurden entweder 15,07 g Schweinegülle mit ^{14}C -SDZ und seinen Metaboliten (SDZ 67,7%, Hydroxy-SDZ 17,4%, Acetyl-SDZ 15%) oder eine SDZ-Lösung (SDZ 100%) in den ersten cm der Bodensäulen eingearbeitet. Die Gesamtkonzentration an SDZ und seinen Metaboliten betrug jeweils $0,27 \text{ mg g}^{-1}$. Die ungesättigten Bodensäulen wurden mit konstanten Fließraten von ca. $0,19 \text{ cm h}^{-1}$ beregnet [14]. Durchbruchskurven von ^{14}C , SDZ, Hydroxy-SDZ, Acetyl-SDZ und dem in den Experimenten mit SDZ-Lösung zusätzlich auftretenden 4-[2-iminopyrimidine-1(2H)-yl]-anilin wurden gemessen. Die Konzentration an Gesamt- ^{14}C in den Proben wurde mittels Flüssigszintillationsmessung (LSC) bestimmt. SDZ und die beiden Hauptmetabolite wurden mittels HPLC (Phenomenex Synergi Fusion RP 80, 250 mm x 4.6 mm) getrennt und mittels LSC quantifiziert [16]. Am Ende der Experimente wurden die Bodensäulen in Scheiben geschnitten. Die ^{14}C -Konzentration in den Schichten wurde mittels Veraschung der Proben und anschließender LSC-Messung bestimmt.

3. Ergebnisse und Diskussion

Unterschiede zwischen den Experimenten mit SDZ-Lösung und Gülle werden sowohl in den Durchbruchskurven (Abbildung 3) als auch in den Konzentrationsprofilen (Abbildung 4) deutlich.

Die Durchbruchskurven der Experimente mit Gülle weisen deutlich niedrigere Peakhöhen auf als die Experimente mit SDZ-Lösung, was sich auch in den geringeren ausgewaschenen Mengen (Angaben in Klammern) widerspiegelt. Die Durchbruchskurven des Lehms erscheinen etwas früher als die im Sand. Dies steht angesichts eines höheren Tongehalts und einem höheren Gehalt an organischer Substanz, verbunden mit einer höheren verfügbaren Oberfläche für die

Sorption, den allgemeinen Erwartungen entgegen. Eine mögliche Erklärung ist die pH-abhängige Sorption des SDZ. In den Proben des Lehms war der pH-Wert im Durchschnitt um 0,6 höher, was mit einem höheren Anteil der weniger sorbierenden negativen SDZ-Spezies verbunden ist.

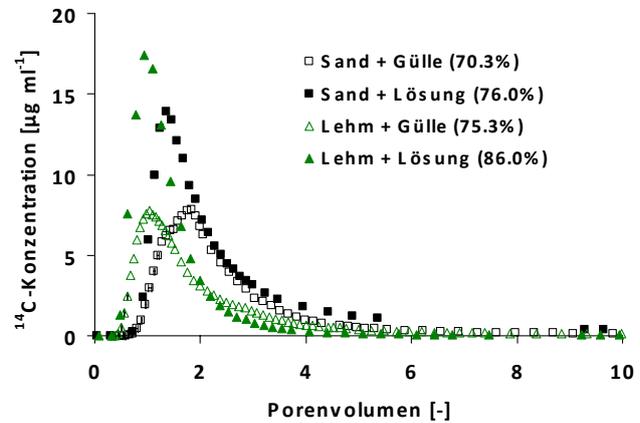


Abb. 3: ^{14}C -Durchbruchskurven aus den verschiedenen Experimenten mit eluierten Mengen in Klammern, Konzentrationsangaben in Massenäquivalenzen von SDZ (verändert nach [14])

Alle Durchbruchskurven weisen ein langes Tailing auf. Dies weist auf einen chemischen Nichtgleichgewichtsprozess im Boden hin und hat sich als charakteristisch für den SDZ-Transport gezeigt [16,17] (physikalisches Nichtgleichgewicht kann ausgeschlossen werden). In den Konzentrationsprofilen ist die ^{14}C -Konzentration am oberen Rand der Säulen, wo die SDZ-Lösung und die Gülle eingearbeitet wurden, am höchsten. Diese Anreicherung ist in den Experimenten mit Gülle signifikant höher und die Hauptursache für die geringere

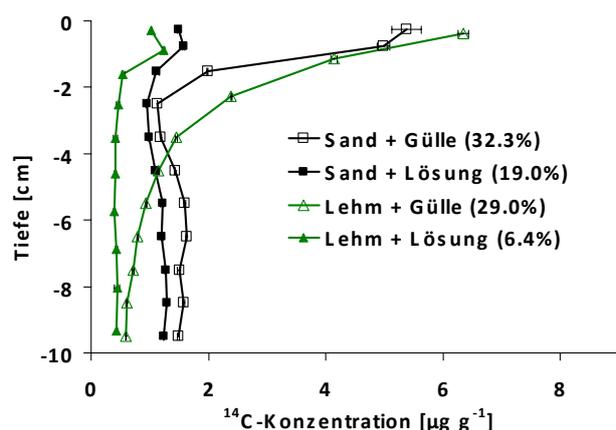


Abb. 4: Konzentrationsprofile der Experimente mit und ohne Gülle für beide Böden [14]

Gesamtmenge. Eine Hypothese für diese Anreicherung ist, dass organisches Material der Gülle (Trockensubstanz in der Gülle $\sim 10\%$) mit sorbiertem Sulfadiazin durch die Porenstruktur des Bodens abfiltriert wurde. Die etwas höhere Sorption bzw. Filtration im Lehm ist daher möglicherweise strukturbedingt.

Auch in den Experimenten mit Sulfadiazin-Lösung verblieb ein Teil des SDZs in den Bodensäulen. Das Auftreten dieser, möglicherweise irreversiblen Sorption hat sich als charakteristisch für den Transport von SDZ gezeigt.

In den Proben der Experimente mit SDZ-Lösung wurden 4-[2-iminopyrimidine-1(2H)-yl]-anilin (Sand: 16.1%; Lehm: 12.0%) und Hydroxy-SDZ (Sand: 7.8%, Lehm: 1%) als Transformationsprodukte nachgewiesen. Dies zeigt, dass auch im Boden Transformations- bzw. Abbauprozesse stattfinden und gibt einen Hinweis auf deren Intensität.

In Abbildung 5 sind die Durchbruchkurven der Transformationsprodukte für das Gülleexperiment im Lehm Boden dargestellt.

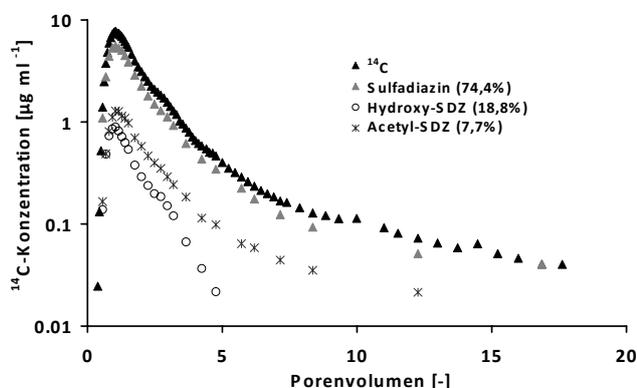


Abb. 5: Durchbruchkurven von SDZ und seinen Transformationsprodukten in Schweinegülle, Konzentrationsangaben in Massenäquivalenzen von SDZ (Unold, 2009)

Im Sandboden ist die Verteilung zwischen SDZ und den Transformationsprodukten ähnlich. Die Peaks von Hydroxy-SDZ und Acetyl-SDZ erscheinen fast gleichzeitig mit SDZ, was auf eine ebenso hohe Mobilität wie die von SDZ schließen lässt. Während der Anteil von Hydroxy-SDZ in den Proben konstant ist, was auch an dem ausgeprägten Tailing der Kurve sichtbar ist, sinkt der Anteil von Acetyl-SDZ rasch ab. Unter den gegebenen experimentellen Bedingungen lässt sich nicht ermitteln ob diese Abnahme auf Sorption oder Transformation zurückzuführen ist. Hinweise aus der Literatur deuten jedoch darauf hin, dass eine schnelle Transformation den Verbleib von Acetyl-SDZ im Boden bestimmt [18]. Aufgrund der hohen Mobilität der Transformationsprodukte ist es unwahrscheinlich, dass die Anwesenheit der Transformationsprodukte die Unterschiede im Durchbruch zwischen den Experimenten mit SDZ-Lösung und Gülle bedingt.

3. Zusammenfassung

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen erwies sich Sulfadiazin als mobil. Die Anwesenheit der Gülle wirkte sich hemmend auf den Transport aus, was vor allem auf die Anreicherung von ^{14}C im oberen Bereich der Säulen zurückzuführen ist. Falls diese Anreicherung durch die Filtration von organischer Substanz mit sorbiertem SDZ bedingt ist, besteht möglicherweise eine erhöhte Auswaschungsgefahr bei Auftreten von präferentiellem Fluss im Boden. Die Transformationsprodukte in der Gülle erwiesen sich als mobil und im Falle des Hydroxy-SDZ als stabil, was bedeutet, dass vor allem Hydroxy-SDZ bei der Einschätzung des Umweltverhaltens von Sulfadiazin mit berücksichtigt werden sollte.

Literatur

- [1] S. E. Jørgensen and B. Halling-Sørensen (2000). Drugs in the environment. *Chemosphere* 40. 691-699
- [2] M. J. Focazio, D. W. Kolpin, K. K. Barnes, E. T. Furlong, M. T. Meyer, S. D. Zaugg, L. B. Barber and M. E. Thurman (2008). A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States — II) Untreated drinking water sources. *Science Total Environment* 402. 201-216
- [3] T. Christian, R. J. Schneider, H. A. Farber, D. Skutlarek, M. T. Meyer and H. E. Goldbach (2003). Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 31. 36-44
- [4] S. Managaki, A. Murata, H. Takada, B. C. Tuyen and N. H. Chiem (2007). Distribution of macrolides, sulfonamides, and trimethoprim in tropical waters: Ubiquitous occurrence of veterinary antibiotics in the Mekong Delta. *Environmental Science & Technology* 41. 8004-8010
- [5] A. B. A. Boxall (2004). The environmental side effects of medication - How are human and veterinary medicines in soils and water bodies affecting human and environmental health? *Embo Reports* 5. 1110-1116
- [6] G. Hamscher, H. T. Pawelzick, H. Höper and H. Nau (2005). Different behavior of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24. 861-868
- [7] N. Kemper (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators* 8. 1-13
- [8] S. Thiele-Bruhn and M. O. Aust (2004). Effects of pig slurry on the sorption of sulfonamide antibiotics in soil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47. 31-39
- [9] S. T. Kurwadkar, C. D. Adams, M. T. Meyer and D. W. Kolpin (2007). Effects of sorbate speciation on sorption of selected sulfonamides in three loamy soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55. 1370-1376
- [10] C. Zarfl, M. Matthies and J. Klasmeier (2008). A mechanistical model for the uptake of sulfonamides by bacteria. *Chemosphere* 70. 753-760

- [11] M. Lamshöft, P. Sukul, S. Zuhlke and M. Spiteller (2007). Metabolism of C-14-labelled and non-labelled sulfadiazine after administration to pigs. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 388. 1733-1745
- [12] J. F. M. Nouws, D. Mevius, T. B. Vree and M. Degen (1989). Pharmacokinetics and Renal Clearance of Sulfadimidine, Sulfamerazine and Sulfadiazine and Their N4-Acetyl and Hydroxy Metabolites in Pigs. *Veterinary Quarterly* 11. 78-86
- [13] K. Berger, B. Petersen and H. B. Pfaue (1986). Persistenz von Gülle-Arzneistoffen in der Nahrungskette. *Archiv für Lebensmittelchemie* 37. 99-102
- [14] M. Unold, J. Simunek, R. Kasteel, J. Groeneweg and H. Vereecken (2009). Transport of manure-based applied sulfadiazine and its main transformation products in soil columns. *Vadose Zone Journal*. submitted
- [15] M. Förster, V. Laabs, M. Lamshoht, T. Putz and W. Amelung (2008). Analysis of aged sulfadiazine residues in soils using microwave extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 391. 1029-1038
- [16] M. Unold, R. Kasteel, J. Groeneweg and H. Vereecken (2008). Transport and transformation of sulfadiazine in soil columns packed with a silt loam and a loamy sand. *Journal of Contaminant Hydrology*. doi:10.1016/j.jconhyd.2008.09.002
- [17] A. Wehrhan, R. Kasteel, J. Simunek, J. Groeneweg and H. Vereecken (2007). Transport of sulfadiazine in soil columns - Experiments and modelling approaches. *Journal of Contaminant Hydrology* 89. 107-135
- [18] H. Heuer, A. Focks, M. Lamshoef, K. Smalla, M. Matthies and M. Spiteller (2008). Fate of sulfadiazine administered to pigs and its quantitative effect on the dynamics of bacterial resistance genes in manure and manured soil. *Soil Biology & Biochemistry* 40. 1892-1900

Korrespondenzadresse:



Myriam Unold
Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre ICG-4
Forschungszentrum Jülich
Leo-Brandt-Straße
52428 Jülich