

4

DAS ANTIDIABETIKUM METFORMIN UND SEIN METABOLIT GUANYLHARNSTOFF – VORKOMMEN UND BEDEUTUNG FÜR DIE TRINKWASSERVERSORGUNG

Marco Scheurer, Frank Sacher

DVGW-Technologiezentrum Wasser

Karlsruher Straße 84

76139 Karlsruhe

4.1 Einleitung

Seit fast zwei Jahrzehnten beschäftigt sich die Wissenschaft mit dem Vorkommen von Arzneimittelrückständen im Wasserkreislauf. In zahlreichen Studien wurden der Eintrag, das Verhalten und die Auswirkungen verschiedenster Wirkstoffe und ihrer Metaboliten und Transformationsprodukte detailliert untersucht. Dennoch gibt es immer wieder Wirkstoffe, die bislang nur wenig Beachtung gefunden haben, obwohl ihre Verordnungsmengen vergleichsweise hoch sind. Ein Beispiel für einen solchen Wirkstoff ist Metformin. Metformin ist ein Biguanid, das zur therapeutischen Klasse der Antidiabetika gehört. Der Wirkstoff wird oral verabreicht und unverändert wieder ausgeschieden.

Wie ein Blick in den jährlich erscheinenden Arzneiverordnungs-Report zeigt, haben die Verordnungsmengen für Metformin in Deutschland in den letzten Jahren stark zugenommen (Bild 4.1). In den letzten 10 Jahren war eine Verdreifachung der verschriebenen Tagesdosen zu verzeichnen und inzwischen werden jährlich in Deutschland mehr als 550 Millionen Dosen verordnet [1], was bei einer mittleren Tagesdosis von etwa 2 g [2] eine Verordnungsmenge von mehr als 1000 t pro Jahr ergibt. Ein Vergleich mit den jährlichen Verordnungsmengen anderer Arzneimittelwirkstoffe belegt die herausgehobene Stellung von Metformin (Tabelle 4.1).

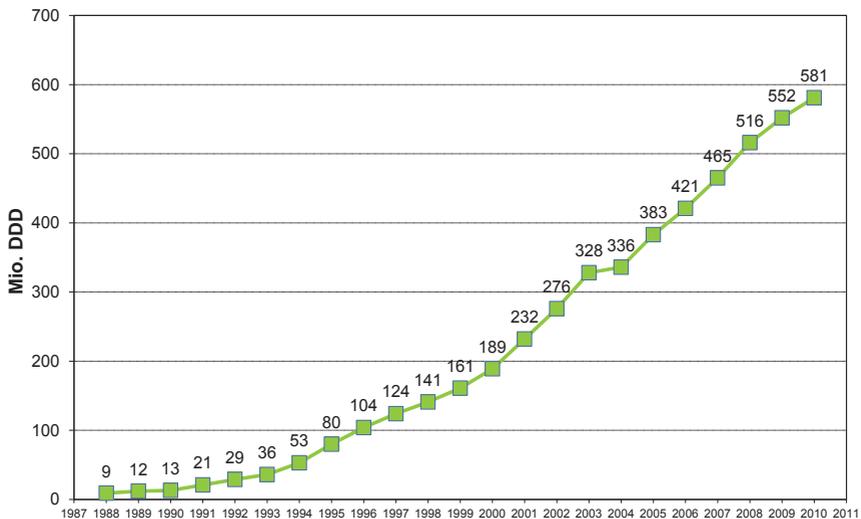


Bild 4.1: Jährliche Verordnungsmengen für Metformin in Deutschland (Daten aus [1])

Tabelle 4.1: Jährliche Verordnungsmengen verschiedener Arzneimittelwirkstoffe in Deutschland (berechnet anhand von Daten aus [1] und [2])

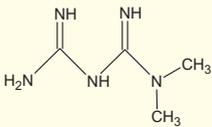
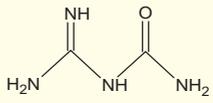
Wirkstoff	Jährliche Verordnungsmenge (t/a)
Atenolol	4,6
Bisoprolol	6,3
Metoprolol	131
Diclofenac	45
Fluoxetin	0,9
Carbamazepin	54
Metformin	1160

Vor dem Hintergrund der hohen Verordnungsmengen ist es nicht verwunderlich, dass die wenigen Messwerte, die für Metformin in Kläranlagenzuläufen bislang vorliegen, bis zu 94 µg/L in Belgien und 129 µg/L in Deutschland betragen [3, 4]. In den untersuchten deutschen Kläranlagen konnte dabei während der biologischen Abwasserreinigung eine Elimination von ca. 90% für Metformin beobachtet werden [3]. Als einziges stabiles Biotransformationsprodukt von Metformin wurde in einer kürzlich erschienenen Studie Guanylharnstoff identifiziert [5]. Da es sich sowohl bei Metformin als auch bei Guanylharnstoff um sehr polare Verbindungen handelt, kann eine Trinkwasserrelevanz nicht generell ausgeschlossen werden. Aus diesem Grund wurden am TZW umfangreiche Untersuchungen zum Vorkommen und Verhalten beider Verbindungen in der aquatischen Umwelt und während der Trinkwasseraufbereitung durchgeführt [6]. Die wesentlichen Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen im Folgenden kurz zusammengefasst werden.

4.2 Analytik von Metformin und Guanylharnstoff

Zur Aufreinigung der Proben und zur Anreicherung von Metformin und Guanylharnstoff wird eine Festphasenanreicherung mit einem schwachen Kationenaustauschermaterial eingesetzt. Mit der Anreicherung von nur 10 mL Probe werden mit diesem Verfahren Bestimmungsgrenzen aus Oberflächen-, Grund- und Trinkwässern von 0,01 µg/L für Metformin und 0,05 µg/L für Guanylharnstoff erreicht. Für die anschließende Analyse der Zielverbindungen hat sich die Kopplung aus einer flüssigchromatographischen Trennmethode mit einem massenspektrometrischen Detektionssystem durchgesetzt. Zur Retention der meisten organischen

Verbindungen wird heute die Umkehrphasenchromatographie eingesetzt, bei der die Auftrennung durch unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen Analyten und stationärer Phase erreicht wird. Dabei eluieren bei einer kontinuierlichen Erhöhung des Anteils an organischem Lösemittel sehr polare Analyte ohne ausreichende Retention als erstes von der Säule. Dies führt oftmals zu einer unerwünschten Koelution mit Matrixbestandteilen und einer entsprechenden Signalunterdrückung der Zielsubstanzen bei der massenspektrometrischen Detektion. Bei sehr polaren Verbindungen wie Metformin und Guanylharnstoff (siehe Bild 4.2), die quasi keine Retention auf Umkehrphasen aufweisen, steht als Alternative die hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC) zur Verfügung. Hier werden polare stationäre Phasen verwendet, auf deren Oberfläche sich zusätzlich eine Puffer- oder Wasserschicht befindet, in die die polaren Verbindungen migrieren können und so retardiert werden.

	Metformin	Guanylharnstoff
Strukturformel		
Summenformel	$C_4H_{11}N_5$	$C_2H_6N_4O$
Molekulgewicht in g/mol	129,2	102,1

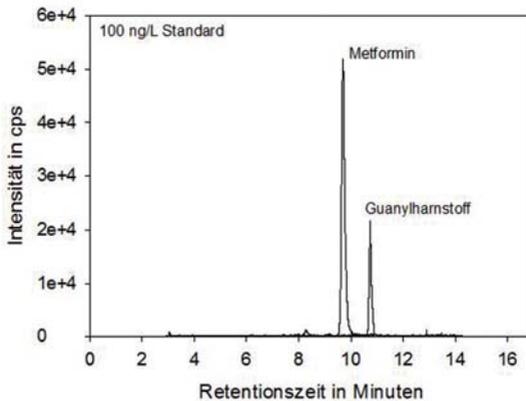


Bild 4.2: Struktur- und Summenformel von Metformin und Guanylharnstoff (oben) und Chromatogramm eines 100 ng/L Standards (unten)

4.3 Verhalten von Metformin und Guanylharnstoff in Kläranlagen

Zunächst wurde in fünf kommunalen Kläranlagen in Süddeutschland das Verhalten von Metformin und Guanylharnstoff während der Abwasserreinigung untersucht. Die Konzentrationen für Metformin im Kläranlagenzulauf stimmen gut mit den wenigen zuvor gemessenen Werten überein und betragen bis zu 100 µg/L (Tabelle 4.2). Die vergleichsweise geringen Metformin-Konzentrationen im Zulauf der Kläranlagen 3 und 4 sind auf eine Verdünnung auf Grund starker Regenfälle, die zu einer Verdoppelung des Trockenwetterabflusses führten, zurückzuführen. Die Extrapolation der Zulaufkonzentrationen aus den Einwohnergleichwerten der jeweiligen Kläranlagen auf die Gesamtbevölkerung in Deutschland ergibt mit 370 t/a bis 897 t/a Werte, die in der gleichen Größenordnung liegen wie die für Deutschland errechnete Verschreibungsmenge von 1100 t pro Jahr [6]. Dies belegt zum einen die Plausibilität der Messergebnisse und zeigt zum anderen, dass Metformin im menschlichen Körper tatsächlich keine Veränderung erfährt. In jeder der untersuchten Kläranlagen, die nach dem klassischen Belebtschlammverfahren arbeiten, konnte eine gute Entfernung von Metformin beobachtet werden. Auf Grund der hohen Zulaufkonzentrationen lagen die Konzentrationen in den Abläufen jedoch immer noch zwischen 1 und 10 µg/L.

Die Entfernung von Metformin in Kläranlagen ist wie bei den meisten organischen Spurenstoffen jedoch nicht mit einer Mineralisation gleichzusetzen, sondern bedeutet vielmehr eine Transformation in eine andere organische Verbindung. Im Falle von Metformin wird als Transformationsprodukt des biologischen Abbaus Guanylharnstoff gebildet. Insbesondere in den Kläranlagen 2 bis 5 korrelierten die Metformin-Konzentrationen im Zulauf sehr gut mit den Guanylharnstoff-Konzentrationen in den Abläufen. In Kläranlage 1 ist die Korrelation der gemessenen Konzentrationen nicht so gut, was anhand der derzeit vorliegenden Informationen nicht abschließend erklärt werden kann. Es ist grundsätzlich möglich, dass Guanylharnstoff entweder bei längeren Aufenthaltszeiten ebenfalls einem biologischen Abbau unterliegt, teilweise aufgrund seines kationischen Charakters an Belebtschlamm adsorbiert oder analytisch in dieser Matrix nicht vollständig erfasst werden konnte.

Tabelle 4.2: Konzentrationen von Metformin und Guanylharnstoff in den Zu- und Abläufen von fünf kommunalen Kläranlagen (KA) (Daten aus [6])

	Durchfluss in m ³ /d	Zulauf- konzentra- tionen in µg/L	Ablauf- konzentra- tionen in µg/L	Metformin- Elimina- tion in %	Einleitung in Vorfluter in g/d
KA 1					
Metformin	70.000	82	10	88	700
Guanylharnstoff		< 0,25	29	-	2.000
KA 2					
Metformin	3.290	105	2,7	97	9,0
Guanylharnstoff		3,0	99	-	330
KA 3					
Metformin	28.540	42	2,1	95	60
Guanylharnstoff		< 2,5	56	-	1.600
KA 4					
Metformin	6.250	37	1,3	96	8
Guanylharnstoff		< 2,5	44	-	280
KA 5					
Metformin	151.200	18	1,3	93	200
Guanylharnstoff		< 0,25	18	-	2.700

4.4 Vorkommen von Metformin und Guanylharnstoff in Oberflächengewässern

Um ein detaillierteres Bild über das Vorkommen von Metformin und Guanylharnstoff in Oberflächengewässern zu erhalten, wurden über einen Zeitraum von sechs Monaten regelmäßig Proben aus Rhein, Neckar, Donau, Ruhr und Main sowie einigen kleineren Fließgewässern auf diese beiden Verbindungen analysiert. Für die größeren Flüsse wurden Metformin-Konzentrationen zwischen 0,22 und 1,2 µg/L, für kleinere stark abwasserbelastete Bäche wie Körsch oder Schwarzbach auch mehr als 2 µg/L gemessen (Bild 4.3). Wie für abwasserbürtige Stoffe typisch, steigen die Konzentrationen im Längsverlauf der Flüsse durch die Erhöhung des Abwasseranteils an. Mit Ausnahme des Neckars, bei dem im Längsverlauf eine Abnahme der Gehalte zu beobachten ist, folgen die Guanylharnstoff-Konzentrationen diesem Muster, jedoch auf einem höheren Kon-

zentrationsniveau. Interessant sind die starken Schwankungen des Verhältnisses der beiden Verbindungen untereinander, das sich in einer Spanne zwischen 2,4 und 28 bewegt (Bild 4.4). Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung sind unterschiedliche Behandlungstechniken in einzelnen Kläranlagen, die entweder zu einer unterschiedlichen Umwandlungsrate von Metformin zu Guanylharnstoff führen oder aber einen unterschiedlichen Rückhalt für Guanylharnstoff zur Folge haben. Zudem ist eine unterschiedliche abiotische und biologische Stabilität beider Verbindungen in den Gewässern denkbar. Hier sind weitere Untersuchungen notwendig, um den Sachverhalt aufzuklären.

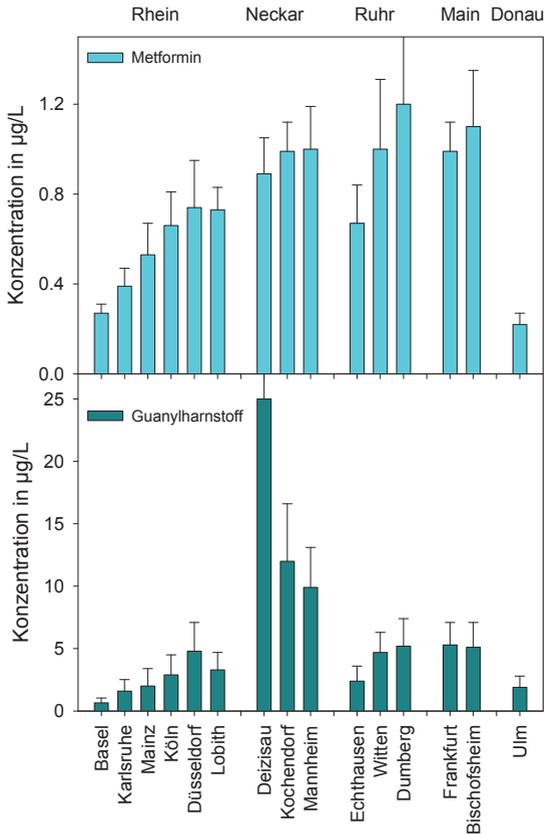


Bild 4.3: Mittlere Konzentrationen an Metformin und Guanylharnstoff in deutschen Fließgewässern; n = 5 bis 10 je nach Probenahmestelle

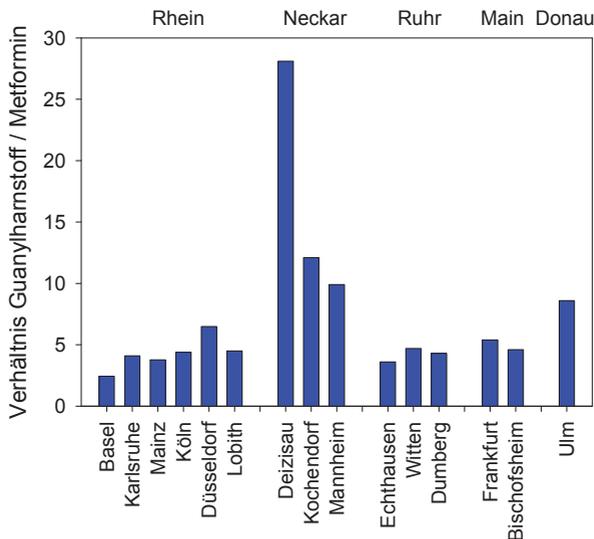


Bild 4.4: Verhältnis der mittleren Konzentrationen an Metformin und Guanylharnstoff in deutschen Fließgewässern

4.5 Verhalten von Metformin und Guanylharnstoff bei der Trinkwasseraufbereitung

Um Informationen über das Verhalten von Metformin und Guanylharnstoff bei der Trinkwasseraufbereitung zu erhalten, wurden verschiedene Aufbereitungsverfahren unter definierten Laborbedingungen getestet. In einem Testfilterversuch mit Rheinwasser, das bereits etwa $1 \mu\text{g/L}$ an Metformin und Guanylharnstoff enthielt, wurde das Verhalten von Metformin bei der aeroben Uferfiltration simuliert [7]. Hierzu wurde ein 10 L-Batchansatz mit weiteren $2 \mu\text{g/L}$ Metformin dotiert, belüftet und abgedunkelt. Nach einer anfänglichen Adaptationsphase wurde Metformin nach etwa 45 Tagen fast vollständig abgebaut (Bild 4.5). Gleichzeitig war ein Anstieg der Guanylharnstoff-Konzentrationen zu beobachten. Nach 46 Tagen wurde der Versuchsansatz erneut mit Metformin dotiert. Diesmal fand die Transformation von Metformin zu Guanylharnstoff deutlich schneller statt, was die These einer Adaptation von Mikroorganismen unterstützt. In einem zweiten Testfilteransatz

mit Guanylharnstoff konnte kein Abbau der dotierten Substanz innerhalb der Versuchslaufzeit von 43 Tagen beobachtet werden.

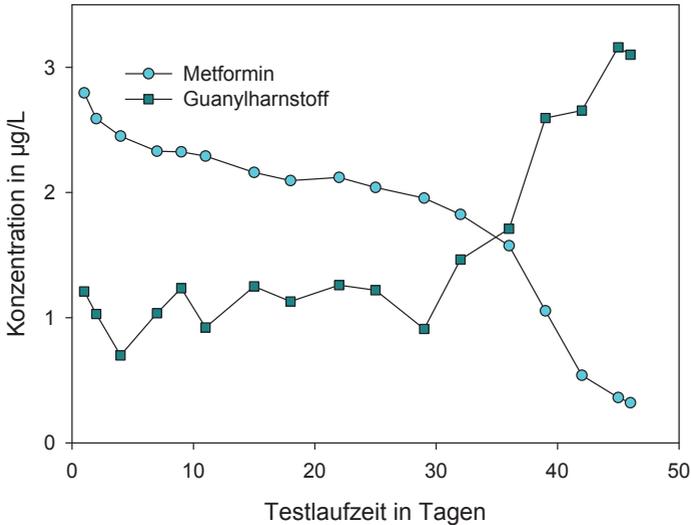


Bild 4.5: Abbau von Metformin in einem Testfilterversuch zur Simulation der aeroben Uferfiltration (Grundbelastung des verwendeten Rheinwassers an Metformin und Guanylurea: jeweils 1 µg/L, dotierte Metformin-Konzentration: 2 µg/L an Tag 0 (Daten aus [6])

Flockungsexperimente mit Eisen- und Aluminiumsalzen in verschiedenen Konzentrationen bis zu 15 mg/L erwiesen sich als ungeeignet, um Metformin und Guanylurea aus Trinkwasser oder Rheinwasser zu entfernen. Selbst bei den höchsten Gehalten an Flockungsmittel konnten maximal 5% der Ausgangskonzentrationen entfernt werden [6].

Ozonungsexperimente in Trinkwasser bei Stoffkonzentrationen von 1 µg/L ergaben für beide Verbindungen Halbwertszeiten von ca. 30 min bei einer Ozonkonzentration von 1 mg/L und von ca. 60 min bei einer Ozonkonzentration von 0,5 mg/L [6]. Der genaue Mechanismus der Oxidationsreaktionen wurde bei diesen Laborexperimenten ebenso wenig untersucht wie die mögliche Bildung von Transformationsprodukten.

Zur Beurteilung der Effektivität einer Aktivkohlefiltration für die Entfernung von Metformin wurde ein Kleinfiltertest herangezogen [8]. Bewertungskriterium für die Trinkwassergängigkeit eines organischen Spurenstoffs ist hierbei ein 10%iger Durchbruch innerhalb von 15.000 Bettvolumina einer Aktivkohlekartusche. Für Metformin wurde in diesen Experimenten ein 90%iger Durchbruch nach nur 1.250 Bettvolumina beobachtet, was selbst im Vergleich mit anderen schlecht adsorbierbaren und trinkwassergängigen Substanzen wie Amidotrizoesäure oder Acesulfam als sehr rasch einzustufen ist. Da es sich bei Guanylarnstoff um eine ähnlich polare Verbindung wie Metformin handelt, kann davon ausgegangen werden, dass ein ähnlich rascher Durchbruch erfolgt. Beide Verbindungen sind nach diesen Ergebnissen als trinkwasserrelevant einzustufen.

Neben den Laborversuchen wurde das Verhalten von Metformin und Guanylarnstoff im Verlauf der Aufbereitung durch Messungen in drei Wasserwerken untersucht, die von Oberflächenwasser beeinflusstes Rohwasser zur Trinkwasserproduktion nutzen. Die Wasserwerke wurden über einen Zeitraum von zehn Wochen regelmäßig an verschiedenen Stellen der Aufbereitung beprobt und decken die wichtigsten in Deutschland eingesetzten Aufbereitungstechniken ab.

Exemplarisch ist in Bild 4.6 das Verhalten von Metformin und Guanylarnstoff in einem der untersuchten Wasserwerke dargestellt. Die Konzentrationen im Fließgewässer lagen bei 1 µg/L und 4 µg/L für Metformin bzw. Guanylarnstoff. Die mittlere Elimination nach der Flockungs- und Filtrationsstufe lag bei 56% für Metformin und bei 29% für Guanylarnstoff. Da die Flockung sich in den Laborexperimenten als ungeeignet zur Entfernung der beiden Spurenstoffe erwiesen hat, ist ein Konzentrationsrückgang im nachfolgenden Filter wahrscheinlich. Der Filter ist allerdings nicht für einen adsorptiven Rückhalt konzipiert, so dass ein biologischer Abbau angenommen werden kann. Bei der nachfolgenden Aktivkohlefiltration wurde Metformin kaum zurückgehalten, während die Konzentration von Guanylarnstoff im Mittel um 68% im Vergleich zum Filterzulauf reduziert wurde. Die Aktivkohlefiltrationseinheit besteht aus mehreren Filtern, von denen die Hälfte der Filter in einem etwa halbjährlichen Rhythmus regeneriert wird. Eine biologische Aktivität in den oberen Schichten der Aktivkohle ist somit wahrscheinlich. Nach der Aktivkohlefiltration wird das Wasser einer künstlichen Grundwasseranreicherung zugeführt, die sich als sehr geeignet erwies, die Restkonzentrationen an beiden Stoffen aus dem Wasser zu entfernen. Im Beobachtungsbrunnen

konnte bei keiner der acht Beprobungen Metformin oder Guanylharnstoff nachgewiesen werden.

In allen untersuchten Wasserwerken zeigte sich, dass eine Untergrundpassage eine hervorragende Option zur Elimination von Metformin und seinem Metaboliten darstellt. In den Wasserwerken, die Uferfiltrat aus dem Rhein zur Trinkwasserproduktion nutzen, konnte im Rohwasser kein Positivbefund verzeichnet werden [6].

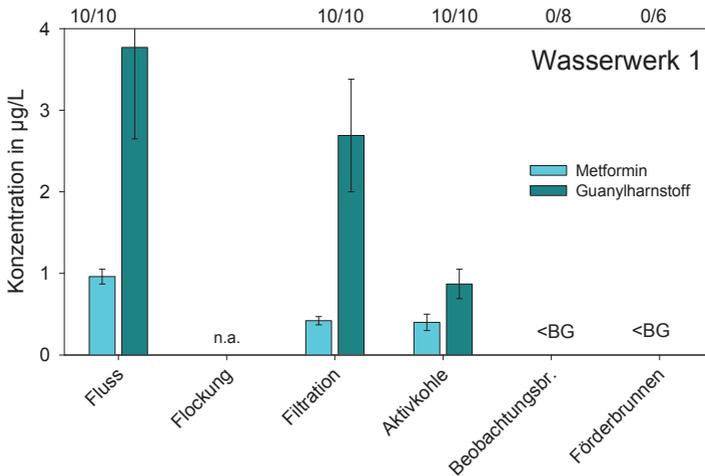


Bild 4.6: Konzentrationen von Metformin und Guanylharnstoff in Wasserwerk 1 (die Zahlen über der Probenahmestelle geben die Anzahl der Analysen und Positivbefunde an; BG: Bestimmungsgrenze; n.a.: nicht analysiert)

4.6 Zusammenfassung

Metformin ist ein Antidiabetikum, das sich durch extrem hohe Verordnungsmengen auszeichnet. Es wird während der biologischen Abwasserbehandlung in Kläranlagen zu Guanylharnstoff abgebaut. Beide Verbindungen gelangen in vergleichsweise hohen Konzentrationen in die Vorfluter. Im Ablauf kommunaler Kläranlagen liegen die Gehalte üblicherweise im unteren µg/L-Bereich für Metformin und bei mehreren Dutzend µg/L für Guanylharnstoff. Die Konzentrationen in ab-

wasserbeeinflussten Oberflächengewässern korrelieren mit dem Abwasseranteil und bewegen sich insbesondere für Guanylharnstoff in einer Größenordnung, wie sie nur für sehr wenige andere organische Spurenstoffe bekannt ist. Der Einsatz als Abwassermarkierungsstoffe erscheint denkbar. Hohe Metformin-Konzentrationen können unbehandeltes Abwasser anzeigen. Gleichzeitig auftretende geringe Metformin- und hohe Guanylharnstoff-Konzentrationen sind ein Hinweis auf behandeltes Abwasser.

Bei einem Monitoringprogramm an drei deutschen Wasserwerken stellte sich eine Bodenpassage als effektivster Aufbereitungsschritt für die Entfernung von Metformin und Guanylharnstoff heraus. Ein Auftreten von Metformin und Guanylharnstoff im Trinkwasser ist deshalb nur zu erwarten, wenn oberflächenwasserbeeinflusstes Rohwasser ohne Untergrundpassage zu Trinkwasser aufbereitet wird.

Literatur

- [1] K. Mengel: Antidiabetika. In: U. Schwabe, D. Paffrath (Hrsg.): Arzneiverordnungs-Report 2010. S. 343-365. Springer, Berlin Heidelberg (2011)
- [2] Weltgesundheitsorganisation (WHO): ATC/DDD Index 2012 <http://www.whooc.no/atcddd/>. (zuletzt abgerufen am 18.07.2012)
- [3] M. Scheurer, F. Sacher, H.-J. Brauch: Occurrence of the antidiabetic drug metformin in sewage and surface waters in Germany. *J. Environ. Monit.* 11, 1608-1613 (2009)
- [4] A. L. N. van Nuijs, I. Tarcomnicu, W. Simons, L. Bervoets, R. Blust, P. G. Jorens, H. Neels, A. Covaci: Optimization and validation of a hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of 13 top-prescribed pharmaceuticals in influent wastewater. *Anal. Bioanal. Chem.* 398, 2211-2222 (2010)
- [5] C. Trautwein, K. Kümmerer: Incomplete aerobic degradation of the antidiabetic drug Metformin and identification of the bacterial dead-end transformation product Guanylurea. *Chemosphere* 85, 765-773 (2011)
- [6] M. Scheurer, A. Michel, H.-J. Brauch, W. Ruck, F. Sacher: Occurrence and fate of the antidiabetic drug metformin and its metabolite guanylurea in the

environment and during drinking water treatment. *Water Res.* 46, 4790-4802 (2012)

- [7] F. Karrenbrock, T. P. Knepper, F. Sacher, K. Lindner: Entwicklung eines standardisierten Testfilters zur Bestimmung der mikrobiellen Abbaubarkeit von Einzelsubstanzen. *Vom Wasser* 92, 361-371 (1999)
- [8] P. Marcus: Entwicklung und Validierung eines Labor-Schnelltests zur Beurteilung der Adsorbierbarkeit von organischen Einzelstoffen an Aktivkohle. Dissertation Universität Dresden 2005

