

## Antibiotika in Biogasanlagen



Abbauverhalten und Einfluss auf die Biogasproduktion



# ANTIBIOTIKA IN BIOGASANLAGEN

## Abbauverhalten und Einfluss auf die Biogasproduktion

Oliver Gans  
Erwin Pfundtner  
Christoph Winckler  
Alexander Bauer

REPORT  
REP-0287

Wien, 2010

### Projektleitung

Oliver Gans, Umweltbundesamt

### AutorInnen

Oliver Gans, Umweltbundesamt

Erwin Pfundtner, AGES

Christoph Winckler, Universität für Bodenkultur

Alexander Bauer, Universität für Bodenkultur

### Lektorat

Maria Deweis, Umweltbundesamt

### Satz/Layout

Ute Kutschera, Umweltbundesamt

### Umschlagbild

© Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V./H. Miglbauer

Der Endbericht wurde durch eine Bund/Bundesländerkooperation aller neun Bundesländer sowie dem Lebensmittelministerium finanziert.

Weitere Informationen zu Umweltbundesamt-Publikationen unter: <http://www.umweltbundesamt.at/>



lebensministerium.at



### Impressum

Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt GmbH  
Spittelauer Lände 5, 1090 Wien/Österreich

Eigenvervielfältigung

Diese Publikation erscheint ausschließlich in elektronischer Form auf <http://www.umweltbundesamt.at/>.

© Umweltbundesamt GmbH, Wien, 2010

Alle Rechte vorbehalten

ISBN 978-3-99004-088-1

# INHALT

<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	5
<b>SUMMARY</b> .....	7
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	9
1.1 <b>Problemstellung</b> .....	9
1.2 <b>Grundlagen zu Antibiotika</b> .....	9
1.3 <b>Literaturrecherche: Eintragsmengen von Veterinärantibiotika</b> .....	11
1.4 <b>Projektziele</b> .....	14
<b>2 PROJEKTBESCHREIBUNG UND -VERLAUF</b> .....	15
2.1 <b>Modul 1 – Laborversuch: Untersuchungen mit dem kontinuierlichen Fermenter-System</b> .....	15
2.1.1 <b>Ergebnisse</b> .....	20
2.1.2 <b>Biogas- und Methangaserträge</b> .....	22
2.1.3 <b>Veränderungen der mikrobiellen Zusammensetzung</b> .....	26
2.1.4 <b>Abbauverhalten der Antibiotikawirkstoffe bei der Vergärung</b> .....	26
2.2 <b>Modul 2 – Feldversuch</b> .....	30
2.2.1 <b>Beschreibung der Biogasanlagen und Ergebnisse</b> .....	32
<b>3 ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE</b> .....	41
3.1 <b>Expositionsanalyse ausgewählter Antibiotika</b> .....	41
3.1.1 <b>Schweinegülle</b> .....	41
3.1.2 <b>Gärrückstand</b> .....	41
3.1.3 <b>Boden</b> .....	42
3.2 <b>Auswirkungen der Antibiotika Chlortetracyclin und Enrofloxacin auf die Methangasausbeute</b> .....	42
3.2.1 <b>Chlortetracyclin</b> .....	42
3.2.2 <b>Enrofloxacin</b> .....	43
3.3 <b>Abbau der Antibiotika unter anaeroben Bedingungen</b> .....	43
3.3.1 <b>Abbauverhalten von Tetracyclinen (CTC bzw. OTC)</b> .....	43
3.3.2 <b>Abbauverhalten von Enrofloxacin</b> .....	44
3.3.3 <b>Schlussfolgerungen</b> .....	45
<b>4 LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	46



## ZUSAMMENFASSUNG

Arzneimittelwirkstoffe, insbesondere Antibiotika, werden in der Nutztierhaltung in beachtenswerten Mengen verwendet und finden sich in Wirtschaftsdüngern (Gülle, Jauche, Festmist etc.) wieder. Werden die Wirtschaftsdünger auf den Boden aufgebracht, können sich diese Substanzen im Boden anreichern. Wirtschaftsdünger werden auch oft in Biogasanlagen eingesetzt, um das bei der Vergärung entstehende Methangas zur Energiegewinnung zu nutzen. In der vorliegenden Studie wurde das Verhalten von Antibiotika (Tetracycline, Sulfoamide und Fluorchinolone) in Biogasanlagen und deren Auswirkungen auf den Fermentationsprozess sowie auf Böden, die mit Gärrückstand gedüngt wurden, untersucht. Es wurde geprüft, ob Antibiotika während des Vergärungsprozesses abgebaut werden, d. h. inwieweit die Biogastechnologie dazu beitragen könnte, ein Ausbringen dieser Wirkstoffe in die Umwelt zu verhindern.

In der vorliegenden Studie wurden sowohl Schweinegülle als Inputmaterial als auch Gärreste auf ihren Gehalt an ausgewählten Antibiotika bestimmt. Maxima von 770 mg kg<sup>-1</sup> bzw. 24 mg kg<sup>-1</sup> TS Oxytetracyclin wurden in Schweinegülle bzw. in Gärresten nachgewiesen. Die Konzentrationen von Enrofloxacin waren bei diesen Proben um zumindest einen 10er Faktor geringer.

Bei Laborversuchen mit den Antibiotika Chlortetracyclin und Enrofloxacin wurde gezeigt, dass bei beiden Antibiotika ab einer Konzentration von 100 mg kg<sup>-1</sup> TS der spezifische Biogas- und Methanertrag signifikant abnimmt und zu einer 25–40%igen Reduktion des Methanertrages führt. Aufgrund der Laborergebnisse erscheint es wahrscheinlich, dass Einbußen an Methangas vermutlich schon ab einer Konzentration von 40 mg kg<sup>-1</sup> TS zu erwarten sind.

Bei einer untersuchten Biogasanlage (Anlage C) waren die Oxytetracyclin-Konzentrationen so hoch, dass auch hier angenommen werden kann, dass dadurch der Biogasprozess gestört war und die Methangasausbeute verringert wurde.

Die Ergebnisse in Bezug auf das Abbauverhalten von Tetracyclinen unter anaeroben Bedingungen waren zum Teil widersprüchlich. Ein erster Laborversuch ließ vermuten, dass kein Abbau bei der Nachgärung stattfindet. Im Gegensatz dazu zeigte sich beim zweiten Laborversuch ein deutlicher Abbau von etwa 50 % innerhalb von 3 Tagen während der Fermentation, ein weiterer Abbau konnte jedoch nicht beobachtet werden. Auch bei den Feldversuchen wurde in einem Fall ein Abbau festgestellt, in einer anderen Anlage jedoch konnte keine Reduktion beobachtet werden.

Enrofloxacin zeigte sich bei beiden Laborversuchen als persistent in der Fermentationsphase: In beiden Versuchen wurden die eingesetzten Mengen wiedergefunden. Hingegen konnte ein Abbau in der Nachgärung festgestellt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde eine Halbwertszeit für Enrofloxacin im Nachklärbecken errechnet. Sie beträgt etwa 120 Tage.

Es zeigte sich auch, dass Enrofloxacin persistent sein muss, da auch geringe Konzentrationen im Gärrückstand zu geringen, aber nachweisbaren Konzentrationen im Boden geführt haben. Bei hohen Belastungen an Enrofloxacin in Biogasanlagen ist somit eine möglichst lange Nachgärphase von über 100 Tagen zu empfehlen.

***Schweinegülle und Gärreste enthalten Antibiotika***

***Störung des Biogasprozesses***

***Tetracycline: unterschiedliches Abbauverhalten***

***120 Tage HWZ von Enrofloxacin***

**Kontamination des Bodens**

In weiterer Folge konnte gezeigt werden, dass bei Verwendung des Gärrückstandes als Dünger und bei entsprechender Kontamination die Böden mit den Wirkstoffen belastet waren. Oxytetracyclin konnte in Konzentrationen bis  $0,12 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$ , Enrofloxacin bis  $0,0057 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  in Böden bestimmt werden.

**mikrobielle Biodiversität verändert sich nicht**

Die mikrobiellen Untersuchungen zeigten im Wesentlichen keine Veränderungen innerhalb der mikrobiellen Gemeinschaft. Lediglich bei sehr hohen Konzentrationen ( $> 8.000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$ ) konnte eine leicht veränderte Biodiversität festgestellt werden.

Aus den Ergebnissen können daher folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

**Maßnahmen bei Verwendung von Wirtschaftsdüngern als Inputmaterial**

- Der Einsatz von Veterinärantibiotika sollte z. B. durch Verbesserung der Haltungsbedingungen soweit wie möglich minimiert werden.
- Im Falle eines erheblichen Antibiotikaeinsatzes im Tierbestand, z. B. bei Bestandsbehandlungen im Tierbestand, sollte der Wirtschaftsdünger (Gülle, Jauche, Festmist) zur Vermeidung von Einbußen im Gasertrag nicht zur Vergärung in die Biogasanlage gelangen.
- Bei Verwendung von Wirtschaftsdünger als Inputmaterial sollten auch andere Inputmaterialien eingesetzt werden, um die Konzentrationen an Antibiotikawirkstoffen zu verdünnen.
- Der Gärrückstand sollte für längere Zeit (idealerweise  $> 100$  Tage) gelagert werden, um den Eintrag von Arzneimittelstoffen in Böden zu minimieren.



## SUMMARY

By the end of the 1990s growing concern emerged about the occurrence and fate of pharmaceuticals in environmental compartments, a concern which has been growing steadily since then. Pharmaceuticals, especially antibiotics, are used in high quantities in veterinary medicine. After their application pharmaceuticals may be adsorbed and partially metabolised before they are excreted by urine or faeces, either unaltered or as metabolites. Residues of antibiotics used in animal husbandry enter the environment either directly through the spreading of manure or after collection and storage in the form of sludge. Applied to farmlands, the active ingredients reach the upper soil layer, where they either accumulate or are rinsed off into surface waters, or they may leach to groundwater where they can impact both human and environmental health.

Biogas typically refers to a (bio fuel) gas produced by the anaerobic digestion or fermentation of organic matter including manure, separate organic residues, biodegradable waste or any other biodegradable feedstock, under anaerobic conditions. Besides methane, liquid digestate is produced as a by-product that is rich in nutrients and can be an excellent fertiliser, depending on the quality of the material being digested. If the digested materials contain levels of toxic pollutants, these might be present in the fertiliser.

In the present study the behaviour of antibiotics in biogas plants has been investigated, as well as their effects on the fermentation process. It was examined whether antibiotics were degraded during the fermentation process, i.e. to which extent biogas technology helped to prevent the spreading of these substances into the environment. Moreover, it was studied whether there were any effects when contaminated digestate was used as fertiliser.

The concentration levels of selected antibiotics were determined in swine manure as input material, as well as liquid digestates. Maximum levels of  $770 \text{ mg kg}^{-1}$  and  $24 \text{ mg kg}^{-1}$  d.w. oxytetracycline were detected in pig manure and in digestate, respectively. Enrofloxacin was found in amounts which were smaller by at least a factor of 10.

Chlortetracycline and enrofloxacin are relevant veterinary antibiotics and were selected for laboratory experiments because of their proven persistence in the environment. It was shown that both antibiotics had significant effects on the fermentation process at a concentration of  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  d.w., namely that specific biogas and methane production decreased, leading to a 25 to 40% reduction. Even at the lowest tested concentration of  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  reductions of methane production can be expected. However, the standard deviation was still too high for a statistically significant difference.

In one of the biogas plants investigated high concentration levels of oxytetracycline were determined in the input materials (swine manure), which exceeded the above mentioned levels. One can thus assume that the biogas process was affected and methane gas production decreased.

Enrofloxacin was found to be persistent by anaerobic digestion. The calculated half life of enrofloxacin was beyond 100 days. Hence, enrofloxacin could also be detected in the investigated soils. For high loads of enrofloxacin in biogas digestates, a storage time of the digestate of more than 100 days is recommended.

## Stercus Terra – Summary

It was shown that soils fertilised with digestate were contaminated with the selected compounds. Especially oxytetracycline could be detected at concentrations up to  $0.12 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d.w.}$  Enrofloxacin was also measured in the soils, although with lower concentrations ranging from  $0.0033$  to  $0.0057 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d.w.}$

The degradation behaviour of the selected antibiotics, especially tetracyclines and enrofloxacin, was investigated under anaerobic conditions. The results for tetracycline were, however, to some extent contradictory. It could not be established to what extent degradation of tetracyclines occurred during the fermentation process and later storage in tanks.

Following conclusions can be drawn:

- Application of antibiotics should be reduced to a minimum due to e.g. better live-stocks breeding conditions.
- In case of a necessary substantial employment of antibiotics in the live-stocks, the manure should not be used as an input material in a biogas plant to avoid loss in the methane production.
- The use of different input materials is preferable to reduce antibiotic's concentration levels.
- The digestate should be stored for at least 100 days to minimise the discharge into the soil.

# 1 EINLEITUNG

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollte die Frage geklärt werden, ob eine Reduktion des Antibiotikaeintrages in landwirtschaftlich genutzten Böden durch Biogasanlagen möglich und dadurch eine Minimierung eines möglichen Risikos gegeben ist.

## 1.1 Problemstellung

Biogas ist ein brennbares Gasgemisch, das bei der Vergärung von organischen Materialien wie z. B. Wirtschaftsdünger (Gülle, Festmist), nachwachsenden Rohstoffen, Abfällen etc. entsteht. Biogasverbrennung gilt aufgrund zahlreicher wirtschaftlicher und ökologischer Vorteile als höchst zukunftssträchtige Technologie. Zum einen kann durch den Verbrennungsvorgang Energie gewonnen werden, zum anderen werden die Entstehung und die Emission treibhausrelevanter Gase wie Methan oder Lachgas, die beim normalen Fäulnisprozess entstehen, verhindert.

Analysen von Gärresten haben jedoch gezeigt, dass bestimmte schwer abbaubare und hitzeresistente Schadstoffe, die über die Inputmaterialien in den Fermenter eingebracht werden, akkumulieren können (UMWELTBUNDESAMT 2002). Dies ist vor allem bei landwirtschaftlicher Nutzung der Gärreste zu beachten. Schadstoffe können aber auch auf den Fermentationsprozess einwirken und diesen in weiterer Folge hemmen. Dadurch könnte die Methangasausbeute sinken und damit die Energieeffizienz verringern.

So konnte in Analysen des Umweltbundesamt gezeigt werden, dass Gärreste zum Teil mit quaternären Ammoniumverbindungen (Einsatz als kationisches Tenside und Biozide) hoch belastet sind, was in weiterer Folge zu Verlusten in der Methangasproduktion führt.

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. Aufgrund von Untersuchungen des Umweltbundesamt sowie aus der internationalen Literatur (BLAC 2003, UMWELTBUNDESAMT 2005) ist die Persistenz einiger dieser Wirkstoffe (insbesondere Tetracycline und Fluorchinolone) im Boden belegt.

**Schadstoffe in Gärresten**

**Antibiotika in Wirtschaftsdünger**

## 1.2 Grundlagen zu Antibiotika

Antibiotika sind Substanzen, die zur Chemotherapie von Infektionskrankheiten eingesetzt werden. Sie werden aber in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung nicht nur zur Therapie, sondern auch prophylaktisch eingesetzt. Antibiotika 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).

### **Wirkweise von Antibiotika**

Die wesentlichen Angriffspunkte der Antibiotika im Stoffwechsel von Mikroorganismen sind:

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

### **Antibiotikagruppen**

Die in Österreich verbrauchsmäßig wichtigsten Antibiotika gehören folgenden Wirkstoffgruppen an:

- **$\beta$ -Lactam-Antibiotika** (z. B. *Cephalosporine, Penicilline, Amoxicillin*)  
Den  $\beta$ -Lactam-Antibiotika gemeinsam ist ihre einheitliche Grundstruktur, die durch einen viergliedrigen  $\beta$ -Lactamring gekennzeichnet ist. Der Wirkungstyp der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika ist bakterizid. Das Toxizitätspotenzial gegenüber Säugern ist gering.
- **Chinolone/Gyrasehemmer** (z. B. *Ciprofloxacin, Norfloxacin, Enrofloxacin, Danofloxacin*)  
Gyrasehemmer sind Antibiotika, die zunehmend Bedeutung in der Humanmedizin erlangen. Sie sind Abkömmlinge der Chinoloncarbonsäure. Der Name leitet sich aus ihrem Wirkungsmechanismus ab, nämlich der DNA-Gyrase-Hemmung. Die DNA-Gyrase, die zur Gruppe der Topoisomerasen II gehört, ist unter anderem für die Entspiralisierung der DNA verantwortlich (Bildung von m-RNA).
- **Folsäureantagonisten** (z. B. *Sulfadiazin, Sulfadimidin, Sulfamethoxazol*)  
Sulfonamide, Amide der Sulfanilsäure, sind für Säuger weitgehend untoxisch. Der Wirkungstyp dieser Substanzen ist bakteriostatisch. Aufgrund der Zunahme resistenter Erregerstämme ist jedoch die humanmedizinische Anwendung dieser Substanzen rückläufig. Sulfonamide werden meist in Kombination mit *Trimethoprim* verabreicht.
- **Glykopeptide** (z. B. *Vancomycin*)  
*Vancomycin* ist ein bakterizid wirkendes, hochgereinigtes Antibiotikum aus *Streptomyces orientalis*. Die bakterizide Wirkung beruht hauptsächlich auf einer Hemmung der Zellwandbiosynthese. Außerdem beeinträchtigt es die Permeabilität der Bakterienzellmembran und die RNS-Synthese.
- **Tetracycline** (z. B. *Tetracyclin, Chlortetracyclin, Oxytetracyclin, Doxycyclin*)  
Es handelt sich um Breitspektrum-Antibiotika mit einheitlicher chemischer Grundstruktur aus vier Sechseringen. Sie wirken bakteriostatisch, indem sie die Proteinsynthese hemmen.
- **Lincosamide** (z. B. *Clindamycin, Lincomycin*)  
Lincosamide sind Reservetherapeutika bei Infektionen, bei denen Penicilline und Makrolide nicht angewandt werden können.

- **Makrolide** (z. B. *Clarithromycin, Erythromycin, Josamycin, Roxithromycin, Tylosin*)  
Kennzeichen dieser Gruppe ist der makrozyklische Laktonring. Sie werden bei Erregern, die gegen Penicilline oder Tetracycline resistent sind, eingesetzt. Die durchschnittliche Tagesdosis von *Clarithromycin* beträgt 500 mg.
- **Aminoglykoside** (z. B. *Apramycin, Dihydrostreptomycin, Gentamicin, Neomycin, Spectinomycin, Streptomycin*)  
Aminoglykoside spielen eine wichtige Rolle bei der Bekämpfung von Infektionen, insbesondere mit gramnegativen Erregern. Namensgebend ist ihre Grundstruktur aus einem glykosidisch verknüpften Trisaccharid.

### 1.3 Literaturrecherche: Eintragsmengen von Veterinärantibiotika

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 Angaben über abgesetzte Wirkstoffmengen aus dem Jahr 1997 vor (FEDESA 1999). So sind die Tetracycline mit 2.294 t (= 66 %) die mengenmäßig mit Abstand häufigste eingesetzte Antibiotikagruppe in der Veterinärmedizin, gefolgt von den Makroliden (12 %),  $\beta$ -Lactamen (9 %) und Aminoglykosiden (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 6 ausgewählten Landkreisen in Deutschland (Region Weser/Ems) für 1997 einen Verbrauch von 13 t Sulfonamiden. Die beiden Autoren haben im Rahmen eines Forschungsprojektes versucht, über Stichprobenbefragungen bei TierärztInnen und LandwirtInnen die angeführten Wirkstoffmengen abzuschätzen. Folgende Mengen wurden dabei ermittelt:

#### **Abschätzung der Eintragsmengen von Veterinärantibiotika**

Tabelle 1: Verbrauch an Veterinärpharmaka in der Region Weser/Ems im Jahr 1997 (WINCKLER & GRAFE 2000).

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

Auf ähnliche Mengen kamen auch LINKE & KRATZ (2001) für das Bundesland Brandenburg für die Jahre 1998/1999 über tierärztliche Herstellungsaufträge. Die Tetracycline (TC, OTC, CTC) 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 die Länder Frankreich, Schweden, Dänemark, Schweiz und Großbritannien.

Für Schleswig-Holstein wurden für das Jahr 1998 Herstellungsaufträge und Verschreibungen ausgewertet (WHO CENTRE VPH 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 6 Landkreisen der Weser/Ems-Studie erfassten Wirkstoffe auf den gesamten landwirtschaftlichen Nutztierbestand der BRD 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 Veterinärantibiotika in der Umwelt**

#### ***Eintragspfade von Antibiotika in die Umwelt***

Die Eintragspfade von Antibiotika aus der Landwirtschaft unterscheiden sich stark von jenen aus der Humanmedizin. Während Humanantibiotika vor allem über das Abwasser in Kläranlagen und dann in die Oberflächengewässer gelangen, werden Veterinärantibiotika über den Wirtschaftsdünger auf den Boden aufgebracht. Dort werden sie entweder akkumuliert, durch Oberflächenabfluss in Gewässer geschwemmt oder sie versickern mit dem Niederschlag ins Grundwasser.

Da viele AutorInnen in der nachfolgenden Datenübersicht ihre Resultate auf Trockensubstanz oder auf Frischgewicht beziehen, wurde soweit dies möglich war zur besseren Vergleichbarkeit auf Trockensubstanz (TS) umgerechnet.

### **Konzentrationen im Wirtschaftsdünger**

#### ***Antibiotika in österreichischen Wirtschaftsdüngern***

Im Projekt „TETSO(I)L“ wurden in einem österreichischen Pilotprojekt Veterinärantibiotika 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. Die Maximalkonzentration betrug für Chlortetracycline bei Schweinegülle  $46 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  und für Sulfadiazin bei Hühnermist  $91 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$ . Die Fluorquinolone Enrofloxacin und dessen Metabolit Ciprofloxacin fanden sich vor allem in Hühner- und Putenmistproben bis zu  $8,3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  (UMWELTBUNDESAMT 2005).

In einem Kooperationsprojekt des Umweltbundesamt mit dem Amt der Steiermärkischen Landesregierung (Fachabteilung 17 C) wurden bei einer Schweinegülle sogar  $62 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  Oxytetracyclin nachgewiesen (AMT DER STEIERMÄRKISCHEN LANDESREGIERUNG 2009).

Bei einer Screeninguntersuchung von 181 Schweinegülleproben (GRAFE 2000) wurde in knapp einem Viertel der Proben ein Tetracyclinegehalt von mehr als  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  Gülle gefunden, der Mittelwert der Positivbefunde lag bei  $11,4 \text{ mg L}^{-1}$ , im Maximum wurden  $66 \text{ mg L}^{-1}$  gemessen. Auch die BLAC-Studie (2003) berichtet ein Maximum von  $45 \text{ mg kg}^{-1}$  Frischgewicht Tetracyclin in einer Kälbergülle. Aufgrund fehlender Trockensubstanzangaben der Güllen können diese Angaben nicht auf Trockensubstanz umgerechnet werden. Es ist aber davon auszugehen, dass bei Umrechnung auf Trockensubstanz mit mindestens 10-fach höheren Werten gerechnet werden muss.

In einem Screening auf Tetracycline sowie Sulfadiazin und Sulfadimidin in Deutschland wurden insgesamt 176 Schweinegülleproben analysiert (WINCKLER et al. 2004). In 87 (49,4 %) untersuchten Schweinegülleproben konnte Tetracyclin oberhalb der Bestimmungsgrenze von  $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$  nachgewiesen werden. Die mittlere Konzentration betrug  $9,7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  ( $0,9\text{--}43,1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$ ). Oxytetracyclin und Chlortetracyclin lagen in 9 (5,1 %) bzw. 18 (10,2 %) der 176 Schweinegülleproben vor ( $1,6$  bis  $136,2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  bzw.  $1,1$  bis  $25,7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$ ). Bei Sulfadimidin waren 48,3 % der Proben belastet, wobei ein Maximalwert von  $167 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  festgestellt werden konnte. Interessant waren auch die Ergebnisse des Sulfadiazin, das in Österreich nie in Schweinegülle gefunden wurde: in der deutschen Studie waren knapp 50 % aller Proben mit diesem Antibiotikawirkstoff kontaminiert ( $0,7\text{--}35,3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$ ).

### ***Antibiotika in deutschen Wirtschaftsdüngern***

### **Rückstände in Gärresten von Biogasanlagen**

In einem Kooperationsprojekt mit der Vorarlberger Landesregierung wurden Gärreste von 6 Biogasanlagen unter anderem auf Veterinärantibiotika untersucht (GANS et al. 2008). Alle 6 Gärreste waren mit Antibiotika der Gruppe der Tetracycline kontaminiert, wobei die höchste Konzentration bei  $1,4 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  Oxytetracyclin lag. Sulfadimidin, das auch häufig bei der Schweinemast eingesetzt wird, wurde in zwei Gärresten gefunden, die anderen untersuchten Antibiotikawirkstoffe wie z. B. Enrofloxacin konnten nicht nachgewiesen werden.

### ***Antibiotika in österreichischen Gärresten***

### **Antibiotika im Boden**

In Österreich wurden im Rahmen von TETSO(I)L mehrere Böden, die mit Wirtschaftsdünger gedüngt worden waren, auf Antibiotikawirkstoffe untersucht (UMWELTBUNDESAMT 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  $0,81 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  kontaminiert.

### ***Antibiotika in österreichischen Böden***

Bei einem Gefäßlysimeterversuch wurde kontaminierte Gülle auf Ackerboden aufgetragen, um die Auswirkungen auf Boden und Pflanze zu untersuchen. Auch in dieser Studie wurde vor allem Tetracyclin (speziell Oxytetracyclin) mit einem Maximum von  $0,1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  bestimmt (AMT DER STEIERMÄRKISCHEN LANDESREGIERUNG 2009).

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  $0,085 \text{ mg kg}^{-1}$  Tetracyclin wurden in einem nachweislich mit Schweinegülle gedüngten Boden gemessen. In einer deutlich erkennbaren,

### ***Antibiotika in deutschen Böden***

mehrere Millimeter dicken Güllekruste, die auf Bodenaggregaten angetrocknet war, wurden sogar Werte von  $0,35 \text{ mg kg}^{-1}$  Tetracyclin und  $1,4 \text{ mg kg}^{-1}$  Chlor-tetracyclin gemessen (HAMSCHER et al. 2002).

Von HAMSCHER et al. (2001) wurden mit Schweinegülle gedüngte Böden über 12 Monate hinweg untersucht. Der Tetracyclinegehalt der Gülle betrug  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  TS (April 2000) und  $3,2 \text{ mg kg}^{-1}$  TS (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.  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  TS.

Erwähnenswert in diesem Zusammenhang sind auch die Arbeiten von HÖPER et al. (2002), die Tetracyclin mehrfach in Konzentrationen von  $> 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  TS in Böden nachgewiesen haben.

## **1.4 Projektziele**

Ziel dieses Projektes war es, mögliche Reduktionen des Antibiotikaeintrages in landwirtschaftlich genutzten Böden durch Biogasanlagen zu untersuchen. Dabei sollte überprüft werden, ob Antibiotika während des Vergärungsprozesses abgebaut werden – d. h. inwieweit die Biogastechnologie dazu beitragen könnte, ein Ausbringen dieser Wirkstoffe in die Umwelt zu verringern.

Durch Berechnung von Halbwertszeiten der untersuchten Wirkstoffe sollten die optimalen Lagerzeiten bei der Nachlagerung von Gärresten ermittelt werden. Die Auswirkungen auf von mit Gärresten gedüngten Böden werden durch den zeitlichen Verlauf der Konzentrationen im Boden dargestellt.

In weiterer Folge sollte das Verhalten von Antibiotikawirkstoffen bei der Vergärung von Gülle untersucht und überprüft werden, inwieweit diese Wirkstoffe die Vergärungsleistung der Biogasanlagen stören können, beziehungsweise welche wirtschaftlichen Einbußen dies zur Folge hat.



## 2 PROJEKTBECHREIBUNG UND -VERLAUF

Es wurde sowohl ein Laborversuch als auch ein Feldversuch durchgeführt, um die oben angeführten Projektziele zu erreichen.

### 2.1 Modul 1 – Laborversuch: Untersuchungen mit dem kontinuierlichen Fermenter-System

Es wurde für diesen Projektabschnitt der Einsatz von Durchfluss-Fermentern (2 l Nutzvolumen) anstelle von so genannten Batch-Fermentern verwendet. Sie erlauben eine bessere Abbildung des tatsächlichen Geschehens in Biogasanlagen, da keine einmalige Dotierung wie beim Batch-Fermenter erfolgt, sondern kontinuierlich Substrat nachgeliefert wird, dessen Zusammensetzung variiert werden kann. Damit konnten Anflutungs- und Plateauphasen (wie beim Einsatz von Tierarzneimitteln in Beständen), aber auch das Abklingen von Wirkstoffkonzentrationen (z. B. nach Absetzen der Medikation) und deren Wirkungen auf die Fermentationsleistung abgebildet werden.

#### ***Beschreibung des Laborversuches***

Dadurch konnte zwar eine bessere Abbildung der Vorgänge in der Praxis vorgenommen werden, jedoch wurde eine Abschätzung der Halbwertszeiten für die eingesetzten Wirkstoffe bei anaerober Fermentation erschwert. Über Zu- und Abflussvolumina und deren Wirkstoffgehalte sowie eine Beprobung des Fermenterinhalt ist jedoch eine Abschätzung der Verschwindensrate während der Fermentation möglich. Der potenzielle Abbau während einer anschließenden Lagerung kann ebenfalls ermittelt werden. Aus den während der Lagerung gewonnenen Daten können schließlich Angaben zur optimalen Lagerdauer bei Einsatz der untersuchten Arzneimittelwirkstoffe abgeleitet werden.

Die Durchführung dieser Laborversuche erfolgte am Department für Nachhaltige Agrarsysteme, Institut für Landtechnik der BOKU (ILT).

In kontinuierlichen Versuchen nach VDI 4630 wurde der Effekt von Antibiotika (Enrofloxacin (ENRO) und Chlortetracyclin (CTC)) auf die spezifische Biogas- und Methankonzentration untersucht, weil für diese beiden Substanzen eine Akkumulationsneigung im Boden nicht ausgeschlossen werden kann. Im Unterschied zu Versuchen in Batch-Fermenter-Systemen erfolgte eine 1x tägliche Beschickung des Fermenters mit einer festgelegten Menge an Substrat und einer Entnahme an Gärreststoffen mit Hilfe eines eigens dafür entwickelten Pipettiersystems. Jeder Fermenter bestand aus einem Reaktionsgefäß (2 Fassungsvermögen) und einem daran anschließenden Gassammelrohr. Das mit Sperrflüssigkeit gefüllte Gassammelrohr war mit einem Ausgleichsgefäß verbunden. Das in den Fermentern gebildete Biogas wurde im Gassammelrohr aufgefangen. Die Biogasmenge wurde an der Säulenskalierung des Gassammelrohres abgelesen. Die Fermenter wurden auf 37,5 °C temperiert (Gärtemperatur). Mit Hilfe eines Magnetrührers wurde der Fermenterinhalt in Intervallen von 30 Minuten für jeweils 10 Minuten durchmischt.

#### ***Chlortetracyclin und Enrofloxacin im Laborversuch***

Zu Versuchsbeginn (Dezember 2008 für Versuch 1 und September 2009 für Versuch 2) wurden in jeden Laborfermenter 1.000 ml Impfmateriale (IM) eingefüllt. Als Impfmateriale wurde eine Mischung aus einem Teil aktivem Material

#### ***Beschreibung der Versuchsdurchführung***

(= Fermenterinhalt Biogasanlagen von Oberösterreich und Steiermark) und zwei Teilen Schweinegülle (bezogen auf die Frischmasse) verwendet. Aktives Material wird benötigt, um eine hohe mikrobielle Aktivität des Impfmateri als gewährleisten zu können. Die Aktivität des Impfmateri als wurde vor Versuchsbeginn durch die Zugabe von Zellulose überprüft. Aufgrund einer hohen Gasproduktion in den Folgetagen konnte auf ein ausreichend aktives Impfmateri als geschlossen werden.

Die für den Versuch benötigte Schweinegülle stammte von einem ökologisch wirtschaftenden Schweinebetrieb und wurde bis zum Versuchsbeginn gekühlt gelagert. Die Versuche wurden bei einer Temperatur von 37,5 °C und unter periodischem Rühren durchgeführt. Eine Eingangsphase ohne Wirkstoffzusatz (Versuch 1: 41 d, Versuch 2: 31 d) diente der Anpassung der Mikroorganismen an die Schweinegülle. Durch diese Phase lag in allen Laborfermentern ein stabiler Prozess vor, was die Grundlage für aussagekräftige Ergebnisse des Versuches bildet.

Tabelle 2: Zusammenfassung der Rahmenbedingungen der Versuche.

		Versuch 1	Versuch 2
Eingangsphase		03.12.2008	02.09.2009
Messphasen		12.–20.01.2009	29.09.–25.10.2009
pH-Wert Impfmateri als		7,72	7,87
Schweinegülle			
Trockensubstanz	% FM	4,73	3,80
Organische Trockensubstanz	% oTS	66,3	65,7
Kjeldahl Stickstoff	% TS	10,48	9,68
NH <sub>4</sub> -Stickstoff	% TS	7,73	6,27
tägliche Fütterung	g FM	10,0	40,0

In Tabelle 3 sind die untersuchten Varianten aufgelistet. Die Versuche wurden jeweils in dreifacher Wiederholung durchgeführt.

Die Wirkstoffe wurden während der Messphase täglich zugefügt. Die Wirkstoffkonzentration wurde auf den Gehalt an Trockensubstanz bezogen. Vor Zugabe der Wirkstoffe wurde bei jedem Fermenter die Trockensubstanz bestimmt, um eventuelle Abweichungen im Gehalt an Trockensubstanz der einzelnen Laborfermenter zu berücksichtigen. Die Wirkstoffe wurden unter Berücksichtigung der vom Hersteller angegebenen Löslichkeit in deionisiertem Wasser gelöst und in flüssiger Form jedem Fermenter zugesetzt.

Tabelle 3: Antibiotikawirkstoffe in Schweinegülle – untersuchte Varianten.

	Variante	Wirkstoff	Konzentration
Versuch 1	1	Nullvariante	–
	2	CTC	40 mg kg <sup>-1</sup> TS
	3	CTC	200 mg kg <sup>-1</sup> TS
	4	CTC	400 mg kg <sup>-1</sup> TS
	5	CTC	4.000 mg kg <sup>-1</sup> TS
	6	CTC	8.000 mg kg <sup>-1</sup> TS
	7	ENRO	40 mg kg <sup>-1</sup> TS
	8	ENRO	200 mg kg <sup>-1</sup> TS
	9	ENRO	400 mg kg <sup>-1</sup> TS
	10	ENRO	4.000 mg kg <sup>-1</sup> TS
	11	ENRO	8.000 mg kg <sup>-1</sup> TS
Versuch 2	12	Nullvariante	–
	13	CTC	100 mg kg <sup>-1</sup> TS
	14	CTC	150 mg kg <sup>-1</sup> TS
	15	CTC	200 mg kg <sup>-1</sup> TS
	16	ENRO	100 mg kg <sup>-1</sup> TS
	17	ENRO	150 mg kg <sup>-1</sup> TS
	18	ENRO	200 mg kg <sup>-1</sup> TS

CTC..... Chlortetracyclin

ENRO.... Enrofloxacin

### Begleitende chemische Analysen

Die Bestimmung des Trockengewichtes erfolgte durch Differenzwägung nach Trocknung der Proben bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz. Der Gehalt der Proben an organischer Trockensubstanz (oTS) wurde durch Veraschung im Muffelofen bei 550 °C ermittelt. Ammonium-Stickstoff wurde mittels Büchi® Dampfdestillationseinheit und anschließender Titration mit 0,01m H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bestimmt. Die Messung des pH-Wertes erfolgte mittels Glaselektrode (NAUMANN & BASSLER 1993).

Die Elementaranalyse erfolgte im Mikroanalytischen Laboratorium der Universität Wien mit Hilfe des „EA 1108 CHNS-O“ von Carlo Erba (THEINER 2008).

### Gasanalyse

Im Verlauf der andauernden Vergärung wurden die gebildete Biogasmenge und die Zusammensetzung des Biogases täglich bestimmt. Die Methankonzentration (CH<sub>4</sub>) des Biogases wurde mit dem portablen Gasanalysator „Dräger X-am 7000“ und dem GC-SRI Instruments Model „Multiple Gas Analyzer #2“ gemessen. Der Gasanalysator „Dräger X-am 7000“ (Genauigkeit der Messung: ± 1–3 % vom Messwert) wurde vor jeder Messung mit Prüfgas (50 % CH<sub>4</sub> und 50 % CO<sub>2</sub>) kalibriert.

Die Gasmessung mit dem GC-SRI Instruments Model „Multiple Gas Analyzer #2“ erfolgte unter Verwendung der Trennsäule „FS-FFAP-CB,  $df = 0.5 \mu\text{m}$ “. Der MG#2 ist mit einem HID-Detektor und einem TCD ausgestattet. Als Trägergas wurde Helium 5.0 verwendet. Die Temperatur des Injektors und Detektors betrug  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Die Kalibration erfolgte über ein Mischgas (50 %  $\text{CH}_4$ , 49,9 %  $\text{CO}_2$ , 250 ppm  $\text{H}_2\text{S}$ , 20 ppm  $\text{NH}_3$ , 1.000 ppm  $\text{H}_2$ ).

### Kenn- und Prozesszahlen

Die **Raumbelastung (RB)** ist definiert als die Menge an zugeführter organischer Trockensubstanz (oTS) je  $\text{m}^3$  Faulraum und Tag  $[\text{kg oTS}/\text{m}^3_{\text{Fermenter}} \cdot \text{d}]$ . Die maximale Raumbelastung einer Biogasanlage wird durch die Fermentations-temperatur, den oTS des Inputmaterials, die aktive Biomasse und die Verweilzeit beeinflusst. Bei klassischen Biogasanlagen liegt die obere Grenze für die Raumbelastung bei  $5 \text{ kg oTS}/\text{m}^3$  Fermenter und Tag.

Die **hydraulische Verweilzeit** beschreibt die durchschnittliche Aufenthaltszeit des Substrates im Fermenter. Bei sehr kurzen Verweilzeiten besteht die Gefahr, dass mehr Bakterien ausgetragen werden als im Fermenter reproduziert werden. Vor allem methanogene Bakterien mit langen Generationszeiten sind davon betroffen, wodurch der Abbaugrad und die Abbaugeschwindigkeit sinken (GREPMEIER 2002). Die hydraulische Verweilzeit (HRT) wird aus dem Fermentervolumen und der täglich zugeführten Substratmenge ermittelt und in Tagen ausgedrückt [d].

### Auswertung Gärversuche

#### Gasnormvolumen

Für jede Eudiometerzelle wird eine Berechnung des Normvolumens des in den einzelnen Zeitabschnitten entstandenen Biogases durchgeführt:

$$V_0^{tr} = V \cdot \frac{(p - p_w) \cdot T_0}{p_0 \cdot T} \quad (1)$$

$V_0^{tr}$  ..... Volumen des trockenen Gases im Normalzustand in  $\text{ml}_N$

$V$  ..... abgelesenes Volumen des Gases in ml

$p$  ..... Druck der Gasphase zum Zeitpunkt der Ablesung in hPa

$p_w$  ..... Dampfdruck des Wassers in Abhängigkeit von der Temperatur des umgebenden Raumes in hPa

$T_0$  ..... Normtemperatur = 273 K

$p_0$  ..... Normdruck = 1.013 mbar

$T$  ..... Temperatur des Biogases bzw. des umgebenden Raumes in K

### Zusammensetzung des trockenen Biogases

Für jede Eudiometerzelle wird eine Berechnung der Zusammensetzung des trockenen Biogases des in den einzelnen Zeitabschnitten entstandenen Biogases durchgeführt. Die Konzentrationen von Methan- und Biogas werden zeitgleich analysiert.

$$C_{Korr.}^{tr} = C_{CH_4} \cdot \frac{100}{C_{CH_4} + C_{CO_2}} \quad (2)$$

$C_{Korr.}^{tr}$  ..... korrigierte Konzentration der Biogaskomponente im trockenen Gas in Vol.-%

$C_{CH_4}$  ..... gemessene Methankonzentration im Gas in Vol.-%

$C_{CO_2}$  ..... gemessene Kohlendioxidkonzentration im Gas in Vol.-%

### Gasproduktion des Impfmateri als und korrigiertes Gasnormvolumen

Um die Gasproduktion der Probe zu erhalten, muss die Gasproduktion des Impfmateri als vom Gasnormvolumen abgezogen werden.

$$V_{IS(korr.)} = \frac{\sum V_{IS} \cdot m_{IS}}{m_M} \quad (3)$$

$V_{IS(korr.)}$  ... Gasnormvolumen, das aus dem Impfschlamm entwickelt wurde in mlN

$\sum V_{IS}$  ..... Summe der Gasvolumina des Versuches mit Impfmateri als für die betrachtete Versuchsdauer in mlN

$m_{IS}$  ..... Masse des für die Mischung benutzten Impfmateri als in g

$m_M$  ..... Masse des für im Kontrollversuch benutzten Impfmateri als in g

### Spezifische Biogasproduktion der Probe

Die in einem bestimmten Zeitabschnitt erfolgte Biogasproduktion in Normliter ( $I_N$ ) wird auf die Glühverlustmasse (kg oTS) der Probe bezogen und in  $I_N$ /kg oTS angegeben.

$$V_S = \frac{\sum V_{Korr.} \cdot 10^4}{m \cdot TS \cdot oTS} \quad (4)$$

$V_S$  ..... spezifische, auf die organische Trockensubstanz bezogene Biogasproduktion während der Versuchszeit in  $I_N$ /kg oTS

$\sum V_{Korr.}$  ..... korrigiertes Gasnormvolumen in mlN

$m$  ..... Masse des eingewogenen Substrats in g

$TS$  ..... Trockensubstanzfaktor des Substrats in %

$oTS$  ..... organischer Trockensubstanzgehalt des Substrats in %

### Spezifische Methanproduktion der Probe

Durch Abzug der Methanproduktion aus dem Impfmateri als wird die tatsächliche Methanproduktion der Probe, bezogen auf die eingewogene Probenmenge, erhalten.

### Kumulative Biogas- bzw. Methanproduktion

Die für die einzelnen Zeitabschnitte berechnete spezifische Biogas- bzw. Methanproduktion der Proben wurde kumuliert.

### Bilanzierungen – Abbaugrad

Das **theoretische Biogas- und Methanpotenzial** kann mit Hilfe der Ergebnisse aus der Elementaranalyse der Proben berechnet werden. Die Ermittlung der theoretischen Biogas- und Methanausbeute sowie der Konzentration an Ammoniak und Schwefelwasserstoff erfolgte nach BOYLE (1976).

$$C_a H_b O_c N_d S_e + \left( a - \frac{b}{4} - \frac{c}{2} + 3 \frac{d}{4} + \frac{e}{2} \right) H_2 O$$

$$\rightarrow \left( \frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} - 3 \frac{d}{8} - \frac{e}{4} \right) C H_4 + \left( \frac{a}{2} - \frac{b}{8} + \frac{c}{4} + 3 \frac{d}{8} + \frac{e}{4} \right) C O_2 + d N H_3 + e H_2 S \quad (5)$$

$CH_4$ <sub>umgesetzt</sub> ... Anteil des umgesetzten Methanpotenzials in %

$CH_4$ <sub>gemessen</sub> .. aus dem Versuch gemessener Gasertrag in lN/kg oTS

$CH_4$ <sub>Buswell</sub> ..... nach Buswell berechnetes Methanpotenzial in lN/kg oTS

### Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS Version 15. Zur Prüfung auf statistisch signifikante Unterschiede in der Biogas- und Methanausbeute (pro m<sup>3</sup> Fermentervolumen) wurde ein multipler Mittelwertsvergleich nach „Tukey-HSD Test“ durchgeführt.

#### 2.1.1 Ergebnisse

In Tabelle 4 sind die Prozesskennzahlen aufgelistet. Die tägliche Fütterung im Versuch 1 lag im Mittelwert bei 10,14 g und im Versuch 2 bei 40,08 g Frischmasse/m<sup>3</sup> Fermentervolumen. Die Fütterung der einzelnen Varianten unterschied sich in beiden Versuchsdurchgängen nicht signifikant voneinander, so dass ein Einfluss der Fütterung auf die tägliche Gasproduktion ausgeschlossen werden kann. Aus den Fütterungsmengen resultiert im Versuch 1 eine Raumbelastung von rd. 0,5 kg oTS/m<sup>3</sup> Fermentervolumen und Tag bei einer Verweilzeit von 98,6 Tagen bzw. im Versuch 2 eine Raumbelastung von 0,8 kg oTS/m<sup>3</sup> Fermentervolumen und Tag bei einer Verweilzeit von 25,0 Tagen. Nach HOPFNER-SIXT & AMON (2007) beträgt die Verweilzeit in österreichischen Biogasanlagen zwischen 60–120 Tagen, wobei bei 18 % der Anlagen die Verweilzeit bei über 180 Tagen liegt. Die geringen Raumbelastungen und langen Verweilzeiten im Versuch 1 sind auf die geringen Fütterungsmengen sowie auf den geringen Gehalt an organischer Substanz (siehe Tabelle 5) in der Schweinegülle zurückzuführen. Versuch 2 wurde mit einer deutlich höheren täglichen Fütterungsmenge durchgeführt, daraus resultiert die geringe Verweilzeit des Substrates im Fermenter.

Tabelle 4: Prozessparameter der Laborversuche.

Parameter		Einheit	Versuch 1	Versuch 2
Tägliche Fütterung	Mittelwert	g FM	10,14	40,08
	SD		0,24	0,12
	min		9,14	39,66
	max		10,92	40,70
Raumbelastung		kg oTS/m <sup>3</sup> d	0,47	0,80
Hydraulische Verweilzeit		d	98,6	25,0

FM ..... Frischmasse

SD..... Standardabweichung

TS..... Trockensubstanz

In Tabelle 5 sind die Gehalte an Trockensubstanz und organischer Trockensubstanz sowie von 4 Proben die Gehalte an Kjeldahl-Stickstoff sowie Ammonium aufgelistet.

Tabelle 5: Chemische Zusammensetzung des Impfmateri als und der verwendeten Schweinegülle.

Variante	Wirkstoffkonzentration	TS	oTS	Stickstoff		
				Kjeldahl	NH <sub>4</sub>	
	mg kg <sup>-1</sup> TS	% FM	% FM	% FM	% FM	
Versuch 1	Nullvariante	4,39	2,91	0,47	0,34	
	CTC	40	4,59	2,89		
		200	4,37	2,74		
		400	4,48	2,64		
	ENRO	40	4,29	2,84		
		200	4,88	3,28		
	400	4,67	3,06	0,46	0,34	
Versuch 2	Nullvariante	3,03	2,02	0,26	0,17	
	CTC	100	2,74	1,83		
		150	2,94	1,96		
		200	2,68	1,79	0,27	0,17
	ENRO	100	2,74	1,83		
		150	2,94	1,96		
	200	2,68	1,79			

FM ..... Frischmasse

TS..... Trockensubstanz

CTC .... Chlortetracyclin

ENRO . Enrofloxacin

Der Trockensubstanzgehalt in den Laborfermentern lag bei Versuch 1 zwischen 4,3 und 4,9 % (bezogen auf Frischmasse). Die Schwankungen des Gehaltes an Trockensubstanz wurden bei der Zugabe der Antibiotika berücksichtigt. Der Gehalt an Stickstoff lag in den Proben bei 0,47 %, der Gehalt an Ammonium bei 0,34 %, bezogen auf die Frischmasse. Es konnten keine Unterschiede zwischen der Gülle vor und nach der Vergärung festgestellt werden.

Im Versuch 2 lag der Trockensubstanzgehalt in den Laborfermentern zwischen 2,7 und 3,0 %. Der Gehalt an organischer Substanz der Laborfermenter schwankte zwischen 1,8 und 2,0 % und lag geringfügig unter dem Gehalt an organischer Substanz in der Schweinegülle.

### 2.1.2 Biogas- und Methangaserträge

#### **Reduktion der Methangaserträge durch Antibiotika**

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten, dass bei beiden Antibiotika ab einer Konzentration von 200 mg kg<sup>-1</sup> TS der spezifische Biogas- und Methanertrag signifikant abnimmt. Der spezifische Methanertrag pro m<sup>3</sup> Faulraumvolumen halbierte sich im Extremfall von 0,11 Nm<sup>3</sup> (0-Variante) auf 0,05 Nm<sup>3</sup> bei den Varianten mit einer Wirkstoffkonzentration von 8.000 mg kg<sup>-1</sup> TS. Eine Wirkstoffkonzentration von 200 mg kg<sup>-1</sup> TS in der Schweinegülle führte bei beiden Wirkstoffen zu einer Reduktion des Methanertrages um etwa 25 %. In Abbildung 1 sind Biogas- und Methanproduktion der untersuchten Varianten in Versuch 1 dargestellt.

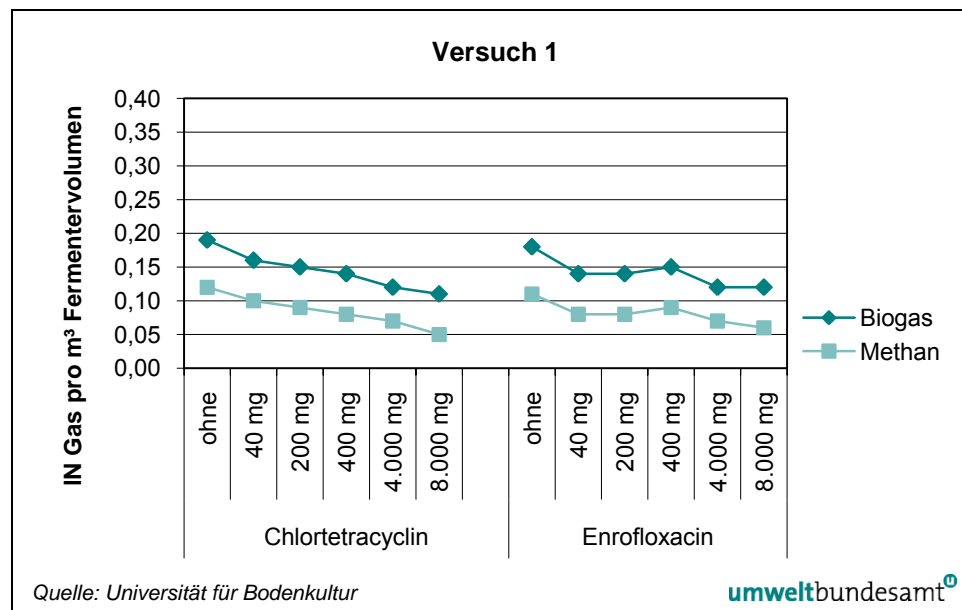


Abbildung 1: Biogas- und Methanproduktion in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration (Versuch 1).

In Tabelle 6 sind die die Ergebnisse der statistischen Auswertung des Versuches 1 zusammengefasst. Durch die Zugabe von Chlortetracyclin sinkt der Biogasertrag von 0,19 l<sub>N</sub> auf 0,11–0,16 l<sub>N</sub> ab. Die Abnahme des Biogasertrages ist ab einer Wirkstoffkonzentration von 4.000 mg kg<sup>-1</sup> TS statistisch signifikant. Ein ähnliches Ergebnis konnte bei der Zugabe des Wirkstoffes Enrofloxacin gemessen



werden. Der Biogasertrag sank von 0,18 I<sub>N</sub> auf 0,12–0,15 I<sub>N</sub> ab. Die Abnahme des Biogasertrages ist ab einer Wirkstoffkonzentration von 4.000 mg kg<sup>-1</sup> TS statistisch signifikant.

Eine parallele Entwicklung zeigt die tägliche Methanproduktion. Durch die Zugabe von Chlortetracyclin sank der Methanertrag von 0,12 I<sub>N</sub> auf 0,05–0,10 I<sub>N</sub> ab. Die Abnahme des Methangasertrages ist ab einer Wirkstoffkonzentration von 200 mg kg<sup>-1</sup> TS statistisch signifikant. Beim Wirkstoff Enrofloxacin sank der Methanertrag von 0,11 I<sub>N</sub> auf 0,06–0,09 I<sub>N</sub> ab. Die Abnahme des Methangasertrages ist ab einer Wirkstoffkonzentration von 4.000 mg kg<sup>-1</sup> TS statistisch signifikant.

Tabelle 6: Statistische Auswertung der Biogas- und Methanproduktion in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration (Versuch 1).

Parameter	Wirkstoff	Signifikanz	Variante	$\bar{x}$ [I <sub>N</sub> ]	SD	n	Statistik			
Biogas	CTC	0,000	Nullvariante	0,19	0,033	15	a			
			40 mg kg <sup>-1</sup>	0,16	0,019	15	ab			
			200 mg kg <sup>-1</sup>	0,15	0,027	15	abc			
			400 mg kg <sup>-1</sup>	0,14	0,020	15	bcd			
			4.000 mg kg <sup>-1</sup>	0,12	0,045	8	cd			
			8.000 mg kg <sup>-1</sup>	0,11	0,028	8	d			
			ENRO	0,000	Nullvariante	0,18	0,048	15	a	
	ENRO	0,000	40 mg kg <sup>-1</sup>	0,14	0,042	15	ab			
			200 mg kg <sup>-1</sup>	0,14	0,014	15	ab			
			400 mg kg <sup>-1</sup>	0,15	0,039	15	ab			
			4.000 mg kg <sup>-1</sup>	0,12	0,036	8	b			
			8.000 mg kg <sup>-1</sup>	0,12	0,024	8	b			
			Methan	CTC	0,000	Nullvariante	0,12	0,021	15	a
						40 mg kg <sup>-1</sup>	0,10	0,011	15	ab
200 mg kg <sup>-1</sup>	0,09	0,016				15	b			
400 mg kg <sup>-1</sup>	0,08	0,012				15	bc			
4.000 mg kg <sup>-1</sup>	0,07	0,024				8	cd			
8.000 mg kg <sup>-1</sup>	0,05	0,014				8	d			
ENRO	0,000	Nullvariante				0,11	0,031	15	a	
ENRO	0,000	40 mg kg <sup>-1</sup>		0,08	0,026	15	ab			
		200 mg kg <sup>-1</sup>		0,08	0,010	15	ab			
		400 mg kg <sup>-1</sup>		0,09	0,024	15	ab			
		4.000 mg kg <sup>-1</sup>		0,07	0,019	8	b			
		8.000 mg kg <sup>-1</sup>		0,06	0,014	8	b			

CTC.... Chlortetracyclin

ENRO . Enrofloxacin

SD..... Standardabweichung

Abbildung 1 zeigt einen deutlichen Zusammenhang zwischen Methangasabnahme und Antibiotikakonzentration in der Gülle. Schon bei der geringsten eingesetzten Konzentration von 40 mg kg<sup>-1</sup> konnte im Mittel eine Reduktion festge-

stellt werden. Die Streuung der Ergebnisse war dabei aber noch so hoch, dass diese Reduktion statistisch nicht signifikant war. Es ist aber zu vermuten, dass die Reduktion an Methangas schon bei geringeren Konzentrationen als  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  TS erfolgt. Zu diesem Zweck wurde ein 2. Laborversuch durchgeführt.

In Abbildung 2 sind Biogas- und Methanproduktion der untersuchten Varianten im Versuch 2 dargestellt.

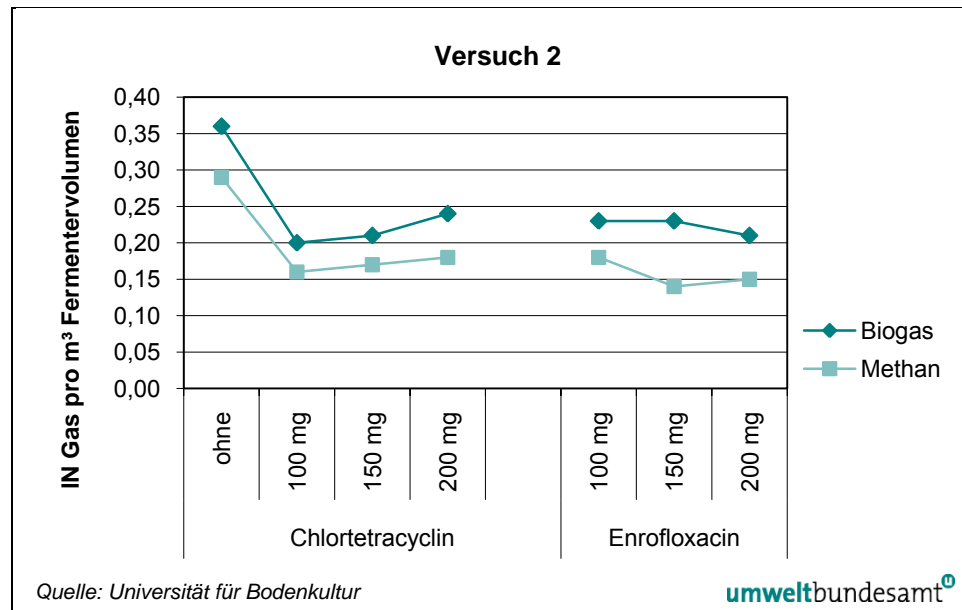


Abbildung 2: Biogas- und Methanproduktion in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration (Versuch 2).

### Reduktion der Biogas- und Methangasproduktion

Die Variante mit einer Ausgangskonzentration von  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  TS konnte aufgrund einer Störung des Durchflussfermenters nicht ausgewertet werden. Versuch 2 unterschied sich von Versuch 1 durch eine wesentlich höhere Raumbelastung von  $0,8 \text{ kg organische Substanz/m}^3$  Fermentervolumen. Zudem wurden nur die Wirkstoffkonzentrationsstufen von 100, 150 und  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  TS untersucht. Die Abbildung zeigt deutlich, dass auch bei einer höheren Raumbelastung die tägliche Gasproduktion durch die Zugabe der Antibiotika reduziert wurde.

In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der statistischen Auswertung des Versuchs 2 zusammengefasst. Durch die Zugabe von Chlortetracyclin sank der Biogasertrag von  $0,36 \text{ I}_N$  auf  $0,20\text{--}0,24 \text{ I}_N$  ab. Die Abnahme ist im Versuch 2 bereits bei einer Wirkstoffkonzentration von  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  TS statistisch signifikant. Ein ähnliches Ergebnis konnte bei der Zugabe des Wirkstoffes Enrofloxacin gemessen werden. Der Biogasertrag sank von  $0,36$  auf  $0,21\text{--}0,23 \text{ I}_N$  ab. Auch hier ist die Abnahme bereits ab einer Wirkstoffkonzentration von  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  TS statistisch signifikant.

Eine parallele Entwicklung zeigt die tägliche Methanproduktion. Durch die Zugabe von Chlortetracyclin sank der Methanertrag von  $0,29 \text{ I}_N$  auf  $0,16\text{--}0,18 \text{ I}_N$  ab und bei der Zugabe von Enrofloxacin sank er von  $0,29$  auf  $0,14\text{--}0,18 \text{ I}_N$  ab.

Tabelle 7: Statistische Auswertung der Biogas- und Methanproduktion in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration (Versuch 2).

Parameter	Wirkstoff	Signifikanz	Variante	$\bar{x}$ [ $I_N$ ]	SD	n	Statistik	
Biogas	CTC	0,000	Nullvariante	0,36	0,10	33	a	
			100 mg kg <sup>-1</sup>	0,20	0,067	33	b	
			150 mg kg <sup>-1</sup>	0,21	0,048	33	b	
			200 mg kg <sup>-1</sup>	0,24	0,077	33	b	
	ENRO		100 mg kg <sup>-1</sup>	0,23	0,067	33	b	
			150 mg kg <sup>-1</sup>	0,23	0,077	33	b	
			200 mg kg <sup>-1</sup>	0,21	0,029	33	b	
	Methan	CTC	0,000	Nullvariante	0,29	0,11	33	a
				100 mg kg <sup>-1</sup>	0,16	0,073	33	b
150 mg kg <sup>-1</sup>				0,17	0,053	33	b	
200 mg kg <sup>-1</sup>				0,18	0,074	33	b	
ENRO			100 mg kg <sup>-1</sup>	0,18	0,069	33	b	
			150 mg kg <sup>-1</sup>	0,14	0,053	33	b	
			200 mg kg <sup>-1</sup>	0,15	0,036	33	b	

CTC..... Chlortetracyclin

ENRO. Enrofloxacin

SD..... Standardabweichung

Es zeigte sich, dass im Mittel die Methangasabnahme bei 38 % lag. Dies wurde bei beiden eingesetzten Wirkstoffen schon bei einer Konzentration von 100 mg kg<sup>-1</sup> TS erreicht.

STONE et al. (2009) führten ähnliche Versuche durch. So wurde in einem Batch Reaktor mit Gülle, die mit 28 mg L<sup>-1</sup> Chlortetracyclin (bei einer Trockensubstanz von 3,4 % entspricht das 820 mg kg<sup>-1</sup> TS) belastet war, fermentiert. Die Reduktion des Methangases betrug bei diesem Experiment 28 % und war über den Versuchszeitraum von über 75 Tagen gleich. Da gleichzeitig auch ein Abbau von Chlortetracyclin im Fermentationsprozess festgestellt wurde, können auch geringere Konzentrationen eine Minimierung von Methan in der Höhe von etwa 25 % zur Folge haben.

ARIKAN et al. (2006) verwendeten für ihre Versuche Gülle von Kälbern, die mit Oxytetracyclin behandelt wurden. Die Ausgangskonzentration von Oxytetracyclin lag bei ca. 10 mg L<sup>-1</sup> (bei ca. 5 % Trockensubstanz ergibt das eine umgerechnete Konzentration von 200 mg kg<sup>-1</sup> TS). Es wurde eine kumulative Reduktion an Methangas von 27 % über 64 Tage im Vergleich zu einer unbelasteten Gülle festgestellt.

Auch SANZ et al. (1996) wiesen eine Hemmung von 20, 50 und 80 % der Methangasproduktion bei der mesophilen anaeroben Fermentation von künstlich hergestellten Fettsäuren nach, die mit 5, 40 und 152 mg L<sup>-1</sup> Chlortetracyclin dotiert waren. Die Autoren ermittelten eine Effektkonzentration IC<sub>50</sub> (Inhibit Concentration) von 40 mg L<sup>-1</sup> für Chlortetracyclin in anaerobischer Fermentation.

LALLAI et al. (2002) arbeiteten mit Schweinegülle und konnten im Gegensatz zu den anderen Studien keine signifikanten Verluste selbst bei sehr hohen Konzentrationen (bis zu 250 mg L<sup>-1</sup>) feststellen.

### Vergleich mit Literaturdaten

Über das Verhalten von Enrofloxacin in einer Biogasanlage und deren Auswirkungen auf die Methangasproduktion liegen unserem Wissen nach noch keine internationalen vergleichbaren Daten vor. Es konnte zum ersten Mal in einem Versuch gezeigt werden, dass Enrofloxacin sich sehr ähnlich wie Chlortetracyclin bezüglich Einbußen auf die Methangasmenge verhält.

### 2.1.3 Veränderungen der mikrobiellen Zusammensetzung

**DNA-Analyse** Die Veränderungen der mikrobiellen Zusammensetzung wurden nach einer DNA-Extraktion nach dem DNA-Extraktionsprotokoll von NETTMANN (2008) erhoben. Die Ermittlung der Kopienzahl für das 16S rDNA Gen erfolgte mittels Quantitativer Realtime Polymerase-Kettenreaktion (Q-PCR) im 5'-Nuklease-Assay. Diese Arbeiten wurden am Leibniz Institut für Agrartechnik Potsdam Bornim e.V. (ATB), Abteilung Bioverfahrenstechnik in der Arbeitsgruppe Molekularbiologie bei Dr. rer. nat. Michael Klocke durchgeführt.

Die mikrobiellen Untersuchungen zeigten im Wesentlichen keine Veränderung innerhalb der mikrobiellen Gemeinschaft. Lediglich bei Chlortetracyclin führte eine Wirkstoffkonzentration von  $8.000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  zu einer leicht veränderten Biodiversität. In diesem Falle wurden im Unterschied zu den anderen Proben keine Methanosarcinaceae nachgewiesen. Die Zahl der 16S rDNA Kopien für Archaea war in allen Proben mit Antibiotika-Zusatz (mit Ausnahme der Probe aus einem Reaktor mit Zugabe von  $4.000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  Enrofloxacin) geringer als in der Kontrolle (unbehandelte Gülle). So wurden in der Probe aus einem Reaktor mit Zugabe von  $8.000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  Chlortetracyclin nur knapp 50 % der Archaea 16S rDNA Kopien wie in der unbehandelten Gülle gefunden; die Probe aus einem Reaktor mit Zugabe von  $8.000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  Enrofloxacin wies 84 % der archaellen 16S rDNA auf. Entsprechend sind geringere Kopienzahlen auch für die weiteren untersuchten Gruppen methanogener Archaea im Vergleich mit unbehandelter Gülle zu beobachten.

Aufgrund der limitierten Versuchsdauer konnte jedoch nicht geklärt werden, ob die Mikroorganismen im Laufe der Zeit Resistenzen gegenüber den Wirkstoffen ausbilden.

### 2.1.4 Abbauverhalten der Antibiotikawirkstoffe bei der Vergärung

#### **Analytik**

Nach Ablauf des Fermentationsversuchs 1 wurden die Gärreste geteilt, wobei ein Teil sofort eingefroren wurde, der andere Teil bei  $8 \text{ °C}$  gelagert wurde, um die Nachgärung im Nachklärbecken unter Winterbedingungen zu simulieren. Die Proben wurden etwa 3 Monate gelagert. Nach der Lagerung wurden in den Gärresten die Gehalte an Chlortetracyclin und Enrofloxacin bestimmt. Die Analytik erfolgte am Umweltbundesamt. Die Proben wurden nach Zugabe von einem Surrogate Standard mehrmals mit Acetonitril, das mit Acetatpuffer versetzt war, extrahiert und anschließend über Faltenfilter filtriert. Jede Gülleprobe wurde zumindest 2-mal extrahiert, wobei eine der beiden Aufarbeitungen nach Zugabe aller zu bestimmenden Substanzen 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 (Micromass Ultima) bestimmt. Eine ausführliche Methodenbeschreibung zur Analytik von Antibiotikawirkstoffen in Wirtschaftsdüngern findet sich in UMWELTBUNDESAMT (2005) und MARTINEZ et al. (2007). Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse.

Tabelle 8: Abbauverhalten von Enrofloxacin und Chlortetracyclin beim Gärprozess.

	ENRO mg kg <sup>-1</sup> TS	CTC mg kg <sup>-1</sup> TS	
Gülle ohne Antibiotika 20.1.2009/8 °C	n. n.	n. n.	
Gülle ohne Antibiotika 20.1.2009/-20 °C	< 50	n. n.	
ENRO 40 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C	18	2,4	CTC 40 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C
ENRO 40 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C	17	2,4	CTC 40 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C
ENRO 200 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C	76	9,6	CTC 200 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C
ENRO 200 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.09/-20 °C	210	8,2	CTC 200 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C
ENRO 400 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C	160	47	CTC 400 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C
ENRO 400 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C	410	48	CTC 400 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C
ENRO 4.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C	2.700	590	CTC 4.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/8 °C
ENRO 4.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C	3.300	460	CTC 4.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C
ENRO 8.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.09/8 °C	6.000	840	CTC 8.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.09/8 °C
ENRO 8.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C	7.700	650	CTC 8.000 mg kg <sup>-1</sup> TS 20.1.2009/-20 °C

Die Ergebnisse zeigen, dass während der Fermentation kein Abbau an Enrofloxacin stattfand. So konnten annähernd 100 % der eingesetzten Menge der Fluorquinolone in den Proben, die sofort eingefroren wurden, wiedergefunden werden. Nur in den Gärresten mit der niedrigen Konzentration von 40 mg kg<sup>-1</sup> TS konnte etwa die Hälfte wiedergefunden werden.

Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass ein Abbau in der Nachgärung durchaus wahrscheinlich erscheint. So waren im Durchschnitt die Konzentrationen an Enrofloxacin in den Gärresten, die bei 8 °C gelagert wurden, um ca. 1/3 geringer als in den Proben, die sofort eingefroren wurden.

Diese Ergebnisse lassen eine Abschätzung der Halbwertszeit von Enrofloxacin bei der Lagerung im Nachklärbecken von ca. 120 Tagen zu.

**HWZ für Enrofloxacin  
120 Tage**

THIELE-BRUHN (2003) ermittelte eine Halbwertszeit von > 60 Tagen für Enrofloxacin in Boden, wobei darauf hingewiesen werden soll, dass sich die Systeme Boden und Gülle grundlegend unterscheiden.

Bei Chlortetracyclin wurden nur ca. 10 % der eingesetzten Menge gefunden. Ein Abbau in der Nachgärung konnte hingegen nicht festgestellt werden. So waren die Konzentration in den Proben, die bei -20 °C gelagert wurden, gleich oder sogar etwas geringer als in den Gärresten, die bei 8 °C aufbewahrt wurden. Diese hohe Reduktion bei den Chlortetracyclinen kann entweder durch den Abbau, durch Adsorption an den Gefäßwänden (die Gruppe der Tetracycline sind starke Komplexbildner, die aufgrund von Mg- und Ca-Ionen an Glaswänden stark adsorbiert werden), durch nicht extrahierbare Rückstände oder durch eine Kombination aller Möglichkeiten hervorgerufen worden sein.

Da kaum bis keine mikrobielle Aktivität bei eingefrorenen Proben zu erwarten ist und die Proben mit einer Lagertemperatur von 8 °C gleiche oder höhere Konzentrationen an Chlortetracyclin aufwiesen, wird vermutet, dass ab Zeitpunkt der Lagerung kein Abbau mehr stattgefunden hat. Adsorptionen oder nicht extrahierbare Rückstände könnten sehr wohl noch in diesem Zeitraum zu Reduktionen an der Chlortetracyclin-Konzentration geführt haben. Die Ursachen der Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände sowie deren mögliche Remobilisierung in Gülle wurden bisher noch kaum untersucht. Durch die Radiotraceranalytik wird der quantitative Nachweis der nicht extrahierbaren Rückstände zwar möglich, doch liefert sie keine Information über die Art der Bindung der Substanzen an eine Matrix. Des Weiteren kann nicht zwischen Ausgangssubstanz und eventuellen Metaboliten unterschieden werden. So zeigten Untersuchungen mit radiomarkiertem Erythromycin, dass der Anteil an nicht extrahierbaren Rückständen aus Schweinegülle zunahm und nach etwa 100 Tagen schon über 95 % erreichte (KREUZIG et al. 2007). Bei Einsatz von salzsaurem Extraktionsmittel (um die Bindungen aufzubrechen) lag der Anteil an nicht extrahierbaren Rückständen immer noch bei beachtlichen 27 %. Auch bei Versuchen mit Chlortetracyclin in Rahmen eines Feldversuches in Boden wurde festgestellt, dass der nicht extrahierbare CTC-Gehalt zu allen Probenahmeterminen den extrahierbaren CTC-Gehalt überstieg (HENKELMANN 2007). So wurden kurz nach Aufbringung nur noch ca. 30 % der applizierten Menge wiedergefunden, 3 Monate später waren dies nur mehr knapp 10 %.

Auch über den Abbau im anaeroben Milieu werden unterschiedliche Ergebnisse in der Literatur berichtet. Der Umstand, dass nicht extrahierbare Rückstände in der Gülle gebildet werden, wird dabei nicht beschrieben. ARIKAN et al. (2006) untersuchten den Abbau von Oxytetracyclin in anaerobischen Batchversuchen mit Kälbergülle. Sie wiesen eine Abnahme der Konzentrationen von 9,8 auf 6,8 mg L<sup>-1</sup> innerhalb von 11 Tagen nach. In weiterer Folge verlangsamte sich der Abbau und nach 64 Tagen wurden noch 4,0 mg L<sup>-1</sup> bestimmt. Daraus errechneten die Autoren eine Halbwertszeit von 56 Tagen für Oxytetracyclin. Für Chlortetracyclin sank die Konzentration in Kälbergülle in 33 Tagen von 5,9 auf 1,4 mg L<sup>-1</sup> (ARIKAN et al. 2008). Es handelt sich um mit Buffer extrahierbare Rückstände. Aus diesen Werten ergibt sich eine Halbwertszeit von nur 18 Tagen. WINCKLER & GRAFE (2000) erhielten für Tetracyclin in Schweinegülle eine Halbwertszeit von über 50 Tagen und bei Feldversuchen von über 100 Tagen. KÜHNE et al. (2000) wiesen im Gegensatz dazu eine Halbwertszeit für Tetracyclin in Schweinegülle von nur 9 Tagen nach.

Da in diesem Versuch so niedrige Konzentrationen an Chlortetracyclin gefunden wurden konnten keine Halbwertszeiten abgeschätzt werden. Deshalb wurde im Zeitraum September 2009 ein weiterer Versuch durchgeführt. Die vorgesehenen Konzentrationen wurden den ersten Ergebnissen angepasst:

- Chlortetracyclin....100, 150 und 200 mg kg<sup>-1</sup> TS
- Enrofloxacin.....100, 150 und 200 mg kg<sup>-1</sup> TS

Die Versuche wurden jeweils in 3-facher Wiederholung durchgeführt.

Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse des Laborversuches mit Chlortetracyclin. Im Gegensatz zum ersten Versuch konnte dieses Mal annähernd die eingesetzte Konzentration wiedergefunden werden (im Durchschnitt 62 %). Auffällig ist aber die Abnahme dieses Antibiotikums auf ca. die Hälfte der Anfangskonzentration nach schon 3 Tagen. Danach ist keine signifikante Konzentrationsänderung mehr feststellbar (Vergleich rotbraune zu grünen Balken).

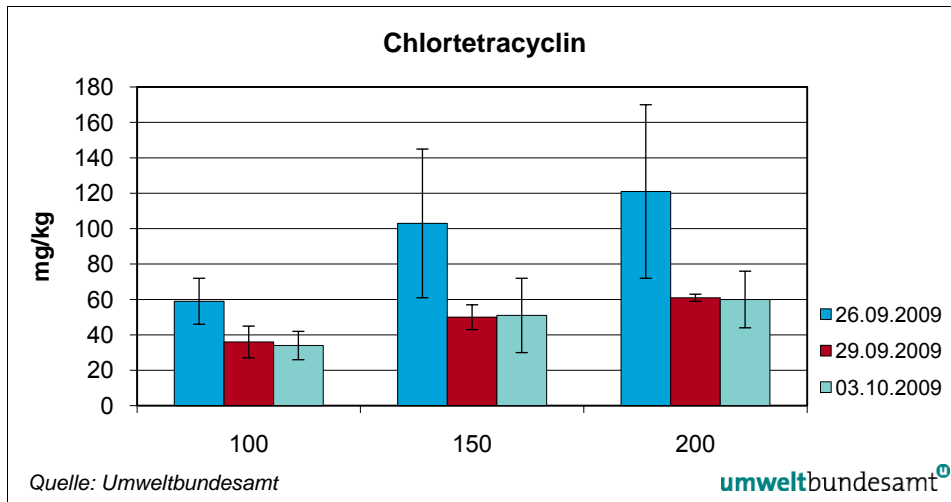


Abbildung 3: Ergebnisse des Laborversuchs 2 – Chlortetracyclin.

Wie schon bei ARIKAN et al. (2006) beobachtet wurde, war der Abbau in den ersten Tagen signifikant höher und verlangsamte sich nach 11 Tagen. Bei seinen Versuchen mit Chlortetracyclin (ARIKAN 2008) war der Abbau in den ersten 10 Tagen am höchsten und betrug mehr als 30 %. STONE et al. (2009) beobachteten einen Abbau von Chlortetracyclin von 27 auf 11 mg L<sup>-1</sup> in 82 Tagen. In weiterer Folge blieben die Konzentrationen für mehr als 100 Tage konstant.

Abbildung 4 zeigt die gefundenen Konzentrationen an Enrofloxacin beim Laborversuch 2. Die Proben wurden zu verschiedenen Zeitpunkten aus dem Laborversuch entnommen. Wie deutlich aus der Abbildung erkennbar ist, erfolgt innerhalb der untersuchten Zeit kein Abbau. Die eingesetzten Konzentrationen stimmten mit den Ergebnissen überein.

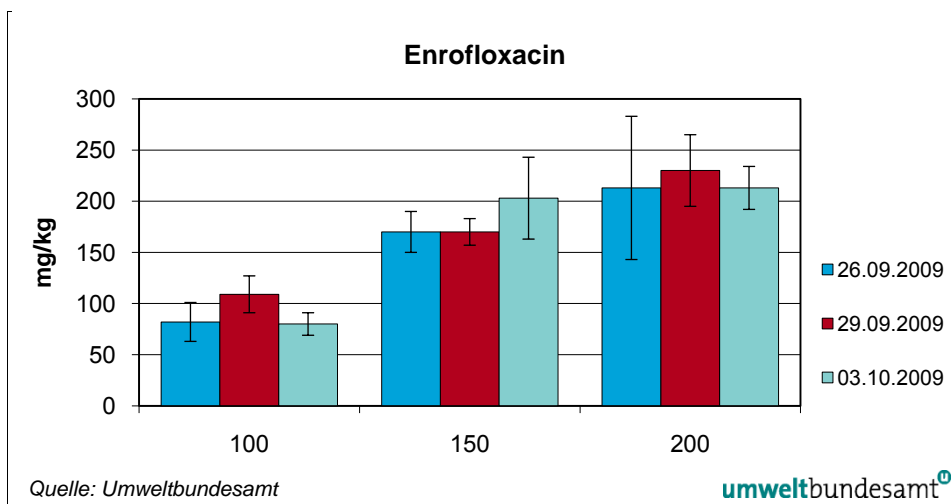


Abbildung 4: Ergebnisse des Laborversuchs 2 – Enrofloxacin.

Bei einer geschätzten Halbwertszeit von über 100 Tagen war kein Abbau zu erwarten. Des Weiteren dürfte im Gärungsprozess das Antibiotikum Enrofloxacin stabil und damit persistent sein. Im Gegensatz zu Chlortetracyclin gibt es kaum bis keine Daten über das Abbauverhalten von Enrofloxacin unter anaeroben Bedingungen.

## 2.2 Modul 2 – Feldversuch

**Fragestellungen** Der Feldversuch untersuchte unter Praxisbedingungen das Verhalten von Antibiotikawirkstoffen in Biogasanlagen. Es sollte geklärt werden, inwieweit unfermentierte Gülle, die in den Biogasanlagen eingesetzt wird, mit relevanten Wirkstoffen belastet war und mit welchen Konzentrationen im Gärrückstand zu rechnen war. Der mögliche Abbau der Substanzen innerhalb des Vergärungsprozesses wurde abgeschätzt. Der Einfluss der Nachlagerung der Fermentationsrückstände im Nachgärbehälter bzw. im Endlager auf das Verhalten der Antibiotikarückstände wurde ebenfalls untersucht. Des Weiteren wurden die Auswirkungen auf mit Gärrückstand gedüngten Böden aufgezeigt und der zeitliche Verlauf der Konzentrationen im Boden dargestellt.

Es wurden sowohl unfermentierte Gülle (Woche 1–8) als auch Fermentationsrückstände (Woche 3–10) unmittelbar nach dem Gärprozess beprobt. Das Beprobungsschema ist aus Abbildung 5 ersichtlich. Damit sollen die Inputmaterialien und die Gärreste jeweils über 8 Wochen beprobt werden, wobei die Probenahme der Inputmaterialien und der Gärreste um 2 Wochen zeitversetzt durchgeführt wurde.

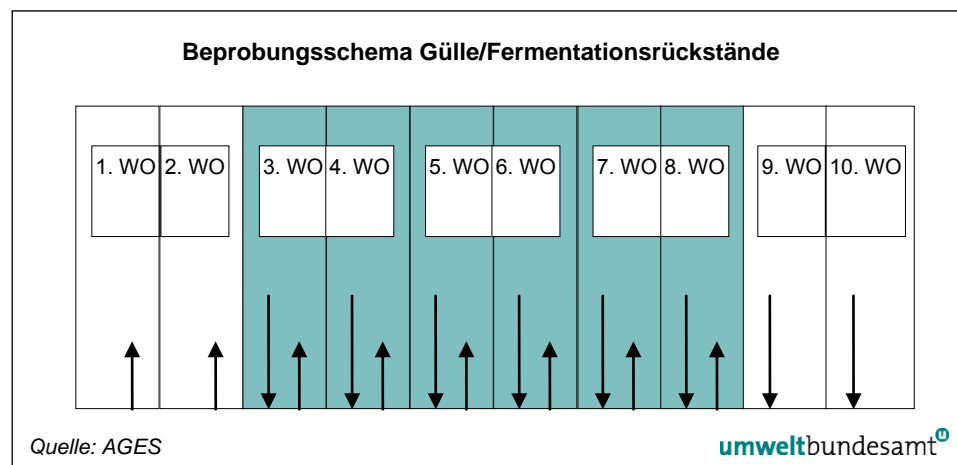


Abbildung 5: Beprobungsschema Gülle/Fermentationsrückstände.

Für die Untersuchungen wurden drei geeignete Biogasanlagen ausgewählt, wobei deren Auswahl durch das Projektkonsortium erfolgte. Die Beprobung der Fermentationsrückstände sowie die Bodenprobenahmen erfolgte durch die Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit – Institut für Bodengesundheit und Pflanzenernährung.

Eine Übersicht über die eingesetzten Ausgangsmaterialien zeigt Tabelle 9.

Tabelle 9: Täglich eingesetzte Mengen an Ausgangsmaterialien in ausgewählten Biogasanlagen.

	Wirtschaftsdünger	Nachwachsende Rohstoffe	Abfälle nach der Abfallverzeichnisverordnung
Anlage A	3,2 m <sup>3</sup>	–	–
Anlage B	10,0 m <sup>3</sup>	20,0 t	–
Anlage C	40,0 m <sup>3</sup>	4,5 t	9 t



Tabelle 10 stellt eine Zusammenfassung der Probenahmeterminale im Jahr 2008 dar.

Tabelle 10: Probenahmeterminale in drei ausgewählten Biogasanlagen im Jahr 2008.

	<b>unfermentierter Wirtschaftsdünger</b>	<b>Gärreste aus Endlager</b>
Anlage A	KW 4–KW 11	KW 6–KW 13
Anlage B	KW 5–KW 12	KW 7–KW 14
Anlage C	KW 5–KW 12	KW 7–KW 14

Die drei ausgewählten Biogasanlagen werden im Folgenden zwecks Anonymisierung als Biogasanlagen A–C bezeichnet und beschrieben. Von jeder Anlage wurden entsprechend des Arbeitsplanes des Projektes über einen Zeitraum von 10 Wochen Proben der unfermentierten Wirtschaftsdünger und der Gärreste (Biogasgülle bzw. Gärreste) gezogen (siehe Abbildung 5).

Um die Auswirkungen von Düngungsmaßnahmen mit Gärresten, welche möglicherweise mit Antibiotika belastet waren, auf Böden zu untersuchen wurden auf den gedüngten Flächen der drei Betriebe unmittelbar vor bzw. in regelmäßigen Abständen nach der Düngungsmaßnahme Bodenproben entnommen.

Die Probenahmeterminale sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 11: Probenahmeterminale Boden Frühjahr 2008.

	<b>Tag der Düngung</b>	<b>1. Termin</b>	<b>2. Termin</b>	<b>3. Termin</b>	<b>4. Termin</b>
Anlage A	17.04.	17.04.	20.04.		
Anlage B	09.04.	10.04.	12.04.	23.04.	21.05.
Anlage C	04.04.	05.04.	11.04.	18.04.	16.05.

Tabelle 12: Probenahmeterminale Boden Frühjahr 2009.

	<b>Tag der Düngung</b>	<b>1. Termin</b>	<b>2. Termin</b>	<b>3. Termin</b>	<b>4. Termin</b>
Anlage A	07.04.	07.04.	10.04.	24.04.	25.05.
Anlage B	23.04.	23.04.	27.04.	07.05.	04.06.
Anlage C	07.04.	08.04.	10.04.	21.04.	19.05.

Die Probenahme erfolgte mit einem Bodenbohrer, die Beprobungstiefe betrug 0–30 cm aufgrund einer mittleren Pflugtiefe von 25 cm (Bearbeitungshorizont). Um eine möglichst repräsentative Probe zu gewinnen, waren ca. 20 Einstiche/100 m<sup>2</sup> notwendig. Die Bodenprobenahmen erfolgten im Frühjahr 2008 und 2009 unmittelbar vor bzw. nach erfolgter Düngung. Aufgrund einer fehlenden Herbstdüngung im Jahr 2008 war eine Verschiebung auf das Frühjahr 2009 notwendig.

**Bodenproben von  
0–30 cm**



Abbildung 6: Bodenprobenahme mit Bodenbohrer. © Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V., 2009.

### **Analytik von Gärresten und Böden**

Die Analysen der Gärreste und der Böden wurden ebenso wie die Proben des Laborversuches am Umweltbundesamt durchgeführt. Wie bei der Analyse der Wirtschaftsdünger wurden alle Bodenproben 2-mal aufgearbeitet, um mögliche auftretende Matrixeffekte korrigieren zu können. Die Proben 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 wurden mittels LC-MS/MS (Micromass (Manchester, UK) Quattro Ultima Mass Spectrometer) gemessen (MARTINEZ et al. 2007).

## **2.2.1 Beschreibung der Biogasanlagen und Ergebnisse**

### **Anlage A – landwirtschaftlicher Betrieb**

Anlage A befindet sich im oberösterreichischen Zentralraum und ist Teil eines landwirtschaftlichen Betriebes mit Schwerpunkt Hühnermast und Legehennenhaltung (30 GVE) sowie Schweinemast aus eigener Aufzucht (25 GVE).

Die Biogasanlage besteht aus einem stehenden Fermenter in Betonbauweise mit Speicher-Durchfluss-Verfahren (270 m<sup>3</sup>) und drei offenen Endlagern (2 x 930 m<sup>3</sup> und 1 x 360 m<sup>3</sup>).

Die im Rahmen der Tierhaltung anfallenden Wirtschaftsdünger werden in einer Vorgrube gesammelt, gerührt und täglich in den Fermenter der Biogasanlage eingespeist.

Pro Tag werden ungefähr folgende Mengen an Wirtschaftsdünger in den Fermenter eingebracht:

- 1,9 m<sup>3</sup> Legehennengülle (TS-Gehalt 25 %)
- 1,0 m<sup>3</sup> Schweinegülle (TS-Gehalt 8 %)
- 0,3 m<sup>3</sup> Mist aus der Masthühnerhaltung (TS-Gehalt 70 %)

Zusätzlich zu den Wirtschaftsdüngern werden in der Anlage A noch die im Betrieb anfallenden Haus- und Schlachtabwässer mitvergärt (1,5 m<sup>3</sup>/Tag; TS-Gehalt: 1 %).

Werden die Ausgangsmaterialien auf die Trockensubstanz bezogen, wird von folgender Verteilung ausgegangen:

- Legehennengülle: 61 %
- Schweinegülle: 10 %
- Mist aus der Masthühnerhaltung: 27 %
- Haus- und Schlachtabwässer: 2 %

Die Probenahme der unfermentierten Wirtschaftsdünger erfolgte wöchentlich von Kalenderwoche (KW) 4 bis zu KW 8 aus der Vorgrube. Vor der Probenentnahme mit dem Probenschöpfer wurde die Vorgrube gerührt, um eine repräsentative Probe zu erhalten. Die acht im Projektplan vorgesehenen Biogasgülleproben wurden ebenfalls wöchentlich (KW 6 bis KW 13) aus dem Überlauf des Fermenters zum Endlager entnommen.

## Ergebnisse

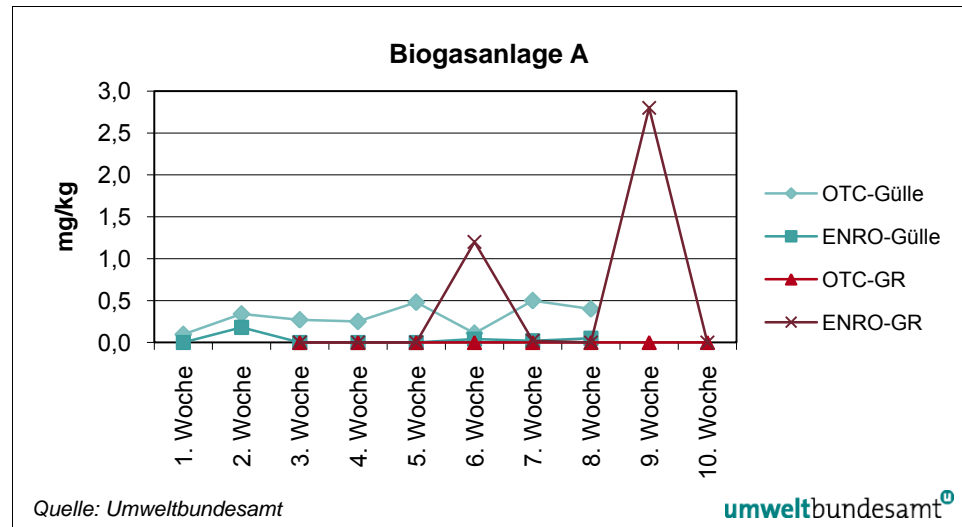
Die unfermentierten Wirtschaftsdünger sowie die Gärrückstandsproben wurden auf die Gruppe der Tetracycline und Sulfonamide sowie auf Enrofloxacin und dessen Metaboliten Ciprofloxacin untersucht. Die Schweinegülle und der Gärrückstand waren dabei nicht mit Sulfonamiden belastet. Die Gruppe der Tetracycline konnte hingegen in der Schweinegülle unterhalb von  $0,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  detektiert werden. Vor allem Oxytetracyclin, aber auch vereinzelt Chlortetracyclin und Tetracyclin konnten dabei nachgewiesen werden. Die hier gefundenen Konzentrationen sind aber im Vergleich zu anderen Studien (UMWELTBUNDESAMT 2005; AMT DER STEIERMÄRKISCHEN LANDESREGIERUNG 2009) als gering zu betrachten. Auch die Fluorchinolone (Enrofloxacin und Ciprofloxacin) konnten im Inputmaterial Schweinegülle in der Hälfte der Proben bestimmt werden (siehe Abbildung 7), wobei die Konzentrationen unterhalb von  $0,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$  lagen.

In den Gärrückstandsproben waren die Gehalte an allen Tetracyclinen unterhalb der Nachweisgrenze. Die Gehalte an Enrofloxacin und Ciprofloxacin waren aber im Gegensatz dazu höher als in der Schweinegülle und erreichten ein Maximum von knapp  $2,8 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TS}$ .

***Oxytetracyclin und Enrofloxacin in Schweinegülle***

***Enrofloxacin und Ciprofloxacin im Gärrückstand***

## Stercus Terra – Projektbeschreibung und -verlauf



OTC ..... Oxytetracyclin

ENRO .... Enrofloxacin

GR ..... Gärückstand

Abbildung 7: Konzentrationsverlauf der Wirtschaftsdünger bzw. der Gärreste von Anlage A (in  $\text{mg kg}^{-1}$  TS).

Da nur 10 % der Inputmaterialien aus Schweinegülle und über 85 % aus Geflügelmist bestanden, konnten in den Gärresten keine Tetracycline mehr nachgewiesen werden, da diese nur wenig bis kaum in der Legehennen- sowie Masthuhnhaltung eingesetzt werden. Somit ergab sich zusätzlich zu möglichen Abbauprozessen ein Verdünnungseffekt von 10: 1, so dass schlussendlich die Konzentrationen unterhalb der nachweisbaren Grenzen lagen. Bei den Fluorchinolonen verhielt es sich genau umgekehrt. Hier waren die Konzentrationen in den Gärückstandsproben höher als in der Schweinegülle. Enrofloxacin wird in der Schweinemasthaltung im Vergleich zu den Tetracyclinen in geringen Mengen und weit weniger häufig eingesetzt, wird aber durchaus des Öfteren bei der Geflügelhaltung zur Therapie verwendet. Die Maximalkonzentration an Enrofloxacin im Gärückstand lag somit bei knapp  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  TS.

### Bodenanalyse

In den Bodenproben wurde Oxytetracyclin dreimal unterhalb der Bestimmungsgrenze nachgewiesen. Auch Sulfamethoxazol und Sulfadimidin konnten in einer Probe gefunden werden. Die Konzentrationen waren aber so gering, dass keine weiterführenden Aussagen getroffen werden konnten. Dies war auch aufgrund der schon geringen Belastungen in den Gärresten zu erwarten. Enro- oder Ciprofloxacin konnte in keiner Bodenprobe nachgewiesen werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass in Anlage A die geringsten Gehalte an den untersuchten Antibiotikawirkstoffen gemessen wurden.

### Anlage B – landwirtschaftlicher Betrieb

Anlage B, im niederösterreichischen Alpenvorland gelegen, ist ebenfalls Teil eines landwirtschaftlichen Betriebes. Der Hauptproduktionszweig dieses Betriebes ist Schweinezucht und Schweinemast (ca. 700 GVE).

Die Biogasanlage besteht aus zwei Fermentern zu je  $2.660 \text{ m}^3$  und zwei Endlagern mit  $1.300 \text{ m}^3$  und  $5.000 \text{ m}^3$ .

Die aus der eigenen Schweinehaltung anfallende Gülle wird in einer Güllegrube gesammelt, gerührt und davon werden täglich ca. 10 m<sup>3</sup> in den Fermenter eingespeist.

Neben der betriebseigenen Schweinegülle werden täglich noch ca. 15 Tonnen Maissilage und 5 Tonnen Grassilage mitvergärt.

Das bedeutet, dass ca. 30 % der verwendeten Ausgangssubstrate aus Schweinegülle (bezogen auf die Masse der Ausgangsmaterialien) – also möglicherweise mit Antibiotika kontaminiertem Material – besteht.

Die acht Schweinegülleproben wurden wöchentlich nach Homogenisierung direkt aus der Güllegrube gezogen (KW 5 bis KW 12). Die Biogasgülleproben wurden aus einem Schacht nach gründlicher Homogenisierung entnommen (KW 7 bis KW 14).



Abbildung 8: Gärrestprobenahme aus einem Pumpschacht der Biogasanlage B.  
© Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V. 2009.

## Ergebnisse

Die Ausgangsmaterialien waren auch bei dieser Anlage vor allem mit Oxytetracyclin belastet. Die Konzentrationen lagen aber ungefähr um einen Faktor 20 höher als in Anlage A. So wurde eine Maximalkonzentration von 12 mg kg<sup>-1</sup> TS Oxytetracyclin bestimmt. Auch in den restlichen 7 Wirtschaftsdüngerproben konnte Oxytetracyclin in ähnlichen Konzentrationen festgestellt werden (siehe Abbildung 9). Somit kann von einer normal belasteten Schweinegülle ausgegangen werden. In einem Ausgangsmaterial wurden auch Sulfamethoxazol, Trimethoprim und Enrofloxacin in sehr geringen Konzentrationen (0,57 mg kg<sup>-1</sup> TS, 0,48 mg kg<sup>-1</sup> TS und 0,24 mg kg<sup>-1</sup> TS) nachgewiesen. In den Gärückstandsproben wurde aber ausschließlich Oxytetracyclin in Konzentrationen von 0,21 bis 5,5 mg kg<sup>-1</sup> TS bestimmt (siehe Abbildung 9).

## **Oxytetracyclin in Schweinegülle**

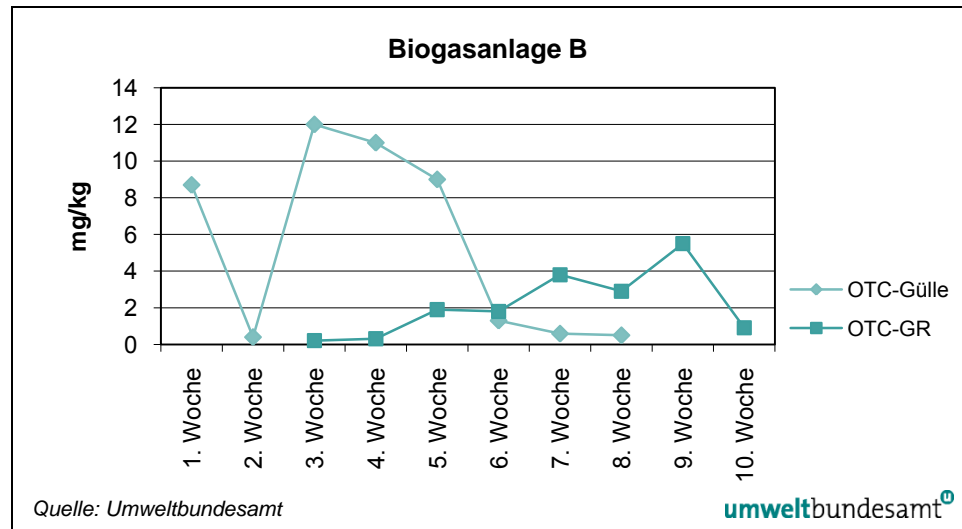


Abbildung 9: Konzentrationsverlauf der Wirtschaftsdünger bzw. der Gärreste von Anlage B (in  $\text{mg kg}^{-1}$  TS).

#### **Oxytetracyclin im Gärückstand**

Die geringeren Konzentrationen in den Gärresten lassen sich hauptsächlich auf den Verdünnungseffekt mit anderen Ausgangsmaterialien zurückführen. So fanden sich im Gärückstand im Mittel ca. 40 % der ursprünglich im Wirtschaftsdünger gemessenen Konzentrationen wieder. Das bedeutet, dass Oxytetracyclin zu 100 % im Gärückstand wiedergefunden werden konnte, da davon ausgegangen werden kann, dass die anderen Ausgangsmaterialien wie Mais- und Grassilage nicht mit den Leitsubstanzen kontaminiert waren. Da ca. nur 1/3 der eingesetzten Menge aus Gülle bestand, war das Endprodukt (= Gärückstand) höher mit Oxytetracyclinen belastet. Dies kann mit dem Verlust an organischer Masse zusammenhängen.

Die gedüngten Böden waren geringfügig mit Oxytetracyclinen und mit Fluorquinolonen belastet. Dabei lagen die Konzentrationen bei Oxytetracyclin zwischen  $0,035$  und  $0,070 \text{ mg kg}^{-1}$  TS. Die Referenzprobe war dabei am geringsten kontaminiert. Nach der Düngung mit dem Gärückstand stiegen die Konzentrationen geringfügig an (siehe Abbildung 10).

#### **Oxytetracyclin und Enrofloxacin im Boden**

Die Enrofloxacin-Konzentrationen im Boden lagen zwischen  $0,0033$  und  $0,0058 \text{ mg kg}^{-1}$  TS. Nach der Düngung mit dem Gärückstand konnten generell höhere Konzentrationen im Boden festgestellt werden. Ciprofloxacin, der Hauptmetabolit von Enrofloxacin, war in 6 von 8 Proben nachweisbar, die Werte lagen aber immer unterhalb der Bestimmungsgrenze. In der Referenzprobe (vor der Düngung) war Ciprofloxacin nicht nachweisbar.

Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Düngung mit dem Gärückstand zu einer geringen Belastung des Bodens führt.

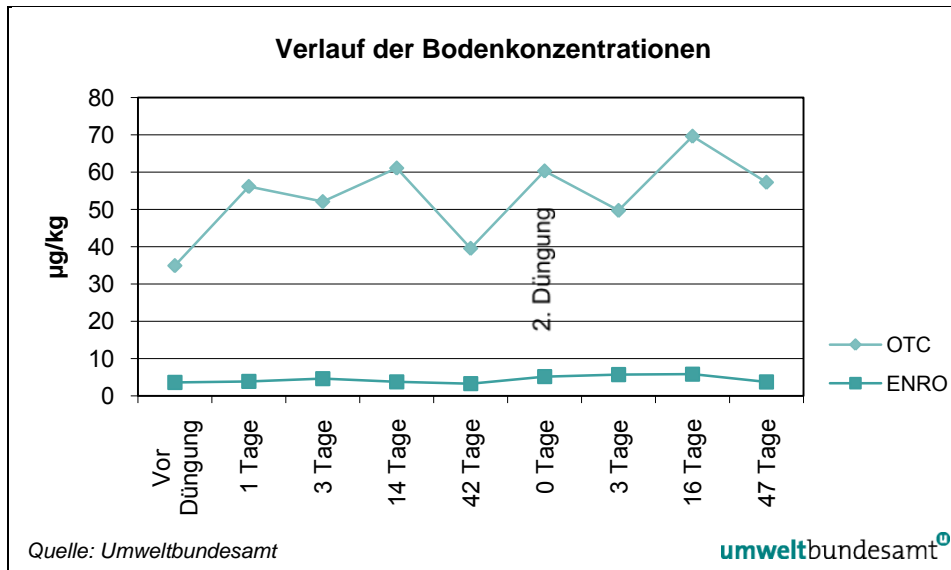


Abbildung 10: Verlauf der Bodenkonzentrationen von Anlage B (in  $\mu\text{g kg}^{-1}$  TS).

In Anlage B wurde Oxytetracyclin während der Fermentation und Lagerung nicht abgebaut. Die Böden dieser Anlage waren sowohl mit Oxytetracyclin als auch mit Enrofloxacin belastet.

Anlage C ist im Unterschied zu den Anlagen A und B nicht in einem landwirtschaftlichen Betrieb integriert, sondern ist genossenschaftlich organisiert und bezieht die Ausgangsmaterialien (Schweinegülle, Silomais und Glycerin aus der Rapsölveresterung) von verschiedenen Betrieben. Die Anlage ist im südöstlichen Flach- und Hügelland gelegen.

### **Anlage C – genossenschaftlicher Betrieb**

Die Anlage besteht aus vier Fermentern zu je  $2.000 \text{ m}^3$  und zwei Endlagern zu je  $3.600 \text{ m}^3$ .

Die Schweinegülle wird von 10 verschiedenen Betrieben periodisch angeliefert und in zwei Vorgruben (je  $300 \text{ m}^3$ ) zwischengelagert. Von dort werden täglich ca.  $40 \text{ m}^3$  in den Fermenter eingespeist.

Zusätzlich werden in der Anlage C noch Silomais (ca. 4,5 Tonnen täglich) und Glycerin aus Rapsmethylester-Herstellung (ca. 9 Tonnen täglich) vergärt.

Das bedeutet, dass ca. 75 % der verwendeten Ausgangssubstrate aus Schweinegülle, also möglicherweise mit Antibiotika kontaminiertem Material, bestehen.

Die wöchentliche Probenahme der Schweinegülle erfolgte aus der Güllegrube (KW 5–KW 12). Die Gärrückstandsproben wurden über eine Bypass-Einrichtung zwischen Fermenter und Endlager entnommen (KW 7–KW 14).



Abbildung 11: Gärrestentnahme über Bypass-Einrichtung. © Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V. 2009.

### Ergebnisse

**Schweinegülle  
extrem hoch mit  
Oxytetracyclin  
belastet**

Die Ausgangsmaterialien waren bei dieser Anlage am höchsten mit Oxytetracyclin belastet. So wurden zwischen  $0,18 \text{ mg kg}^{-1}$  bis  $770 \text{ mg kg}^{-1}$  TS Oxytetracyclin bestimmt. Der Wert von  $770 \text{ mg kg}^{-1}$  TS ist zwar ein einmaliger Ausreißer, aber auch bei drei anderen Güllen wurden Konzentrationen um  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  TS bestimmt, womit diese Güllen auch im internationalen Vergleich sehr hoch belastet waren (BLAC 2003, UMWELTBUNDESAMT 2005, AMT DER STEIERMÄRKISCHEN LANDESREGIERUNG 2009). Enrofloxacin konnte in zwei Gülleproben mit einem Maximalwert von  $1,4 \text{ mg kg}^{-1}$  TS bestimmt werden. Im Gärückstand lag Enrofloxacin dreimal unterhalb der Bestimmungsgrenze.

**Oxytetracyclin im  
Gärückstand**

In den Gärückstandsproben wurden zwischen  $4,4$  bis  $24 \text{ mg kg}^{-1}$  TS Oxytetracyclin bestimmt (siehe Abbildung 12). Somit waren die Gärückstandsproben der Anlage C am höchsten mit antibiotischen Wirkstoffen belastet.



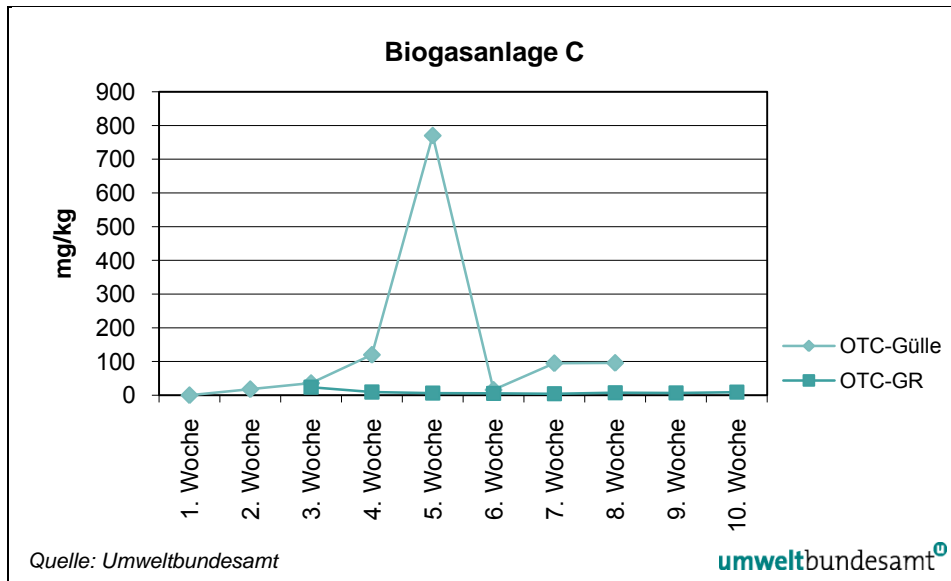


Abbildung 12: Konzentrationsverlauf der Wirtschaftsdünger bzw. der Gärreste von Anlage C (in  $\text{mg kg}^{-1}$  TS).

Bei dieser Anlage fand eine Reduktion der Oxytetracyclin-Konzentrationen von über 90 % statt. Diese Reduktion kann nicht nur über Verdünnungseffekte mit anderen Ausgangsmaterialien (ca. 25 %) erklärt werden. Selbst bei Vernachlässigung des Ausreißers mit  $770 \text{ mg kg}^{-1}$  TS ist immer noch eine Reduktion des Oxytetracyclins von über 80 % feststellbar.

Der mit Gärrückstand gedüngte Boden war vor allem mit Oxytetracyclin belastet. Die Konzentrationen schwankten zwischen  $< 0,036 \text{ mg kg}^{-1}$  TS und  $0,12 \text{ mg kg}^{-1}$  TS. Die Referenzprobe (Probenahme ca. 1 Monat vor der Düngung mit Gärrückstand) war bereits mit  $0,023 \text{ mg kg}^{-1}$  TS OTC belastet. Nach der Düngung stiegen die Konzentrationen auf  $0,048 \text{ mg kg}^{-1}$  TS im ersten Jahr geringfügig an. Im zweiten Düngejahr waren dann Konzentrationen bis  $0,12 \text{ mg kg}^{-1}$  TS nachweisbar.

In zwei Bodenproben wurde Enrofloxacin einmal in sehr geringer Konzentration ( $0,0045 \text{ mg kg}^{-1}$  TS) bestimmt und einmal unter der Bestimmungsgrenze nachgewiesen. Abbildung 13 zeigt den Verlauf der Bodenkonzentrationen von Oxytetracyclin.

**Reduktion von Oxytetracyclin während der Gärung**

**Oxytetracyclin und Enrofloxacin im Boden**

## Stercus Terra – Projektbeschreibung und -verlauf

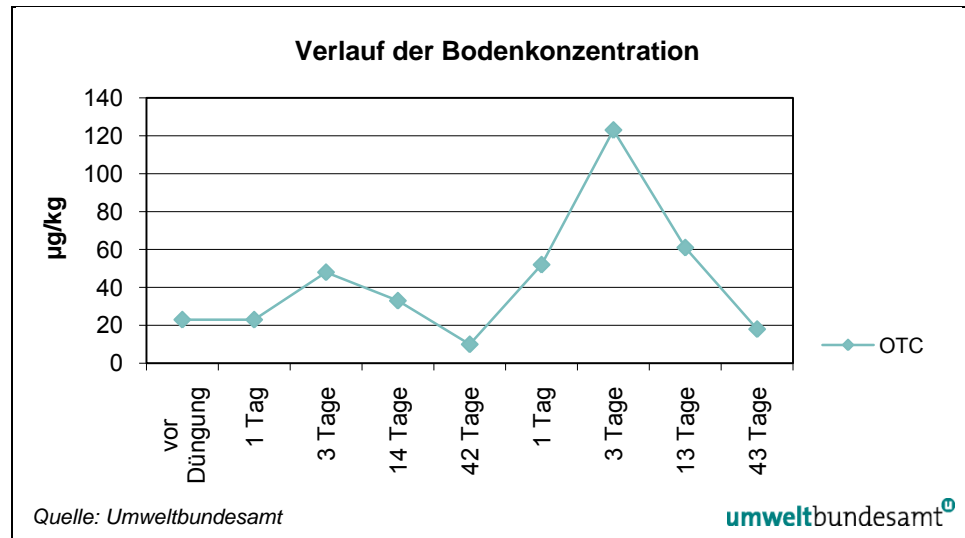


Abbildung 13: Verlauf der Bodenkonzentrationen von Anlage C (in  $\mu\text{g kg}^{-1}$  TS).

Jeweils 3 Tage nach erfolgter Düngung mit kontaminiertem Wirtschaftsdünger wurden die höchsten Konzentrationen gemessen. Die Konzentrationen verringerten sich wieder, wobei schon eine deutliche Reduktion nach 14 Tagen feststellbar war. Die maximale gemessene Konzentration lag mit  $0,12 \text{ mg kg}^{-1}$  TS geringfügig über den Schwellenwert von  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  TS, der für neu zuzulassende Veterinärsarzneimittel ausgearbeitet wurde (VICH 2000).

### Ergebnisse

Die in Anlage C verwendete Schweinegülle und der Gärrückstand wiesen die höchsten Gehalte an Oxytetracyclin auf. Dementsprechend konnte auch der Einfluss der Düngung von Wirtschaftsdünger auf Böden gezeigt werden.

### 3 ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE

#### 3.1 Expositionsanalyse ausgewählter Antibiotika

Es wurden sowohl Schweinegülle als auch Gärreste sowie landwirtschaftlich genutzte Böden auf ausgewählte Antibiotika überprüft. Insgesamt wurden bei den drei untersuchten Biogasanlagen 24 Schweinegülle sowie 24 Gärreste und 27 Böden analysiert.

##### 3.1.1 Schweinegülle

Oxytetracyclin war das Antibiotikum, das nicht nur die höchsten Konzentrationen aufwies, sondern auch am häufigsten detektiert wurde. So wurde Oxytetracyclin in jeder Schweinegülleprobe in Konzentrationen zwischen 0,095 und 770 mg kg<sup>-1</sup> TS bestimmt. Der Höchstwert von 770 mg kg<sup>-1</sup> TS stammte aus der Anlage C, die insgesamt die höchsten Oxytetracyclin-Werte aufwies. Dieses Maximum stellt auch im internationalen Vergleich ein sehr hohe Konzentration dar und kann mit den Maxima, die in der BLAC-Studie (2003) und bei GRAFE (2000) gefunden wurden, verglichen werden. Auch die anderen Gülle aus dieser Anlage waren zum Teil mit über 100 mg kg<sup>-1</sup> TS hoch belastet. Diese Werte lagen somit deutlich über den Konzentrationen, die bis jetzt in Österreich erhoben wurden (UMWELTBUNDESAMT 2005, AMT DER STEIERMÄRKISCHEN LANDESREGIERUNG 2009).

***Oxytetracyclin am häufigsten detektiert***

Das zweithäufigste nachgewiesene Antibiotikum war Enrofloxacin, es konnte in 7 von 24 Gülle nachgewiesen werden. Das bedeutet, dass knapp 30 % der Gülle mit diesem Wirkstoff belastet waren. Die Konzentrationen lagen zwischen 0,02 und 1,4 mg kg<sup>-1</sup> TS und waren somit deutlich geringer als bei Oxytetracyclin. Der 1. Hauptmetabolit von Enrofloxacin – Ciprofloxacin – konnte in zwei Gülle nachgewiesen werden. Die Konzentrationen waren in diesen zwei Gülle geringer als die von Enrofloxacin und bewegten sich zwischen < 0,03 und 0,15 mg kg<sup>-1</sup> TS.

***Enrofloxacin***

Vereinzelte wurden noch Tetracyclin, Chlortetracyclin, Trimethoprim und Sulfamethoxazol bestimmt. Die höchste Konzentration lag bei 1,5 mg kg<sup>-1</sup> TS und wurde für Tetracyclin in jener Gülle gemessen, die auch die höchsten Oxytetracyclin-Werte aufwies.

##### 3.1.2 Gärrückstand

So wie in der Gülle war Oxytetracyclin in den Gärresten die am häufigsten bestimmte Substanz. In 16 von 24 Gärresten konnte dieser Wirkstoff nachgewiesen werden. Nur in der Anlage A lagen die Konzentrationen von Oxytetracyclin in den Gärresten unter der Nachweisgrenze. In den beiden anderen Anlagen schwankten die Werte zwischen 0,21 und 24 mg kg<sup>-1</sup> TS. Die in diesem Projekt gefundenen Konzentrationen waren somit deutlich höher als die Werte, die früher für Biogasanlagen in Vorarlberg ermittelt wurden (GANS et al. 2008).

***Oxytetracyclin am häufigsten detektiert***

**Enrofloxacin** Neben Oxytetracyclin waren die Gärreste – anders als bei GANS et al. (2008) – mit Enrofloxacin belastet. So wurde Enrofloxacin in 7 Gärresten nachgewiesen, allerdings nur in 2 Fällen über der Bestimmungsgrenze. Die Maximalwerte lagen bei 2,8 und 1,2 mg kg<sup>-1</sup> TS und waren somit höher als in der Schweinegülle. Dies konnte auf andere hier nicht untersuchte Inputmaterialien wie Geflügelmist zurückgeführt werden.

Alle anderen analysierten Antibiotikawirkstoffe spielten im Gärückstand keine Rolle.

### 3.1.3 Boden

#### **Kontamination des Bodens durch Gärreste**

Aufgrund der Belastungen in den Wirtschaftsdüngern war Oxytetracyclin das Antibiotikum, das am häufigsten detektiert wurde. So wiesen die Böden der Anlage B und C schon vor der Düngung nachweisbare Konzentrationen auf (0,035 bzw. 0,023 mg kg<sup>-1</sup> TS). Auch der Einfluss der Aufbringung mit Gärresten konnte gezeigt werden. Am dritten Tag nach Aufbringung wurden die höchsten Konzentrationen mit einem Maximum von 0,12 mg kg<sup>-1</sup> TS gemessen. Danach sanken die Konzentrationen wieder auf den Ausgangswert zurück. Die hier bestimmten Konzentrationen stimmen sehr gut mit anderen nationalen und internationalen erhobenen Daten überein.

Die Böden der Anlage B waren zusätzlich zu Oxytetracyclin noch mit Enrofloxacin belastet. So konnte diese Substanz in jeder Probe dieser Anlage bestimmt werden, wobei die Konzentrationen sehr niedrig waren und zwischen 0,0033 und 0,0058 mg kg<sup>-1</sup> TS schwankten.

## 3.2 Auswirkungen der Antibiotika Chlortetracyclin und Enrofloxacin auf die Methangasausbeute

Die beiden Antibiotika wurden im Laborversuch eingesetzt und ihre Auswirkungen auf die Biogas- bzw. Methangasproduktion beobachtet. Diese Untersuchungen wurden in 2 Ansätzen durchgeführt.

### 3.2.1 Chlortetracyclin

#### **Reduktion des Methangasertrages**

In beiden Versuchen konnte ein Einfluss der eingesetzten Antibiotika auf die Fermentation, insbesondere auf die Methangasproduktion nachgewiesen werden. Schon im ersten Versuch zeigte sich eine mittlere Reduktion des Gasertrages von 0,12 auf 0,10 l<sub>N</sub> bei der kleinsten Konzentration von 40 mg kg<sup>-1</sup> TS. Das entspricht einer 17%igen Reduktion, was bei einer Streuung von knapp über 10 % noch nicht einen signifikanten Unterschied ergab. Erst ab 200 mg kg<sup>-1</sup> TS Chlortetracyclin war der Unterschied in der Methangasproduktion signifikant und lag bei einer 25%igen Reduktion. Im zweiten Versuch unter leicht geänderten Bedingungen (höhere Raumbelastung, kürzere hydraulische Verweilzeit) war die Abnahme der Methangasproduktion noch höher. So sank der Ertrag schon bei einem Einsatz von 100 mg kg<sup>-1</sup> TS um beachtliche 40 %.

Ähnliche Ergebnisse werden in der internationalen Literatur beschrieben (ARIKAN et al. 2006, STONE et al. 2009, SANZ et al. 1996). Es kann daher davon ausgegangen werden, dass Einbußen an Methangas wahrscheinlich schon ab einer Konzentration von  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  und sicher ab einer Konzentration von  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  TS zu erwarten sind. Bei Heranziehen dieser Ergebnisse auf die bestimmten Konzentrationen in den 3 Biogasanlagen können folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

- Die maximale Gärrückstandskonzentration an Oxytetracyclin lag bei  $24 \text{ mg kg}^{-1}$  TS und lag somit nur geringfügig unterhalb der  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  TS.
- Die Gülle einer Biogasanlage, die laut Angabe des Biogasbetreibers bis zu 75 % vgl. Anlage C des eingesetzten Materials zur Vergärung ausmacht, wies in 3 Fällen Konzentrationen über  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  TS Oxytetracyclin auf. Es ist in diesem Fall davon auszugehen, dass der Biogasprozess gestört war und dass die Methangasausbeute vermindert war.

### 3.2.2 Enrofloxacin

Die Auswirkungen von Enrofloxacin-Konzentrationen in Biogasprozessen wurde unserem Wissen nach zum ersten Mal erhoben. Die Versuchsdurchführung erfolgte analog den Versuchen mit Chlortetracyclin. Die Ergebnisse waren fast deckungsgleich mit den Resultaten aus den Chlortetracyclin-Versuchen.

Auch bei Enrofloxacin sank die Methangasausbeute im ersten Versuch im Mittel um 28 % bei  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  TS. Die Streuung war aber bei diesen Versuchen höher als bei Chlortetracyclin und lag bei knapp 30 %. Daher war auch bei dieser Substanz erst ab einer Konzentration von  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  TS die Reduktion statistisch abgesichert. Im zweiten Versuch konnte schon eine signifikante Beeinflussung in der Methangasproduktion bei  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  TS festgestellt werden. Bezüglich der Auswirkungen auf den Biogasprozess können daher die gleichen Aussagen wie bei den Tetracyclinen getroffen werden.

Aufgrund der niedrigeren Konzentrationen in der Gülle sowie im Gärrückstand ist davon auszugehen, dass Enrofloxacin nicht im selben Ausmaß wie Oxytetracyclin für den Biogasprozess von Bedeutung ist. Die höchste Konzentration lag bei  $2,8 \text{ mg kg}^{-1}$  TS und lag somit deutlich unter den  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  TS, die zu einer Reduktion in der Produktion geführt haben. Es ist daher davon auszugehen, dass Enrofloxacin in diesen Fällen keine Auswirkungen auf die Anlagen besessen hat.

### *Reduktion des Methangasertrages*

## 3.3 Abbau der Antibiotika unter anaeroben Bedingungen

### 3.3.1 Abbauverhalten von Tetracyclinen (CTC bzw. OTC)

Die Ergebnisse in diesem Projekt waren zum Teil widersprüchlich in Bezug auf das Abbauverhalten von Tetracyclinen unter anaeroben Bedingungen. So konnten aufgrund der geringen wiedergefundenen Konzentrationen an Chlortetracyclin im ersten Laborversuch keine Aussagen über das Abbauverhalten im Fermenter getroffen werden. Die simulierte Nachgärung lässt aber vermuten, dass kein Abbau bei der Nachgärung stattgefunden hat, da die Konzentrationen

### *Ergebnisse der Laborversuche*

bei den eingefrorenen und den bei 8 °C gelagerten Proben gleich waren. Im zweiten Laborversuch zeigte sich ein deutlicher Abbau von etwa 50 % innerhalb von drei Tagen. Bei späteren Probenahmen konnte hingegen keine weitere Reduktion an Chlortetracyclin festgestellt werden, was auf einen Abbaustopp hinweist. Diese Beobachtung erfolgte durchgehend bei allen neun Versuchen mit drei verschiedenen Konzentrationsniveaus.

#### **Ergebnisse der Feldversuche**

Im Feldversuch konnte anhand der gefundenen Oxytetracyclin-Resultate auf das Abbauverhalten von Tetracyclinen in Biogasanlagen geschlossen werden. Der Vorteil des Feldversuches gegenüber den Laborversuchen besteht darin, dass Adsorptionen der Analyten an die Gefäßwände der Versuchsfermenter ausgeschlossen werden können. Aber auch im Feldversuch wurden unterschiedliche Ergebnisse ermittelt: So wurde in Anlage B Oxytetracyclin zu 100 % im Endprodukt Gärrückstand (Fermentation plus Nachgärung im Nachgärbecken) wiedergefunden. Das bedeutet, dass in dieser Anlage kein Abbau beobachtet werden konnte.

Im Gegensatz dazu steht die Anlage C, die zwar die höchsten Oxytetracyclin-Konzentrationen in den Gärresten aufwies, bei der aber die deutliche Reduktion an Oxytetracyclin während des Prozesses nicht mit eventuellen Verdünnungseffekten erklärt werden konnte. Auch unter Vernachlässigung der Verdünnung ergibt sich immer noch eine Oxytetracyclin-Reduktion von knapp 80 %.

Auch die internationale Literatur berichtet von äußerst widersprüchlichen Ergebnissen. So werden Halbwertszeiten von Tetracyclinen zwischen wenigen Tagen und über 100 Tagen beschrieben (ARIKAN et al. 2006, ARIKAN 2008, KÜHNE et al. 2009, WINCKLER & GRAFE 2000).

### **3.3.2 Abbauverhalten von Enrofloxacin**

#### **HWZ von Enrofloxacin 120 Tage**

Enrofloxacin zeigte sich bei beiden Laborversuchen als persistent in der Fermentationsphase. So wurden in beiden Versuchen die eingesetzten Mengen wiedergefunden. Hingegen konnte ein Abbau in der Nachgärung festgestellt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde eine Halbwertszeit für Enrofloxacin im Nachklärbecken errechnet. Sie betrug etwa 120 Tage, was auch mit den spärlichen Literaturdaten übereinstimmt.

Im Feldversuch konnten diese Ergebnisse nicht verifiziert werden. Einerseits waren die Güllekonzentrationen sehr gering und andererseits dürfte der Großteil der Enrofloxacin-Belastung in Anlage A vom eingesetzten Geflügelmist stammen. Somit konnte keine Bilanzierung erarbeitet oder ein Abbau berechnet werden.

Es zeigte sich aber, dass Enrofloxacin persistent sein muss, da auch geringe Konzentrationen im Gärrückstand zu geringen, aber nachweisbaren Konzentrationen im Boden geführt haben. Bei hohen Belastungen an Enrofloxacin in Biogasanlagen ist somit eine möglichst lange Nachgärphase von über 100 Tagen zu empfehlen.

### 3.3.3 Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen können daher folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

- Der Einsatz von Veterinärantibiotika sollte z. B. durch Förderung der Tiergesundheit soweit wie möglich minimiert werden.
- Im Falle eines erheblichen Antibiotikaeinsatzes im Tierbestand sollte der Wirtschaftsdünger (Gülle, Jauche, Festmist) nicht zur Vergärung in eine Biogasanlage gelangen.
- Bei Verwendung von Wirtschaftsdünger als Inputmaterial sollten auch andere Inputmaterialien eingesetzt werden, um die Konzentrationen an Antibiotikawirkstoffen zu verdünnen.
- Der Gärückstand sollte für längere Zeit (idealerweise > 100 Tage) gelagert werden, um den Eintrag von Arzneimittelstoffen in Böden zu minimieren.

## 4 LITERATURVERZEICHNIS

- AMT DER STEIERMÄRKISCHEN LANDESREGIERUNG (2009): Lysimeterstudie – Verhalten von Antibiotikawirkstoffen im Sickerwasser und Boden. Fachabteilung 17 C – Gewässeraufsicht. Ga 01-09.  
[http://www.umwelt.steiermark.at/cms/dokumente/10883102\\_38906880/f65c03f8/Lysimeterstudie.pdf](http://www.umwelt.steiermark.at/cms/dokumente/10883102_38906880/f65c03f8/Lysimeterstudie.pdf).
- ARIKAN, O. A.; SIKORA, L. J.; MULBRY, W.; KHAN, S. U.; RICE, C. & FOSTER, G. D. (2006): The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. *Process Biochemistry*, Vol. 41 (7): 1637–1643.
- ARIKAN, O. A.; (2008): Degradation and metabolization of chlortetracycline during the anaerobic digestion of manure from medicated calves. *Journal of Hazardous Materials* 158, 485–490.
- BLAC – Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit (2003): Arzneimittel in der Umwelt – Auswertung der Untersuchungsergebnisse. Bericht an die 61. Umweltministerkonferenz in Hamburg. [www.hu.hamburg.de](http://www.hu.hamburg.de).
- BOXALL, A. B. A.; KOLPIN, D. W.; HALLING-SØRENSEN, B. & TOLLS, J. (2003): Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environmental Science & Technology* August 1, 2003, 287 A-294 A.
- BOYLE, W.C., (1976): Energy recovery from sanitary landfills – a review. *Microbial Energy Conversion* 119–138. Oxford, Pergamon Press.
- FEDESA – Fédération Européenne de la Santé Animale (1999): Antibiotics for animals: A FEDESA perspective on antibiotics, animal health and the resistance debate. [www.fedesa.be](http://www.fedesa.be).
- GANS, O.; WEISS, S.; SITKA, A.; PFUNDTNER, E.; SCHEFFKNECHT, C. & SCHARF, S. (2008): Determination of selected veterinary antibiotics and quaternary ammonium compounds in digestates of biogas plants in Austria. In: *Proceedings: Compost and digestate: sustainability, benefits, impacts for the environment and for the plant production*. pp. 67–71.
- GRAFE, A. (2000): Untersuchungen zum Einsatz pharmakologisch wirksamer Stoffe in der Veredelungswirtschaft unter besonderer Berücksichtigung der Tetracycline. Cuvillier Verlag, Göttingen. 157 S.
- GREPMEIER, M.; (2002): Experimentelle Untersuchungen an einer zweistufigen fuzzy-geregelten anaeroben Abwasserreinigungsanlage mit neuartigem Festbettmaterial. Dissertation. Technische Universität München. [http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=967133629&dok\\_var=d1&dok\\_ext=pdf&filename=967133629.pdf](http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=967133629&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=967133629.pdf).
- GROTE, M.; SCHWAKE-ANDUSCH, C.; STEVENS, H.; MICHEL, R.; BETSCHE, T. & FREITAG, M. (2006): Antibiotika-Aufnahme von Nutzpflanzen aus güllegedüngten Böden – Ergebnisse eines Modellversuchs. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 1: 38–50.
- HALLING-SØRENSEN, B.; NORS NIELSEN, S.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; HOLTEN LÜTZHOFT, H.-C. & JORGENSEN, S. E. (1998): Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review. In: *Chemosphere*, 36 (2): 357–393.



- HAMSCHER, G.; SCZESNY, H.; NAU, H. (2001): Tetracycline and chlortetracycline residues in soil fertilized with liquid manure. In: *Landbauforschung Völkenrode. Livestock farming and the environment, Proceedings of workshop 4 on sustainable animal production. Sonderheft 226, ISBN 3-933140-53-6, 27–31.*
- HAMSCHER, G.; SCZESNY, S.; HÖPER, H.; NAU, H. (2002): Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilised with animal slurry by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 74 (7), 1509–1518.
- HEINRICH, H. (2004): Lust auf Lachs. *Natur & Kosmos* 01/2004.
- HENKELMANN, G. (2007): Chlortetracyclin und Sulfadiazin im Boden – Feld- und Lysimeterversuche. In: „Tierarzneimittel in der Umwelt“. Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie, Band 58, Oldenburg-Verlag. S. 105–114.
- HÖPER, H.; KUES, J.; NAU, H. & HAMSCHER, G. (2002): Eintrag und Verbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Böden. In: *Bodenschutz*, 4: 141–148.
- HOPFNER-SIXT, K. & AMON, T. (2007): Monitoring of agricultural biogas plants – mixing technology and specific values of essential process parameters. 15<sup>th</sup> European Biomass Conference & Exhibition Berlin, Germany, 7–11 May 2007.
- KLEIN-GOEDICKE, J. (2005): Arzneimitteleinsatz in der intensiven Tierhaltung. In: *Arzneimittel in der Umwelt. Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt. Umweltbundesamt (Hg.) Texte 29/05: 65–69.*
- KREUZIG, R.; HÖLTGE, S.; STEIN, F. & BATARSEH, M. (2007): Zum Rückstandsverhalten von Veterinärpharmaka in Gülle und Boden – Eine Herausforderung an Labortestsysteme. In: *Tierarzneimittel in der Umwelt. Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie, Band 58, Oldenburg-Verlag. S. 135–154.*
- KÜHNE M, IHNEN D, MÖLLER G, AGTHE O. (2000): Stability of tetracycline in water and liquid manure. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 47(6):379–84.
- KÜMMERER, K. (ed.) (2001): *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks.* 1<sup>st</sup> ed. Berlin: Springer.
- KUMAR, K.; GUPTA, S. C.; BAIDOO, S. K.; CHANDER, Y. & ROSEN, C. J. (2005): Antibiotic Uptake by Plants from Soil Fertilized with Animal Manure. *J. Environ. Qual.* 34: 2082–2085.
- LALLAI, A.; MURA, G. & ONNIS, N. (2002): The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresour. Technol.* 82 (2): 205–208.
- LINKE, I. & KRATZ, W. (2001): Tierarzneimittel in der Umwelt. In: *Studien und Tagungsberichte, Schriftenreihe des Landesumweltamtes Brandenburg. Landesumweltamt Brandenburg (Hg.), Band 29, Potsdam. S. 1–35.*
- MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; SITKA, A.; SCHARF, S.; GANS, O.; (2007): Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution*, 148, 570–579.
- MONFORTS, M.; KALF, D.; VAN VLAARDINGEN, P. & LINDERS, J. (1999): The exposure assessment for veterinary medicinal products. *The Science of the Total Environment* 225: 119–133.
- NAUMANN, C. & BASSLER, R. (1993): *Die chemische Untersuchung von Futtermitteln.* 3<sup>th</sup> ed. Darmstadt, VDLUFA-Verlag.

- NETTMANN, E.; BERGMANN, I.; KLOCKE, M.; (2008): Methanogene Archaea in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. In: Internationale Wissenschaftstagung Biogas Science 2009. Band 2, ISSN 1611-4159, 303-318.
- SANZ, J. L.; RODRÍGUEZ, N. & AMILS, R. (1996): The action of antibiotics on the anaerobic digestion process. *Applied Microbiology and Biotechnology* 45(5–6): 587–592.
- STONE, J.J.; CLAY, S. A.; ZHU, Z.; WONG, K. L.; PORATH, L. R.; SPELLMAN, G. M. (2009): Effect of antimicrobial compounds tylosin and chlortetracycline during batch anaerobic swine manure digestion. *Water Research* 43, 4740–4750.
- THEINER, J. (2008): Elemental C/H/N/S Analysis. Vienna, Microanalytical Laboratory, University of Vienna, Austria.
- THIELE-BRUHN, S. (2003): Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* 166: 145–167.
- UMWELTBUNDESAMT (2002): Zethner, G. & Humer, J.: Qualität von Abfällen aus Biogasanlagen. Monographien, Bd. M-0160. Umweltbundesamt, Wien.
- UMWELTBUNDESAMT (2005): Sattelberger, R.; Gans, O. & Martínez, E.: Veterinärantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. Berichte, Bd. BE-0272. Umweltbundesamt, Wien.
- VICH – International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (2000): Environmental Impact Assessment (EIAs) for Veterinary Medicinal Products (VMPs) – Phase I. VICH GL6, Ecotoxicity Phase I, Bruxelles, Belgium.
- WHO CENTRE VPH – World Health Organisation Collaborating Centre For Research and Training in Veterinary Public Health (2001): Sach- und Ergebnisbericht 2001. [http://www.tihohannover.de/einricht/who/allgemeines/jahresberichte/bericht\\_2001\\_of.pdf](http://www.tihohannover.de/einricht/who/allgemeines/jahresberichte/bericht_2001_of.pdf).
- WINCKLER, C. & GRAFE, A. (2000): Charakterisierung und Verwertung von Abfällen aus der Massentierhaltung unter Berücksichtigung verschiedener Böden. In: Umweltbundesamt (Hg.). 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 (Hg.), Band 44/00, Berlin.

### Rechtsnormen und Leitlinien

- VO 2377/90/EWG: Verordnung des Rates zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelreste in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs.



Umweltbundesamt GmbH  
Spittelauer Lände 5  
1090 Wien/Österreich

Tel.: +43-(0)1-313 04  
Fax: +43-(0)1-313 04/5400

[office@umweltbundesamt.at](mailto:office@umweltbundesamt.at)  
[www.umweltbundesamt.at](http://www.umweltbundesamt.at)

Arzneimittelwirkstoffe, insbesondere Antibiotika, werden in der Nutztierhaltung in beachtlichen Mengen eingesetzt und sind auch im Wirtschaftsdünger wiederzufinden. Bei Einsatz dieser Dünger in Biogasanlagen können diese Wirkstoffe den Abbauprozess und die Biogas- bzw. Methangasbildung beeinflussen. Das Umweltbundesamt untersucht in diesem Bericht das Verhalten von Antibiotikawirkstoffen in Biogasanlagen und deren Auswirkungen auf den Fermentationsprozess. Auch Böden, die mit Gärrückständen aus diesen Anlagen gedüngt wurden, wurden analysiert.

Es zeigt sich, dass mit Antibiotika belastete Wirtschaftsdünger den Biogasprozess stören und die Methangasproduktion bereits bei Wirkstoffkonzentrationen von unter 50 mg/kg verringert wird. Auch in den mit Gärrückständen gedüngten Böden wurden diese Arzneimittelwirkstoffe gefunden.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Publikationen des Umweltbundesamtes, Wien](#)

Jahr/Year: 2010

Band/Volume: [REP\\_287](#)

Autor(en)/Author(s): Gans Oliver, Pfundtner Erwin, Winckler Christoph, Bauer Alexander

Artikel/Article: [Antibiotika in Biogasanlagen. Abbauverhalten und Einfluss auf die Biogasproduktion. 1-48](#)