



Modellhafte Darstellung der Adsorption des Diclofenacs am Kollagen



Sebastian Oehm, *1997
Leo Hebbelmann, *1996

Schule:
Gymnasium Marianum Meppen,
Meppen

Eingang der Arbeit:
Oktober 2013

Zur Veröffentlichung angenommen:
März 2014

Biofilter für sauberes Wasser

Sorptionsfähigkeiten von Kollagen in Bezug auf Medikamentenrückstände

Einige Medikamentenrückstände in Oberflächengewässern zeigen negative Auswirkungen auf Tiere und Pflanzen. Zu deren Entfernung gibt es nur wenige, kostenaufwändige Verfahren, die in Kläranlagen Verwendung finden. Diese Arbeit beinhaltet die Untersuchung eines alternativen, möglichst kostengünstigen Verfahrens zur Entfernung der Medikamentenrückstände aus Abwässern, mit besonderem Fokus auf das Protein Kollagen.

1 Einleitung

Ein Problem für unsere moderne, medizinisch hoch entwickelte Gesellschaft stellt die durch Medikamente verursachte Belastung der Gewässer dar. Einer der Wirkstoffe ist das in zahlreichen Untersuchungen und Studien als besonders umweltschädlich eingestufte Diclofenac, das bereits in verschiedenen Flüssen und Seen in Deutschland in bedenklichen Konzentrationen nachgewiesen wurde.

Die Emission der Medikamente an der Quelle zu verringern ist sehr schwierig, da der Konsum von Arzneimitteln kaum aus umweltpolitischen Gesichtspunkten beschränkt werden kann. Daher ist es notwendig, die Medikamentenrückstände nach dem Konsum aus dem Abwasser zu entfernen. Im Allgemeinen gibt es dazu drei bekannte Ansätze: Membranfiltration, Oxidation und Adsorption an Aktivkohle. In dieser Arbeit wurde in einer

Ausgangsuntersuchung die Fähigkeit der Eimembran festgestellt, die Konzentration von Acetylsalicylsäure (Wirkstoff in Aspirin) in einer wässrigen Lösung zu reduzieren. Dabei ist zunächst eine Filterwirkung zu vermuten, dennoch sind Adsorptionseigenschaften der Eimembran ebenfalls denkbar. In diesem Fall könnte die Eimembran als alternatives Adsorbans zur Aktivkohle dienen. Um unabhängig von den natürlichen Unterschieden zwischen einzelnen Membranen zu sein, andere Faktoren für eine spätere Deutung auszuschließen und um wirtschaftsnäher zu arbeiten, wurden die späteren Versuche mit Kollagen, einem Hauptbestandteil der Eimembran, durchgeführt.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Medikamentenbelastung der Gewässer

In den letzten Jahren ist das Problem der Arzneimittelbelastung zunehmend be-

deutend geworden. Eine besondere Bedeutung kommt dabei dem Arzneimittel Diclofenac zu, welches europaweit in vielen Oberflächengewässern und vereinzelt auch im Grundwasser nachgewiesen werden kann.

Bereits im Jahr 2000 hat die Europäische Kommission in der Wasserrahmenrichtlinie [2] für 33 besonders gefährliche Stoffe einheitliche Grenzwerte für die Gewässer festgelegt. Diese Stoffliste soll regelmäßig fortgeschrieben werden. In der derzeit geltenden RL 2013/39/EU wurde Diclofenac zwar nicht in die Liste der prioritären Stoffe aufgenommen, jedoch erfolgte die Aufnahme in eine Beobachtungsliste.

Diese verpflichtet die EU-Mitgliedsstaaten zu regelmäßigen Messungen der Diclofenac-Konzentrationen an Oberflächengewässern [3]. Einen aktuellen

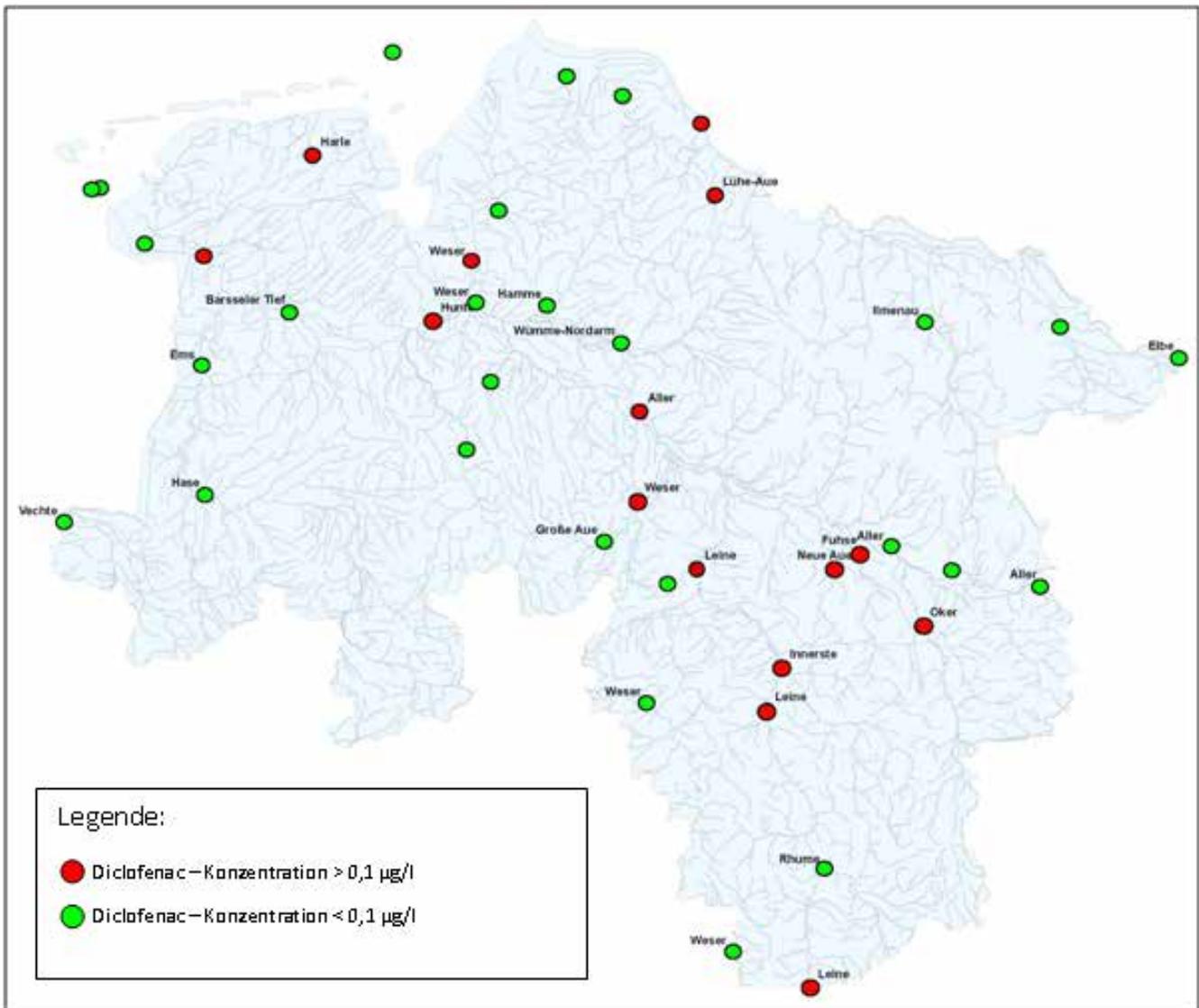


Abb. 1: Diclofenac in niedersächsischen Oberflächengewässern, Bildquelle: Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz, 2012.

Überblick über die Belastungssituation in niedersächsischen Oberflächengewässern vermittelt Abb. 1.

Nach den vom Niedersächsischen Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz (NLWKN) im Jahr 2011 durchgeführten Gewässeruntersuchungen wurde der vorgeschlagene Grenzwert (0,1 µg/l) an 15 der 45 ausgewählten Messstellen überschritten [4].

In Deutschland werden jährlich etwa 86 Tonnen Diclofenac verbraucht, wobei der Wirkstoff in der Human- und Veterinärmedizin eingesetzt wird [5]. Etwa 70% des durch den Menschen aufgenommenen Diclofenacs werden ausgeschieden und gelangen in das Abwasser [6]. Ebenfalls gelangt Diclofenac zu Teilen schon bei der Herstellung der Medikamente in das Abwasser. Da im Durchschnitt nur

etwa 26% des im Wasser enthaltenen Diclofenacs von Kläranlagen entfernt werden können [5], bleibt dieses in zu hohen Konzentrationen in den Oberflächengewässern und gelangt so auch in das Grundwasser.

2.2 Diclofenac und Dichlorphenolindophenol

Diclofenac (nach der IUPAC: 2-[2-[(2,6-Dichlorphenyl)amino]phenyl]essigsäure) ist ein Schmerzmittel, welches der Wirkstoffklasse der nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAR) zugeordnet wird. Es lindert Schmerzen, indem es die Produktion von Prostaglandinen senkt. Prostaglandine sind eine Reihe von Gewebeshormonen mit unterschiedlichen Aufgaben; einige der Prostaglandine steigern die Schmerzwahrnehmung. Die Cyclooxygenasen, also Enzyme, welche an der Bildung von Prostaglan-

dinen wesentlich beteiligt sind, werden durch Diclofenac (und andere NSAR) kurzfristig gehemmt. Dadurch können weniger Prostaglandine hergestellt werden – die Schmerzwahrnehmung wird abgeschwächt [7] [8] [9].

Dichlorphenolindophenol-Natriumsalz (eigentlich: 2,6-Dichlorphenol-indophenolnatrium, Abk. DCPIP) ist ein dunkelgrüner Feststoff, welcher sich sehr gut in Wasser löst und dieses selbst bei geringen Konzentrationen blau färbt (mit dem Auge ist die Blaufärbung bis zu 1 mg/l deutlich erkennbar). DCPIP ist ein Oxidationsmittel, das in seiner reduzierten Form farblos ist. Dadurch kann es als Redoxindikator verwendet werden und dient so als Nachweismittel zur quantitativen Bestimmung von Ascorbinsäure (hier bekannter unter dem Namen „Tillmanns Reagenz“) [10]. DCPIP

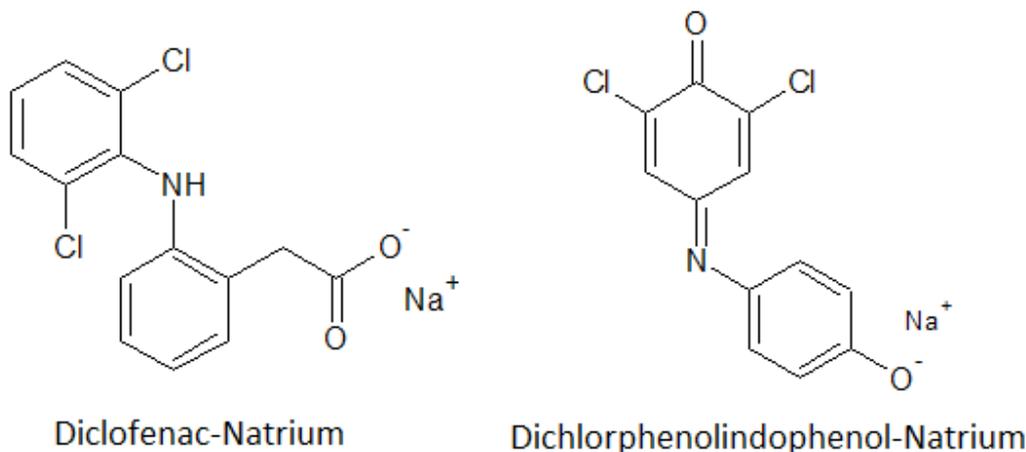


Abb. 2: Konstitutionsformeln von Diclofenac und Dichlorphenolindophenol, nach [21] und [22]

besteht aus zwei durch ein Stickstoffatom verbundenen Ringsystemen (siehe Abb. 2). Diclofenac verfügt über zwei Benzolringe, die ebenfalls über ein Stickstoffatom kovalent verbunden sind (siehe Abb. 2). Beide Stoffe verfügen über zwei Chlorgruppen, wobei sich diese an unterschiedlichen Stellen befinden. Es handelt sich bei beiden Stoffen um Natriumsalze (wobei das Natrium über die Ladung an einem Sauerstoffatom gebunden wird).

Für eine Adsorption ist in erster Linie Polarität und Größe der Teilchen entscheidend. Da DCPIP in diesen Eigenschaften Diclofenac sehr ähnlich ist, wurde es in dieser Arbeit als Vergleichsstoff für Diclofenac verwendet, da für die quantitative Diclofenac Messung keine geeigneten Geräte zur Verfügung standen. DCPIP dagegen kann selbst bei geringen Konzentrationen fotometrisch gemessen werden.

2.3 Aktivkohle

Aktivkohle ist eine aus Pflanzen hergestellte Kohle, die durch ihre schwammähnliche Struktur eine sehr große Oberfläche besitzt. Daher wird diese in vielen Anwendungen, darunter auch zur Abwasserbereitung, als Adsorbans eingesetzt. Für den nachfolgenden Aktivkohle Versuch wurde gekörnte Aktivkohle verwendet [11].

2.4 Kollagen, Gelatine, Kollagen-Hydrolysat

Kollagene sind langfaserige Strukturproteine, die besonders in der Haut, im Knorpel, in Sehnen und Knochen zu finden sind. Sie machen bis zu 30 % der Proteinmasse des menschlichen Körpers aus [12]. Als Teil der extrazellulären Matrix sorgt es für den Zusammenhalt der Zellen in Geweben, spielt eine Rolle bei

den mechanischen Eigenschaften von Knorpel und Haut und unterstützt die Filtration von Substanzen, die zwischen einzelnen Geweben ausgetauscht werden [13]. Kollagen ist in der Form, wie es in Lebewesen vorkommt, aufgrund seiner Molekülgröße nicht wasserlöslich [20].

Gelatine besteht aus einem Gemisch aus denaturiertem oder hydrolysiertem Kollagen und anderen tierischen Eiweißen. Ihre Aminosäurezusammensetzung unterscheidet sich nicht von der des Kollagens [14]. Gelatine löst sich ab einer Temperatur von ca. 50 °C in Wasser [15].

Kollagen-Hydrolysat ist ein Nahrungsergänzungsmittel. Dieses wird im Gegensatz zu Gelatine nicht durch Denaturierung bzw. Hydrolyse mithilfe von Wärme, Säuren oder Basen gewonnen, sondern durch enzymatische Hydrolyse. Das entstandene Kollagen-Hydrolysat ist wasserlöslich [16].

2.5 Messverfahren

Die meisten Testreihen wurden mit einem Fotometer durchgeführt. Dieses Gerät gibt die Lichtabsorption einer Probe als Extinktions- oder Absorptionswert an, aus dem auf die Konzentration einer Lösung geschlossen werden kann.

Bei den HPLC-MS-Geräten, die für die Analyse der Diclofenac-Testreihe (siehe 3.5) verwendet wurden, handelt es sich um einen Zusammenschluss von Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. „high performance liquid chromatography“, HPLC) und Massenspektrometrie (MS). Die für die HPLC in dem Gerät vorhandene Trennsäule kann hierbei eine flüssige Probe in die enthaltenen Komponenten auftrennen. Der nachgeschaltete

MS-Teil des Gerätes kann anschließend diese quantifizieren, indem er sie erst in die Gasphase überführt und sie anschließend ionisiert [17]. Ein HPLC-MS-Gerät kann die Masse dieser Komponenten in der Regel bis in den Nanogramm-Bereich genau angeben [18].

3 Ergebnisse

3.1 Voruntersuchungen

3.1.1 Versuche mit einer Eimembran

Bei ersten Untersuchungen wurde die Schalenhaut der Eier des Haushuhns, im Folgenden als Eimembran bezeichnet, als Filter eingesetzt. Diese wurde durch Behandlung frischer Eier mit 25 %-iger Salzsäure gewonnen, wobei sich die Kalkschale durch die Säure auflöst.

Die Eimembran wurde in eine Apparatur eingespannt, die aus einem Erlenmeyerkolben mit Seitenrohr und einem Keramikaufsatz besteht (vgl. Abb. 3). Dieser Aufsatz besteht aus einem nach oben offenen Zylinder, dessen Grundfläche über Löcher mit einem Durchmesser von ca. 1 mm verfügt. Durch diese Löcher laufende Flüssigkeiten werden durch einen im Aufsatz enthaltenen Trichter in den Erlenmeyerkolben geleitet. Im Zylinder wurde nun die Eimembran durch Dichtungsringe, Frischhaltefolie und ein Bleigewicht so fixiert, dass eine Lösung die Eimembran passieren muss, bevor sie in den Erlenmeyerkolben gelangt. Um den Durchfluss der Messproben zu beschleunigen, wurde eine Wasserstrahlpumpe an das Seitenrohr des Erlenmeyerkolbens angeschlossen. In die Apparatur wurde immer eine vollständige Eimembran eingespannt, die innerhalb der Testreihe nicht ausgetauscht wurde. Untersucht wurde eine Lösung mit Acetylsalicylsäure (Handelsname: Aspirin [1]). Da die Acetylsalicylsäure-Lösung

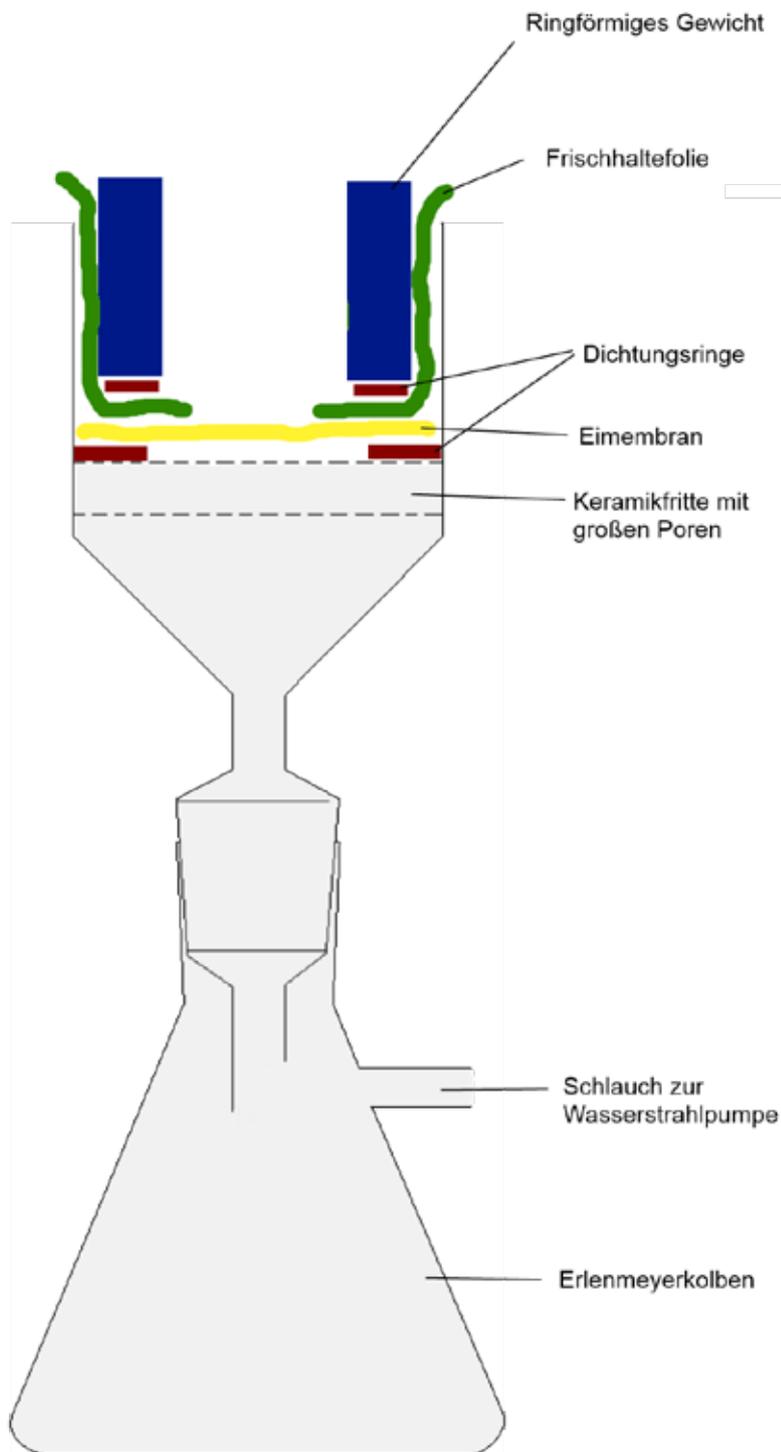


Abb. 3: Prinzipieller Aufbau der Filtrationsapparatur

farblos ist, wurden bei dieser Testreihe in 100 ml der Ausgangslösung und in 100 ml der gefilterten Proben die gleiche Menge Eisen(III)-chlorid gegeben. Dies ist ein Indikator für Acetylsalicylsäure, der sich

bei Kontakt mit dieser violett-bläulich färbt. Dadurch lässt sich die Acetylsalicylsäurekonzentration quantitativ bestimmen, da die Färbung bei höherer Acetylsalicylsäurekonzentration der Lösung

intensiver wird. In Abb. 4 (Seite 56) sind die Extinktionswerte der Stammlösung, fünf einfach gefilterter Proben gleicher Ausgangskonzentration und einer dreifach mit der Eimembran gefilterten Probe aufgetragen. Die gefilterten Proben weisen einen geringeren Extinktionswert als die Stammlösung auf, der Wert der dreifach gefilterten Probe liegt bei ungefähr der Hälfte des Wertes der Stammlösung.

3.1.2 Versuche mit Aktivkohle

Zur Überprüfung, ob Adsorptionsverfahren prinzipiell zur Reinigung von mit Diclofenac verschmutztem Abwasser geeignet sind, wurde ein Test mit Aktivkohle durchgeführt. Dabei wurden 30 g Aktivkohle in ein spitz zulaufendes Glasrohr gegeben, in dem unten ein wenig Glaswolle positioniert war, damit die Aktivkohle nicht aus dem Rohr hinausgespült wird. Es wurden zwei 100 ml Proben der 10 mg/l-DCPIP-Stammlösung verwendet. Dabei wurde die Aktivkohle vor der zweiten Probe ausgetauscht. Die Aktivkohlepartikel, die mit der Lösung durch die Glaswolle gelangten, wurden durch Filtration mit Filterpapier entfernt. Tabelle 1 zeigt die gemessenen Extinktionswerte. Die Werte der Proben entsprechen nur einem Zehntel bis Zwanzigstel des Extinktionswertes der Stammlösung.

3.1.3 Temperaturbeständigkeit von DCPIP

Um zu überprüfen, ob DCPIP sich bei höheren Temperaturen, wie sie bei der Gelatinetestreihe aus 3.2. erreicht werden, zersetzt und dadurch die fotometrische Auswertung verfälscht wird, wurde eine Untersuchung zur Hitzebeständigkeit des DCPIPs durchgeführt. Dabei wurde der Extinktionswert der 10 mg/l-DCPIP-Lösung im Fotometer gemessen, danach wurde dieselbe Lösung auf 85 °C erhitzt und der Extinktionswert erneut fotometrisch bestimmt, nachdem die Lösung abgekühlt war. Der Extinktionswert der Lösung war identisch, dieser lag bei 0,438.

3.2 Versuche mit Gelatine

Um einen Einblick in die Wirkung des Kollagens auf DCPIP zu erhalten, wurden Experimente mit Gelatine durchgeführt.

	Stammlösung	Probe 1	Probe 2
Extinktionswert (Absorption)	0,429	0,025	0,019

Tab. 1: Extinktionswerte der Aktivkohle-Untersuchung.

Die Gelatine wurde in Wasser eingeweicht und in die zu untersuchenden Proben gegeben. Damit sich die Gelatine im Wasser löst, wurden die Proben erhitzt.

Bei verschiedenen einzelnen Tests konnte eine Entfärbung der DCPIP-Lösungen festgestellt werden. Dabei schien es eine unterschiedliche Auswirkung zu haben, ob die Lösungen auf 50 °C oder 85 °C erhitzt wurden; es kam zu einer stärkeren Entfärbung, wenn die Lösung auf 85 °C erhitzt wurde. In einer konkreten Testreihe mit vier Proben wurden pro Probe je 50 ml einer 10 mg/l-DCPIP-Stammlösung eingesetzt, zu der je ein halbes Blatt Gelatine (0,3 g) gegeben wurde.

Die Lösungen wurden für zehn Minuten auf 85 °C erhitzt. Nach einer Stunde Wartezeit wurden die Farbwerte der Proben fotometrisch gemessen. Bereits mit dem Auge war eine deutliche Entfärbung zu beobachten. Nach etwa 2,5 Stunden gelierte die Probe. In Abb. 5 sind die Extinktionswerte der verschiedenen Proben dargestellt. Auffällig sind die großen Unterschiede für die Proben 1 bis 4. Eine Erklärung könnte das nicht vergleichbare Erwärmen der Proben zum Auflösen der Gelatine sein (siehe auch Diskussion). Bei sämtlichen Versuchen nach dieser Testreihe sind die Proben in einem gemeinsamen Wasserbad erhitzt worden. Es wurde ein pH-Wert der Gelatine Lösungen von 5,5 bis 6 gemessen.

3.3 Wirkung von Kollagen-Hydrolysat

Ein weiterer Ansatz war es, Kollagen-Hydrolysat in DCPIP-Lösungen zu geben. Der Vorteil liegt darin, dass eine Lösung des Kollagen-Hydrolysats im Gegensatz zur Gelatine pH-neutral ist. Hierbei wurden vier 50 ml Proben der DCPIP-Stammlösung ebenfalls auf 85 °C erhitzt und je 2 g Kollagen-Hydrolysat hinzugegeben. Die Proben wurden nun zehn weitere Minuten erhitzt und ihr Extinktionswert nach einer Stunde Abkühlung fotometrisch gemessen. Die Ergebnisse sind in Abb. 6 dargestellt. Die Extinktionswerte der Proben entsprechen etwa einem Viertel des Extinktionswertes der Stammlösung.

3.4 Kollagenwolle - DCPIP

Um zu beweisen, dass auch Diclofenac mit Kollagenen gebunden werden kann, sollte eine Testreihe mit Diclofenac durchgeführt werden, bei der die Diclofenac-

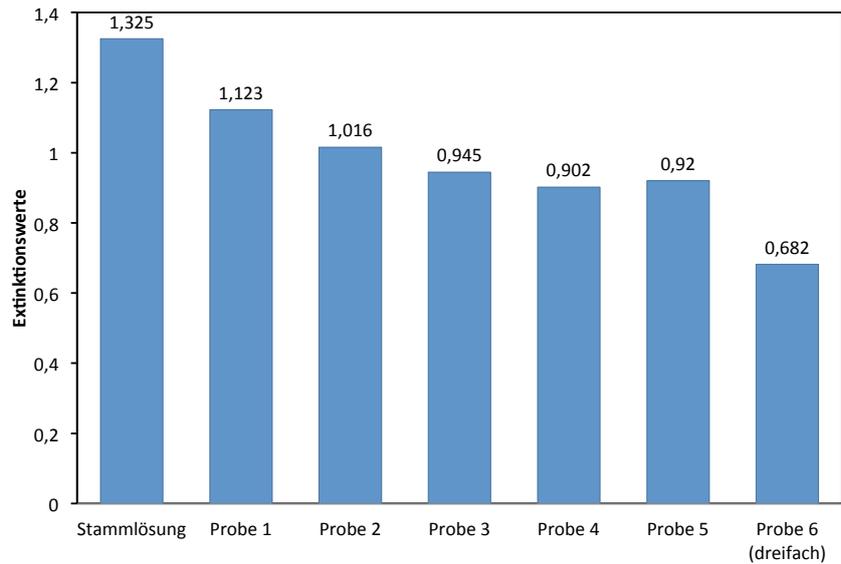


Abb. 4: Extinktionswerte der Eimembran-Salicylsäure-Testreihe.

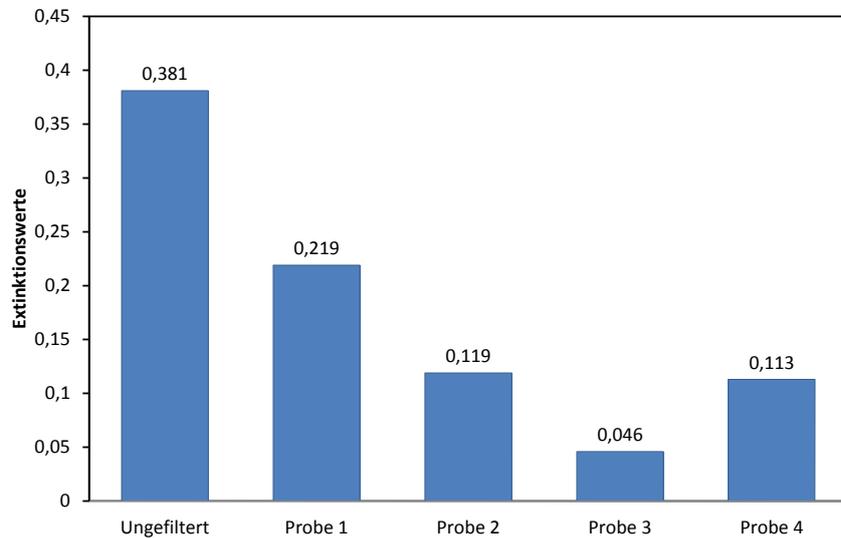


Abb. 5: Extinktionswerte der Proben der Gelatine-DCPIP-Testreihe.

Konzentration der Proben durch HPLC-MS ermittelt werden sollte. Der Nachteil der Versuchsverfahren in 3.2 und 3.3 liegt darin, dass das Kollagenprodukt am Ende immer noch in der Lösung vorliegt. Diese Kollagenprodukte könnten das Gerät beeinflussen oder schädigen. Daher musste nun ein Verfahren gefunden werden, dass zwar das wasserlösliche Kollagen-Hydrolysat als Adsorbens verwendet, den größten Teil dieses aber nicht in die Lösung lässt.

In diesem Versuch wurde Wolle mit leicht angefeuchtetem Kollagen-Hydrolysat getränkt. Nach der Trocknung entsteht so ein lockerer Verbund zwischen dem Kollagen und der Wolle. Da Wolle hauptsächlich aus Keratin besteht [19], entsteht so ein der Eimembran nicht unähnlicher Verbund, denn auch diese besteht aus

Kollagen und Keratin. Es wurden ca. 3 ml der Wolle in eine 30 ml Spritze gefüllt und anschließend 15 ml der 10 mg/l-DCPIP-Stammlösung durch die Spritze laufen lassen. Die fotometrisch gemessenen Absorptionswerte sind in Abb. 7 dargestellt. Der Extinktionswert der Stammlösung liegt bei 0,400. Die Werte der fünf Proben liegen zwischen 0,33 und 0,37. Die dreifach gefilterte Probe hat einen Wert von 0,319.

3.5 Kollagenwolle - Diclofenac

In dieser Testreihe wurde der in 3.4 erläuterte Versuchsaufbau verwendet. Diesmal wurden ca. 15 ml Kollagenwolle pro Spritze eingesetzt. Es wurde eine 10 mg/l-Diclofenac-Stammlösung sowie eine 1 mg/l-Diclofenac Stammlösung erstellt. Die Proben hatten ein Volumen von je 100 ml. Insgesamt wurden bei der

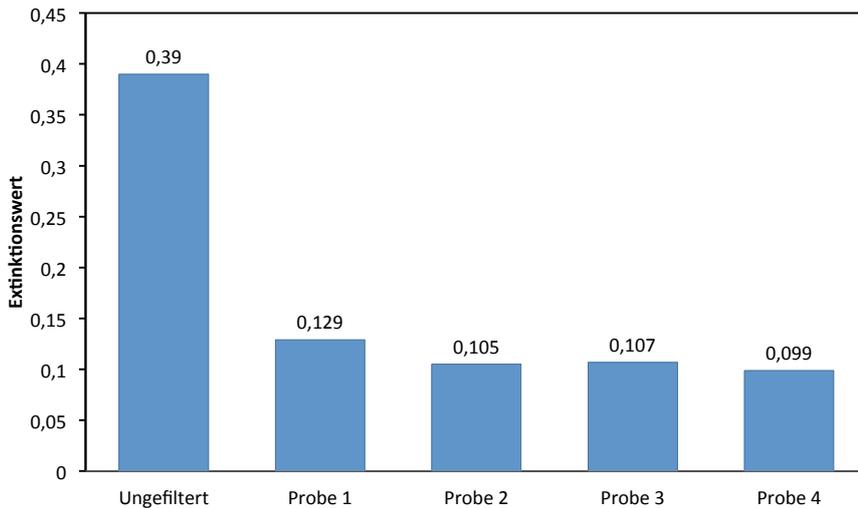


Abb. 6: Extinktionswerte der Kollagen-Hydrolysat-DCPIP-Testreihe.

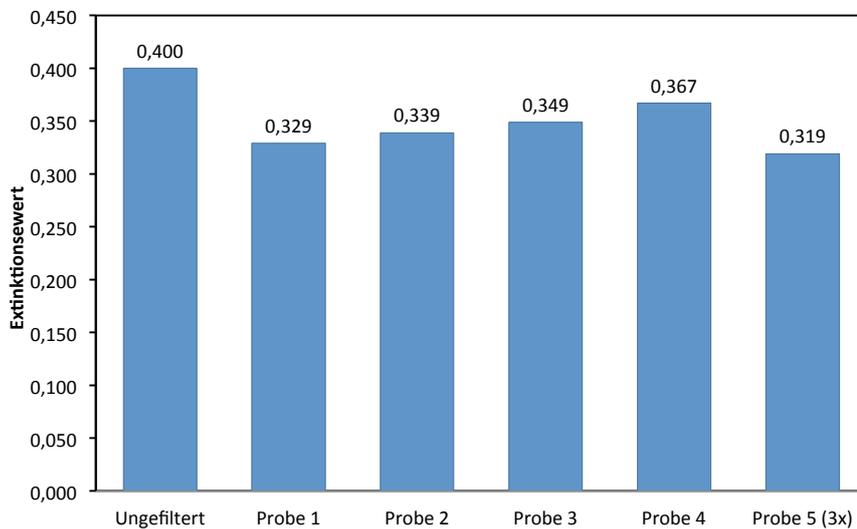


Abb. 7: Extinktionswerte der Kollagenwolle-DCPIP-Testreihe.

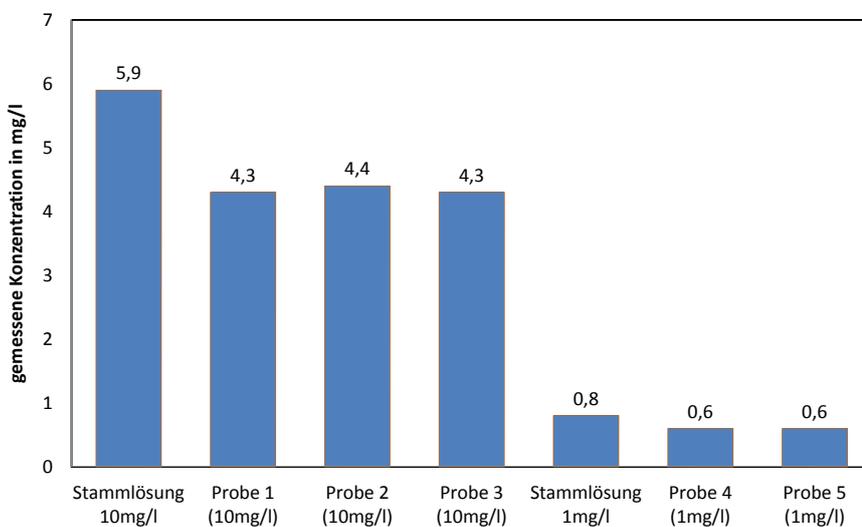


Abb. 8: Gemessene Konzentrationen der Diclofenac-Testreihen (HPLC-MS) mit zwei Stammlösungen.

Testreihe je zwei Proben zu beiden Konzentrationen, die einmal durch die Spritze liefen, erstellt. Zusätzlich wurde eine weitere Probe der 10 mg/l-Stammlösung zweimal durch die Spritze laufen gelassen. Die Ergebnisse sind in Abb. 8 dargestellt.

3.6 Experimentelle Schwierigkeiten

In der Chemiesammlung im schulischen Umfeld kann nie völlig ausgeschlossen werden, dass sich in Bechergläsern noch unsichtbare Stoffreste befinden. Außerdem befinden sich Kalkreste durch das Leitungswasser in den Bechergläsern. Die Reinheit der verwendeten Stoffe ist ebenfalls nicht absolut sicher gewährleistet. Bei den Testreihen, bei denen die Heizplatten verwendet wurden, unterlagen die Temperaturen leichten Schwankungen und sind nicht vollkommen vergleichbar. Bei Testreihen 3.2 und 3.3 gab es leichte Unterschiede zwischen der Erhitzungszeit der Proben.

Die Testreihen 3.1.1 und 3.1.2 wurden mit einem elektronischen Photometer durchgeführt. Dieses ist lediglich in der Lage, aussagekräftige Vergleichswerte zu ermitteln. Für quantitative Tests ist dieses Fotometer nur begrenzt geeignet.

Die durch HPLC-MS gemessene Konzentration der 10 mg/l-Stammlösung lag bei 5,9 mg/l. Dies deutet entweder auf eine fehlerhafte Erstellung der Stammlösung, eine Zersetzung des Diclofenacs in der Stammlösung durch Licht- oder Zeiteinfluss oder eine fehlerhafte Kalibrierung des HPLC-MS-Geräts hin. Dennoch sollten qualitative Aussagen davon unverändert bleiben.

4 Diskussion

4.1 Auswertung der Testreihen

4.1.1 Eimembran

Die Testreihe zur Eimembran lässt keinen eindeutigen Schluss zu, warum sich die Konzentration der Acetylsalicylsäure-Lösung verringert hat. Denkbar ist eine Wirkung der Eimembran als Filter für große Moleküle, was ihrer netzartigen Struktur entsprechen würde. Auch die gestiegene Effizienz der Eimembran (es wurde von Probe zu Probe immer mehr Acetylsalicylsäure zurückgehalten) spricht für eine Wirkung als Filter; zurückgehaltene Moleküle können die Poren verkleinern. Ebenso ist eine Adsorption der Moleküle an die Fasern der Eimembran denkbar. Diese besteht

im Wesentlichen aus einem Geflecht aus Keratin- und Kollagenfasern, mit denen die Moleküle des Medikaments Wechselwirkungen eingehen können. Für diese Erklärung spricht, dass nur ein gewisser Prozentsatz der Arznei aus der Lösung entfernt wurde. Sicher ist nur, dass es zu irgendeiner Wechselwirkung zwischen der Eimembran und den Acetylsalicylsäure-Molekülen kommt.

4.1.2 Aktivkohle

Aktivkohle ist bekannt für seine Eigenschaft als starkes Adsorptionsmittel. Offensichtlich hat es ebenfalls eine Wirkung auf DCPIP, eine Adsorption ist eine wahrscheinliche Erklärung. Dies legt nahe, dass Adsorption prinzipiell als Verfahren zur Reinigung des Abwassers von derartigen Molekülen geeignet sein kann.

4.1.3 Hitzetestreihe

Durch den qualitativen Versuch ergibt sich, dass das DCPIP zu hoher Wahrscheinlichkeit beständig bei Temperaturen um 85 °C ist. Die weiteren Testreihen scheinen dadurch nicht verfälscht worden zu sein.

4.1.4 Gelatine

Mit der teilweise denaturierten Gelatine ergibt sich ein Farbumschlag des Dichlorphenolindophenols. Hierfür gibt es theoretisch zwei mögliche Erklärungen. Einerseits könnte das DCPIP von der Gelatine adsorbiert worden sein. In diesem Fall würde sich der Farbumschlag durch den Einschluss in die Struktur gelierter Gelatine ergeben. Die Tatsache, dass zuerst der Farbumschlag und erst anschließend die Gelierung zu beobachten war, spricht dafür, dass DCPIP ein stärkeres Bestreben als Wasser hat, adsorbiert zu werden. Bei einer auf elektromagnetischen Wechselwirkungen basierenden Sorption des Stoffes würden durch die Ladungen die Doppelbindungen des DCPIPs leicht beeinflusst werden, was die Farbveränderung erklären könnte.

Andererseits könnte es zu einer Zersetzung des DCPIPs durch die leicht saure Gelatine-Lösung gekommen sein. Wenn dies der Fall wäre, ließe sich zumindest keine Aussage über das Verhalten von Gelatine zu Diclofenac treffen, da Diclofenac sich (vermutlich) im Kontakt mit Säuren nicht verändert, da es im menschlichen Magen nicht von der Magensäure zerstört wird. Durch diesen Versuchsauf-

bau kann der Vorgang nicht eindeutig gedeutet werden. Auffällig ist noch der Unterschied zwischen den vier gemessenen Werten. Theoretisch sind mehrere Erklärungen denkbar. Zum einen könnten Kalk- oder andere Stoffreste in den Bechergläsern dafür verantwortlich sein. Zum anderen wäre es denkbar, dass die Heizplatten unterschiedlich stark wärmen.

Bei der Heizplatte von Probe 1 waren Schwierigkeiten aufgetreten, mit dieser die Lösung überhaupt auf eine Temperatur über 80 °C zu bekommen. Die Heizplatte von Probe 3 dagegen brachte die Lösung in sehr (zu) kurzer Zeit auf hohe Temperaturen. Für eine endgültige Klärung dieser Fragestellung müsste der Versuch wiederholt werden; bei der Wiederholung müsste eine Möglichkeit gefunden werden, die Lösungen über eine genau gleich lange Zeit zu erhitzen, sie bei genau 85 °C über die gleiche Zeit zu halten und es müssten möglichst neue Bechergläser verwendet werden, die vorher mit Salzsäure behandelt werden würden.

Bei sämtlichen Versuchen nach dieser Testreihe sind die Proben in einem gemeinsamen Wasserbad erhitzt worden.

4.1.5 Kollagen-Hydrolysat - DCPIP

Der Aufbau wie bei den Gelatine-Tests macht die Wirkung des Kollagen-Hydrolysats auf das DCPIP der Wirkung der Gelatine vergleichbar. Aufgrund des sehr geringen Unterschieds zwischen Gelatine und Kollagen-Hydrolysat, allerdings unter Berücksichtigung der Tatsache, dass das Kollagen-Hydrolysat pH-neutral ist, kann vermutet werden, dass bei der Gelatine das gleiche geschieht wie beim Kollagen-Hydrolysat.

Die Testreihe zeigt eine starke Verringerung des Farbwerts der Lösungen; für das Auge sind diese beinahe farblos. Die farbliche Verringerung ist ähnlich stark wie die bei den Proben 2 und 4 bei der Gelatine-Testreihe. Auch scheint die Zeit, die die Lösungen brauchten, um farblos zu werden, vergleichbar (leider sind keine genauen Werte protokolliert). Dies alles spricht dafür, dass die Wirkungsweise des Kollagen-Hydrolysats prinzipiell identisch mit der Wirkungsweise der Gelatine ist. Bei dieser Testreihe kann eine Redoxreaktion ausgeschlos-

sen werden, da keine sauren Bestandteile vorliegen. Hier kommt als einzige Erklärung eine Adsorption des DCPIPs in Frage. Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen Kollagen-Hydrolysat und Gelatine ist es wahrscheinlich, dass auch die Gelatine das DCPIP in erster Linie absorbiert. Dennoch reichen die Testreihen bisher nur als Beweis dafür, dass irgendetwas geschieht. Sorption scheint allerdings die wahrscheinlichste Erklärung zu sein.

4.1.6 Kollagenwolle - DCPIP

Das Fotometer zeigt einen verringerten Extinktionswert. Dies beweist, dass DCPIP von Kollagen-Hydrolysat auf irgendeine Weise beeinflusst wird, so dass die Konzentration dieses Stoffes in einer wässrigen Lösung schon bei kurzem Kontakt verringert wird (Die Lösung war hier nur wenige Sekunden in Kontakt mit dem Kollagen). Das Volumen der Kollagenwolle scheint leicht verringert worden zu sein; wahrscheinlich hat sich ein Teil im Wasser gelöst und ist in den Proben gelandet (dies hat jedoch kaum Einfluss auf die fotometrische Messung, da das Gerät auf blaue Farben kalibriert ist).

4.1.7 Kollagenwolle - Diclofenac

Die Testreihe zeigt, dass Dichlorphenolindophenol ähnliche Adsorptionseigenschaften wie Diclofenac besitzt. Es kann eine Verringerung der Diclofenackonzentration beobachtet werden. Dabei scheint das Kollagen-Hydrolysat nicht eine bestimmte Menge, sondern einen gewissen Prozentsatz des Diclofenacs zu adsorbieren; dies entspricht der Theorie der Adsorption, der zufolge sich ein Verteilungsgleichgewicht einstellt. Um diesen exakt zu bestimmen, wären umfangreichere Testreihen erforderlich. Der genaue Umfang der Verringerung ist jedoch mit der DCPIP-Kollagenwolle-Testreihe nicht vergleichbar, da unterschiedliche Mengen an Kollagenwolle eingesetzt wurden. Die Konzentration in der zweifach gefilterten Probe (Probe 3) ist überraschend, da sie gleich der Konzentrationen in der einfach gefilterten Proben ist (siehe Abb. 8 Seite 59). Auch im Vergleich mit der dreifach gefilterten Probe aus der Diclofenac-Kollagenwolle-Testreihe ist dies verwunderlich. Um hierüber genaue Aussagen zu treffen, müsste der Versuch mehrfach wiederholt werden. Denkbar wäre eine Sättigung des Kollagen-Hydrolysats mit Diclofenac.

4.2 Allgemeine Schlussfolgerung

Die Testreihen beweisen, dass es Wechselwirkungen zwischen Gelatine/Kollagen-Hydrolysat und Dichlorphenolindophenol/Diclofenac gibt. Ein Erklärungsansatz dafür ist die Sorption des DCPIP bzw. Diclofenacs an die Kollagenstrukturen durch elektromagnetische Wechselwirkungen der Dipole.

Kollagenprodukte sind meist sehr kostengünstige Stoffe. Überdies sind sie biologisch abbaubar. Im Allgemeinen bieten sie sich, wenn ihre Wirkung noch verbessert werden könnte, sehr gut als Adsorptionsmittel zur Verringerung der Konzentration von Medikamentenrückständen an. Zunächst müssten umfangreiche quantitative Testreihen durchgeführt werden, mit denen bestimmt

werden kann, wie viel Wirkstoff eine bestimmte Menge Gelatine/Kollagen-Hydrolysat aufnehmen kann. Zusätzlich wäre zu testen, ob auch andere Wirkstoffe, die als besonders umweltgefährdend gelten, ebenfalls mithilfe von Kollagenprodukten aus dem Wasser entfernt werden können.

Anschließend müsste im Rahmen der technischen Umsetzung eine Möglichkeit gefunden werden, die Kollagenprodukte, an die sich die Wirkstoffe binden, wieder aus dem Wasser zu entfernen, oder aber ein Weg gefunden werden, der effektiver als Keratin verhindert, dass diese sich in Wasser lösen. Hierfür wäre ein möglicher Ansatz, wasserlösliche Kollagene einzusetzen, sofern das jeweilige Kollagenprodukt ähnliche

Eigenschaften wie die in dieser Arbeit verwendeten zeigt.

Danksagung

Unser besonderer Dank gilt unserer Betreuungslehrerin Regina Wilkens für ihre fachliche Hilfe, ihre große Unterstützung und ihren unglaublichen Zeiteinsatz, ohne den ein solches Projekt unmöglich gewesen wäre. Darüber hinaus möchten wir uns bei Prof. Klaus Herrmann bedanken, der uns in fachlichen Fragen immer gut beraten und seine Begeisterung für die Forschung mit uns geteilt hat. Zudem danken wir dem Niedersächsischen Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz für die Bereitstellung von Informationen, die Beratung und besonders die Messung der Diclofenac Proben mit der HPLC-Technik.

Quellenverzeichnis

- [1] Lexikoneintrag zu Acetylsalicylsäure, <http://flexikon.doccheck.com/de/Acetylsalicyls%C3%A4ure>, aufgerufen am 16.10.2013
- [2] Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23.10.2000.
- [3] Richtlinie 2013/39/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 12. 08.2013
- [4] Steffen, D. und Girbig, A.-K. (2012): Vorschlag der Europäischen Kommission zu den neuen prioritären Stoffen. Wasser und Abfall, 10/2012.
- [5] Bianca Gerber: Diclofenac und seine ökotoxikologische Wirkung in der Umwelt, http://www.goek.tu-freiberg.de/oberseminar/OS_08/Bianca_Gerber.pdf, aufgerufen am 16.10.2013
- [6] Wikipedia-Artikel Diclofenac, <http://de.wikipedia.org/wiki/Diclofenac>, aufgerufen am 16.10.2013
- [7] Diclofenac: Wirkung, <http://medikamente.onmeda.de/Wirkstoffe/Diclofenac/wirkung-medikament-10.html>, aufgerufen am 08.09.2013
- [8] A. Bopp u.a.: Handbuch Medikamente, 7. Auflage, 2008 by Stiftung Warentest, Berlin.
- [9] Nicht-steroidale Antirheumatika: Medikamente, Wirkstoffe, Anwendungsgebiete, Wirkung, <http://medikamente.onmeda.de/Wirkstoffgruppe/nicht-steroidale+Antirheumatika.html>, aufgerufen am 16.10.2013
- [10] Wikipedia-Artikel Dichlorphenolindophenol, <http://de.wikipedia.org/wiki/Dichlorphenolindophenol>, aufgerufen am 16.10.2013
- [11] Wasser-Wissen-Artikel Aktivkohle, <http://www.wasser-wissen.de/abwasserlexikon/a/aktivkohle.htm>, aufgerufen am 23.03.2013
- [12] Dr. A. Zwahr: Meyers Großes Taschenlexikon, 10. Auflage, 2006, Mannheim.
- [13] Jürgen Markl (Hrsg.): Purves Biologie, 9. Auflage, 2011
- [14] Gelatine – ein vielseitiges Biopolymer, <http://daten.didaktikchemie.uni-bayreuth.de/umat/gelatine/gelatine.htm>, aufgerufen am 16.10.2013
- [15] Wikipedia-Artikel Gelatine, <http://de.wikipedia.org/wiki/Gelatine>, aufgerufen am 16.10.2013
- [16] Wikipedia-Artikel Kollagen-Hydrolysat, <http://de.wikipedia.org/wiki/Kollagen-Hydrolysat>, aufgerufen am 16.10.2013
- [17] Funktionsweise von Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie, <http://www.lupiro.de/LC-MS.pdf>, aufgerufen am 16.10.2013
- [18] HPLC-MS in der Spurenanalytik, http://www.hdt-essen.de/LC-MS_Seminar_W-H050-09-430-3/#{2}{2}, aufgerufen am 17.10.2013
- [19] Naturfasern und Biopolymere, http://www.chik.die-sinis.de/Unterrichtsreihen_12/B_Organik/Biopolymere_AB.pdf, aufgerufen am 17.10.2013
- [20] Mary Jones: Biology. Revision Guide., 5. Auflage, 2013, London
- [21] PubChem Compound-Datenbankeintrag zu Diclofenac-Natrium, http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=3033&loc=ec_rcs, aufgerufen am 02.04.2014
- [22] PubChem Compound-Datenbankeintrag zu Dichlorphenolindophenol, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=23697355>, aufgerufen am 02.04.2014