Umweltverhalten und Ökotoxikologie von gadoliniumhaltigen Magnetresonanztomographie-Kontrastmitteln

von Diplom-Ingenieurin Claudia Neubert aus Berlin

von der Fakultät III – Prozesswissenschaften Institut für Technischen Umweltschutz der Technischen Universität Berlin zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Ingenieurwissenschaften - Dr.-Ing. -

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzende:	Prof. Dr. Andrea Hartwig
Gutachter:	Prof. Dr. Wolfgang Rotard
Gutachter:	Priv. Doz. Dr. Günter Gunkel

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 8. Juli 2008

...kein Mensch kann das Walten ergründen, das sich vollzieht unter der Sonne. Wie sehr auch der Mensch sich müht, es zu erforschen, er kann es doch nicht ergründen. Und wenn auch der Weise es zu erkennen vermeint, er kann es doch nicht ergründen... (Prediger 8, 17)

DANKESCHÖN

FOGO*freundliche Unterstützung*Heiner Brand*Fr.Baumgart*Jana Z *Zuverlässigkeit*Dr.Gunkel*Mirco*Spülküche*Diskussionsbereitschaft*GMV*Kritik*Dr.Hartwig*Schokolade*Dr.Kalnowski* Betreuung*Prof.Rotard*Rat und Tat*Jan*bestellen*Witze*Olli* Spaß*Laborkleidung*Dani S.*Zentrifuge*Dr.Frenzel* Helge Schneider*GLP*Dr.Länge*Pumpen*Schutzbrille*Science direct *Dani K.*Dr.Steger-Hartmann*Hilfe*Dr.Schweinfurth*Hr. Rösner *SigmaPlot*ertragen*Ulrike*HPLC/UV*Thomas*Marco*ISL* Nicole*Jana L.*ICP/AES*Dr.Kurvinen*Uli*Karen*Hr.Reschke*Birgit *Olaf*Mama*ICP/MS*Dr.Tschampel*Papa*Ananas-Drops* Zo-kun*Kantine*Korrektur lesen*Stipendium*Nero*Wahnsinn *Literatur*Bayer Schering Pharma AG*Dr.Lopez*lecker Tee*Rita* zuhören*Poststelle*Fische*Mittagessen-Runde*Reinhold* OrgaLab GmbH*ServiceCenter*Uschi*Formulare*Google

Kurzfassung

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist ein wichtiges Instrument in der non-invasiven Diagnostik. Um die Spezifität und Sensivität der Diagnose zu erhöhen, wurden in den letzten Jahren weltweit zahlreiche MRT-Kontrastmittel von verschiedenen pharmazeutischen Herstellern entwickelt. Gadolinium (Gd), ein Vertreter der Seltenerden (Lanthanoide), ist das am häufigsten eingesetzte Metall in diesen Kontrastmitteln. Sein Ion hat paramagnetische Eigenschaften (sieben ungepaarte Elektronen) und eine sehr lange Relaxationszeit. Aufgrund seiner Toxizität kann das Gd-Ion jedoch nur in komplexierter Form appliziert werden. Im Allgemeinen werden für die Komplexierung polyamino-polycarboxylische Liganden wie z.B. Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) verwendet. Wegen der außergewöhnlichen Stabilität der sehr hydrophilen Chelate und dem fehlenden Metabolismus im menschlichen Körper werden die Kontrastmittel nach der Applikation quantitativ und unverändert überwiegend mit dem Urin ausgeschieden und gelangen über das Abwasser in die aquatische Umwelt. Verschiedene Studien zeigten, dass es in Grund- und Oberflächengewässern, die mit Abwasser aus Kläranlagen gespeist wurden, zu erhöhten Gd-Konzentrationen im Vergleich zu Gewässern, in die kein Abwasser eingeleitet wurde, kam. Diese Beobachtung wurde als Gd-Anomalie bezeichnet. Es wird vermutet, dass die Gd-Anomalie ihren Ursprung in der Verwendung der MRT-Kontrastmittel hat.

Welche Auswirkungen letztere auf aquatische Organismen haben und wie sich die Chelate in der aquatischen Umwelt verhalten, wurde bis 2006 nicht ausführlich untersucht. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit zunächst die akute Toxizität verschiedener MRT-Kontrastmittel mit Fischen, Wasserflöhen und Algen bei hohen Konzentrationen untersucht. Zudem wurden chronische Toxizitätstests mit Fischen und Wasserflöhen durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Gd-Chelate in umweltrelevanten Konzentrationen nicht toxisch auf die getesteten Organismen wirkten. Bei hohen Konzentrationen trat jedoch eine Wachstumshemmung von Algen auf. Das Umwelt- und Abbauverhalten der MRT-Kontrastmittel wurde zum Einen mit Hilfe einer Modellkläranlage und zum Anderen unter Verwendung eines Wasser/Sediment Systems simuliert. Die Gd-haltigen Chelate wurden weder biologisch abgebaut noch im Sediment angereichert. Die Flockung mit FeCl₃ verursachte einen Verlust der Komplexstabilität. Bei einem Versuch zur Bioakkumulation wurde Gd im Gewebe von Fischen in geringen Konzentrationen nachgewiesen. Da außerdem wenig über die Ökotoxizität und das Umweltverhalten von freiem Gd bekannt war, wurden auch mit GdCl₃ x 6 H₂O bzw. GdCl₃ x H₂O verschiedene Studien zur aquatischen Toxizität, zur Bioakkumulation und zum Verhalten in aquatischem Sediment durchgeführt. Freies Gd wirkte im geprüften Konzentrationsbereich toxisch auf Wasserflöhe und Algen, jedoch nicht auf Fische. Es reicherte sich sowohl in Fischen als auch im Sediment an. Außerdem bestätigte sich die in der Literatur erwähnte geringe Wasserlöslichkeit des Lanthanoids.

Abstract

Magnetic resonance imaging (MRI) is an essential tool in noninvasive diagnostics. In order to improve the sensitivity and specificity of diagnoses, several contrast enhancing agents have been developed in the last few decades by various pharmaceutical manufacturers. Gadolinium (Gd), a lanthanide, is the most widely used metal in MRI contrast agents. Its ion has paramagnetic properties (seven unpaired electrons) and a very long electronic relaxation time. Due to the toxicity of free Gd, clinical use is only possible in a complexed form. Commonly used chelating agents are polyamino-polycarboxylic ligands such as DTPA. Due to the exceptional stability of these highly hydrophilic chelates and the lack of human metabolism, the contrast media are quantitatively excreted unchanged after the administration, and are subsequently emitted into the aquatic environment. Several studies have shown notable increases in Gd concentrations in surface or groundwaters receiving sewage effluents, an observation which has been termed "Gd anomaly". The Gd anomaly results from the use of MRI contrast agents for which the most significant entry route is the effluent from wastewater treatment works.

Relatively little information on the aquatic toxicity of Gd or Gd-chelates has been published up to 2006. Therefore, in a first step, the acute aquatic toxicity of several MRI contrast agents was investigated in fish, daphnia and algae at high concentrations. Furthermore, chronic toxicity tests on fish and daphnia were conducted. The results showed that contrast enhancing agents containing Gd have no toxic effects on the tested organisms at concentrations being of relevance to the environment. At high concentrations growth inhibition of green algae was observed. The environmental fate and the biological degradation of the contrast media was studied in a model wastewater treatment plant and in aquatic sediment systems. The test compounds were neither biodegradable in the treatment plants nor in the sediment. Additionally, the contrast agents did not accumulate in the sediment. Flocculation with FeCl₃ caused a loss of stability of the Gd-complexes. In a study on the bioaccumulation of the contrast agents marginal concentrations of Gd were detected in fish.

To further investigate the toxic potential and the environmental fate of free Gd, studies on the aquatic toxicity, the bioaccumulation potential and the distribution in aquatic sediment systems were performed with $GdCl_3 \times 6 H_2O$ and $GdCl_3 \times H_2O$, respectively. Gd caused adverse effects in daphnia and algae but was not toxic to fish. Accumulation was observed in fish and sediment. Furthermore, the little water solubility of the lanthanide in natural water was confirmed.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassu	ng	4
Abstract		5
Inhaltsverz	zeichnis	6
1	Einleitung	9
2	Theoretische Grundlagen	11
2.1	Grundlagen der MRT	11
2.2	Gd-Komplexe	13
2.3	Stabilität	17
2.4	Ökotoxikologie	21
2.5	Umweltverhalten	22
3	Methoden	31
3.1	Chemikalien	32
3.2	Ökotoxikologische Untersuchungen	34
3.2.1	Algenwachstumshemmtest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadoteridol,	
	Gadodiamid und GdCl ₃ x 6 H_2O	34
3.2.2	Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäu	ire
	und GdCl ₃ x 6 H_2O	35
3.2.3	Akuter Toxizitätstest von Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol,	
	Gadodiamid, Gadoteridol und GdCl ₃ x 6 H_2O am Fisch	36
3.2.4	Reproduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure,	
	Gadobutrol, Gadoteridol, Gadodiamid und $GdCl_3 \times 6 H_2O$	37
3.2.5	Bioakkumulationstest am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und	
	GdCl ₃ x H ₂ O	38
3.3	Untersuchungen zum Umweltverhalten	40
3.3.1	Flockungsversuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure in entsalztem Wasser	und
	Leitungswasser sowie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in	der
	Modellkläranlage	40
3.3.2	Biologische Abbaubarkeit von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutro	ol in
	Modellkläranlagen	41
3.3.3	Aerobe Transformation im aquatischen Sediment mit Dimeglumin-	
	Gadopentetsäure und GdCl $_3$ x 6 H $_2$ O	45
3.4	Gehaltsanalytik	48
3.4.1	Gehaltsanalytik mittels HPLC-UV	48
3.4.2	Gehaltsanalytik mittels ICP-MS, ICP-AES	49

4			Ergebnisse	.51
	4.1		Ökotoxikologische Untersuchungen	.51
	4.1.1	Alge	enwachstumshemmtest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadoteridol,	
		Gad	odiamid und GdCl ₃ x 6 H ₂ O	.51
	4.1.1	.1	Algenwachstumshemmtest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure	.52
	4.1.1	.2	Algenwachstumshemmtest mit Gadoteridol	.53
	4.1.1	.3	Algenwachstumshemmtest mit Gadodiamid	.54
	4.1.1	.4	Algenwachstumshemmtest mit GdCl ₃ x 6 H ₂ O	.55
	4.1.2	Akut	ter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure	÷
		und	GdCl ₃ x 6 H ₂ O	.56
	4.1.2	2.1	Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-	
			Gadopentetsäure	.56
	4.1.2	2.2	Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit $GdCl_3 \times 6 H_2O$.56
	4.1.3	Akut	te Toxizität von Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadodiamid,	
		Gad	oteridol und GdCl ₃ x 6 H ₂ O am Fisch	.58
	4.1.3	5.1	Akute Toxizität von Dimeglumin-Gadopentetsäure am Fisch	.58
	4.1.3	3.2	Akute Toxizität von Gadobutrol am Fisch	.58
	4.1.3	3.3	Akute Toxizität von Gadodiamid am Fisch	.59
	4.1.3	8.4	Akute Toxizität von Gadoteridol am Fisch	.59
	4.1.3	8.5	Akute Toxizität von $GdCI_3 \times 6 H_2O$ am Fisch	.60
	4.1.4	Rep	roduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure,	
		Gad	obutrol, Gadoteridol, Gadodiamid und $GdCl_3 \times 6 H_2O$.61
	4.1.4	.1	Reproduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure	.61
	4.1.4	.2	Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadobutrol	.62
	4.1.4	.3	Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadoteridol	.64
	4.1.4	.4	Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadodiamid	.65
	4.1.4	.5	Reproduktionstest am Wasserfloh mit $GdCl_3 \times 6 H_2O$.66
	4.1.5	Bioa	kkumulationstest am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und	
		GdC	Cl ₃ x H ₂ O	.68
	4.2		Untersuchungen zum Umweltverhalten	.76
	4.2.1	Floc	kungsversuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure in entsalztem Wasser ur	ıd
		Leitu	ungswasser sowie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in de	ər
		Mod	lellkläranlage	.76
	4.2.2	Biolo	ogische Abbaubarkeit von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol	in
		Mod	lellkläranlagen	.78
	4.2.2	2.1	Vorlaufphase	.78
	4.2.2	2.2	Inkubation	.82

	4.2.3 Aei	robe Transformation im aquatischen Sediment	86
	4.2.3.1	Aerobe Transformation im aquatischen Sediment mit Dimeglumin-	
		Gadopentetsäure	87
	4.2.3.2	Transformation im aeroben aquatischen Sediment mit $GdCl_3 x \ 6 \ H_2O$.	89
5		Diskussion	91
	5.1	Ökotoxikologische Untersuchungen	91
	5.2	Untersuchungen zum Umweltverhalten	97
	5.3	Abschätzung des Umweltrisikos	100
	5.4	Bewertung	104
	5.5	Ausblick	105
6		Anhang	106
	6.1	Ergebnisse	106
	6.2	Verzeichnis der Formeln	112
	6.3	Verzeichnis der Abkürzungen	114
	6.4	Verzeichnis der Abbildungen	115
	6.5	Verzeichnis der Tabellen	117
	6.6	Literaturverzeichnis	119

1 Einleitung

1996 veröffentlichten BAU UND DULSKI Untersuchungen über erhöhte Gadolinium (Gd)-Konzentrationen im Ablauf von Kläranlagen, in Oberflächengewässern und im Leitungswasser urbaner Gebiete [1]. Sie vermuteten, dass diese offensichtlich anthropogenen Erhöhungen auf den Einsatz von Gd enthaltenden Kontrastmitteln, die in der bildgebenden Diagnostik eingesetzt werden, zurückzuführen sind. Abbildung 1.1.1 zeigt einige ausgewählte Ergebnisse der veröffentlichten Arbeit. Es ist deutlich zu sehen, dass im Kläranlagenablauf ein wesentlich höherer Wert als in den Oberflächengewässern gemessen wurde. Das stützt die Vermutung der Autoren, da Kontrastmittel in der Regel unverändert ausgeschieden werden und über die Kanalisation in die Kläranlagen gelangen. In Oberflächengewässern erfolgt dann eine Verdünnung des Abwassers.





Zur ausreichenden Kontrastierung in der MRT ist die Applikation einer relativ hohen Dosis (0,1 mmol Gd-Komponente/kg Körpergewicht), das entspricht ungefähr 1 g Gd pro untersuchter Person (65 kg), erforderlich. In Berlin wurden z.B. im Jahr 1999 insgesamt 60 kg Gd appliziert. Hochgerechnet auf Deutschland sind das 1160 kg Gd pro Jahr. [2] Die Annahme der Autoren, dass die Erhöhung der Gd-Konzentration im Ablauf von Kläranlagen um den Faktor 10³ im Vergleich zum geogenen Hintergrund, der bei ca. 1 ng/L liegt, durch die Gd-Chelate verursacht wird, erschien deshalb plausibel.

Über Gd und Gd-Verbindungen und deren Auswirkungen auf die aquatische Umwelt war bis zu diesem Zeitpunkt sehr wenig bekannt. Um das Umweltrisiko, das von den erhöhten Konzentrationen ausgeht, bewerten zu können, war es deshalb notwendig, folgende Fragestellungen zu bearbeiten:

- Sind die als MRT-Kontrastmittel eingesetzten Gd-Verbindungen in der aquatischen Umwelt stabil?
- Wirken diese Gd-Verbindungen auf aquatische Organismen toxisch?
- Wie verhalten sich die Gd-Verbindungen bei der Abwasserbehandlung und bei der Trinkwasseraufbereitung?
- Welche Auswirkungen hätte Gd³⁺ im Falle der Instabilität des Gd-Komplexes in der aquatischen Umwelt?

In der vorliegenden Arbeit sollten diese Fragen beantwortet werden. Ein umfangreiches Versuchsprogramm wurde zu diesem Zweck durchgeführt, in dessen Zuge analytische und ökotoxikologische Methoden, sowie Methoden zur Bewertung des Umweltverhaltens etabliert wurden. Dieses Programm beinhaltete folgende Untersuchungen und Ziele:

- Untersuchungen zur akuten und chronischen aquatischen Toxizität verschiedener MRT-Kontrastmittel (Magnevist[®], Gadovist[®], Omniscan[®], Prohance[®])
- Untersuchungen zur akuten und chronischen aquatischen Toxizität von Gd³⁺ als GdCl₃
- Etablierung von HPLC-Methoden zur Analyse der Wirkstoffe von Magnevist[®] und Gadovist[®]
- Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit verschiedener MRT-Kontrastmittel (Magnevist[®], Gadovist[®]) in Modellkläranlagen und in Wasser/Sediment Systemen
- Vergleich des Verhaltens von GdCl₃ und Magnevist[®] im aquatischen Sediment
- Vergleich des Bioakkumulationspotenzials von GdCl₃ und Magnevist[®]
- Etablierung von Methoden (Reproduktionstest am Wasserfloh, Bioakkumulation am Fisch, Aerobe Transformation im aquatischen Sediment) in der Ökotoxikologie-Abteilung der Bayer Schering Pharma AG

2 Theoretische Grundlagen

Im aktuellen Kapitel wird zunächst auf die Grundlagen der Magnetresonanztomographie (MRT) eingegangen, da daraus hervorgeht, warum Gd sich als Metall für MRT-Kontrastmittel eignet. Gd und die Komplexe, in deren Form es appliziert wird, werden danach näher betrachtet. In der Folge wird die physikochemische Stabilität der Komplexe beschrieben. Auf den bisherigen Stand der Wissenschaft zum Thema Ökotoxikologie und Umweltverhalten von Gd und Gd-haltigen MRT-Kontrastmitteln gehen die letzten Abschnitte des Kapitels ein.

2.1 Grundlagen der MRT

Die MRT (*Tomographie* von griech. "Schnitt, abgeschnittenes Stück" und "ritzen, malen, schreiben") ist ein bildgebendes Verfahren zur Darstellung von Strukturen im Inneren des Körpers. Mit der MRT kann man Schnittbilder des menschlichen (oder tierischen) Körpers erzeugen. Sie basiert auf der Nutzung magnetischer Felder.

Der Vorteil der MRT ist die gegenüber anderen bildgebenden Verfahren in der diagnostischen Radiologie oft bessere Darstellbarkeit vieler Organe. Sie resultiert aus der Verschiedenheit der Signalintensität, die von unterschiedlichen Weichteilgeweben ausgeht. Manche Organe werden erst durch die MRT-Untersuchung darstellbar (z. B. Nerven- und Hirngewebe).

Das physikalische Prinzip der MRT beruht auf einer quantenmechanischen Eigenschaft von Elementarteilchen, dem so genannten Spin. Der Spin ist der Eigendrehimpuls dieser Teilchen. Da die Teilchen sich um die eigene Achse drehen und eine elektrische Ladung besitzen, erzeugen sie ein Magnetfeld, welches abhängig von Richtung und der Geschwindigkeit der Rotation ist. Der Spin eines Elementarteilchens kann über das mit ihm assoziierte magnetische Moment gemessen werden, er nimmt nur diskrete Werte an. Spins haben die Tendenz, sich paarweise anzuordnen. Tritt eine ungerade Anzahl an Spins auf, so hat der gesamte Atomkern einen von Null verschiedenen Spin.

Jeder Kern mit einem von Null verschiedenen Spin ist für magnetresonanztomographische Untersuchungen geeignet. In der medizinischen Bildgebung wird jedoch dem Kern des Wasserstoffatoms, dem Proton, besondere Beachtung geschenkt, da er zum Einen im menschlichen Körper mit Abstand am häufigsten vorkommt und zum Anderen ein relativ großes magnetisches Moment hat.

Über das magnetische Moment tritt der Spin in Wechselwirkung mit magnetischen Feldern, so dass ein Teilchen je nach Ausrichtung seines Spins in einem Magnetfeld unterschiedliche Energiemengen enthält. Im Atom treten auf diese Weise Wechselwirkungen zwischen Elektron und Atomkernen oder zwischen verschiedenen Elektronen auf. Durch Anlegen eines äußeren elektromagnetischen Feldes senkrecht zum statischen Magnetfeld kann Energie auf Atomkerne übertragen werden und so die Orientierung der Spins geändert werden.

Wasserstoffkerne im Körpergewebe verhalten sich im magnetischen Feld wie kleine Stabmagneten und richten sich im Feld aus. Mit Hilfe einer kurzzeitig eingestrahlten Radiowelle lässt sich die Spinrichtung durch Energieaufnahme variieren. Wird das Signal wieder abgeschaltet, kippen die Spins wieder in die Ausgangslage zurück und verursachen ihrerseits einen kleinen Wechselstrom, indem sie die zuvor aufgenommene Energie wieder abgeben (Relaxation). Eine Empfangsspule zeichnet diese Wechselstromsignale auf, die zu einem Bild zusammengesetzt werden können.

Obwohl u. a. Weichteilgewebe in der MRT bereits wesentlich besser zu unterscheiden sind als in der radiologischen Diagnostik mittels Röntgenstrahlen, werden seit mehreren Jahren zusätzlich paramagnetische Kontrastmittel eingesetzt, um die Kontrastierung noch zu erhöhen. Sie werden intravenös oder intrathekal appliziert oder zur Darstellung des Magen-Darm-Traktes oral verabreicht.

Paramagnetische Substanzen bestehen aus Atomen oder Molekülen, wie z.B. Metallionen, die durch ungepaarte Elektronenorbitale in den äußeren Elektronenschalen ein magnetisches Moment besitzen. Bei Anlegen eines äußeren Magnetfeldes richten sich die magnetischen Momente aus, womit eine makroskopische Magnetisierung erzeugt wird. Elektronen besitzen ein 680-mal stärkeres magnetisches Moment als Atomkerne. Sie können so die Protonen in der näheren Umgebung beeinflussen. Die Kontrastmittel können hierbei direkt wirken, indem sie die Protonendichte eines Gewebes verändern (Signalverlust durch Verringerung der Protonendichte), oder indirekt durch die Beeinflussung des lokalen Magnetfeldes (Signalerhöhung durch verkürzte Relaxationszeit).

Gd-Verbindungen sind die ältesten und am längsten verwendeten Kontrastmittel in der MRT. [3-6]

2.2 Gd-Komplexe

Gd ist ein Element aus der Gruppe der Lanthanoide mit der Ordnungszahl 64 und der Massenzahl 157.

Die Lanthanoide (Ordnungszahlen 57 bis einschließlich 71) umfassen eine Gruppe 15 homologer Metalle, die zusammen mit Sc und Y als "Seltenerden" (Rare earth elements, REE) bezeichnet werden. Anders als der Name vermuten lässt, sind sie weit verbreitet und kommen in den meisten Böden und Sedimenten in Mengen, die vergleichbar mit denen von Blei (Pb) und Cadmium (Cd) sind, vor. In den meisten Gewässern sind sie jedoch nur in geringen Konzentrationen zugegen, da sie in Anwesenheit von beispielsweise Phosphat sehr schlecht löslich sind (dazu mehr unter 2.5).

Da die Lanthanoide nicht der Regel folgen, bei steigender Kernladung die Außenschalen mit Elektronen zu besetzen, sondern stattdessen die inneren Schalen zu füllen und somit die Elektronen nach Außen abzuschirmen, nimmt der Ionenradius der zumeist dreiwertigen Ionen innerhalb der Gruppe ab. Dieser Effekt wird auch als Lanthanoidkontraktion bezeichnet.

Abbildung 2.2.1 zeigt die Abnahme des Ionenradius der Lanthanoide mit steigender Ordnungszahl.



Abbildung 2.2.1 Ionenradius der Lanthanoide

Die Abnahme des Ionenradius R_i bei konstanter Ladung (3+) führt zu einer steigenden Ladungsdichte mit zunehmender Ordnungszahl Z, was interessante Konsequenzen im chemischen Verhalten der Lanthanoide hat. Lanthanoide mit höherer Ordnungszahl und höherer Ladungsdichte haben z. B. eine höhere Affinität zu negativ geladenen Gruppen als die mit niedrigerer Ordnungszahl.

Innerhalb der Gruppe der Lanthanoide hat das Gd-Ion (Gd³⁺) eine weitere Besonderheit aufzuweisen, und zwar durch seine paramagnetischen Eigenschaften aufgrund von sieben ungepaarten Elektronen. Es ist sehr gut geeignet, den Kontrast in einem MRT-Bild zu erhöhen, da es die Feldstärke in seiner unmittelbaren Umgebung erhöht. Die in der Substanz selbst hervorgerufene Magnetisierung wirkt sich hierbei additiv zu dem bereits bestehenden Magnetfeld aus.

Aufgrund seiner intrinsischen Toxizität kann die Verabreichung von Gd jedoch nicht in seiner freien Form erfolgen (z.B. als GdCl₃), wie unter anderem SPENCER ET AL. (1997) [7] mit einer Untersuchung zur Toxizität von GdCl₃ in Ratten zeigte. Vor allem im Kapillarbett von Lunge und Niere traten Mineralablagerungen auf, es kam zur Phagozytose durch das mononukleare Phagozytosesystem. Außerdem traten hepatozelluläre Nekrosen und Nekrosen in der Milz auf. Elektronenmikroskopische Untersuchungen und röntgenologische Mikroanalysen von Milz und Leber wiesen bereits bei Dosierungen von 0,07 und 0,14 mmol/kg Ablagerungen bestehend aus Gd, Ca und Phosphat in den Makrophagen von Milz, sowie in Kupfferzellen und Hepatozyten nach. In Mäusen fand der Autor vergleichbare Effekte, die mit steigender verabreichter Dosis (0,05, 0,1, und 0,2 mmol/kg) an Schwere zunahmen [8]. Auch YONEDA ET AL. (2002) [9] zeigten, dass sich Gd in Lungengewebe anreichert, da es in unlöslicher Form ausfällt.

Gd³⁺ wird darüber hinaus mit der Blockade von Calciumkanälen in Verbindung gebracht [10-13]. Änderungen der intrazellulären Calciumkonzentration sind entscheidend für viele physiologische Prozesse. Sie bewirken die elektromechanische Kopplung bei der Muskelkontraktion, führen zu Synthese und Sekretion von Neurotransmittern und Hormonen, regulieren die Expression von Genen und steuern Enzymaktivitäten. Calciumkanäle, die sich in der Zellmembran befinden, haben deshalb eine besondere Bedeutung. Auf einen Reiz hin öffnen sich die Kanäle, Calcium strömt in das Cytoplasma ein, bindet an Calcium-sensitive Proteine und löst dadurch verschiedene Reaktionen aus. Grundlage dieser Reaktion sind die Unterschiede der Calciumkonzentration im Cytoplasma (50 nM) und im Extrazellulärraum (1 mM) [14]. Calciumkanäle finden sich nicht nur auf Muskelzellen oder Nervenzellen, sondern unter anderem auch in Leber, Niere oder Darm. [15]

Das Gd³⁺-Ion und das Ca²⁺-Ion weisen einen Ionenradius auf, der nah beieinander liegt (Gd³⁺: 107,8 pm, Ca²⁺: 114 pm). Da Gd³⁺ über eine höhere Ladung verfügt, kann es Ca²⁺ aus seinen Bindungen verdrängen bzw. um Bindungsplätze konkurrieren und somit die Funktion

der Calciumkanäle stören. [16] Um diese und andere toxische Effekte zu vermeiden, erfolgt die Applikation des paramagnetischen lons in komplexierter Form.

Verschiedene Liganden wurden bei der Entwicklung der Komplexe getestet, durchgesetzt haben sich vor allem Derivate der Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA). Folgende Abbildung zeigt die chemische Struktur verschiedener Gd-Chelate, die momentan als MRT-Kontrastmittel verwendet werden.



Abbildung 2.2.2: Chemische Struktur verschiedener Gd-Chelate (Handelsnamen in Klammern)

Entsprechend ihrer Eigenschaften hinsichtlich der Struktur und Größe werden die Komplexe in:

- makrozyklische Chelate wie z.B. Gd-DOTA (Meglumine gadoterat) und

 lineare Chelate wie z.B. Gd-DTPA-BMA (Gadodiamid) oder Gd-DTPA (Dimeglumin-Gadopentetsäure)

eingeteilt.

Die Komplexe weisen eine etwas geringere Toxizität als deren einzelnen Bestandteile (Metallion und Ligand) auf. Folgende Tabelle verdeutlicht dies.

Komponente	LD ₅₀ [mmol/kg]	Tier	Quelle
GdCl ₃	0,5	Ratte	[17]
	0,4	Maus	[18], [19]
Gd(OH) ₃	0,1	Maus	[18], [19]
(Meg) ₃ H ₂ DTPA	0,15	Maus	[19]
Na ₂ H ₃ DTPA	0,1	Maus	[18]
(Meg) ₂ H ₂ DOTA	0,18	Maus	[19]
Meg[Gd(EDTA)]	0,3	Ratte	[17;20]
(Meg) ₂ [Gd(DTPA)]	6 - 10	Ratte	[17]
Na ₂ [Gd(DTPA)]	5,6	Ratte	[21]
Meg[Gd(DOTA)]	11	Maus	[20]
Na[Gd(DOTA)]	> 10	Maus	[19]
[Gd(HP-DO3A)]	12	Maus	[20]
(Meg) ₂ [Gd(BOPTA)]	5,8	Maus	[22]

Tabelle 2.2.1: Akute LD₅₀-Werte für unkomplexiertes Gd(III), freie Liganden und Gd(III)-Komplexe

Vergleicht man beispielsweise die LD₅₀ an der Ratte von GdCl₃ mit der von (Meg)₂[Gd(DTPA)], so ist die LD₅₀ des Komplexes mehr als um den Faktor 10 höher als die des freien Gd. Die Toxizität der einzelnen Bestandteile (Metall-Ion, Ligand) des Komplexes ist vor allem darauf zurückzuführen, dass sie durch die Ladung dazu in der Lage sind, sowohl Bindungen mit biologischen Substraten einzugehen als auch Kationen wie Ca²⁺, Fe³⁺, und Zn²⁺ abzufangen und so in vitale Prozesse einzugreifen. Durch die Komplexierung von Metall-Ion und Ligand werden diese Bindungseigenschaften neutralisiert. Eine zusätzliche Neutralisierung der Ladung eines geladenen Komplexes (z.B. Gd-DTPA²⁻) durch z.B. Meglumin führt ebenfalls zu einer Verringerung der Toxizität, ohne die Kontrasterhöhung im MRT-Bild wesentlich einzuschränken. [23]

2.3 Stabilität

Da, wie im vorangegangenen Kapitel beschrieben, davon auszugehen ist, dass die Toxizität von Gd-Chelaten direkt von der Konzentration des freien Gd und des freien Liganden abhängt, ist es erforderlich, für die Verwendung als MRT-Kontrastmittel Komplexe mit hoher Stabilität zu generieren.

Als Maß für die Stabilität einer Verbindung können die thermodynamischen Stabilitätskonstanten herangezogen werden. Sie resultieren aus dem Massenwirkungsgesetz (MWG), welches das Konzentrationsverhältnis von Produkten zu Edukten beschreibt. Eine typische Gleichgewichtssituation kann wie folgt beschrieben werden:

Gleichung 1: $aA + bB \stackrel{\leftarrow}{\rightarrow} cC + dD$

wobei:

A, B Edukte

C, D Produkte

a, b, c, d stoichiometrische Koeffizienten der Edukte und Produkte

Im Gleichgewicht ist die Geschwindigkeit der Vorwärtsreaktion gleich der Geschwindigkeit der Rückwärtsreaktion. Ein Index für die Stabilität der Produkte ist die Stabilitätskonstante, die definiert ist als:

Gleichung 2:
$$K_{C} = \frac{[C]^{c} [D]^{d}}{[A]^{a} [B]^{b}}$$

wobei:

K_c Gleichgewichtskonstante, c steht für Konzentration

[X] chemische Aktivität der Spezies X im Gleichgewicht unter Reaktionsbedingungen. Die Aktivität kann durch die molare Konzentration ersetzt werden, womit man K_c erhält

Ein großer Wert von K_c (bzw. log K_c) bedeutet, dass die Produkte in höherer Konzentration vorliegen als die Edukte.

Bezogen auf das Modell Metall-Ligand wird Gleichung 1 zu:

Gleichung 3: $[M] + [L] \leftrightarrows [M L]$

wobei:

М	Metall
L	Ligand

und Gleichung 2 zu:

Gleichung 4:
$$K = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

Üblicherweise werden thermodynamische Stabilitätskonstanten angeführt, die eine allgemeine Beschreibung der Komplexstabilität darstellen. Basierend auf diesen Konstanten lassen sich für definierte Bedingungen, z.B. konstanten pH-Wert, sogenannte "conditional" Stabilitätskonstanten K' ableiten, die den Einfluss der Konkurrenz mit Protonen beim jeweiligen pH-Wert berücksichtigen.

Gleichung 4 wird in diesem Fall zu:

Gleichung 5:
$$K' = \frac{[ML]}{[M]\{L + [HL] + [H_2L] + ...\}}$$

wobei:

[HL], [H₂L] protonierte Formen der Spezies des freien Liganden

Die Stabilitätskonstante K' nimmt üblicherweise geringere Werte an als die reine thermodynamische Stabilitätskonstante K.

Die Angabe der Stabilitätskonstanten erfolgt als Log K bzw. Log K'.

BIANCHI ET AL. [23] bieten eine ausführliche Zusammenfassung thermodynamischer und struktureller Eigenschaften von Gd-Komplexen. Sie stellten fest, dass makrozyklische Komplexe häufig über eine höhere thermodynamische Stabilität verfügen als die linearen Chelate. Tabelle 2.3.1 zeigt die Stabilitätskonstanten einiger ausgewählter besonders stabiler linearer, sowie die Stabilitätskonstanten einiger makrozyklischer Gd-Chelate. Unterschiede der log K-Werte ergaben sich durch die verschiedenen verwendeten Bestimmungsmethoden. Außerdem sind die log K'-Werte der entsprechenden Chelate angegeben.

Tabelle 2.3.1: Vergleich der Stabilitätskonstanten linearer und makrozyclischer Gd-Chelate sowie Vergleich von log K und log K' (aus [23;24])

	Gd-Chelat	log K	log K'
Lineare Gd-Chelate	Gd-DTPA	20,73 - 23,01	17,7
	Gd-BOPTA	22,58 - 22,61	16,9
Makrozyklische Gd-Chelate	Gd-DO3A	21,0-22,02	*
	Gd-DOTA	22,1 - 28,0	18,8
	Gd-HPDO3A	23,8 - 24,5	17,1

* Wert nicht verfügbar

In einem Mehrkomponenten-Modell ist die thermodynamische Stabilität nur ein Anhaltspunkt für die Komplexstabilität. Wenn verschiedene Metallionen in einem System um den vorliegenden Liganden konkurrieren, besteht die Möglichkeit der Transmetallisierung, d.h im Fall der Gd-Chelate, dass Gd aus dem Komplex verdrängt wird und ein anderes Metallion seinen Platz einnimmt.

Die Transmetallisierung kann wie folgt ausgedrückt werden:

Gleichung 6:
$$GdL + [M]^{3+} \leftrightarrows Gd^{3+} + [ML]$$

Transmetallisierung tritt dann auf, wenn die Stabilitätskonstante des entsprechenden Metallions mit dem Liganden größer als die des Gd-Ions mit dem Liganden ist.

CACHERIS ET AL. (1990) [21] bestimmten die Stabilitätskonstanten verschiedener Metallionen (Gd³⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Ca²⁺) mit verschiedenen Liganden (DTPA-BMA, DTPA-BP). Es zeigte sich hierbei, dass die Stabilitätskonstanten von DTPA-BMA mit Gd die höchsten Werte annahmen, im Falle von Cu²⁺ mit dem Ligand DTPA-BP jedoch ähnliche Stabilitätskonstanten bestimmt wurden.

Folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse der genannten Untersuchungen. Ebenfalls in ihr enthalten sind Daten zur Komplexstabilität der Liganden EDTA und DTPA, die von WRIGHT (1965), YANG (1984) und SMITH (1974) [25-27] erhoben wurden.

Tabelle 2.3.2: Stabilitätskonstanten von Protonen und verschiedenen Metall-Ionen mit DTPA-Derivaten und EDTA [25-27]

Gleichgewicht	Log K				
	DTPA-BMA	DTPA-BP	DTPA	EDTA	
[HL]/[H][L]	9,37	9,53	10,49	10,17	
[GdL]/[Gd][L]	16,85	16,83	22,46	17,27	
[CaL]/[Ca][L]	7,17	7,97	10,75	10,61	
[ZnL]/[Zn][L]	12,04 (0,03)	14,02 (0,14)	18,70	16,86	
[CuL]/[CU][L]	13,03 (0,03)	17,50 (0,17)	21,38	18,86	

Aus dieser Tabelle wird deutlich, dass die Metallionen eine unterschiedliche Affinität zum gleichen Liganden haben können, was man als Selektivität bezeichnet. DTPA und DTPA-BMA haben hierbei eine höhere Selektivität für Gd als für Cu, bei EDTA und DTPA-BP ist das nicht der Fall.

Die Selektivität wird jedoch auch von der Menge der verfügbaren Ionen beeinflusst, so dass Cu, obwohl es eine hohe Selektivität für DTPA-BP hat, da es endogen in sehr geringen Konzentrationen vorkommt, kaum in der Lage ist, Gd, welches in hohen Dosen verabreicht wird, aus dem Komplex zu verdrängen. Aber nicht nur die positiv geladenen Metallionen haben Einfluss auf die Stabilität. Auch Löslichkeitsprodukte mit in der Lösung enthaltenen Anionen (z.B. Phosphat und Carbonat) können die Stabilität entscheidend verändern und das Gleichgewicht verschieben.

TWEEDLE ET AL. (1991) [28] beobachteten in einer in vitro Studie, dass Gd-EDTA und Gd-DTPA in Anwesenheit von Phosphat mit den endogenen Metallionen Cu²⁺ und Zn²⁺ reagierten. Dabei entstanden GdPO₄ und die entsprechenden Metallkomplexe. Andere Komplexe zeigten hingegen keine derartigen Reaktionen bei gleicher Versuchsanordnung. Die Autoren führten das auf die langsame Reaktionsgeschwindigkeit zurück, was verdeutlicht, dass auch die Reaktionskinetik die Stabilität eines Komplexes beeinflusst.

Den Einfluss der Reaktionskinetik auf die Stabilität beobachteten auch BIANCHI ET AL. [23] in der bereits erwähnten Veröffentlichung. Makrozyklische Gd-Chelate weisen demnach zumeist eine langsamere Komplexbildungsreaktionsgeschwindigkeit auf und verfügen über eine höhere Stabilität als lineare.

Die Dissoziationsrate ist ein Maß für die Zeit, in der das Dissoziationsgleichgewicht erreicht wird. Sie wird über die Halbwertszeit der Dissoziation des Komplexes bestimmt. Um das Phänomen zu verstärken, werden Dissoziationskonstanten im Sauren bestimmt. Hierbei werden durch die Protonierung der Säuregruppen die Bindungen zwischen Chelat und Metall-Ion geschwächt. Damit wird die Reaktion zu einer Reaktion 1. Ordnung, die wie folgt ausgedrückt wird:

Gleichung 7: Dissoziationsrate = K_{diss} [H⁺] [GdL]

wobei:

K_{diss} Dissoziationskonstante

Da [H⁺] über den gesamten Dissoziationsprozess wesentlich größer ist als [GdL] kann man [H⁺] als konstant annehmen und mit [H⁺]₀ gleichsetzen. Damit wird Gleichung 7 zu:

Gleichung 8: Dissoziationsrate = K_{obs} [GdL]

wobei:

K_{obs} berechnete Dissoziationskonstante

mit:

 $\mathsf{K}_{\rm obs} = \mathsf{K}_{\rm diss}[\mathsf{H}^+]_0$

 K_{obs} wurde für verschiedene Komplexe bestimmt wurde, indem die Steigung der Kurve $f(t) = ln[GdL]_t$ berechnet wurde.

Die Dissoziationskonstanten und Halbwertszeiten einiger Gd-Chelate sind in folgender Tabelle dargestellt. Sie zeigt, dass Makrozyklen längere Halbwertszeiten als lineare Komplexe aufweisen.

Gd-Chelat	K _{obs}	T _{1/2}
Gd-DTPA	1,2 x 10 ⁻³	10 min.
Gd-DTPA-BMA	2,0 x 10 ⁻²	35 sec
Gd-HPDO3A	6,3 x 10 ⁻⁵	3 h
Gd-DO3A	2,3 x 10 ⁻³	5 min.
Gd-DOTA	2,1 x 10 ⁻⁵	> 1 Monat

Tabelle 2.3.3: Dissoziationskonstanten und Halbwertszeiten verschiedener Gd-Ch	elate ([24])
--	--------------

2.4 Ökotoxikologie

Bis 2006 wurde nur wenig über ökotoxikologische Wirkungen von Gd-Komplexen publiziert. Eine Studie mit der Nematode *Caenorhabditis elegans* zeigte, dass Gd-Komplexe nur bei sehr hohen, nicht umweltrelevanten Konzentrationen eine toxische Wirkung zeigten. Die Nematoden wurden Gd-DTPA²⁻, Gd(HP-DO3A) und Gd(CPA-DO3A)⁻ in verschiedenen Konzentrationen ausgesetzt. Gd-DTPA²⁻ und Gd(HP-DO3A) verursachten bis zu einer Konzentration von 200 g/L keine letalen Effekte, Gd(CPA-DO3A)⁻ verursachte nach 24 h Exposition letale Effekte von 17 % bei einer Konzentration von 100 g/L und 31 % bei einer Konzentration von 200 g/L. [29]

Mit der aquatischen Ökotoxizität von freiem Gd und anderen Lanthanoiden setzten sich ebenfalls nur wenige Autoren auseinander.

In einer Veröffentlichung zur Ökotoxizität von Gd wurde mit aquatischen Organismen (Wasserfloh) ein EC_{50} -Wert von 0,043 mmol/L anhand des Endpunktes Immobilisierung nach 48 h bestimmt [30].

WANG ET AL. (1999) [31] untersuchten die Wachstumshemmung der Ciliaten-Spezies *Tetrahymena shanghaiensis* nach Exposition mit La, Sm, Y und Gd. Sie bestimmten die IC_{50} -Werte der Lanthanoide anhand verschiedener Endpunkte (Zellzahlen, Neutralrot-Assay, Proteinbestimmung und Nukleinsäurebestimmung). Die IC_{50} -Werte von Gd waren hierbei niedriger als die von Y, Sm und La, allerdings doch wesentlich höher als die der Positiv-Kontrolle Cd. Es zeigte sich außerdem bei Y, Sm und La bei geringer Konzentration (0,125 mM Sm, 0,125 mM Y und 0,25 mM La) eine geringe Wachstumsförderung, die bei Gd nicht beobachtet wurde.

Eine Wachstumsförderung durch geringe Konzentrationen an Gd konnten hingegen WELTJE ET AL. (2003) [32] in ihren Untersuchungen mit *Vibrio fischeri* feststellen.

Als Mechanismus, der toxische Effekte bei aquatischen Organismen auslöst, wurde, wie bei höheren Organismen, die Interaktion mit Spurenelementen wie Ca²⁺, Mg²⁺, Fe³⁺, Fe²⁺ und

Mn²⁺ vermutet. EVANS [33] beschrieb, dass die Lanthanoide diese Spurenelemente ersetzen und so unwirksame Proteine erzeugen bzw. zum Mangel der entsprechenden Elemente führen. Eine Untersuchung mit *Lemna trisulca* zeigte, dass nach zwölfstündiger La-Exposition das Einströmen von Ca gehemmt wurde, was zu Störungen der Bewegung von Chloroplasten führte [34].

2.5 Umweltverhalten

Über das Umweltverhalten von MRT-Kontrastmitteln wurde sehr wenig publiziert. Lediglich KULAKSIZ UND BAU [35] vermuteten, dass sich das Umweltverhalten der Gd-haltigen MRT-Kontrastmittel grundsätzlich von dem von geogenem Gd unterscheidet und dass diese deshalb auch in Salzwasser in erhöhten Konzentrationen vorliegen. Sie stellten eine positive Gd-Anomalie in Küstenregionen der Nordsee fest. Da Seltenerden (Rare Earth Elements: REEs) normalerweise aussalzen, d.h. sich bei der Mischung von Süß- und Salzwasser an sich bildende Colloide binden und bei der Coagulation und Aggregation sedimentieren, ist die Konzentration an REEs in Salzwasser zumeist geringer als die der ins Meer mündenden Flüsse. Die Autoren vermuteten deshalb, dass das nachgewiesene Gd anthropogenen Ursprungs, auf die Verwendung von MRT-Kontrastmitteln zurückzuführen ist und dass sich diese Kontrastmittel grundsätzlich im Umweltverhalten von natürlich vorkommenden Gd-Verbindungen unterscheiden.

ZWIENER (2007) [36] beschäftigte sich mit Flockungsmechanismen und stellte fest, dass Flockungschemikalien die Stabilität der Komplexe in der Art beeinflussen können, dass Gd aus dem Komplex verdrängt wird.

Die inherente biologische Abbaubarkeit von Komplexbildnern, die auf Ethylen(Propylen)-Di(Tri)amin basieren, wurde hingegen von PITTER ET AL. (2001) [37] mittels Zahn-Wellens-Tests untersucht. Sie hing von der Art der Substituenten und der Anzahl der Stickstoffatome im Molekül ab. Tetra(Penta)substituierte Derivate mit zwei oder mehr tertiären Stickstoffatomen und Carboxyl- oder 2-Hydroxyethyl-Gruppen im Molekül (EDTA, DTPA, PDTA, HEDTA) zeigten unter Umweltbedingungen eine hohe Stabilität. Disubstituierte Derivate mit zwei sekundären Stickstoffatomen im Molekül (z.B. EDDA) waren dagegen potentiell abbaubar. Schnell abbaubar waren analoge Moleküle, die Substituenten besaßen, die hydrolysierbar waren (z.B. Acetyl-Derivate mit -COCH₃ Gruppen) wie N, N'-Diacetylethylendiamin (DAED) und N, N, N', N'-Tetracetylethylenediamin (TAED).

Über das Umweltverhalten von Lanthanoiden wurden einige Studien durchgeführt und veröffentlicht.

CHOPPIN ET AL. (1986) [38] untersuchten z. B. die Löslichkeit von Lanthanoiden in natürlichen Gewässern. Sie stellten fest, dass diese zu den schlecht wasserlöslichen Metallen gehören.

Durch ihre dreifach positive Ladung werden die Ionen an in natürlichen Gewässern vorliegende Anionen gebunden. Diese können sowohl anorganischer Natur, wie F⁻, CO₃²⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻ oder OH⁻, als auch organischer Natur sein, wie Humin- oder Fulvosäuren. Die Konzentration echt gelöster Lanthanoide in natürlichen Wässern ist deshalb sehr gering. Die Autoren stellten in Ihren Studien fest, dass in Salzwasser vorwiegend Carbonate gebildet werden, wohingegen in Süßwasser auch die Komplexierung mit Humin- und Fulvosäuren eine Rolle spielt. [38]

Auch andere Arbeitsgruppen beschäftigten sich mit der Speziation von Lanthanoiden in Süßwasser-Systemen. Die meisten Lanthanoide liegen dort an das Sediment oder an organisches Material gebunden vor. Eine kleinere Fraktion ist im Porenwasser und im Oberflächenwasser gelöst. Die gelöste Fraktion ist überwiegend (zu ca. 95 %) mit dem gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) assoziiert, der hauptsächlich aus Humin- und Fulvosäuren besteht, die die Metallkationen an ihre Carboxyl- und Phenolgruppen binden. Die dominierende Rolle des DOC hat zwei bedeutende Konsequenzen. Die Wasserlöslichkeit der Lanthanoide und damit auch die Mobilität wird positiv beeinflusst, da der DOC sozusagen als Transportvehikel dient. [38-41]

Mit dem Bioakkumulationsverhalten von Lanthanoiden beschäftigten sich verschiedene Arbeitsgruppen.

Das Bioakkumulationspotenzial von Seltenerden in Algen untersuchten SUN ET AL. (1997) [42]. Die Autoren konnten zeigen, dass die Aufnahme und Anreicherung der REEs von der chemischen Speziation abhängt. Sie setzten den Prüflösungen organische Liganden (EDTA, NTA, Cit), die Komplexe mit den Seltenerden bilden können, zu. Dies führte zu einer Reduktion der Biokonzentration in den Algen. Die Biokonzentration nahm mit zunehmender thermodynamischer Stabilität der REE-Organo-Komplexe in folgender Reihenfolge ab: REE³⁺> REE-Cit > REE-NTA > REE-EDTA. Die Autoren stellten fest, dass das Verhältnis zwischen der REE-Konzentration in den Algen und im Kulturmedium durch die Freundlich-Adsorptionsisotherme beschrieben werden kann. Daraus folgerten sie, dass der Adsorptionsprozess die Aufnahmegeschwindigkeit bestimmt. Sie vermuteten, dass das Vorhandensein organischer Liganden, die Metall-Organo-Komplexe bilden, die Aufnahme in die Algen verringere, weil die Liganden mit den Bindungsplätzen in der Membran um die REEs konkurrieren.

Die Verteilung und Bioverfügbarkeit von REEs in verschiedenen aquatischen Spezies (Wasserlinsen, Wasserfloh, Muscheln und Goldfische) untersuchten YANG ET AL. (1999) [43]. Sie stellten fest, dass die Biokonzentration der REEs in den Wasserlinsen wesentlich höher war als in Wasserflöhen, Muscheln und Goldfischen.

In einer Studie zur Bioakkumulation von REEs in Karpfen zeigte sich eine geringe Anreicherung der REEs in den Fischen [44]. In den inneren Organen wurde allerdings mit einem maximalen Biokonzentrationsfaktor (Bioconcentration factor, BCF) von 105 der höchste Wert für Gd erreicht.

Mit der Akkumulation von Lanthan durch die Wasserlinse (*Lemna minor*) beschäftigten sich WELTJE ET AL. (2002) [45]. Sie stellten keine nachteiligen Effekte auf das Wachstum der Lemnaceen fest, es zeigte sich aber, dass Lanthan sich in ihnen anreichert (BCF: 32970 mg x L/mg x kg Trockengewicht). Ob Lanthan als La³⁺ oder als La–EDTA⁻-Komplex aufgenommen wurde, vermochten die Autoren nicht zu beantworten.

Wie in Kapitel 2.3 ausführlich beschrieben, können bei geeigneter Konzentration, geeignetem pH-Wert und geeigneter Reaktionsgeschwindigkeit große Werte der Stabilitätskonstante Log K auf das Vorherrschen dieser Spezies in einem System hinweisen. Stabilitätskonstanten von Gd mit in natürlichen Gewässern vorkommenden Anionen sowie einigen Liganden anthropogenen Ursprungs wurden von verschiedenen Autoren erhoben und sind in den Tabellen (2.5.1 a-e) wiedergegeben.

Tabelle 2.5.1 a - e: Stabilitätskonstanten von Gd mit verschiedenen Anionen [46-55]

,					
	Hydroxid-Spezies				
	(OH) ²⁺	(OH) ₂ ⁺	(OH) ₃	(OH) ₄	(OH) ₂ ⁴⁺
Gd	6,17	11,62	16,71	21,60	13,6
	Phosphat-Spezies				
	(PO ₄)	$H(PO_4)^+$	$H_2(PO_4)^{2+}$	(PO ₄) ₂ ³⁻	$H_2(PO_4)_2$
Gd	12,20	18,29	22,28	20,71	33,99

a) Hydroxid- und Phosphat-Spezies

b) Carbonat-, Nitrat- und Sulfat-Spezies

	Carbonat-Spezies				
$(CO_3)^+$ $H(CO_3)^{2+}$ (CC					
Gd	7,64	12,05	13,04		
	Nitrat	Sulfat-Spezies			
	$(NO_3)^{2+}$	(SO ₄) ⁺ (SO ₄)			
Gd	0,279	3,66	5,20		

c) Fluorid- und Chlorid-Spezies

	Fluorid-Spezies			
	F ²⁺	F_2^+	F ₃	F_4
Gd	4,08	6,74	10,46	12,51
	Chlorid-Spezies			
	Cl ²⁺	Cl_2^+	Cl ₃	Cl ₄
Gd	0,65	-0,05	-0,44	-0,86

d) Oxalat-, Citrat- und NTA-Spezies

	Oxalat	-Spezies			
	(Ox) ⁺	(Ox) ₂	H(Ox) ²⁺	(Ox) ₃ ³⁻	(Ox) ₄ ⁵⁻
Gd	6,53	11,10	6,81	12,75	*
	Citrat-Spezies		NTA-Spe	zies	
	(Cit)	(Cit) ₂ ³⁻	(NTA)	(NTA)OH ⁻	NTA ₂ ³⁻
Gd	9,38	14,75	13,27	19,81	22,58

e) Acetat-, Malat-, EDTA- und DTPA-Spezies

	Acetat-Spezies			Malat-Spezies			
	(Ac) ²⁺	(Ac) ₂ ⁺	(Ac) ₃	(Ac) ₄	(Mal)⁺	(Mal) ₂	(Mal) ²⁺
Gd	2,66	4,54	5,54	*	6,04	9,71	*
	EDTA-S	Spezies	DTPA-S	pezies			
	EDTA ⁻	H(EDTA)	(DTPA)	(DTPA-BMA)	(DTPA-	·BP)	
Gd	19,91	21,42	22,46	16,85	16,83		

*Werte nicht verfügbar

Mithilfe dieser Stabilitätskonstanten kann man modellhaft berechnen, in welcher Form Gd in aquatischen Systemen vorliegt. Eine solche Berechnung wird im Folgenden mit dem Programm CHEAQS (frei erhältlich im Internet: http://home.tiscali.nl/cheaqs) durchgeführt. Sie verdeutlicht die Komplexizität eines aquatischen Systems. Es wurden einige ausgewählte Kationen und Anionen, die in Oberflächen- und Grundwässern vorkommen, in die Modellberechnungen einbezogen. Konzentrationen, die in anthropogen beeinflussten Gewässern vorkommen, liegen der Berechnung zugrunde. Außerdem wurden dem Modellsystem 7,0 x 10⁻⁹ Mol Gd zugegeben. Danach wurde bei den pH-Werten 3, 7 und 10 die Speziation von Gd berechnet.

Folgende Tabelle zeigt die Konzentrationen der Kationen und Anionen im Modellsystem.

 Tabelle 2.5.2: Konzentrationen verschiedener Kationen und Anionen in anthropogen beeinflussten Gewässern

Komponente	Eingabewert (M)
Са	2,50E-03
Fe(III)	1,80E-06
Gd	7,00E-09
(CO ₃)	2,50E-03
(PO ₄)	5,30E-05
(SO ₄)	7,30E-03
CI	2,10E-08

Bei einem pH-Wert von 3 ergibt sich damit folgende Verteilung der Gd-Spezies.



Abbildung 2.5.1: Verteilung der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 3

Gd liegt überwiegend als $Gd(SO_4)^+$ vor (77,31 %). Eine zweite Sulfat-Spezies ($Gd(SO_4)_2^-$ liegt zu 9,79 % vor, während Gd^{3+} 12,73 % ausmacht.

Ungelöste Feststoffe kommen bei diesem pH-Wert kaum vor, was folgende Tabelle zeigt. In ihr sind alle im dargestellten System möglichen Feststoffe sowie die Sättigungsindizes abgebildet. Der Sättigungsindex ist die Abweichung des gemessenen pH-Wertes vom Sättigungs-pH-Wert eines Salzes bei einer Konzentration. Bei einem negativem Sättigungsindex ist das Wasser salzlösend, bei einem positivem salzabscheidend.

Feststoff	Sättigungsindex	Status
Ca(OH) ₂ (s)	-19,703	ungesättigt
Ca(CO ₃) (s)	-7,803	ungesättigt
CaH(PO ₄) (s)	-4,691	ungesättigt
$Ca(H_2PO_4)_2(H_2O)$ (s)	-10,637	ungesättigt
Ca ₂ (HPO ₄)(OH) ₂ (s)	-9,236	ungesättigt
Ca ₃ (PO ₄) ₂ (s)	-16,012	ungesättigt
Ca ₄ H(PO ₄) ₃ (H ₂ O) ₃ (s)	-21,818	ungesättigt
Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH) (s)	-21,565	ungesättigt
Ca(SO ₄)(H ₂ O) ₂ (s)	-0,827	ungesättigt
Fe(III) ₂ O ₃ (s)	4,003	gesättigt
Fe(III)(PO ₄)(H ₂ O) ₂ (s)	0,725	gesättigt
Gd(OH) ₃ (s)	-15,635	ungesättigt
$Gd_2(CO_3)_3$ (s)	-26,738	ungesättigt
Gd(PO ₄) (s)	-1,911	ungesättigt

Tabelle 2.5.3: Theoretisch mögliche Feststoffe und Sättigungsinidizes bei einem pH-Wert von 3

Ein anderes Bild ergibt sich bei einem pH-Wert von 7. Hier liegen zum Einen andere Spezies vor, zum Anderen kommt es auch zum vermehrten Ausfallen unlöslicher Gd-Verbindungen. Abbildung 2.5.2 zeigt die Verteilung der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 7. Tabelle 2.5.4 zeigt die verschiedenen möglichen als Feststoff vorliegenden Gd-Verbindungen, die bei dieser Konstellation von Konzentration und pH-Wert zu finden sind.

Bei einem pH-Wert von 7 macht den größten Anteil Gd(PO₄)(aq) aus (48,44 %). Gd(SO₄)⁺ ist nur noch zu 11,1 % vorhanden. Der Anteil an freiem Gd ist mit 1,78 % sehr gering. $Gd(CO_3)^+$ macht mit 23,39 % einen Hauptanteil der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 7 aus. GdPO₄ fällt bei einem pH-Wert von 7 aus.



Abbildung 2.5.2: Verteilung der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 7

Feststoff	Sättigungsindex	Status
Ca(OH) ₂ (s)	-11,721	ungesättigt
Ca(CO ₃) (s)	-0,609	ungesättigt
CaH(PO ₄) (s)	-0,991	ungesättigt
$Ca(H_2PO_4)_2(H_2O)$ (s)	-11,22	ungesättigt
Ca ₂ (HPO ₄)(OH) ₂ (s)	2,446	gesättigt
Ca ₃ (PO ₄) ₂ (s)	-0,63	ungesättigt
Ca ₄ H(PO ₄) ₃ (H ₂ O) ₃ (s)	-2,736	ungesättigt
Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH) (s)	5,499	gesättigt
Ca(SO ₄)(H ₂ O) ₂ (s)	-0,823	ungesättigt
Fe(III) ₂ O ₃ (s)	13,366	gesättigt
$Fe(III)(PO_4)(H_2O)_2(s)$	1,125	gesättigt
Gd(OH) ₃ (s)	-4,501	ungesättigt
$Gd_2(CO_3)_3(s)$	-6,836	ungesättigt
Gd(PO ₄) (s)	4,94	gesättigt

Bei einem pH-Wert von 10 liegt Gd überwiegend als $GdCO_3^{2-}$ vor (82,23%), was Abbildung 2.5.3 zeigt. Außerdem macht $GdOH_4^{-}$ einen größeren Anteil der Gd-Verbindungen (14,11%) aus. Freies Gd^{3+} kommt überhaupt nicht mehr vor.

 $Gd(OH)_3$ sowie $GdPO_4$ fallen als Feststoffe aus (siehe Tabelle 2.5.5).



Abbildung 2.5.3: Verteilung der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 10

Feststoff	Sättigungsindex	Status
Ca(OH) ₂ (s)	-5,844	ungesättigt
$Ca(CO_3)$ (s)	2,009	gesättigt
CaH(PO ₄) (s)	-1,598	ungesättigt
$Ca(H_2PO_4)_2(H_2O)$ (s)	-18,311	ungesättigt
Ca ₂ (HPO ₄)(OH) ₂ (s)	7,717	gesättigt
Ca ₃ (PO ₄) ₂ (s)	4,033	gesättigt
Ca ₄ H(PO ₄) ₃ (H ₂ O) ₃ (s)	1,32	gesättigt
Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH) (s)	15,433	gesättigt
Ca(SO ₄)(H ₂ O) ₂ (s)	-0,937	ungesättigt
Fe(III) ₂ O ₃ (s)	12,61	gesättigt
$Fe(III)(PO_4)(H_2O)_2$ (s)	-5,738	ungesättigt
Gd(OH) ₃ (s)	0,234	gesättigt
Gd ₂ (CO3) ₃ (s)	-7,143	ungesättigt
Gd(PO ₄) (s)	3,192	gesättigt

Tabelle 2.5.5: Theoretisch mögliche Feststoffe bei einem pH-Wert von 10

In welcher Form Gd in natürlichen aquatischen Systemen tatsächlich vorkommt, wurde bisher nicht untersucht. Die geringe Konzentration in Seen und Flüssen bei gleichzeitig vergleichsweise häufigem Vorkommen in der Erdkruste zusammen mit den aufgeführten Stabilitätskonstanten und Löslichkeitsprodukten (siehe Tabelle 2.5.6) lassen aber vermuten, dass Gd überwiegend gebunden im Sediment dieser Systeme vorliegt.

Gd(OH) ₃	$Gd_2(CO_3)_3$	GdF ₃	GdPO ₄
24,05	32,20	18,081	25,62

Dass die Speziation von Gd in aquatischen Systemen nicht bekannt ist, liegt auch an den bisher verwendeten Analysemethoden. Die meisten Autoren verwendeten ICP-MS für die Messung wässriger Proben. Bei diesem Verfahren werden durch Lösung in HNO₃ die chemischen Bindungen zerstört und die nachzuweisenden Kationen bei ca. 5000°C in den Plasmazustand versetzt, was zu einer Ionisierung derselben führt. Daher kann über die Form, in der Gd vorliegt, keine Aussage gemacht werden. Auch in den Veröffentlichungen von BAU, MÖLLER, KNAPPE UND DULSKI [1;57-61] wurde dieses Nachweisverfahren angewendet. Deshalb konnten die Autoren nur vermuten, dass die MRT-Kontrastmittel Ursache der Gd-Anomalien sind. Einzig ZWIENER (2007) [36] setzte eine Kopplung von HPLC mit ESI-MS-MS bzw. HPLC mit ICP-AES ein. Er konnte somit nachweisen, dass durch Flockung in der Trinkwasseraufbereitung eine Freisetzung von Gd-Ionen zu erwarten ist.

3 Methoden

Um akute Effekte der Gd-Komplexe und des Gd-Ion auf aquatische Organismen abzuschätzen, wurde eine Testreihe mit Fischen, Wasserflöhen und Algen mit hohen Konzentrationen der MRT-Kontrastmittel sowie mit GdCl₃ x 6 H₂O durchgeführt. Jeder Testorganismus repräsentierte dabei eine trophische Ebene (siehe Abbildung 3.1). Außerdem wurde die Persistenz der MRT-Kontrastmittel in Studien zur biologischen Abbaubarkeit in Modellkläranlagen untersucht, die Belebtschlammorganismen stellten dabei die Ebene der Destruenten dar. Die Verteilung von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gd zwischen Sediment und wässriger Phase im aquatischen Sediment-System wurde verglichen, um abzuschätzen, in welchem Kompartiment des aquatischen Systems (Abbildung 3.1) die Gd-Chelate bzw. Gd sich anreichern und ob sie evtl. durch sich im Sediment befindende Organismen nach längerer Exposition abbaubar sind. Mit dem Bioakkumulationstest am Fisch sollte zum Einen die Anreicherung der Gd-Verbindungen in der Nahrungskette untersucht werden, andererseits stellt dieser Test auch einen chronischen Toxizitätstest dar, der die Langzeitwirkung geringerer Konzentrationen der Kontrastmittel bzw. des Gd-Ions auf Fische abbildet.



Abbildung 3.1: Wechselwirkungen im aquatischen Ökosystem und zugehörige Test-Systeme auf verschiedenen trophischen Ebenen

Alle beschriebenen Versuche wurden in Übereinstimmung mit den GLP Prinzipien durchgeführt.

3.1 Chemikalien

Magnevist[®] (Wirkstoff: Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gd-DTPA) und Gadovist[®] (Wirkstoff: Gadobutrol, Gd-BT-DO3A) wurden von der Bayer Schering Pharma AG, Deutschland, Prohance[®] (Wirkstoff: Gadoteridol, Gd-HP-DO3A) von Bracco Diagnostica, Italien, und Omniscan[®] (Wirkstoff: Gadodiamid, Gd-DTPA-BMA) von Amersham Healthcare, Norwegen, bezogen.

 $GdCl_3 \ge 6 H_2O$ wurde von der Firma Sigma-Aldrich bezogen und hatte eine Reinheit von 99.999 %.

 $GdCl_3 \times H_2O$ wurde ebenfalls von der Firma Sigma-Aldrich bezogen und hatte ein Reinheit von 99.99 %.

Tabelle 3.1.1 zeigt die Strukturen und verschiedene ausgewählte Eigenschaften der verwendeten MRT-Kontrastmittel.

IUPAC Namen, Molekulargewicht und		Struktur
Wasserloslic		
Substanz: Magnevist® Wirkstoff: Dimeglumin- Gadopentet- säure Molekular- gewicht: 938	2-{2-({2- [bis(carboxymethyl)amino] ethyl}(carboxymethyl)amino) ethyl}carboxymethyl)amino}ace tic acid, disodium gadolinium salt Wasserlöslichkeit: 1081,8 g/L	O = O = O = O = O = O = O = O = O = O =
Substanz:	IUPAC Name:	0
Gadovist [®] Wirkstoff: Gadobutrol	10-[(1SR, 2RS)-2,3-Dihydroxy- 1-hydroxymethyl-propyl]-1, 4, 7, 10-tetraaza-cyclododecane-1, 4, 7-triacetic acid, gadolinium- complex	$ \begin{array}{c} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\$
Molekular- gewicht: 604,7	Wasserlöslichkeit: 1081 g/L	O ⁻¹ OH OH
Substanz:	IUPAC Name:	
Prohance [®] Wirkstoff: Gadoteridol	10-2-hydroxypropyl 1, 4, 7, 10 tetraazacyclododecane 1, 4, 7- triacetic acid	O O O O O O O O O O
Molekular- gewicht: 558,7	Wasserlöslichkeit: > 279,3 g/L (Konzentration im Verkaufsprodukt)	
Substanz:	IUPAC Name:	
Omniscan [®] Wirkstoff: Gadodiamid	[N, N – Bis[2 – [(carboxy- methyl)[(methylcarbamoyl)me- thyl]amino]ethyl]-glycinato(3-)]- gadolinium	O Gd^{3+} N O O O O H_3 H
Molekular- gewicht: 591,68	Wasserlöslichkeit: > 287 g/L (Konzentration im Verkaufsprodukt)	

Tabelle 3.1.1: Struktur, IUPAC Namen, Molekulargewicht und Wasserlöslichkeit der getesteten Substanzen

3.2 Ökotoxikologische Untersuchungen

3.2.1 Algenwachstumshemmtest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadoteridol, Gadodiamid und GdCl₃ x 6 H₂O

Die Studien wurden in Übereinstimmung mit der OECD Richtlinie 201 [62] durchgeführt.

Die Testsubstanzen wurden in einer wässrigen, Nährsalze enthaltenden Lösung mit einer Algenpopulation von *Desmodesmus subspicatus* für eine Dauer von 72 h inkubiert.

Die nominalen Testkonzentrationen waren 0, 1,25, 2, 4, 10, 20, and 100 mg/L für Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadoteridol, Gadodiamid und $GdCl_3 \times 6 H_2O$.

Es wurden je Konzentration 3 Ansätze hergestellt. Für die Kontrolle wurden 6 Replikate angesetzt.

Für die Studien wurde ein automatischer Inkubationsapparat (Abimed Algen Test XT) verwendet. Die Zellkonzentration wurde mittels Bestimmung der Chlorophyllfluoreszenz über einen Kalibrierfaktor errechnet. Dieser Faktor wurde durch eine manuelle Messung der Fluoreszenzwerte im Algentestautomaten mit verschiedenen Verdünnungen von Algensuspensionen, deren Zellzahl zuvor in einem Coulter Counter bestimmt wurde, ermittelt. Hierzu wurde aus den gewonnenen Daten eine Kalibrierkurve erstellt und der dazugehörige Kalibrierfaktor mit dem Programm Sigma-Plot errechnet. Das Wachstum der Biomasse und die Wachstumsrate wurden auf der Basis der Zellzahlen nach folgender Formel berechnet.

Gleichung 9:
$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n}$$

wobei:

t_n Zeit der letzten Messung nach Testbeginn

N₀ nominale Ausgangszellzahl

N_n zum Zeitpunkt t_n gemessene Zellzahl

Für jede Testkonzentration und die Kontrolle wurden die Durchschnittswerte µ berechnet. Die Berechnungen wurden mit denen der Kontrollen verglichen und die Wachstumshemmung konnte somit nach folgender Formel bestimmt werden. Gleichung 10:

$$I_{\mu i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c}$$

wobei:

l _{µi}	prozentuale Hemmung der Wachstumsrate für die Konzentration i
μ _i	durchschnittliche Wachstumsrate für die Konzentration i

μ_c durchschnittliche Wachstumsrate für den Kontrollansatz

Bei der Studie mit der Prüfsubstanz $GdCl_3 \times 6 H_2O$ wurde die Stammlösung, die für die Herstellung der einzelnen Verdünnungen verwendet wurde, auf ihren Gehalt an Gd mittels ICP-MS untersucht. Diese Lösung wurde filtriert (0,45 µm).

Die Sensitivität der Algenkultur wurde zweimal im Jahr und bei jeder Erneuerung der Algenstammhaltung mit der Referenzsubstanz Kaliumdichromat überprüft. Die EC₅₀ (Wachstumsrate) lag während des Versuchszeitraums im Bereich der in einem Ringversuch ermittelten Grenzen zwischen 0,6 und 1,03 mg/L.



Abbildung 3.2.1.1: Testorganismus Desmodesmus subspicatus

3.2.2 Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und GdCl₃ x 6 H₂O

Die Studien wurden in Übereinstimmung mit der OECD-Richtlinie 202 und der EC Richtlinie Part C.2 [63], [64] durchgeführt.

Für den Test wurden fünf juvenile Wasserflöhe in 100 mL fassenden Bechergläsern der Testsubstanz bzw. dem Verdünnungswasser (Kontrolle) 48 h ausgesetzt. Je Konzentration wurden vier parallele Ansätze hergestellt.

Ein Wechsel der Prüflösungen erfolgte nicht. Nach 24 h und 48 h wurde die Anzahl der immobilisierten Wasserflöhe notiert. Der pH-Wert, Sauerstoffgehalt und die Temperatur wurden zu Beginn und nach 48 h gemessen.

Methoden

Die Testlösungen hatten nominale Konzentrationen von 0 und 100 mg/L (Prüfsubstanz: Dimeglumin-Gadopentetsäure) bzw. von 0, 40, 80, 160 und 320 mg/L (Prüfsubstanz: $GdCl_3 \times 6 H_2O$). Die Testlösung mit der Prüfsubstanz $GdCl_3 \times 6 H_2O$ wurde vor ihrem Einsatz in der Prüfung filtriert.

Proben für die Gehaltsbestimmung mittels ICP-MS bzw. HPLC-UV wurden zu Beginn und nach 48 h entnommen. Die Proben aus dem Immobilisierungstest mit GdCl₃ x 6 H₂O wurden nach 48 h erneut filtriert, da das Ausfallen eines weißen Niederschlags beobachtet wurde. Dieser Niederschlag resultierte aus dem Überschreiten des Löslichkeitsproduktes bei den verwendeten nominalen Konzentrationen.



Abbildung 3.2.2.1: Testorganismus Daphnia magna

Die Sensitivität der Wasserflöhe wurde viermal im Jahr mit der Referenzsubstanz Kaliumdichromat überprüft. Die $EC_{50/48 h}$ lag während des Versuchszeitraums im Bereich von 1,63 und 2,53 mg/L. Grundlage für die Zucht bildeten ca. 100 Daphnien (*Daphnia magna Strauss*), die vom Umweltbundesamt zur Verfügung gestellt wurden.

3.2.3 Akuter Toxizitätstest von Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadodiamid, Gadoteridol und GdCl₃ x 6 H₂O am Fisch

Die akute Toxizität von Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadodiamid, Gadoteridol und GdCl₃ x 6 H₂O wurde in Übereinstimmung mit der OECD-Richtlinie 203 [65] und der EC Richtlinie Part 2-Testing Methods, Part C. 1 [66] bestimmt.

Für die Studien wurden jeweils 10 Fische der Art *Danio rerio* einer Prüflösung mit einer nominalen Konzentration der Prüfsubstanz von 100 mg/L für 96 h ausgesetzt. Zusätzlich wurden 10 Fische als Kontrolle im Verdünnungsmedium (Leitungswasser, welches durch kupferfreie Leitungen geführt wurde) mitgeführt.

10 L der Prüflösung bzw. des Verdünnungsmediums wurden in 20 L fassende Glasaquarien überführt. Für die Prüfung wurden die Fische in Gruppen à fünf Tiere randomisiert und in je zwei Gruppen pro Aquarium eingesetzt.

Mortalität, Verhaltensauffälligkeiten, pH-Wert, Sauerstoffgehalt und Temperatur wurden nach 3, 6, 24, 48, 72 und 96 Stunden notiert.
Proben für die Bestimmung des Gd-Gehaltes mittels ICP-MS wurden zu Beginn, nach 48 h und nach 96 h entnommen. Über den Gehalt an Gd wurde die Konzentration der MRT-Kontrastmittel bzw. des $GdCl_3 \times 6 H_2O$ berechnet.



Abbildung 3.2.3.1: Testorganismus Danio rerio

Vor dem Einsatz der Testorganismen in den Toxizitätsprüfungen wurden die Fische (Züchter: B. Freisens, Lorsch) bei Raumtemperatur und einem Beleuchtungsrhythmus von 16h hell/8 h dunkel über einen Zeitraum von 14 Tagen an die Laborbedingungen gewöhnt. Die hydrographischen Parameter sowie Verhaltensauffälligkeiten und Mortalität wurden täglich gemessen und dokumentiert.

3.2.4 Reproduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadoteridol, Gadodiamid und GdCl₃ x 6 H₂O

Die Studien wurden in Übereinstimmung mit der OECD Richtlinie 211 durchgeführt. [67] Es wurden je Konzentration 10 juvenile Daphnien einzeln in 100 mL Bechergläsern in einem Volumen von 80 mL für eine Dauer von 21 Tagen in den Prüflösungen bzw. dem Verdünnungswasser gehalten. Dreimal wöchentlich wurden die Lösungen erneuert und die Wasserflöhe umgesetzt. Eine Fütterung erfolgte täglich mit einer Algensuspension von Chlorella vulgaris. Die Nachkommen jedes Wasserflohs wurden zu den Zeitpunkten der Prüflösungswechsel gezählt und dann verworfen. Die Mortalität der Elternflöhe sowie sonstige Auffälligkeiten wurden notiert. Einmal wöchentlich wurden pH-Wert, Sauerstoffgehalt und Temperatur in den frisch angesetzten und den alten Prüflösungen gemessen.

Zu Beginn, nach 8 und 15 Tagen wurden Proben von den frisch angesetzten Prüflösungen, nach 8, 15 und 22 Tagen Proben der alten Prüflösungen für die Gehaltsanalytik entnommen. Die alten Prüflösungen enthielten zusätzlich bis zu 2 mL Algensuspension, die für die Fütterung verwendet worden war. Die wässrigen Prüflösungen aus den 10 Bechergläsern jeder Konzentration wurden gepoolt und 5 mL bzw. 10 mL daraus entnommen. Die Proben wurden auf ihren Gehalt an Gd mittels ICP-MS untersucht und der entsprechende Gehalt der Prüfsubstanz wurde berechnet. Für die ICP-MS Analyse des Reproduktionstests am

Wasserfloh mit GdCl₃ x 6 H₂O wurden 5 mL entnommen, um den Gehalt an totalem Gd zu bestimmen und 5 mL, um den gelöstem Anteil an Gd zu bestimmen. Letztgenannte Proben wurden vor der Analyse zentrifugiert, um ausgefälltes Präzipitat zu entfernen, da das Löslichkeitsprodukt von Gd in Leitungswasser überschritten wurde.



Abbildung 3.2.4.1: Reproduktionstest am Wasserfloh

Die Sensitivität der Wasserflöhe wurde viermal im Jahr mit der Referenzsubstanz Kaliumdichromat überprüft. Die $EC_{50/48 h}$ lag während des Versuchszeitraums im Bereich von 1,63 bis 2,53 mg/L. Grundlage für die Zucht bildeten ca. 100 Daphnien (*Daphnia magna Strauss*), die vom Umweltbundesamt zur Verfügung gestellt wurden. Vor dem Reproduktionstest wurden die Wasserflöhe vereinzelt und die dritte Brut der 3. Generation wurde für den Test verwendet.

Die Validität der Prüfung wurde anhand der Parameter Mortalität der Elternflöhe (<20 %), und der Mindestanzahl an Nachkommen nach 21 Tagen (mindestens 60 pro Elternfloh) in der Kontrollgruppe sichergestellt.

Es wurde eine statistische Auswertung der Ergebnisse mit dem Programm "ToxRat Professional" durchgeführt.

3.2.5 Bioakkumulationstest am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und GdCl₃ x H₂O

Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der OECD Richtlinie 305 durchgeführt. [68] Der Versuch wurde im Durchflussverfahren mit einer Testkonzentration von 2,98 mg Gd/L in Form von 17,79 mg Dimeglumin-Gadopentetsäure/L und 5 mg GdCl₃ x H₂O/L sowie einer gemeinsamen Leitungswasserkontrolle, der anstelle der Prüfsubstanz entsalztes Wasser zugesetzt wurde, durchgeführt. Die Testgruppen wurden in zwei Parallelansätzen geführt. Der Prüfaufbau für eine Testgruppe ist in Abbildung 3.2.5.1 dargestellt. Dem hauseigenen Leitungsnetz wurde belüftetes und temperiertes Leitungswasser entnommen. Die Prüfsubstanz wurde von Infusionspumpen gefördert. In einem Mischgefäß wurden

Schläuche, die Leitungswasser förderten, mit Schläuchen, die die hoch konzentrierten Prüflösungen bzw. das entsalzte Wasser förderten, zusammengeführt. Die hoch konzentrierten Prüflösungen wurden in dem Mischgefäß mit Hilfe von Magnetrührern mit dem Leitungswasser vermischt, so dass sich innerhalb der Mischgefäße die gewünschte Prüfkonzentration einstellte. Durch einen Überlauf entsprechend der eingestellten Durchflussmenge gelangte das so aufbereitete Aquarienwasser kontinuierlich in die Testaquarien.



Abbildung 3.2.5.1: Prüfaufbau des Bioakkumulationstests

Die Zuflussgeschwindigkeit des Leitungswassers betrug ca. 5 L/h pro Replikat, das entspricht 120 L/d pro Becken. Die Testsubstanzen wurden als Stammlösung mit einer nominalen Konzentration von 50 g GdCl₃ x H₂O / L und 379,31 mL Magnevist[®] - Lösung mit einer Geschwindigkeit von 1 mL/h zudosiert. Die GdCl₃ x H₂O-Lösung wurde mit HCl auf einen pH-Wert von 3 angesäuert, um ein Ausfällen der Substanz in der Spritze zu vermeiden und sie für den Zeitraum des Versuchs in Lösung zu halten. Der Wechsel der Stammlösung in den Infusionspumpen erfolgte ca. alle 48 Stunden.

Nach einer Vorlaufphase von drei Tagen, in der die Becken mit der Prüfsubstanz gesättigt wurden, wurden die Fische der Art *Danio rerio* in die Testbecken überführt. Die Expositionsphase dauerte vier Wochen. Daran schloss sich eine zweiwöchige Ausschwemmphase an.

Die Wassertemperatur betrug 23 $^{\circ}$ C ± 1, der Beleuchtungsrhythmus 16 h Tag/8 h Nacht.

Während der Versuchsphase wurden an Tag 4, 7, 14, 21, 24, 28, 33, 36, 39 und 42 je 20 mL-Proben pro Testgefäß (einschließlich Kontrolle) für die Gehaltsanalyse entnommen.

An Tag 4, 14, 21, 28 und 42 wurde eine definierte Anzahl von Versuchstieren (2 - 4 Tiere pro Gruppe) getötet, um die Konzentration im Fischgewebe zu bestimmen. Die Fische wurden im Trockenschrank bei 105 °C getrocknet. Die Konzentration der Testsubstanz in Fisch und Wasser wurde bzgl. des Gehalts an Gd mittels ICP-MS im Auftragsinstitut Orga Lab GmbH untersucht (siehe Kapitel 3.4.2).

Sauerstoffgehalt, pH-Wert und Temperatur wurden täglich (außer am Wochenende) gemessen und dokumentiert.

Der Bioakkumulationsfaktor im Fisch (BCF_F) wurde nach folgender Formel berechnet:

Gleichung 11 $BCF_F = c_F/c_W$

wobei:

BCF _F	Bioakkumulationsfaktor im Fisch
C _F	mittlere Konzentration an Gd im Fisch
C _W	mittlere Konzentration im Wasser

3.3 Untersuchungen zum Umweltverhalten

3.3.1 Flockungsversuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure in entsalztem Wasser und Leitungswasser sowie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in der Modellkläranlage

In der Kläranlagentechnologie und der Trinkwasseraufbereitung wird die Flockung mit Eisenund Aluminiumsalzen eingesetzt, um das Absetzverhalten von Partikeln zu verbessern.

Um die Auswirkungen des Flockungsmittels FeCl₃ auf die Gd-Chelate zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Arbeit sowohl Batchversuche mit entsalztem Wasser und Leitungswasser durchgeführt als auch ein Flockungsversuch in der Modellkläranlage.

Für die Batchversuche wurde eine Lösung mit einer nominalen Konzentration von 100 mg Dimeglumin-Gadopentetsäure/L in Leitungswasser, eine Lösung mit einer nominalen Konzentration von 100 mg Dimeglumin-Gadopentetsäure/L in entsalztem Wasser sowie eine 0,3 M FeCl₃-Lösung (81,1 g/L) in entsalztem Wasser hergestellt.

Verdünnungen der Dimeglumin-Gadopentetsäure-Lösungen wurden mit verschiedenen Mengen der FeCl₃-Lösung versetzt. Dafür wurden von den Lösungen je 50 mL in 100 mL-Messkolben überführt, mit 1,67 mL, 4 mL und 10 mL der FeCl₃-Lösung versetzt und bis zur Eichmarke mit entsalztem Wasser bzw. Leitungswasser aufgefüllt und für 72 h auf dem Magnetrührer gerührt. Außerdem wurden jeweils 100 mL der Dimeglumin-Gadopentetsäure - Lösungen in 100 mL-Messkolben überführt und unverdünnt für 72 h gerührt.

Zu Beginn, nach 24 h und nach 72 h wurden ca. 10 mL aus den Testansätzen entnommen und auf ihren Gehalt an Dimeglumin-Gadopentetsäure mittels HPLC-UV untersucht.

Von der FeCl₃-Lösung, dem entsalztem Wasser und dem Leitungswasser wurden zu Beginn ebenfalls ca. 10 mL für die Gehaltsanalyse entnommen.

Der pH-Wert und die Temperatur wurden in den Testansätzen nach 72 h gemessen, in den Prüflösungen wurde der pH-Wert zu Expositionsbeginn gemessen.

Die Auswirkungen der Flockung mit FeCl₃ auf das Verhalten von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol wurde außerdem in den unter Punkt 3.3.2 beschriebenen Modellkläranlagen untersucht. Dazu wurden 200 mL einer 0,3 M FeCl₃-Lösung in die Anlagen 1, 3 und 4 gegeben. Es wurden jeweils vor der Flockung und an zwei Zeitpunkten nach der Flockung Proben für die Gehaltsanalytik aus dem Belebungsbecken und dem Ablauf entnommen.

3.3.2 Biologische Abbaubarkeit von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in Modellkläranlagen

Die Studien wurden in Übereinstimmung mit der DIN 38412-Teil 26 durchgeführt [69].

Belebtschlamm aus einer kommunalen Kläranlage wurde zur Animpfung der Modellkläranlagen verwendet, die mit synthetischer Nährlösung und Leitungswasser beschickt wurden. Das Belebtschlammbecken wurde belüftet, über eine Druckluftpumpe wurde viermal pro Stunde Schlamm aus dem Absetzbecken in das Belebtschlammbecken zurückgepumpt. Abbildung 3.3.2.1 zeigt den Versuchsaufbau einer Modellkläranlage.

Es wurden 4 Modellkläranlagen gleichzeitig betrieben. Die biologische Abbaubarkeit von Dimeglumin-Gadopentetsäure wurde in den Anlagen 2 und 3 mit verschiedenen Konzentrationen (40 µg/L und 10 mg/L) untersucht, Gadobutrol wurde auf seine biologische Abbaubarkeit mit einer Konzentration von 10 mg/L in Anlage 4 getestet. Die Konzentrationen von jeweils 10 mg/L wurden gewählt, um die Prüfsubstanz bei der Gehaltsanalytik mittels HPLC/UV auch bei einem evtl. auftretendem biologischen Abbau noch nachweisen zu können. Die Konzentration in Anlage 2 (40 µg/L) wurde gewählt, um einerseits die Größenordnung umweltrelevanter Konzentrationen (1 µg Gd/L im Ablauf einer Kläranlage) abzubilden. Andererseits sollte nach einer Einengung von 500 mL des Ablaufs (eine größere Menge der Probe zu nehmen, war aus technischen Gründen nicht möglich) mittels Gefriertrocknung die Prüfsubstanz noch nachweisbar sein. Anlage 1 diente als Kontrolle und wurde ausschließlich mit synthetischer Nährlösung und Leitungswasser beschickt.

Pro Tag wurden 12 L Trinkwasser in das Belebtschlammbecken gepumpt. Das entspricht einer mittleren hydraulischen Verweildauer des Abwassers von 6 h im Belebungsbecken.

Nach einer Vorlaufphase von 49 Tagen, während derer alle Anlagen wie die Kontrolle behandelt wurden, wurden die Prüfsubstanzen in wässriger Lösung über Infusionspumpen in die Modellkläranlagen 2, 3 und 4 gegeben.

Die Inkubationsphase dauerte ebenfalls 49 Tage.

Sowohl während der Vorlaufphase als auch während der Inkubationsphase kam es wiederholt zu Blähschlammereignissen und damit zur Instabilität der Anlagen, weshalb die ursprünglich vorgesehene Dauer von 14 Tagen Adaptation und 28 Tagen Inkubation auf jeweils 49 Tage verlängert werden musste.



Abbildung 3.3.1.1: Aufbau einer Modellkläranlage

Während Vorlauf- und Inkubationsphase wurden einmal pro Tag an fünf Tagen in der Woche Sauerstoffgehalt und Temperatur gemessen.

Aus dem Zu- und Ablauf wurden während der Vorlaufphase zu fünf Zeitpunkten Proben für eine DOC-Analyse entnommen.

Aus dem Ablauf wurden hierfür mit einer Spritze 10 mL aus dem Bereich der Ablauföffnung des Absetzbeckens entnommen und durch einen Membranfilter (PE, 0,45 µm) filtriert.

Für die Zulaufprobe erfolgte eine gemeinsame Sammlung (ca. 10 mL) des Trinkwassers und des Abwasserkonzentrates aus den zuführenden Schläuchen. Die DOC-Analyse erfolgte mittels eines TOC-Analyzers (Shimadzu ASI-V). Über die DOC-Bestimmung wurde der Abbaugrad des synthetischen Abwassers berechnet.

Die Berechnung des Abbaugrades erfolgte nach folgender Formel:

Gleichung 12: Abbaugrad =
$$(1 - DOC_{Ablauf}/DOC_{Zulauf}) \times 100$$

wobei:

DOC_{Ablauf} DOC-Gehalt im Ablauf

DOC_{Zulauf} DOC-Gehalt im Zulauf

Während der Inkubationsphase wurden die Proben für die DOC-Bestimmung aus dem Ablauf auf die gleiche Weise entnommen wie in der Vorlaufphase. Da aber das synthetische Abwasser aufgrund von Blähschlammereignissen diskontinuierlich (3 - 4 mal täglich Zugabe von 50 mL) zugeführt wurde, erfolgte die Probenahme im Zulauf nicht mehr über eine gemeinsame Sammlung. Es wurden stattdessen ca. 10 mL aus dem Überstand des aus dem Belebungsbecken entnommenen Schlamms für die Bestimmung des Schlammabsetz-volumens (SV) entnommen und durch einen Membranfilter filtriert (zur Bestimmung des SV siehe unten).

Die Proben für die DOC-Analyse wurden während der Inkubationsphase zweimal wöchentlich entnommen. Allerdings konnten aufgrund der diskontinuierlichen Beschickung mit synthetischem Abwasser die genommenen Proben nicht mehr ausgewertet werden. Durch die Zugabe des synthetischen Abwassers in das Belebungsbecken erfolgte eine enorme Verdünnung, wodurch der Wert des DOC wesentlich geringer war als der DOC_{Zulauf}, der bei einer gemeinsamen Sammlung von Leitungswasser und synthetischem Abwasser gemessen wurde.

Der Schlammindex (SI) wurde während Vorlaufphase und Inkubation zweimal pro Woche über das SV und den Trockensubstanzgehalt (TG) bestimmt.

Für die Bestimmung des SV wurden 100 mL aus dem Belebungsbecken entnommen, in einen 100 mL Messzylinder überführt und für 30 Minuten stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurde das Volumen des abgesetzten Schlammes abgelesen.

Für die Bestimmung des TG wurden 50 mL des Schlammes aus dem Belebungsbecken entnommen und über einen Glasfaserfilter, der im Exsikkator für mindestens einen Tag getrocknet und dessen Gewicht vorher bestimmt wurde, mit Hilfe einer Vakuumfiltrationsanlage filtriert. Der Filter mit dem Retenat wurde 4 h bei 105 °C in einem Sterilisator getrocknet und das Filtergewicht wurde erneut bestimmt. Die Differenz des Filtergewichts mit und ohne Retenat wurde mit dem Faktor 20 multipliziert, um den TG in g/L zu erhalten.

Der SI wurde nach folgender Formel berechnet:

Gleichung 13: SI = SV x 10/TG

wobei:

SI Schlammindex

SV Schlammvolumen

TG Trockensubstanzgehalt

Eine Bewertung des Eliminationsgrades von Dimeglumin-Gadopentetsäure bzw. Gadobutrol erfolgte durch Vergleich der analytischen Messung aus Zu- und Ablauf.

Proben für die Konzentrationsbestimmung der zugegebenen Prüfsubstanz im Zu- und Ablauf wurden zweimal pro Woche entnommen.

Für die Konzentrationsbestimmung aus der Anlage 1 (Kontrolle) und aus Anlage 2 (Konzentration 40 µg Dimeglumin-Gadopentetsäure/L) wurden zweimal wöchentlich über den Tag verteilt ca. 550 mL aus dem Absetzbecken entnommen und steril filtriert. 500 mL von dieser Lösung wurden in Rundkolben überführt, einer Gefriertrocknung zugeführt, in 10 mL bidestilliertem Wasser aufgenommen, in einem Spitzkolben erneut der Gefriertrocknung unterzogen und dann in 2 mL bidestilliertem Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung wurde mittels HPLC-UV analysiert.

Aus Anlage 3 (Konzentration 10 mg Dimeglumin-Gadopentetsäure /L) und Anlage 4 (Konzentration 10 mg Gadobutrol/L) wurden zweimal wöchentlich 20 mL aus dem Absetzbecken entnommen und steril filtriert. Die Lösungen wurden in Spitzkolben überführt, der Gefriertrocknung zugeführt und dann in 2 mL bidestilliertem H₂O aufgenommen. Die so erhaltenen Lösungen wurden mittels HPLC-UV analysiert.

Da sich nach der Analyse der ersten wie eben beschrieben behandelten Proben herausstellte, dass aus ungeklärten Gründen ein zu großer Substanzverlust auftrat, wurde die Probenbehandlung umgestellt. Auf die Gefriertrocknung wurde verzichtet. Da die Konzentration in Anlage 2 zu gering für den quantitativen Nachweis ohne Aufkonzentrierung war (Nachweisgrenze für Dimeglumin-Gadopentetsäure liegt oberhalb von 40 µg/L, siehe Kapitel 3.4.1), wurden Proben für die Analyse mittels HPLC-UV aus den Anlagen 1, 3 und 4 gezogen. Es wurden jeweils ca. 12 mL entnommen und steril filtriert. Die so erhaltenen Lösungen wurden mittels HPLC-UV analysiert.

Von den Stammlösungen wurden zu Beginn und nach einem Monat der Exposition (Neuansatz der Stammlösung) ca. 10 mL für die Gehaltsanalytik entnommen und mittels HPLC-UV analysiert.

3.3.3 Aerobe Transformation im aquatischen Sediment mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und GdCl₃ x 6 H₂O

Die Studie wurde in Anlehnung an die OECD Richtlinie 308 [70] durchgeführt.

Für die aerobe Studie wurde Sediment aus dem Tegeler See aus einer Wassertiefe von ca. 40 cm aus dem Uferbereich und Wasser des Tegeler Sees als Verdünnungsmedium für die Herstellung der Prüflösungen verwendet. Kenngrößen des Sedimentes zeigt Tabelle 3.3.3.1.

Tabelle 3.3.3.1: Kenngrößen des verwendeten Sedimentes

pH CaCl₂	7,29
Kalk CaCO ₃ [%]	2,9
Organischer Kohlenstoff [% C]	0,81
KAK in meq/100 g	5,0
Anteil Feinboden (< 2 mm)	93,99
Redox-Potential (nach DIN ISO 11271)	+30 mV

Für die Ansätze mit der Prüfsubstanz wurden je 50 g Sediment (Fraktion < 2 mm Korngröße) mit 150 g Probenwasser bzw. Prüflösung in 500 mL fassenden Gaswaschflaschen überschichtet. Diese wurden belüftet und über Gaswaschflaschenaufsätze und Schläuche mit jeweils einer bis zur Hälfte mit entsalztem Wasser gefüllten 250 mL fassenden Gaswaschflasche verbunden. Die Luft wurde über Aktivkohle geleitet. Anhand der Luftblasen im entsalzten Wasser wurde die Luftzufuhr kontrolliert.

Den Aufbau des Versuchs zeigt Abbildung 3.3.3.1.

Die Gesamtdauer der Studie betrug 100 Tage und wurde bei einer Temperatur von 22 \pm 2 °C unter Lichtabschluss durchgeführt.

Prüflösungen von Dimeglumin-Gadopentetsäure und $GdCl_3 \times 6 H_2O$ mit Wasser aus dem Tegeler See wurden mit einer nominalen Konzentration von 16,83 mg Gd hergestellt, was 100 mg Dimeglumin-Gadopentetsäure und 28,22 mg $GdCl_3 \times 6 H_2O$ entsprach.

Pro Probenahmezeitpunkt für die Gehaltsanalytik mittels ICP-MS wurden drei Replikate angesetzt.



Abbildung 3.3.3.1: Aufbau eines Sedimentansatzes

An Tag 2, 8, 15 und 100 wurden die Testansätze des jeweiligen Probenahmezeitpunktes filtriert. Die wässrigen Überstände wurden in PE-Flaschen überführt.

Um Gd, das sich im interstitiellen Wasser befindet, aus den Rückständen zu eluieren, wurden die Filterrückstände mit jeweils 100 mL entsalztem Wasser versetzt. Zusammen mit dem Filter wurde das entsalzte Wasser zurück in die Testgefäße überführt. Danach wurden sie auf einem Magnetrührer für ca. 24 h gerührt. Am nächsten Tag wurden sie erneut filtriert. Die wässrigen Überstande wurden in PE-Flaschen überführt.

Um ausgefallenes Gd, welches leicht löslich ist, nachzuweisen, wurden die Filterrückstände mit 100 mL 0,05 M HCI versetzt und zusammen mit den Filtern zurück in die Testgefäße überführt. Nach ca. 24 h Rühren wurden diese erneut filtriert, die Überstände wurden in PE-Flaschen überführt. Der Filterrückstand wurde ebenfalls in PE-Flaschen überführt. Folgende Abbildung verdeutlicht das Filtrationsverfahren.



Abbildung 3.3.3.2: Filtrationsverfahren in der Sedimentstudie

Um die Hintergrundbelastung des Sedimentes und des Probenwassers mit Gd zu bestimmen, wurde auch eine Bestimmung des Gd-Gehaltes im verwendeten Sediment und Probenwasser durchgeführt. Dafür wurden ca. 200 mL des Probenwassers, 200 mL der Prüflösungen und 200 g des Sedimentes entnommen.

Bei der Studie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure erfolgte eine zusätzliche Probenentnahme für eine Gehaltsanalyse mittels HPLC-UV (siehe Kapitel 3.4.1). Dafür wurden pro Probenahmezeitpunkt ca. 10 mL des wässrigen Überstandes aus den Replikaten entnommen. Die folgende Tabelle fasst die Probenahmezeitpunkte, Analyseverfahren und anfallende Proben zusammen.

Zeitpunkt	Analyseverfahren	Probe
Tag 1	ICP-MS	Probenwasser, Sediment
Tag 2	ICP-MS, HPLC-UV	wässriger Überstand von 6 Testansätzen
Tag 2	ICP-MS	wässriger Überstand (ents. Wasser) von 6 Testansätzen
Tag 2	ICP-MS	saurer Überstand (verd. HCl) von 6 Testansätzen Filterrückstände von 6 Testansätzen
Tag 8	ICP-MS, HPLC-UV	wässriger Überstand von 6 Testansätzen
Tag 8	ICP-MS	wässriger Überstand (ents. Wasser) von 6 Testansätzen
Tag 8	ICP-MS	saurer Überstand (verd. HCl) von 6 Testansätzen Filterrückstände von 6 Testansätzen
Tag 15	ICP-MS, HPLC-UV	wässriger Überstand von 6 Testansätzen
Tag 15	ICP-MS	wässriger Überstand (ents. Wasser) von 6 Testansätzen
Tag 15	ICP-MS	saurer Überstand (verd. HCl) von 6 Testansätzen Filterrückstände von 6 Testansätzen
Tag 100	ICP-MS, HPLC-UV	wässriger Überstand von 6 Testansätzen
Tag 100	ICP-MS	wässriger Überstand (ents. Wasser) von 6 Testansätzen
Tag 100	ICP-MS	saurer Überstand (verd. HCl) von 6 Testansätzen Filterrückstände von 6 Testansätzen

 Tabelle 3.3.3.2: Probenahmezeitpunkte, Analyseverfahren und anfallende Proben (Sedimenttest)

Das Probenwasser, die wässrigen Überstände der Testansätze, wässrige Eluate, saure Eluate, Filterrückstände und das Sediment wurden bzgl. des Gehalts an Gd mittels ICP-MS im Auftragsinstitut Orga Lab GmbH untersucht (siehe Kapitel 3.4.2).

Der pH-Wert und die Temperatur wurden vor Expositionsbeginn und am jeweiligen Ende der Exposition (also Tag 2, 8, 15 und 100) in der wässrigen Phase von einem der 3 Replikate gemessen.

Der Anreicherungsfaktor für das Sediment (AFs) wurde nach folgender Formel bestimmt:

Gleichung 14: $AF_s = c_s/c_w$

wobei:

AFs	Anreicherungsfaktor im Sediment
C _S	Konzentration an Gd im Sediment nach 100 Tagen
C _W	Konzentration an Gd im Wasser nach 100 Tagen

3.4 Gehaltsanalytik

3.4.1 Gehaltsanalytik mittels HPLC-UV

Eine Gehaltsanalyse mittels HPLC-UV wurde eigenständig für folgende Versuche durchgeführt:

- Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
- Bioakkumulation am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
- Biologische Abbaubarkeit von Dimeglumin-Gadopentetsäure in der Modellkläranlage
- Biologische Abbaubarkeit von Gadobutrol in der Modellkläranlage
- Aerobe Transformation im aquatischen Sediment von Dimeglumin-Gadopentetsäure
- Flockungsversuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure in entsalztem Wasser und Leitungswasser

Für die Gehaltbestimmung von Dimeglumin-Gadopentetsäure wurde ein HPLC-System von AGILENT bestehend aus einer Pumpe A 1100, einem Autosampler und einem DA-Detektor eingesetzt.

Eine Säule des Typs Luna C18 mit einer Korngröße von 5 µm und den Dimensionen 150 x 4,6 mm wurde eingesetzt, eine wässrige Lösung bestehend aus 80 % bidestilliertem Wasser, 20 % Methanol und 1,74 g Tetrabutylammoniumperchlorat wurde als Fließmittel verwendet.

Eine Flussrate von 1 mL/min und eine Detektionswellenlänge von 196 nm wurden eingestellt. Die Retentionszeit lag je nach Matrix zwischen 17 und 21 Minuten.

Die Methode wurde durch die Überprüfung der Linearität, der Bestimmungs- und Nachweisgrenze und der Reproduzierbarkeit validiert.

Die Bestimmungsgrenze lag bei 5,9 mg/L, die Nachweisgrenze bei 2,0 mg/L.

Auch für die Gehaltsanalyse von Gadobutrol wurde das HPLC-System von Agilent bestehend aus einer Pumpe A 1100, einem Autosampler und einem DA-Detektor eingesetzt.

Eine Säule des Typs Synergi Polar-RP mit einer Korngröße von 4 µm und den Dimensionen 150 x 4,6 mm wurde verwendet, als Fließmittel wurde eine wässrige Lösung bestehend aus 100 % bidestilliertem Wasser und 0,1 mL Triethylamin, die auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt wurde, verwendet.

Eine Flussrate von 1,5 mL/min und eine Detektionswellenlänge von 196 nm wurden eingestellt.

Die Retentionszeit lag je nach Matrix zwischen 8 und 11 Minuten.

Die Methode wurde durch die Überprüfung der Linearität, der Bestimmungs- und Nachweisgrenze und der Reproduzierbarkeit validiert.

Die Bestimmungsgrenze lag bei 2,1 mg/L, die Nachweisgrenze bei 0,7 mg/L.

Gesteuert und ausgewertet wurden die HPLC-UV Analysen mit dem System Empower2.

3.4.2 Gehaltsanalytik mittels ICP-MS, ICP-AES

Die Gehaltsanalyse mittels ICP-MS wurde für folgende Versuche in der Funktion Pharmakokinetik der Bayer Schering Pharma AG durchgeführt:

- Akute Toxizität am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
- Akute Toxizität am Fisch mit Gadobutrol
- Akute Toxizität am Fisch mit Gadoteridol und
- Akute Toxizität am Fisch mit Gadodiamid
- Akute Toxizität am Fisch mit GdCl₃ x 6 H₂O
- Algenwachstumshemmtest mit GdCl₃ x 6 H₂O
- Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit GdCl₃ x 6 H₂O
- Reproduktionstest am Wasserfloh mit GdCl₃ x 6 H₂O

Es wurde ein ICP-MS System von Perkin Elmer Instruments LLC bestehend aus einem ELAN 9000 Gerät und einem Autosampler AS-93 Plus verwendet.

Die wässrigen Proben wurden mit einem internen Standard (Terbium, Tb) versetzt und 1:100 mit 1%iger Salpetersäure verdünnt.

Die Nachweisgrenze lag bei 0,01 mg Gd/L.

Methoden

Die Gehaltsanalyse mittels ICP-AES wurde für folgende Versuche in der Funktion RBA DG MRI & XR der Bayer Schering Pharma AG durchgeführt:

- Reproduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
- Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadobutrol
- Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadoteridol
- Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadodiamid

Es wurde ein ICP-AES System TJA IRIS Advantage HR von der Fa. Thermo verwendet. Die wässrigen Proben wurden mit einem internen Standard (Yttrium, Y) versetzt und mit 65 % HNO₃ angesäuert.

Die Nachweisgrenze lag bei 0,1 µMol Gd.

Die Gehaltsanalyse mittels ICP-MS wurde für folgende Versuche bei der Orga Lab GmbH durchgeführt:

- Aerobe Transformation im aquatischen Sediment mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
- Aerobe Transformation im aquatischen Sediment mit GdCl₃ x 6 H₂O
- Bioakkumulation am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
- Bioakkumulation am Fisch mit GdCl₃ x H₂O

Es wurde ein ICP-MS Gerät (Thermo X Series II) mit Autosampler (CETAC 510) und einer Kühlung (Thermo 100) verwendet. Die Proben wurden mit Salpetersäure (65 %) angesäuert und mit einem internen Standard (Rh) versetzt.

Die Nachweisgrenze lag bei 1,9 ppb Gd.

Die Sediment- und Fischproben wurden zuerst im Mikrowellenaufschlussgerät mit einem Gemisch aus konzentrierter Salpetersäure und Wasserstoffperoxid (35 %) aufgeschlossen und dann auf den Gehalt an Gd untersucht.

Die Gehaltsanalyse bei der Orga Lab GmbH wurde nicht in strikter Übereinstimmung mit den GLP-Prinzipien durchgeführt.

Das Auftragsinstitut verfügte aber über eine gültige Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025:2000 (DAP-PA-2326.00).

4 Ergebnisse

4.1 Ökotoxikologische Untersuchungen

Folgende ökotoxikologische Untersuchungen wurden durchgeführt:

- Algenwachstumshemmtest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadoteridol, Gadodiamid und GdCl₃ x 6 H₂O
- Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und GdCl₃ x 6 H₂O
- Akuter Toxizitätstest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadodiamid, Gadoteridol und GdCl₃ x 6 H₂O am Fisch
- Reproduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadoteridol, Gadodiamid und GdCl₃ x 6 H₂O
- Bioakkumulationstest am Fisch mit GdCl₃ x 6 H₂O und Dimeglumin-Gadopentetsäure

Die ökotoxikologischen Untersuchungen ergaben, dass die Gd-Chelate nicht toxisch auf Fische und Wasserflöhe wirkten und bei Algen nur in sehr hohen Konzentrationen nachteilige Effekte verursachten.

Gd aus GdCl₃ x 6 H₂O zeigte toxische Wirkungen auf Wasserflöhe und Algen, jedoch nicht auf Fische. Die Ergebnisse der ökotoxikologischen Studien werden nachfolgend einzeln aufgeführt.

4.1.1 Algenwachstumshemmtest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadoteridol, Gadodiamid und GdCl₃ x 6 H₂O

Das Algenwachstum wurde bei hohen Konzentrationen verschiedener Kontrastmittel sowie durch $GdCI_3 \times 6 H_2O$ gehemmt. Signifikante Unterschiede im Wachstum im Vergleich zur Kontrolle ergaben sich jedoch nur bei einer Konzentration von 100 mg/L Gadodiamid sowie bei verschiedenen Konzentrationen an Gd aus $GdCI_3 \times 6 H_2O$. Die Ergebnisse der einzelnen Studien sind im Folgenden dargestellt.

4.1.1.1 Algenwachstumshemmtest mit Dimeglumin-Gadopentetsäure

Die berechneten Zellzahlen nach 24 h, 48 h und 72 h sind im Anhang wiedergegeben. Die aus den Zellzahlen berechnete Beeinflussung des Wachstums von *Desmodesmus subspicatus* nach 72 h Exposition zeigt Abbildung 4.1.1.1.1.

Es war keine signifikante Wachstumshemmung erkennbar.

Die EC₅₀/72 h (Biomasse) und die EC₅₀/72 h (Wachstumsrate) lagen über der eingesetzten höchsten Konzentration von 100 mg/L.

Auch bei der mikroskopischen Untersuchung der Algenzellen wurden keine Änderungen der morphologischen Struktur oder andere Veränderungen beobachtet.

Der pH-Wert der Testlösung lag zwischen 9,7 und 10,4 während der Studie.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag bei 24 ± 1 °C.



Abbildung 4.1.1.1: Wachstumskurven von *Desmodesmus subspicatus* (Prüfsubstanz: Dimeglumin-Gadopentetsäure)

4.1.1.2 Algenwachstumshemmtest mit Gadoteridol

Die berechneten Zellzahlen nach 24 h, 48 h und 72 h sind im Anhang wiedergegeben. Die aus den Zellzahlen berechneten Wachstumskurven von *Desmodesmus subspicatus* nach 72 h Exposition zeigt Abbildung 4.1.1.2.1. Es war keine signifikante Wachstumshemmung zu verzeichnen.



Abbildung 4.1.1.2.1: Wachstumskurven von *Desmodesmus subspicatus* (Prüfsubstanz: Gadoteridol)

Die $EC_{50}/72$ h (Biomasse) und die $EC_{50}/72$ h (Wachstumsrate) waren größer als die eingesetzte höchste Konzentration von 100 mg/L. Deshalb war keine Bestimmung dieser Parameter möglich.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Algenzellen wurden keine Änderungen der morphologischen Struktur oder andere Veränderungen beobachtet.

Der pH-Wert der Testlösung lag zwischen 9,3 und 10,4 während der Studie.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag bei 24 ± 1 °C.

4.1.1.3 Algenwachstumshemmtest mit Gadodiamid

Die berechneten Zellzahlen nach 24 h, 48 h und 72 h sind im Anhang wiedergegeben. Die aus den Zellzahlen berechnete Wachstumshemmung von *Desmodesmus subspicatus* nach 72 h Exposition zeigt Abbildung 4.1.1.3.1. In den Konzentrationen bis 20 mg/L wurde keine Wachstumshemmung beobachtet.



Abbildung 4.1.1.3.1: Wachstumskurven von *Desmodesmus subspicatus* (Prüfsubstanz: Gadodiamid)

Ein signifikanter Unterschied im Wachstum zum Kontrollansatz trat ausschließlich nach 72 h bei einer Konzentration von 100 mg/L auf. *Desmodesmus subspicatus* wurde bei dieser Konzentration zu 79 % im Wachstum gehemmt. Aufgrund der fehlenden Abstufung der Konzentration zwischen 20 und 100 mg/L konnte nicht erfasst werden, bei welcher Konzentration die Wachstumshemmung einsetzte. Da eine Konzentration von 20 mg/L allerdings schon jenseits jeglicher in der Umwelt zu erwartenden Konzentration lag und bei dieser Konzentration keine Effekte zu verzeichnen waren, wurde auf zusätzliche Untersuchungen verzichtet.

Die berechnete $EC_{50}/72$ h (Biomasse) lag bei 40,2 mg/L, die NOEC bei 20 mg/L.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Algenzellen wurden keine Änderungen der morphologischen Struktur oder andere Veränderungen beobachtet.

Der pH-Wert der Testlösung lag zwischen 9,3 und 10,4 während der Studie. Die Temperatur in den Testgefäßen lag bei 24 ± 1 °C.

4.1.1.4 Algenwachstumshemmtest mit GdCl₃ x 6 H₂O

Die berechneten Zellzahlen nach 24 h, 48 h und 72 h sind in Tabelle A 4.1.1.4.1 im Anhang wiedergegeben. Die aus den Zellzahlen berechnete Wachstumshemmung von *Desmodesmus subspicatus* nach 72 h Exposition zeigt Abbildung 4.1.1.4.1.





Bei einer Konzentration von 5,22 mg/L trat eine Wachstumshemmung von 67,5 % auf, was einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle darstellt. Bis zu höchsten eingesetzten Konzentration von 41,76 mg/L stieg die Wachstumshemmung auf 85,6 %.

Aufgrund von negativen Fluoreszenzwerten zu Beginn des Testes konnte weder die $EC_{50}/72$ h (Biomasse) noch die $EC_{50}/72$ h (Wachstumsrate) berechnet werden. Die NOEC lag bei 2,09 mg Gd /L, was 4,94 mg GdCl₃ x 6 H₂O/L entspricht.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Algenzellen wurden keine relevanten Änderungen der morphologischen Struktur oder andere Veränderungen beobachtet.

Der pH-Wert der Testlösung lag zwischen 9,3 und 10,4 während der Studie.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag bei 24 ± 1 °C und erfüllte damit dieses Validitätskriterium.

Bei der mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse wurden in der Stammlösung 52,2 mg Gd/L gefunden, das entspricht mit 123,4 mg GdCl₃ x 6 H_2O /L ungefähr der Nominalkonzentration von 125 mg/L.

4.1.2 Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und $GdCI_3 \ge 6 H_2O$

Beim akuten Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure traten keine Effekte auf. $GdCl_3 \times 6 H_2O$ hingegen verursachte nach 48 h eine Mortalität von 35 % in der höchsten Konzentration. Die Ergebnisse der einzelnen Studien sind in den folgenden Abschnitten dargestellt.

4.1.2.1 Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure

Über den gesamten Expositionszeitraum wurde keine Immobilisierung in Kontroll- und Testlösung beobachtet (siehe Anhang, Tabelle A 4.1.2.1.1). Außerdem traten kein abnormes Verhalten oder Veränderungen des äußeren Erscheinungsbildes der Wasserflöhe auf.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 8,1 und 8,5 mg/L. Der pH-Wert der Testlösung lag zwischen 7,9 und 8,0 zu Beginn und zwischen 8,2 und 8,7 am Ende der Studie.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 21,0 und 22,0 °C während des Testes.

Die mittels HPLC-UV ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind im Anhang dargestellt. Es wurden leicht geringere Konzentrationen als die Nominalkonzentration von 100 mg/L gemessen.

4.1.2.2 Akuter Immobilisierungstest am Wasserfloh mit GdCl₃ x 6 H₂O

Die kumulative Mortalität ist in folgender Tabelle wiedergegeben. Nach 48 h starben im Ansatz mit der höchsten Konzentration 7 von 20 Wasserflöhen.

Gemessene	Gesamtanzahl Daphnien	Anzahl immobilisierter Daphnien		
Konzentration Gd (0h)		24 h	48 h	
[mg/L]				
0	20	0	0	
0,40	20	0	3	
0,63	20	0	2	
1,66	20	0	3	
2,93	20	1	7	

Tabelle 4.1.2.2.1: Kumulative Mortalität

Folgende Abbildung zeigt die prozentuale kumulative Mortalität. Die höchste Konzentration verursachte eine Mortalität von 35 %, in den übrigen Ansätzen schwankte sie zwischen 10 % und 15 %.





Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 8,1 und 9,1 mg/L. Der pH-Wert der Testlösung lag zwischen 8,1 und 8,3 zu Beginn und zwischen 8,0 und 8,5 am Ende der Studie.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 20,7 und 21,4 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in Tabelle 4.1.2.2.2 dargestellt. Sie lagen deutlich unterhalb der nominalen Konzentration und nahmen mit zunehmender Dauer mit Ausnahme der höchsten Verdünnung ab. Diese Ergebnisse sind auf das Überschreiten des Löslichkeitsprodukts und dem damit verbundenen Ausfällen der Prüfsubstanz zurückzuführen. Durch die Filtration vor Beginn des Testes wurde der größte Teil des Präzipitats entfernt. Nach 48 h wurde der verbliebene Niederschlag für die ICP-MS Analyse erneut abfiltriert, weshalb die Konzentration in allen Ansätzen in einer ähnlichen Größenordnung lag. Für die Auswertung wurden deshalb die Werte, die zu Beginn (0 h) gemessen wurden verwendet, da hier noch eine Konzentrationsabstufung erkennbar war.

Nominale Konzentration Gd [mg/L]	Gemessene Konzentration Gd [mg/L]		
	0 h	48 h	
0	0	0	
23,85	0,40	0,54	
47,70	0,63	0,42	
95,41	1,66	0,22	
190,82	2,93	0,19	

Tabelle 4.1.2.2.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

4.1.3 Akute Toxizität von Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadodiamid, Gadoteridol und GdCl₃ x 6 H₂O am Fisch

Bei den Untersuchungen zur akuten Toxizität am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadodiamid, Gadoteridol und GdCl₃ x 6 H₂O traten keine Effekte auf. Die Ergebnisse der einzelnen Studien sind in den folgenden Abschnitten dargestellt.

4.1.3.1 Akute Toxizität von Dimeglumin-Gadopentetsäure am Fisch

Über den gesamten Expositionszeitraum wurde keine Mortalität in Kontroll- und Testlösung beobachtet (siehe Anhang, Tabelle A 4.1.3.1.1). Außerdem trat kein abnormes Verhalten der Fische auf.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 81,17 % und 97,70 % des Sauerstoffsättigungswertes.

Der pH-Wert der Testlösung betrug 7,7 direkt nach der Herstellung und zwischen 7,2 und 8,3 während der Testperiode. Der pH-Wert in der Kontrolle lag zwischen 7,2 und 8,3.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 22,4 und 23,3 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in Tabelle A 4.1.3.1.2 im Anhang dargestellt. Es wurden mehr als 100 % der Nominalkonzentration gefunden.

4.1.3.2 Akute Toxizität von Gadobutrol am Fisch

Über den gesamten Expositionszeitraum von 96 Stunden wurde keine Mortalität in Kontrollund Testlösung beobachtet (siehe Anhang, Tabelle A 4.1.3.2.1). Außerdem trat kein abnormes Verhalten der Fische auf.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 81,2 % und 100,0 % des Luftsättigungswertes.

Der pH-Wert der Testlösung betrug 7,6 direkt nach der Herstellung und zwischen 7,2 und 8,3 während der Testperiode. Der pH-Wert in der Kontrolle lag zwischen 7,2 und 8,3. Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 22,3 und 23,3 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in Tabelle A 4.1.3.2.2 im Anhang dargestellt. Auch in diesem Versuch wurden die Nominalwerte von den gemessenen Werten übertroffen.

4.1.3.3 Akute Toxizität von Gadodiamid am Fisch

Über den gesamten Expositionszeitraum wurde keine Mortalität in Kontroll- und Testlösung beobachtet (siehe Anhang, Tabelle A 4.1.3.3.1). Außerdem trat kein abnormes Verhalten der Fische auf.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 81,2 % und 101,1 % des Luftsättigungswertes.

Der pH-Wert der Testlösung betrug 7,7 direkt nach der Herstellung und zwischen 7,1 und 8,3 während der Testperiode. Der pH-Wert in der Kontrolle lag zwischen 7,2 und 8,3.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 22,2 und 23,3 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in Tabelle A 4.1.3.3.2 im Anhang dargestellt. Die gemessenen Konzentrationen lagen geringfügig über den nominalen.

4.1.3.4 Akute Toxizität von Gadoteridol am Fisch

Über den gesamten Expositionszeitraum wurde keine Mortalität in Kontroll- und Testlösung beobachtet (siehe Anhang, Tabelle A 4.1.3.4.1). Außerdem trat kein abnormes Verhalten der Fische auf.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 81,2 % und 100,0 % des Luftsättigungswertes.

Der pH-Wert der Testlösung betrug 7,7 direkt nach der Herstellung und zwischen 7,7 und 8,3 während der Testperiode. Der pH-Wert in der Kontrolle lag zwischen 7,2 und 8,3.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 22,3 und 23,3 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in Tabelle A 4.1.3.4.2 im Anhang dargestellt. Die Nominalwerte wurden übertroffen.

4.1.3.5 Akute Toxizität von GdCl₃ x 6 H₂O am Fisch

Über den gesamten Expositionszeitraum wurden keine Mortalität in Kontroll- und Testlösung beobachtet (siehe Anhang, Tabelle A 4.1.3.5.1). Außerdem trat kein abnormes Verhalten der Fische auf.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 78,2 % und 97,8 % des Luftsättigungswertes in der Kontrolle und zwischen 83,7 und 98,9 % des Luftsättigungswertes in der Testlösung.

Der pH-Wert der Testlösung betrug 7,1 direkt nach der Herstellung und zwischen 7,1 und 8,0 während der Testperiode. Der pH-Wert in der Kontrolle lag zwischen 7,6 und 8,1.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 21,4 und 23,3 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in folgender Tabelle dargestellt. Es wurde deutlich weniger als die eingesetzte Menge an Gd gefunden, was auf das Überschreiten des Löslichkeitsproduktes zurückzuführen ist. Da die Lösung nicht filtriert wurde, sich aber der Niederschlag mit zunehmender Versuchsdauer absetzte, wurden nach 96 h nur noch 13,2 % der eingesetzten Menge gefunden. Für die Auswertung wurde der gemessene Wert nach 96 h herangezogen.

Tabelle 4.1.3.5.1: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

	0 h	48 h	96 h
Gd-Gehalt Kontrolle [mg/L)	0	0	0
Gd-Gehalt Testlösung [mg/L]	41,8	7,2	5,57
berechneter Wert GdCl ₃ x 6 H ₂ O [mg/L]	98,8	17,0	13,2

4.1.4 Reproduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure, Gadobutrol, Gadoteridol, Gadodiamid und GdCl₃ x 6 H₂O

Die Reproduktion der Wasserflöhe wurde durch keines der getesteten Gd-Chelate gehemmt. Es trat auch keine Mortalität auf. Bei der Studie mit $GdCl_3 \times 6 H_2O$ wurden sowohl Reproduktionshemmung als auch Mortalität in der höchsten eingesetzten Konzentration (10 mg/L) beobachtet. Die Ergebnisse der einzelnen Versuche sind in den folgenden Punkten ausführlich beschrieben.

4.1.4.1 Reproduktionstest am Wasserfloh mit Dimeglumin-Gadopentetsäure

Die kumulative Anzahl an Nachkommen und die Anzahl der Bruten pro überlebendem Muttertier sind in folgender Tabelle wiedergegeben.

Gemessene	Überlebende	Anzahl der	Anzahl der Bruten pro
Konzentration	Muttertiere/Anzahl der	Nachkommen	überlebendem
Dimeglumin-	Nachkommen	(MV ± SD)	Muttertier (MV ± SD)
Gadopentetsäure			
(MV ± SD (n=6))			
< NWG	10 / 924	92,4 ± 14,2	4,2 ± 0,4
0,11 ± 0,01	10 / 904	90,4 ± 10,6	4,2 ± 0,4
0,67 ± 0,06	10 / 772	77,2 ± 9,3	4,3 ± 0,5
8,86 ± 0,33	10 / 778	77,8 ± 14,4	4,3 ± 0,5

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

Auch wenn bei höheren Konzentrationen ein leichter Rückgang der durchschnittlichen Anzahl an Nachkommen zu verzeichnen war, waren durch die große Streuung keine statistisch signifikanten Unterschiede zu erkennen. Es war keine eindeutige Reproduktionshemmung zu beobachten. Alle Muttertiere überlebten und warfen mindestens vier Mal.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 7,3 und 8,9 mg/L.

Der pH-Wert lag zwischen 7,5 und 7,9 in den frisch angesetzten Lösungen und zwischen 8,5 und 8,6 in den alten Testlösungen.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 21,3 und 22,3 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in Tabelle 4.1.4.1.2 dargestellt.

Tabelle 4.1.4.1.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse	(berechnet aus den mittels ICP-MS ermittelten
Konzentration an Gd)	

Nominale	Neue F	Prüflösur	ng		Alte Prüflösung			MV ±	
Konzentration an	Tag	Tag	Tag 15	MV ±	Tag	Tag 15	Tag 22	MV ±	SD
Dimeglumin-	1	8		SD	8			SD	(n=6)
Gadopentetsäure				(n=3)				(n=3)	
[mg/L]									
0	<	<	<	-	<	<	<	-	<
	NWG	NWG	NWG		NWG	NWG	NWG		NWG
0,1	0,11	0,11	0,12	0,11 ±	0,11	0,11	0,13	0,12 ±	0,11 ±
				0,01				0,01	0,01
1	0,68	0,69	0,55	0,64 ±	0,68	0,67	0,75	0,70 ±	0,67 ±
				0,07				0,04	0,06
10	8,70	9,24	9,25	9,06 ±	8,89	8,81	8,28	8,66 ±	8,86 ±
				0,26				0,27	0,33

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

Die gemessenen Konzentrationen lagen in den Ansätzen mit der niedrigsten Konzentration etwas oberhalb der nominalen (106 – 126 %), bei der nominalen Konzentration von 1 mg/L wurden dagegen nur zwischen 54,7 und 75,4 % der Nominalwerte erreicht. Diese Abweichungen sind wahrscheinlich Folge eines Pipettierfehlers. Auch in der höchsten eingesetzten Konzentration wurden etwas geringere Werte gemessen (82,8 – 92,5 %).

4.1.4.2 Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadobutrol

Die kumulative Anzahl an Nachkommen und die Anzahl der Bruten pro überlebendem Muttertier sind in folgender Tabelle wiedergegeben.

Gemessene	Überlebende	Anzahl der	Anzahl der Bruten pro
Konzentration	Muttertiere/Anzahl der	Nachkommen	überlebendem
Gadobutrol	Nachkommen	(MV ± SD)	Muttertier (MV ± SD)
(MV ± SD (n=6))			
< NWG	10 / 938	93,8 ± 13,6	4,5 ± 0,7
0,087 ± 0,002	10/912	91,2 ± 10,4	4,6 ± 0,5
0,883 ± 0,017	10 / 938	93,8 ± 16,3	4,8 ± 0,6
8,986 ± 0,206	10 / 886	88,6 ± 10,8	4,8 ± 0,4

Tabelle 4.1.4.2.1: Kumulative Anzahl der Nachkommen und Anzahl der Bruten

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

Die durchschnittliche Anzahl an Nachkommen pro Muttertier lag zwischen $88,6 \pm 10,8$ und $93,8 \pm 16,3$, ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen eingesetzten Konzentrationen zu zeigen. Alle Muttertiere überlebten die 21 Tage dauernde Exposition und warfen in dieser Zeit mindestens vier Mal.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 7,8 und 9,7 mg/L. Der pH-Wert lag zwischen 7,5 und 8,7. Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 20,9 und 23,2 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in folgender Tabelle dargestellt. Es wurden in allen Ansätzen mehr als 86 % der Nominalwerte erreicht.

Nominale	Neue Prüflösung			Alte Prüflösung				MV	±		
Konzentration	Tag 1	Tag 8	Tag 15	MV ±	Tag 8	Tag 15	Tag 22	MV	±	SD	
Gadobutrol				SD				SD		(n=6)	
[mg/L]				(n=3)				(n=3)			
0	<	<	<	-	<	<	<	-			
	NWG	NWG	NWG		NWG	NWG	NWG			-	
0,1	0,09	0,08	0,09	0,09 ±	0,08	0,09	0,09	0,09	±	0,09	±
				0,01				0,01		0,01	
1	0,85	0,90	0,90	0,88 ±	0,89	0,88	0,87	0,88	±	0,88	±
				0,02				0,01		0,02	
10	9,15	9,22	9,14	9,17 ±	8,63	8,95	8,83	8,81	±	8,99	±
				0,04				0,14		0,21	

 Tabelle 4.1.4.2.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse (berechnet aus den mittels ICP-MS ermittelten Konzentration an Gd)

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

4.1.4.3 Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadoteridol

Die kumulative Anzahl an Nachkommen und die Anzahl der Bruten pro überlebendem Muttertier sind in folgender Tabelle wiedergegeben.

gemessene	Überlebende	Anzahl der	Anzahl der Bruten pro
Konzentration	Muttertiere/Anzahl der	Nachkommen	überlebendem
Gadoteridol	Nachkommen	(MV ± SD)	Muttertier (MV ± SD)
(MV ± SD (n=6))			
< NWG	10 / 938	93,8 ± 13,6	4,5 ± 0,7
0,09 ± 0,01	10 / 903	$90,3\pm18,4$	4,9 ± 0,7
0,97 ± 0,01	10 / 1012	101,2 ± 10,4	5,2 ± 0,4
9,80 ± 0,07	10 / 947	94,7 ± 9,5	5 ± 0

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

Die durchschnittliche Anzahl an Nachkommen pro Muttertier lag zwischen $90,3 \pm 18,4$ und $101,2 \pm 10,4$, ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen eingesetzten Konzentrationen zu zeigen. Alle Muttertiere überlebten die 21 Tage dauernde Exposition und warfen in dieser Zeit vier oder fünf Mal.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 7,8 und 9,6 mg/L.

Der pH-Wert lag zwischen 7,5 und 8,7.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 20,9 und 23,2 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in folgender Tabelle dargestellt. Es wurden in allen Ansätzen mehr als 79 % der Nominalwerte erreicht.

Nominale	Neue P	rüflösun	g			Alte Prüflösung				MV	±	
Konzentration	Tag 1	Tag 8	Tag	MV	±	Tag 8	Tag	Tag	MV	±	SD	
Gadoteridol			15	SD			15	22	SD		(n=6)	
[mg/L]				(n=3)					(n=3)			
0	<	<	<	-		<	<	<	-		_	
	NWG	NWG	NWG			NWG	NWG	NWG				
0,1	0,09	0,07	0,09	0,08	±	0,10	0,09	0,10	0,10	±	0,09	±
				0,01					0,01		0,01	
1,0	0,96	0,97	0,10	0,98	±	0,98	0,96	0,97	0,97	±	0,97	±
				0,02					0,01		0,01	
10,0	9,85	9,80	9,87	9,84	±	9,84	9,75	9,68	9,76	±	9,80	±
				0,03					0,07		0,07	

Tabelle 4.1.4.3.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse (berechnet aus den mittels ICP-MS ermittelten Konzentration an Gd)

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

4.1.4.4 Reproduktionstest am Wasserfloh mit Gadodiamid

Die kumulative Anzahl an Nachkommen und die Anzahl der Bruten pro überlebendem Muttertier sind in Tabelle 4.1.4.4.1 wiedergegeben.

gemessene	Überlebende	Anzahl der	Anzahl der Bruten pro
Konzentration	Muttertiere/Anzahl der	Nachkommen	überlebendem
Gadodiamid	Nachkommen	(MV ± SD)	Muttertier (MV ± SD)
(MV ± SD (n=6))			
< NWG	10 / 924	92,4 ± 14,2	4,2 ± 0,4
$0,08 \pm 0^{*}$	10 / 830	83 ± 10,8	4,0 ± 0,5
0,67 ± 0,21	10 / 776	77,6±8,8	4,5 ± 0,5
7,67 ± 1,17	10 / 856	85,6 ± 11,6	4,5 ± 0,5

*nur ein Wert oberhalb der NWG

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

Die durchschnittliche Anzahl an Nachkommen pro Muttertier lag zwischen 77,6 \pm 8,8 und 92,4 \pm 14,2, ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen eingesetzten Konzentrationen zu zeigen. Alle Muttertiere überlebten die 21 Tage dauernde Exposition und warfen in dieser Zeit mindestens vier Mal.

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 7,3 und 8,9 mg/L.

Der pH-Wert lag zwischen 7,5 und 7,9 in den frisch angesetzten Lösungen und zwischen 8,5 und 8,6 in den alten Testlösungen.

Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 21,3 und 22,3 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind in folgender Tabelle dargestellt. Die gemessene Konzentration lag zwischen 67 \pm 21 % und 82 % der Nominalwerte.

Nominale	Neue Prüflösung			Alte Prüflösung				MV	±			
Konzentration	Tag 1	Tag 8	Tag	MV	ŧ	Tag 8	Tag	Tag	MV	±	SD	
Gadodiamid			15	SD			15	22	SD		(n=6)	
[mg/L]				(n=3)					(n=3)			
0	<	<	<	-		<	<	<	-		-	
	NWG	NWG	NWG			NWG	NWG	NWG				
0,1	0,082	<	<	0,082	ŧ	<	<	<	-		0,082	±
		NWG	NWG	0*		NWG	NWG	NWG			0	
1,0	0,89	0,57	0,72	0,73	ŧ	0,37	0,54	0,96	0,62	±	0,67	±
				0,13					0,25		0,21	
10,0	9,04	8,13	7,01	8,06	Ħ	5,53	7,62	8,69	7,28	±	7,67	±
				0,83					1,31		1,17	

Tabelle 4.1.4.4.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

*nur ein Wert oberhalb der NWG

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

4.1.4.5 Reproduktionstest am Wasserfloh mit GdCl₃ x 6 H₂O

Die kumulative Anzahl an Nachkommen und die Anzahl der Bruten pro überlebendem Muttertier ist in Tabelle 4.1.4.5.1 wiedergegeben.

Die durchschnittliche Anzahl an Nachkommen pro Muttertier lag zwischen $31,2 \pm 4,5$ in der höchsten eingesetzten Konzentration und $66,8 \pm 5,4$, und zeigte damit statistisch signifikante Unterschiede zwischen der höchsten und den sonstigen eingesetzten Konzentrationen. Außerdem überlebten in der höchsten Konzentration nur 5 von 10 Muttertieren die 21 Tage dauernde Exposition. In den niedrigen Konzentrationen warfen die Muttertiere überwiegend vier Mal, in der Kontrolle vier bis fünf Mal und in der höchsten Konzentration gab es drei bis vier Bruten pro Muttertier.

Gemessene	Überlebende	Anzahl der	Anzahl der Bruten pro		
Konzentration	Muttertiere/Anzahl der	Nachkommen	überlebendem		
GdCl ₃ x 6 H ₂ O	Nachkommen	(MV ± SD)	Muttertier (MV ± SD)		
(MV ± SD (n=6))					
< NWG	10 / 657	65,7 ± 11,2	4,3 ± 0,5		
0,09	10 / 615	$61,5\pm9,0$	3,9 ± 0,3		
1,08	10 / 668	$66,8\pm5,4$	4,0 ± 0,0		
5,24	5 / 156	$31,2\pm4,5$	3,4 ± 0,8		

Tabelle 4.1.4.5.1: Kumulative Anzahl der Nachkommen und Anzahl der Bruten

NWG - Nachweisgrenze

MV - Mittelwert

SD - Standardabweichung

Der Bereich der gemessenen Konzentration an gelösten Sauerstoff lag zwischen 8,1 und 12,5 mg/L. Der pH-Wert lag zwischen 8,4 und 9,0 in den frisch angesetzten Lösungen und zwischen 8,5 und 8,6 in den alten Testlösungen. Die Temperatur in den Testgefäßen lag zwischen 20,7 und 21,9 °C während des Testes.

Die mittels ICP-MS ermittelten Ergebnisse der Gehaltsanalyse sind im Anhang in den Tabellen A 4.1.4.5.1 und A 4.1.4.5.2 sowie in Abbildung 4.1.4.5.1 dargestellt. Es wurden viel geringere als die nominalen Konzentrationen an Gd gemessen. Besonders deutlich war dies in den zentrifugierten Lösungen zu bemerken.



Abbildung 4.1.4.5.1: Gemessene Konzentration an Gd in Abhängigkeit von der nominalen Konzentration an GdCl₃ x $6H_2O$

4.1.5 Bioakkumulationstest am Fisch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und GdCl₃ x H₂O

Im Bioakkumulationstest am Fisch zeigte sich ein unterschiedliches Verhalten von Dimeglumin-Gadopentetsäure und GdCl₃ x H₂O in Bezug auf das Akkumulationspotential. Während in der Studie mit dem Kontrastmittel nur geringe Mengen an Gd in den Zebrabärblingen gemessen wurden und diese sich nach der Ausschwemmphase wieder verringerten, war im Versuch mit GdCl₃ x H₂O eine deutliche Anreicherung in den Fischen zu verzeichnen. Es traten aber weder im Test mit Dimeglumin-Gadopentetsäure noch im Test mit GdCl₃ x H₂O toxische Effekte, wie Verhaltensaufälligkeiten, Mortalität oder geringeres Gewicht im Vergleich zur Kontrolle auf. Letzteres verdeutlicht Abbildung 4.1.5.1, die auch die große Streuung des Fischgewichtes darstellt. Ausführlich werden die einzelnen Versuche nachfolgend beschrieben. In den Kontrollfischen wurde kein Gd nachgewiesen.



Abbildung 4.1.5.1: Fischgewicht [mg] im Bioakkumulationstest

Gehalt an Gd aus Dimeglumin-Gadopentetsäure

Die Ergebnisse der Gehaltsanalyse im Wasser zeigten, dass im Versuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure bis auf zwei Ausnahmen (Tag 21 in Replikat a und Tag 24 in Replikat b) ungefähr die Nominalwerte (2980 µg/L) an Gd eingehalten werden konnten. Da die Zufuhr des Leitungswassers über Nadelventile gesteuert wurde (mit einer damit verbundenen Ungenauigkeit) und die Zufuhr des Leitungswassers in den Replikaten lediglich über das Gefälle reguliert wurde, konnte keine größere Genauigkeit erzielt werden. Nachdem die Zufuhr der Prüfsubstanz nach 28 Tagen gestoppt wurde, wurde nach 33 Tagen kein Gd mehr im Wasser nachgewiesen. Abbildung 4.1.5.2 zeigt die Ergebnisse der Analyse mittels ICP-MS.



Abbildung 4.1.5.2: Konzentration an Gd im Wasser in den Testansätzen mit Dimeglumin-Gadopentetsäure [µg/L]

In den Fischen wurden bereits an Tag 4 geringe Mengen an Gd nachgewiesen. Die Konzentration des Lanthanoids war an Tag 21 in Replikat b mit 8,64 mg/kg Trockensubstanz (TS) am höchsten, an Tag 28 wurden wieder geringere Werte gemessen. Nach der Ausschwemmphase wurde kein Gd mehr in der Fischmatrix nachgewiesen. Abbildung 4.1.5.3 zeigt den Verlauf der Gd-Konzentration in den Fischen über den Versuchszeitraum von 42 Tagen. Die Werte zwischen den einzelnen Fischen und Replikaten schwankten

hierbei, was die Abbildung und Tabelle A 4.1.5.1 im Anhang verdeutlicht. Das Fischgewicht wies ebenfalls erhebliche Schwankungen auf.



Abbildung 4.1.5.3: Konzentration an Gd im Fisch in den Testansätzen mit Dimeglumin-Gadopentetsäure

Für die Berechnung des BCF wurden die mittleren gemessenen Gd-Gehalte in Fisch und Wasser nach 28 Tagen ins Verhältnis gesetzt.

Es ergab sich für Gd aus Dimeglumin-Gadopentetsäure ein Wert von 0,85 L/kg TS.

Gehalt an Gd aus GdCl₃ x H₂O



Abbildung 4.1.5.4: Konzentration an Gd im Wasser in den Testansätzen mit GdCl₃ x H₂O

Abbildung 4.1.5.4 zeigt den Verlauf der Gd-Konzentration im Versuch mit GdCl₃ x H₂O im Wasser über den Versuchszeitraum. Es sind deutliche Schwankungen sowohl zwischen den Replikaten (an zwei Messzeitpunkten) als auch zwischen den Versuchstagen zu sehen. Die Nominalwerte von 2980 µg/L werden zu keinem Zeitpunkt erreicht, was auch in allen anderen Versuchen mit Gd aus GdCl₃ x 6H₂O aufgefallen war. Gleichzeitig wurden auch nach dem Stoppen der Zufuhr der Stammlösung über die Infusionspumpen noch geringe Konzentrationen an Gd im Wasser gemessen.

Es war während der gesamten Versuchsdauer zu beobachten, dass die Becken der betreffenden Replikate trüb waren, was nicht auf Futterreste zurückgeführt werden konnte, da die Becken täglich gereinigt wurden. Die Schwankungen sind deshalb sowohl auf Schwankungen der Leitungswasserzufuhr wie im parallel laufenden Versuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure zurückzuführen als auch auf das Ausfällen der Prüfsubstanz wie schon in den anderen Versuchen mit Gd aus GdCl₃ x 6H₂O beschrieben.



Abbildung 4.1.5.5: Konzentration an Gd im Fisch in den Testansätzen mit GdCl₃ x H₂O

Im Versuch mit Gd aus GdCl₃ x H₂O wurde wesentlich mehr Gd in den Fischen gefunden als im parallel laufenden Versuch mit dem MRT-Kontrastmittel, in dem der Höchstwert von 10,2 mg/kg TS in einem Fisch am Tag 21 nachgewiesen wurde. Schon am Tag 4 lag die Konzentration an Gd in den verschiedenen Fischen zwischen 5,25 und 49,6 mg/kg TS. Ausnehmend hohe Werte wurden mit 531 mg/kg TS und 907 mg/kg TS in einzelnen Fischen an Tag 28 und an Tag 42 gemessen. Insgesamt stieg die Konzentration bis zum Ende des Versuchs an, obwohl nach 28 Tagen die Zufuhr der Stammlösung gestoppt wurde. Das Gewicht der Fische schwankte auch in diesem Versuch erheblich. Eine Korrelation zwischen dem Gd-Gehalt in der Fischmatrix und dem Fischgewicht wurde nicht festgestellt. Dies zeigt Tabelle A 4.1.5.2 im Anhang.

Sie zeigt ebenfalls, dass an Tag 42 das Ergebnis einer Gd-Bestimmung aus dem Rahmen fällt. In Fisch 3 wurden 907 mg/kg TS nachgewiesen, während in den Parallelen aus Replikat a nur 6,39 und 2,35 mg/kg TS gefunden wurden. Auch in Replikat b lagen die Konzentrationen deutlich darunter. Auch das Gewicht von Fisch 3 stellt mit 304,8 mg [TS] eine Ausnahme dar. Es ist anzunehmen, dass der gemessene Wert auf einen Messfehler zurückzuführen ist. Deshalb wurde er von der Auswertung ausgeschlossen.
Ergebnisse

Für die Berechnung des BCF wurden die mittleren gemessenen Gd-Gehalte in Fisch und Wasser nach 28 Tagen ins Verhältnis gesetzt.

Es ergab sich für Gd ein Wert von 148,8 L/kg TS.

pH-Wert

Der pH-Wert lag in allen Test- und Kontrollansätzen in einem sehr ähnlichen und engen Bereich (weniger als eine pH-Einheit Schwankung über die gesamte Versuchsdauer). Damit war dieses Validitätskriterium der Prüfung erfüllt. Die Prüflösungen hatten keinen Einfluss auf den pH-Wert.



Abbildung 4.2.4.6: Verlauf des pH-Wertes im Bioakkumulationstest am Fisch

Sauerstoffgehalt und Temperatur

Der Sauerstoffgehalt lag zum größten Teil im Bereich zwischen 7 und 8 mg/L. Damit war eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Fische gewährleistet, auch wenn in einem der Ansätze mit GdCl₃ x H₂O einmal nur ein Wert von 5,9 mg/L gemessen wurde. Da die Zufuhr des verwendeten Leitungswassers über eine gemeinsame Wasseraufbereitungsanlage erfolgte, in der das Wasser temperiert und belüftet wurde (zusätzlich zur Belüftung in den einzelnen Replikaten), verliefen die Schwankungen bzgl. Sauerstoffgehalt und Temperatur parallel.



Abbildung 4.2.4.7: Verlauf des Sauerstoffgehaltes im Bioakkumulationstest am Fisch

Die Temperatur lag während der Versuchsdauer zwischen 21,9 und 24,5°C. Überwiegend wurden Werte zwischen 23 und 24 °C gemessen. Unterschiede zwischen den einzelnen Replikaten wiesen auf eine unterschiedliche Zufuhr an temperiertem Leitungswasser bzw. der Prüflösung hin. In den Ansätzen mit der Prüfsubstanz GdCl₃ x H₂O waren diese Unterschiede sehr gering (in der Regel 0 bis 0,2 °C), in den Replikaten des Versuchs mit Dimeglumin-Gadopentetsäure lagen die Temperaturen etwas weiter auseinander (in der Regel 0,4 bis 0,5°C).



Abbildung 4.2.4.8: Temperaturverlauf im Bioakkumulationstest am Fisch

4.2 Untersuchungen zum Umweltverhalten

Folgende Untersuchungen zum Umweltverhalten wurden durchgeführt:

- Flockungsversuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure in entsalztem Wasser und Leitungswasser sowie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in der Modellkläranlage
- Biologische Abbaubarkeit von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in Modellkläranlagen
- Aerobe Transformation im aquatischen Sediment

Die Untersuchungen zum Umweltverhalten ergaben, dass es sich bei den Gd-Chelaten um stabile, sehr gut wasserlösliche Verbindungen handelt, die sich nicht im aquatischen Sediment anreicherten. Außerdem wurden sie durch Belebtschlammorganismen nicht abgebaut. Allerdings ergaben die Untersuchungen zum Flockungsverhalten, dass die Stabilität der Komplexe durch Flockungsmittel verringert wurde.

Gd war hingegen schlecht löslich in natürlichen Wässern und reicherte sich in Sediment und in Fischen an. Große Teile des eingesetzten Gd fielen während der Expositions- bzw. Inkubationszeit aus, was dazu führte, dass nicht die nominal eingesetzten Konzentrationen für die Auswertung herangezogen werden konnten (siehe auch Kapitel 4.1).

Die ausführlichen Ergebnisse finden sich in den folgenden Unterkapiteln.

4.2.1 Flockungsversuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure in entsalztem Wasser und Leitungswasser sowie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in der Modellkläranlage

Im Flockungsversuch, in dem einer Dimeglumin-Gadopentetsäure-Lösung (nominale Konzentration 50 mg Dimeglumin-Gadopentetsäure/L) in entsalztem Wasser bzw. in Leitungswasser verschiedene Mengen an 0,3 M FeCl₃-Lösung zugesetzt wurden, zeigte sich in allen Ansätzen mit Leitungswasser (mit Ausnahme der Stammlösung ohne Zusatz von FeCl₃) das Auftreten von weißem Niederschlag. Die Lösungen mit entsalztem Wasser blieben hingegen klar.

Es wurde festgestellt, dass bereits bei einer zugeführten Menge von 1,67 mL der FeCl₃-Lösung in entsalztem Wasser die Prüfsubstanz nicht mehr nachweisbar war. Dies änderte sich auch über den Versuchszeitraum von 3 Tagen nicht. In der Stammlösung mit einer nominalen Konzentration von 100 mg/L wurden über den Versuchszeitraum keine Veränderungen festgestellt.

Aufgrund einer defekten HPLC-Säule konnte nur der Ansatz mit entsalztem Wasser und der geringsten Konzentration an FeCl₃ mittels HPLC/UV Analytik ausgewertet werden. Da aber

hier bereits der erwartete Effekt auftrat, war eine erneute Durchführung des Testes nicht notwendig.

Die Messung der hydrographischen Parameter ergab, dass es sich bei der 0,3 M FeCl₃-Lösung um eine deutlich saure Lösung handelt.

Vor Beginn des Versuchs wurden in den Stammlösungen die in Tabelle 4.2.1.1 dargestellten pH-Werte gemessen.

Tabelle 4.2.1.1: pH-Werte der Stammlösungen

Stammlösung	pH-Wert
FeCl ₃ (0,3 M) in entsalztem Wasser	0,9
Dimegl. Gadopentetsäure in entsalztem Wasser	8,3
Dimegl. Gadopentetsäure in Leitungswasser	9,3

Die Ergebnisse der Messung der hydrographischen Parameter in den Testansätzen nach 72stündigem Rühren zeigt folgende Tabelle.

Ansatz	pH-Wert	T [°C]
(Konzentration Dimeglumin-Gadopentetsäure,		
Menge an FeCl ₃ , Verdünnungsmedium)		
100 mg/L, unverdünnt, ents. H ₂ O	5,9	25,8
50 mg/L, 1,67 mL FeCl ₃ , ents. H ₂ O	1,9	26,3
50 mg/L, 4 mL FeCl ₃ , ents. H_2O	2,0	25,8
50 mg/L, 10 mL FeCl ₃ , ents. H_2O	1,7	25,3
100 mg/L, unverdünnt, Leitungswasser	8,3	25,8
50 mg/L, 1,67 mL FeCl ₃ , Leitungswasser	1,9	26,1
50 mg/L, 4 mL FeCl ₃ , Leitungswasser	1,6	26,2
50 mg/L, 10 mL FeCl ₃ , Leitungswasser	1,5	26,2

Tabelle 4.2.1.2: pH-Werte und Temperatur der Testansätze nach 72 h

In den mit FeCl₃ versetzten Ansätzen wurden pH-Werte im deutlich sauren Bereich gemessen, die unverdünnten Ansätze hingegen waren nur leicht sauer (ents. H₂O) bzw. leicht basisch (Leitungswasser). Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass sowohl das Flockungsmittel als auch der pH-Wert einen Einfluss auf die Stabilität des Gd-Chelats hat.

Der Flockungsversuch in der Modellkläranlage hingegen zeigte, dass das Flockungsmittel FeCl₃ auch ohne eine Absenkung des pH-Wertes in den deutlich sauren Bereich die Stabilität von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol beeinflusst. Diese Ergebnisse werden zusammen mit den Ergebnissen der Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit in der Modellkläranlage in Kapitel 4.2.2 beschrieben.

4.2.2 Biologische Abbaubarkeit von Dimeglumin-Gadopentetsäure und Gadobutrol in Modellkläranlagen

Weder Dimeglumin-Gadopentetsäure noch Gadobutrol wurden in den Modellkläranlagen nach 47 Tagen Inkubation abgebaut.

Die detaillierten Ergebnisse werden im Folgenden dargestellt. Hierbei wird zwischen der Vorlaufphase, in der die Belebtschlammorganismen an die Laborbedingungen akklimatisiert wurden, und der Inkubationsphase, während der die Prüfsubstanzen zugegeben wurden, unterschieden. Der Einfluss des Flockungsmittels FeCl₃ wird ebenfalls in diesem Kapitel dargestellt.

4.2.2.1 Vorlaufphase

Abbaugrad des synthetischen Abwassers

Der Abbaugrad des synthetischen Abwassers wurde zu 5 Zeitpunkten während der Vorlaufphase bestimmt.

Tabelle 4.2.2.1.1 zeigt die Ergebnisse der Berechnungen aus den gemessenen TOC-Werten. Der Abbaugrad lag zwischen 87,78 und 99,75 %, was zeigt, dass die Mikroorganismen in allen Anlagen eine ausreichende Aktivität aufwiesen.

Anlage	Tag	TOC _{Ablauf} [mg/L]	TOC _{Zulauf} [mg/L]	TOC _{Ablauf} /TOC _{Zulauf}	Abbaugrad [%]
1		2,48	55,35	0,05	95,52
2		3,51	56,15	0,06	93,76
3		1,90	46,12	0,04	95,87
4	7	2,89	49,6	0,06	94,17
1		3,59	62,6	0,06	94,26
2		2,19	51,99	0,04	95,78
3		3,76	58,53	0,06	93,58
4	36	1,91	31,18	0,06	93,89
1		1,32	31,82	0,04	95,86
2		0,14	29,39	0,01	99,54
3		0,57	36,7	0,02	98,46
4	39	1,25	38,49	0,03	96,75
1		1,8	29,95	0,06	93,99
2		0,79	25,95	0,03	96,95
3		0,25	24,58	0,01	99,00
4	41	0,07	28,27	0,00	99,75
1		4,47	52,11	0,09	91,42
2		3,46	55,31	0,06	93,75
3		2,06	50,45	0,04	95,92
4	48	6,24	51,02	0,12	87,78

 Tabelle 4.2.2.1.1: TOC Gehalte [mg/L] in Zu- und Ablauf der Modellkläranlagen sowie

 Abbaugrad des synthetischen Abwassers [%]

Trockensubstanzgehalt (TG)

Die vier Modellkläranlagen unterschieden sich hinsichtlich der gemessenen TGs. Anlage 1 wies zumeist den geringsten TG auf, Anlage 3 den höchsten. Der TG lag in allen Anlagen überwiegend zwischen 1,5 bis 2,5 g/L. Dass keine höheren Werte erreicht wurden, ist auf die teilweise diskontinuierliche Zufuhr des synthetischen Abwassers zurückzuführen, die das Auftreten von Blähschlamm eindämmen sollte. Gegen Ende der Vorlaufphase liegen die Werte der Anlagen im Bereich zwischen 1 und 2,5 g/L. Abbildung 4.2.2.1.1 zeigt den Verlauf des TG während der Vorlaufphase.



Abbildung 4.2.2.1.1: Verlauf des TG während der Vorlaufphase

Schlammindex (SI)

Der Schlammindex als Maß für das Auftreten von Blähschlamm (vermehrtes Auftreten fädiger Mikroorganismen) und Schwimmschlamm (vermehrtes Auftreten von Gasblasen) lag während der Vorlaufphase bis zu Tag 47 unter 150 mL/g. An Tag 49 lag in den Anlagen 1 und 2 Blähschlamm vor, was sich in SI-Werten von 460,9 mL/g in Anlage 2 und 649,5 mL/g in Anlage 1 widerspiegelte. Abbildung 4.2.2.1.2 zeigt den Verlauf des SI während der Vorlaufphase. Da die Ergebnisse für die Berechnung des Schlammindexes erst nach Beginn der Inkubation vorlagen und es in den Anlagen 3 und 4 keine Hinweise auf Blähschlammbildung gab, wurde mit der Zufuhr der Prüfsubstanzen schon begonnen,

obwohl die Anlagen 1 (Kontrolle) und 2 (40 µg Dimeglumin-Gadopentetsäure/L) instabil waren. Die Inkubation wurde entsprechend verlängert.





Sauerstoffgehalt und Temperatur

Der Sauerstoffgehalt lag zwischen 3,9 mg/L und 9,2 mg/L, was eine ausreichende Sauerstoffversorgung des Belebtschlammes gewährleistete. Die Messungen waren von verschiedenen Parametern abhängig. War kurze Zeit vorher synthetisches Abwasser zugeführt worden (während der Zeit diskontinuierlicher Zugabe), wurden durch die einsetzende Sauerstoffzehrung niedrigere Werte gemessen. Fand vor oder während der Messung eine Rückführung des Schlammes aus dem Absetzbecken in das Belebtschlammbecken statt, waren höhere Werte durch zusätzlichen Sauerstoffeintrag durch die Verwirbelung des Schlammes feststellbar. Dargestellt ist der Verlauf des Sauerstoffgehaltes während der Adaptationsphase in Abbildung 4.2.2.1.3. Die Temperatur lag zwischen 21,2°C und 25,5°C, was Abbildung 4.2.2.1.4 zeigt.



Abbildung 4.2.2.1.3: Verlauf des Sauerstoffgehaltes während der Vorlaufphase



Abbildung 4.2.2.1.4: Temperaturverlauf während der Vorlaufphase

4.2.2.2 Inkubation

Während der Inkubation wurde mittels konzentrierter Stammlösungen in den Anlagen 2 und 3 eine Konzentration von 40 µg bzw. 10 mg Dimeglumin-Gadopentetsäure/L eingestellt. In Anlage 4 wurde eine Konzentration von 10 mg Gadobutrol/L eingestellt. Anlage 1 diente als Kontrolle.

Da aufgrund des Auftretens von Blähschlamm eine diskontinuierliche Zufuhr an synthetischem Abwasser erfolgte (3-4 mal täglich Zugabe von 50 mL synthetischem Abwasser), konnte die Bestimmung des Abbaugrades nicht durchgeführt werden (hierfür ist die gemeinsame Sammlung des Trinkwassers und des Abwasserkonzentrates aus den zuführenden Schläuchen notwendig).

Trockensubstanzgehalt (TG)





Der TG in den Modellkläranlagen war auch während der Inkubation mit Werten, die überwiegend im Bereich von 1 g/L bis 2 g/ L lagen, gering im Vergleich zum TG von kommunalen Kläranlagen. Das ist zum Einen auf die größtenteils diskontinuierliche Zufuhr des synthetischen Abwassers zurückzuführen, die das fortwährende Auftreten von Blähschlamm eindämmen sollte. Zum Anderen ist der TG im Blähschlamm ohnehin niedriger

Ergebnisse

als in "normalem" Belebtschlamm. Nach der Flockung, die am Ende der Inkubation (Tag 47) durchgeführt wurde, um die Auswirkungen des Einsatzes von Flockungsmittel auf die Stabilität der Prüfsubstanzen zu testen, stiegen die Werte des TG leicht an. Abbildung 4.2.2.2.1 zeigt den Verlauf des TG.

Schlammindex (SI)

In allen Anlagen trat während der Inkubation Blähschlamm auf. Lediglich Anlage 4 konnte über 7 Probenahmezeitpunkte Werte unterhalb der kritischen Marke von 150 mL/g vorweisen. Die größten Schwankungen wurden in Anlage 3 festgestellt. Ab Tag 32 konnte in allen Anlagen eine Abnahme des Blähschlammes beobachtet werden. In den Anlagen 1 und 2 wurden ab Tag 40 dann auch wieder SI-Werte unterhalb von 150 mL/g bestimmt. Nach der Flockung mit FeCl₃ an Tag 47 war erwartungsgemäß in keiner der Anlagen Blähschlamm zu beobachten (siehe Abbildung 4.2.2.2.2).

Sauerstoffgehalt und Temperatur

Der Sauerstoffgehalt lag auch während der Inkubation in einem Bereich über 3 mg/L, was eine ausreichende Versorgung der Mikroorganismen gewährleistete. Die vom Messzeitpunkt abhängigen Schwankungen zeigten sich ebenso wie während der Vorlaufphase (siehe Abbildung 4.2.2.2.3). Geringen Schwankungen im Bereich von 21,4°C bis 24,2 °C unterlag die Temperatur in allen vier Modellkläranlagen, was Abbildung 4.2.2.2.4 zeigt.



Abbildung 4.2.2.2.2: Verlauf des SI während der Inkubation



Abbildung 4.2.2.2.3: Verlauf des Sauerstoffgehaltes während der Inkubation



Abbildung 4.2.2.2.4: Temperaturverlauf während der Inkubation

Gehalt an Dimeglumin-Gadopentetsäure

Wie die folgende Abbildung zeigt, ergaben die Messungen des Gehaltes an Dimeglumin-Gadopentetsäure mittels HPLC-UV bis zum Tag 47 der Inkubation in Anlage 3 Werte, die im Bereich des Nominalwertes von 10 mg/L lagen.



Abbildung 4.2.2.2.5: Gehalt an Dimeglumin-Gadopentetsäure

An Tag 47 erfolgte die Flockung mit FeCl₃, was den Rückgang der Konzentration an Dimeglumin-Gadopentetsäure an Tag 48 bis auf 1,76 \pm 0,00 mg/L im Belebungsbecken und 0,36 \pm 0,00 mg/L im Ablauf von Anlage 3 verursachte. Nach dem Ausschwemmen des Flockungsmittels bei gleichzeitig fortwährender Zufuhr an konzentrierter Stammlösung stieg die Konzentration der Prüfsubstanz auf 16,15 \pm 2,60 mg/L im Belebungsbecken und 16,05 \pm 0,31 mg/L im Ablauf an.

Gehalt an Gadobutrol

Ein ähnliches Bild wie in Anlage 3 zeigte sich in Anlage 4 mit der Prüfsubstanz Gadobutrol. Auch hier schwankten die vor dem 47. Tag gemessenen Konzentrationen um den Nominalwert von 10 mg/L. Nach der Flockung wurde zunächst ein Rückgang des Gehaltes an Gadobutrol auf 8,38 \pm 0,24 mg/L im Ablauf beobachtet, der an Tag 49 noch etwas verstärkt wurde (7,64 \pm 0,03 mg/L). Auch im Belebungsbecken war zu diesem Zeitpunkt dann ein Rückgang auf $8,63 \pm 0,12$ mg/L zu beobachten. Abbildung 4.2.2.2.6 zeigt den Verlauf der Konzentration an Gadobutrol in Anlage 4.



Abbildung 4.2.2.2.6: Gehalt an Gadobutrol

4.2.3 Aerobe Transformation im aquatischen Sediment

Im Versuch zur aeroben Transformation im aquatischen Sediment mit Dimeglumin-Gadopentetsäure zeigte sich auch nach 100 Tagen kein relevanter Verlust der Prüfsubstanz in der wässrigen Phase des Sediment-Systems.

Eine unterschiedliche Verteilung der beiden Prüfsubstanzen Gd aus GdCl₃ x 6 H₂O und Gd aus Dimeglumin-Gadopentetsäure wurde zwischen Sediment und wässriger Phase beobachtet. Während Gd aus GdCl₃ x 6 H₂O überwiegend im Sediment gefunden wurde, war Dimeglumin-Gadopentetsäure überwiegend in der wässrigen Phase vorhanden. Auch im unbehandelten Sediment wurden geringe Konzentrationen an Gd gefunden. Die ausführlichen Ergebnisse des Versuchs werden im Folgenden dargestellt.

4.2.3.1 Aerobe Transformation im aquatischen Sediment mit Dimeglumin-Gadopentetsäure

Die Konzentration an Dimeglumin-Gadopentetsäure entsprach über den gesamten Versuchszeitraum von 100 Tagen ungefähr der Nominalkonzentration von 100 mg/L. Während der ersten 15 Tage lag die Konzentration zwischen 95,24 \pm 0,52 mg/L und 101,11 \pm 0,55 mg/L; an Tag 15 war eine relativ hohe Standardabweichung von 5,2 mg/L in den drei parallelen Testansätzen zu verzeichnen. Nach 100 Tagen war die Konzentration etwas geringer (93,82 \pm 1,24 mg/L) als zu Beginn.

Abbildung 4.2.3.1.1 zeigt die Konzentration an Gd aus Dimeglumin-Gadopentetsäure in den verschiedenen Eluaten der Sedimentansätze sowie im Sediment. Aufgetragen ist die Gd-Konzentration im wässrigen Überstand, den Eluaten mit entsalztem Wasser und verdünnter Salzsäure und die im Sediment zum jeweiligen Zeitpunkt als prozentualer Anteil am Gesamt-Gd. Es ist zu sehen, dass die größte Menge an Gd im wässrigen Überstand nachgewiesen wurde. Die Konzentration lag zu Beginn des Versuchs bei 2415,3 \pm 6,4 µg/L, nach 100 Tagen lag er bei 1904,0 \pm 477,0 µg/L. Im Sediment und in den Eluaten aus entsalztem Wasser und verdünnter Salzsäure wurden über den gesamten Zeitraum keine großen Veränderungen festgestellt (281,3 \pm 18,0 bis 309,1 \pm 26,6 µg/L bei entsalztem Wasser, 24,4 \pm 4,3 bis 42,6 \pm 5,8 µg/L bei verdünnter HCl). Im Sediment veränderte sich der Anteil über den Versuchszeitraum stärker. Zu den ersten drei Probenahmezeitpunkten wurden zwischen 165,8 \pm 42,3 und 195,5 \pm 13,8 µg/L gemessen. An Tag 100 wurde mit 507,7 \pm 9,6 µg/L deutlich mehr Gd im Sediment nachgewiesen.

Der Anreicherungsfaktor im Sediment lag bei 0,27.



Abbildung 4.2.3.1.1: Anteil an Gesamt-Gd [%] in den Testansätzen mit Dimeglumin-Gadopentetsäure

Tabelle 4.2.3.1.1 zeigt die Wiederfindung an eingesetztem Gd aus Dimeglumin-Gadopentetsäure [%]. Sie lag zu allen Probenahmezeitpunkten über 100 %, wobei gegen Ende etwas geringere Werte als zu Beginn der Inkubation gefunden wurden, was jedoch nicht auf einen Verlust an Gd sondern auf die Inhomogenität (unterschiedlicher Wassergehalt und damit unterschiedliches Gewicht) der Sedimentproben zurückzuführen ist.

Tabelle 4.2.3.1.1: Wiederfindung Gd [%] in de	r Studie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
---	---

Tag der Prüfung [d]	Wiederfindung [%]
2	117,1
8	116,9
15	109,7
100	107,7

4.2.3.2 Transformation im aeroben aquatischen Sediment mit GdCl₃ x 6 H₂O

In der Sediment-Studie, die mit GdCl₃ x 6 H₂O durchgeführt wurde, wurden die größten Mengen an Gd im Sediment gefunden. Dies zeigt Abbildung 4.2.3.2.1. Die Konzentration an Gd im Sediment blieb auch über den gesamten Versuchszeitraum in einer ähnlichen Größenordnung (2227,5 ± 220,1 bis 2796,8 ± 442,9 µg/L), wohingegen die Konzentration in den wässrigen und sauren Eluaten mit der Zeit abnahm.

Im wässrigen Überstand wurden an Tag 2 der Prüfung $36,9 \pm 10,2 \mu g/L$ gemessen, an Tag 100 nur noch $0,8 \pm 0,2 \mu g/L$. Im entsalzten Wasser nahm die Konzentration von $8,3 \pm 1,3$ auf $1,5 \pm 0,3 \mu g/L$ ab. Im Eluat mit verdünnter HCl wurden mit Werten von $1,2 \pm 0,4$ an Tag 2 und $0,1 \pm 0,1 \mu g/l$ nur sehr geringe Gd-Konzentrationen bestimmt.

Der Anreicherungsfaktor im Sediment lag bei 2784,4.



Abbildung 4.2.3.2.1: Anteil an Gesamt-Gd [%] in den Testansätzen mit GdCl₃ x 6 H₂O

Die Wiederfindung an eingesetztem Gd [%] im Versuch mit Gd aus $GdCl_3 \times 6 H_2O$ ist in Tabelle 4.2.3.2.1 dargestellt. Anders als in der Studie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure

traten hier Schwankungen auf. An Tag 15 war die Wiederfindung mit 110,1 % am größten, an Tag 8 und Tag 100 lag sie mit Werten um 90 % noch unter dem Wert, der an Tag 2 berechnet wurde (100,7 %). Die Schwankungen sind durch die Inhomogenität des Sediments (Wassergehalt und damit unterschiedliches Gewicht) zu erklären. Ein Verlust an Gd ist ausgeschlossen, da es sich um ein nicht flüchtiges Element handelt.

Tabelle 4.2.3.2.1: Wiederfindung Gd [%] in der Studie mit GdCl₃ x 6 H₂O

Tag der Prüfung [d]	Wiederfindung [%]
2	100,7
8	90,2
15	110,1
100	88,0

5 Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen und der Untersuchungen zum Umweltverhalten zunächst einzeln diskutiert und in den Kontext aus vorliegender Literatur eingeordnet. Anschließend erfolgt eine Abschätzung des zu erwartenden Risikos mittels einer PEC/PNEC Berechnung. Zum Abschluss wird auf die eingangs gestellten Fragen und Ziele der Arbeit eingegangen und ein Ausblick für weitere Untersuchungen gegeben.

5.1 Ökotoxikologische Untersuchungen

Die folgende Tabelle fasst die Resultate der Studien zur Ökotoxizität zusammen. Grau unterlegt sind hierbei die Ergebnisse, bei denen toxische Effekte zu beobachten waren. Ergebnisse früherer Studien mit der Prüfsubstanz Gadobutrol wurden zum Vergleich mit in die Tabelle aufgenommen.

	Akute	Akuter	Reproduktionstest	Algenwachstums-
	Toxizität	Immobilisierungstest	am Wasserfloh	hemmtest
	am	am Wasserfloh		
	Fisch			
Dimeglumin-	> 100	> 100	> 10	> 100
Gadopentetsäure				
Gadobutrol	> 100	> 1000 *	> 10	937 *
Gadoteridol	> 100	n.b.	> 10	> 100
Gadodiamid	> 100	n.b.	> 10	20
GdCl ₃ x 6 H ₂ O	> 13,2	3,9	1,51	4,94

Tabelle 5.1.1: NOECs der Toxizitätstests am Fisch, am Wasserfloh und an der Grünalge [mg/L]

* Daten aus früheren Studien der Bayer Schering Pharma AG

n.b.: Daten wurden nicht bestimmt

In keinem der akuten Toxizitätstests Fisch wurden Mortalität am oder Verhaltensauffälligkeiten festgestellt. In den Versuchen mit der Spezies Daphnia magna traten Immobilisierung und Reproduktionshemmung bei Verwendung der Prüfsubstanz GdCl₃ x 6 H₂O auf. Das Algenwachstum wurde durch die Prüfsubstanz Gadobutrol leicht durch Gadodiamid deutlich sowie durch $GdCl_3 \times 6 H_2O$ stark gehemmt. Im Bioakkumulationstest am Fisch, der eine Langzeitexposition abbildet, waren bei Nominalkonzentrationen von 17,79 mg/L Dimeglumin-Gadopentetsäure und 5 mg/L GdCl₃ x H₂O (entspricht jeweils 2,98 mg Gd/L) keine nachteiligen Effekte auf die Fische zu beobachten.

Diskussion

Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die MRT-Kontrastmittel in umweltrelevanten (siehe Kapitel 5.3) Konzentrationen nicht toxisch auf die getesteten aquatischen Organismen wirken. Auch bei GdCl₃ x 6 H₂O werden toxische Effekte erst im einstelligen mg/L Bereich relevant. Fische sind gegenüber den getesteten Prüfsubstanzen unempfindlich, während Wasserflöhe und Algen empfindlich auf Gd aus GdCl₃ x 6 H₂O reagieren. Der chronische Toxizitätstest am Wasserfloh war hierbei erwartungsgemäß empfindlicher als der akute, was sich in der niedrigeren NOEC widerspiegelte. Algen zeigten als einzige Spezies Reaktionen auf die Verwendung hoher Konzentrationen zweier MRT-Kontrastmittel.

Dass die MRT-Kontrastmittel nur bei hohen Konzentrationen im Vergleich zum umweltrelevanten Bereich toxische Effekte in den Algen verursachen, kann verschiedene Gründe haben. Zum Einen könnte die hohe Osmolarität bzw. Salinität verantwortlich dafür sein, die zum Verlust von Wasser in den Zellen führen und dadurch die physiologischen Prozesse beeinträchtigen kann. WILLIAMS ET AL. (2000) [71] stellten in ihren Versuchen mit verschiedenen MRT-Kontrastmittel-Wirkstoffen an der Nematode *Caenorhabditis elegans* ebenfalls fest, dass erst ab 25 g Kontrastmittel-Wirkstoff/L Effekte zu verzeichnen waren. Sie hatten aber in Versuchen mit NaCI eine Toleranz der Nematoden gegenüber einer hohen Salinität bereits abgeklärt und schlossen deshalb aus, dass die Toxizität dadurch hervorgerufen wurde (siehe Kapitel 2.4).

Aufgrund der Speziesunterschiede zwischen Algen und Nematoden ist es nicht ausgeschlossen, dass eine hohe Saliniät (bei ionischen Kontrastmitteln) bzw. eine hohe Osmolariät (bei nicht-ionischen Kontrastmitteln) Ursache der Wachstumshemmung ist.

Eine andere Möglichkeit besteht darin, dass die Toxizität der Kontrastmittel von freiem Gd verursacht wird. Aufgrund des MWG ist davon auszugehen, dass in einer Lösung von Gd-Chelaten auch geringe Mengen an freiem Gd vorliegen (siehe Kapitel 2.3). Dieses ist, wie in Kapitel 2.2 besprochen und in den ökotoxikologischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit gezeigt, toxisch.

Folgende Tabelle zeigt die aus dem log K'-Wert berechneten Konzentrationen an freiem Gd bei Einsatz von 100 mg Gd-Chelat/L in wässriger Lösung. Es wird deutlich, dass bei Gd-Chelaten mit geringerem log K' eine höhere Konzentration des Gd-Ion vorliegt (Unterschied von Faktor 10).

Gd-Chelat	Konzentration Gd ³⁺ [mg/L]	log K'
Gd-DTPA	1,4 x 10 ⁻⁸	17,7
Gd-DPTA-BMA	3,6 x 10 ⁻⁷	16,9
Gd-BT-DO3A	4,5 x 10 ⁻⁷	14,7
Gd-HP-DO3A	2,8 x 10 ⁻⁸	17,1

Tabelle 5.1.2: Konzentration an Gd ³⁺ vo	on verschiedenen Gd-Chelaten
---	------------------------------

Die Konzentrationen an Gd³⁺ in der Tabelle liegen deutlich unterhalb der in den Toxizitätsversuchen verwendeten nominalen Konzentrationen. In den Toxizitätstests mit GdCl₃ x 6 H₂O wurde zwar festgestellt, dass wesentlich weniger Gd in den wässrigen Lösungen vorlag als ursprünglich eingesetzt wurde. Trotzdem sind aber auch diese Konzentrationen an Gd, welches mittels ICP-MS nachgewiesen wurde, höher als die oben berechneten Werte. Dazu ist jedoch anzumerken, dass die Prüflösungen vor der Gehaltsanalyse unterschiedlich behandelt wurden und die Auswertung mit den jeweils höheren Werten durchgeführt wurde (vergleiche Kapitel 3.2). Im Reproduktionstest am Wasserfloh wurden zentrifugierte und nicht zentrifugierte Proben gemessen. Für die Auswertung wurde aber der Mittelwert der nicht zentrifugierten Lösungen verwendet, da eine toxische Wirkung theoretisch auch durch partikuläre Substanzen hervorgerufen werden kann bzw. die Adsorption von gelöstem Gd am Zentrifugenröhrchen nicht ausgeschlossen werden konnte. Die Lösungen aus dem akuten Immobilisierungstest am Wasserfloh zum zweiten Probenahmezeitpunkt (nach 48 h) wurden vor der Analyse erneut filtriert (0,45 µm). Für die Auswertung wurden die Konzentrationen des ersten Probenahmezeitpunktes (0 h) herangezogen, da auch hier die Adsorption am Filter nicht ausgeschlossen werden konnte. Die Werte der zentrifugierten bzw. filtrierten Lösungen waren noch einmal geringer als die für die Auswertung verwendeten Werte, allerdings immer noch höher als die berechneten aus Tabelle 5.1.2.

Da die berechneten Werte ohne Einbeziehung weiterer im Wasser vorliegender Anionen und Kationen erfolgte, ist nicht sicher, ob nicht durch eine Verschiebung des Gleichgewichts tatsächlich höhere Konzentrationen an Gd bei einer Einsatzmenge von 100 mg Wirkstoff/L vorliegen. Wie in Kapitel 2.3 angemerkt, beobachteten TWEEDLE ET AL. [28], dass Gd-EDTA und Gd-DTPA in Anwesenheit von Phosphat mit den endogenen Metallionen Cu²⁺ und Zn²⁺ reagierten und schlecht wasserlösliches GdPO₄ entstand.

Die Tatsache, dass die toxischen Effekte bei den Kontrastmitteln mit den niedrigeren log K' auftraten (Gd-BT-DO3A und Gd-DTPA-BMA), spricht jedenfalls für eine Korrelation der toxischen Effekte mit der Stabilität der MRT-Kontrastmittel, auch wenn bei Gd-BT-DO3A eine deutlich höhere Konzentration (2062 mg/L) eingesetzt wurde. Es kann nicht abschließend geklärt werden, ob dekomplexiertes Gd oder die höhere Osmolarität bei einer Konzentration von 100 mg Wirkstoff/L für die toxischen Effekte verantwortlich ist.

Abbildung 5.1.1 zeigt eine Tendenz der Wachstumskurven aus den Algenwachstumshemmtests. Es fiel auf, dass bei der jeweils höchsten eingesetzten Konzentration von 100 mg Kontrastmittel-Wirkstoff/L eine Wachstumshemmung festgestellt wurde, was die rote Linie verdeutlicht. Diese Wachstumshemmung war jedoch nur bei Gadodiamid signifikant unterschiedlich zur Kontrolle, da in allen Ansätzen eine große Streuung (dargestellt über die Standardabweichung) zu verzeichnen war.

Diskussion



Abbildung 5.1.1: Wachstumskurven der Algenwachstumshemmtests mit verschiedenen Gd-Chelaten

Diskussion

Die toxische Wirkung von Gd auf aquatische Organismen zeigten die für die vorliegende Arbeit durchgeführten Versuche mit Wasserflöhen und Algen. Bei Fischen wurden, obwohl im Bioakkumulationstest nachgewiesen wurde, dass diese Gd aufnehmen, keine nachteiligen Effekte beobachtet (z.B. geringeres Gewicht als Kontrolltiere, Mortalität, Verhaltensauffälligkeiten).

Ausschlaggebend für die Beobachtungen bzgl. der Toxizität von Gd scheint die Aufnahme und Verfügbarkeit des Lanthanoids für den Organismus zu sein.

Im Leitungswasser, welches als Verdünnungsmedium für die Tests mit Fischen und Wasserflöhen diente, fiel Gd überwiegend aus (siehe Ergebnisse der ICP-MS Analysen). Nur geringe Mengen an gelöstem Gd waren somit für die Aufnahme verfügbar.

Die Aufnahme von Fremdstoffen erfolgt im Allgemeinen in einem zweistufigen Prozess. Zunächst adsorbieren die Stoffe an den Oberflächen der Aufnahmeepithelien. Danach erfolgt ein deutlich langsamerer Transport durch die Zellmembran. Wegen ihrer großen Oberfläche im Vergleich zum Volumen spielt die Sorption bei kleinen Organismen, insbesondere Einzellern, eine größere Rolle. Bei Metallen wird die Aufnahme modellhaft als Konkurrenz zwischen Bindungsstellen an der Organismenoberfläche und denjenigen im Umweltmedium um die verfügbaren Metallionen betrachtet: Nur diejenigen Ionen werden aufgenommen, deren Affinität zu den Liganden der Aufnahmeoberflächen größer ist als zu den Liganden im umgebenden Medium [72]. Nach NIEBOER UND RICHARDSON (1980) [73] gehören Lanthanoide zu den sogenannten Klasse A Metallen, die Sauerstoff enthaltende Liganden und funktionelle Gruppe suchen, wie z.B. OH⁻ und PO₄³⁻. In Biota sind diese Gruppen ubiquitär verbreitet und bieten viele Bindungsplätze für Lanthanoide. Im vorliegenden Fall hat Gd zu denselben Liganden der Aufnahmeoberflächen eine Affinität wie Ca. Es ist deshalb wahrscheinlich, dass dieses durch Gd, welches über eine höhere Ladung verfügt, verdrängt werden kann.

Bei Fischen sind u.a die Kiemen für den Elektrolytstoffwechsel zuständig. Ionen werden hier aktiv aufgenommen, um den durch die passive Diffusion verursachten Verlust auszugleichen. Die Aufnahme von Fremdstoffen über die Nahrung spielt eigentlich eine untergeordnete Rolle. Im Fall vom bei einem pH-Wert von 8 schlecht löslichen Gd ist es aber wahrscheinlich, dass kleine Partikel des Niederschlags an das Fischfutter anhaften und so über die Nahrung in die Fische gelangen, was die Schwankungen der Gd-Konzentrationen im Bioakkumulationstest in den Fischen im Versuch mit GdCl₃ x H₂O erklärt. Da nur geringe Mengen an gelöstem Gd vorliegen, spielt die Aufnahme über die Kiemen eine untergeordnete Rolle. Das erklärt auch, warum keine Effekte zu beobachten waren, da die schlecht lösliche Form des Gd nicht reaktiv ist und nicht resorbiert wird. Die Menge des gelösten Gd, die über die Kiemen aufgenommen wird, ist offensichtlich zu gering, um

toxische Effekte bei den Zebrabärblingen zu verursachen. Die unlösliche Form wird wieder ausgeschieden.

Obwohl bei Wasserflöhen das gleiche Verdünnungsmedium, nämlich Leitungswasser, verwendet wurde wie bei den Fischen und auch hier das Gd überwiegend im ausgefällten Zustand vorlag, wurden bei den Wasserflöhen negative Effekte durch die Exposition festgestellt. Das kann daran liegen, dass der Niederschlag, der durch die Bewegung der Wasserflöhe aufgewirbelt wird, die Bewegung der Daphnien erschwert, was zur Immobilisierung führt. Viel wahrscheinlicher ist aber, dass die Menge an gelöstem Gd besser durch die Wasserflöhe aufgenommen wird und die Wasserflöhe außerdem empfindlicher gegenüber der Prüfsubstanz sind. Das liegt zum Einen daran, dass, wie erwähnt, ein größeres Oberflächen/Volumen-Verhältnis im Vergleich zum Fisch vorliegt. Zum Anderen spielt Ca eine ganz entscheidende Rolle im Stoffwechsel von Crustaceen, so dass spezielle Mechanismen für die Aufnahme desselben existieren [74]. Die besondere Rolle des Ca in Crustaceen liegt in der Einlagerungen von CaCO₃ im Exoskelett, wodurch dieses an Stabilität gewinnt. Ist zuwenig Ca vorhanden, wird der Aufbau des Exoskeletts gestört. Dies spielt vor allem dann eine Rolle, wenn die Wasserflöhe sich häuten und eine neue Exocuticula bilden. Die essentielle Rolle von Ca bestätigte eine Studie über die Mechanismen der Zn Toxizität auf Daphnien. Bei Ca Mangel wurde die Nahrungsaufnahme erhöht, da offensichtlich versucht wird, über die vermehrte Futteraufnahme den Ca-Mangel auszugleichen [75]. Möglicherweise nehmen die Daphnien das vorhandene Gd anstelle von Ca auf, welches sich aber aufgrund der dreiwertigen Ladung chemisch anders verhält als Ca. Das führt zu ineffektiven Makromolekülen, weshalb eine erhöhte Mortalität sowie eine verminderte Reproduktion in den Toxizitätstests festgestellt wurden.

Auch für Algen ist Ca ein essentielles Spurenelement. Das Oberflächen/Volumen-Verhältnis von einzelligen Algen ist größer als bei den Daphnien. Deshalb ist anzunehmen, dass Gd aufgenommen wird und toxische Effekte wie Wachstumshemmung folgen, die auf der Behinderung physiologischer Vorgänge beruhen. Diese Erwartung wurde erfüllt. Allerdings erwiesen sich die Daphnien als etwas empfindlicher gegenüber Gd als die Algen, was sich in einem geringeren NOEC der Toxizitätstests ausdrückte.

Das kann auf die besondere Rolle des Ca bei der Bildung des Exoskeletts der Wasserflöhe zurückgeführt werden. Allerdings kann auch die Nährlösung bzw. das Verdünnungsmedium die wahre NOEC verschleiern. Im Algenwachstumshemmtest wird statt Leitungswasser entsalztes Wasser für die Herstellung der Stammlösung verwendet, was zunächst dazu führt, dass keine Carbonat- und Phosphat-Ionen für die Bildung des Niederschlags zur Verfügung stehen. Bei der Analyse der Stammlösung mittels ICP-MS wurde deshalb auch fast die Nominalkonzentration nachgewiesen. Im Algenwachstumshemmtest wird aber im Unterschied zu den anderen Versuchen ein Nährlösungskonzentrat zugesetzt, welches unter anderem EDTA in Form von Titriplex III enthält (1 mg/L Nährlösung). Wie SUN ET AL. [42] zeigten, erschwert EDTA die Aufnahme von REEs. Das eingesetzte EDTA könnte zur Folge haben, dass eigentlich weniger Gd verfügbar war, als durch die Stammlösung zugeführt wurde und aus diesem Grund erst bei höheren Konzentrationen Effekte auftraten.

5.2 Untersuchungen zum Umweltverhalten

Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse der Studien zum Umweltverhalten noch einmal zusammen.

	Biologischer	Flockung in ents.	Aerobe	(Bioakkumulationtest
	Abbau in	Wasser und in	Transformation	am Fisch)
	Modell-	Modellkläranlagen	im aquatischen	
	kläranlagen		Sediment	
Dimeglumin-	kein Abbau	Destabilisierung	geringe	geringe Anreicherung,
Gadopentetsäure		des Komplexes	Transformation,	reversibel
			höchster Anteil	
			an Gd in	
			wässriger Phase	
Gadobutrol	kein Abbau	Destabilisierung	-	-
		des Komplexes		
GdCl ₃ x 6 H ₂ O	-	-	höchster Anteil	Anreicherung, große
bzw, GdCl ₃ x H ₂ O			in Sediment,	Unterschiede der Gd-
			unlösliche	Konzentrationen in
			Fraktion	einzelnen Fischen,
				reversibel

Tabelle 5.2.1: Ergebnisse der Studien zum Umweltverhalten

Allgemein kann über die MRT-Kontrastmittel gesagt werden, dass es sich um sehr gut wasserlösliche und überwiegend stabile Verbindungen in aquatischen Systemen handelt. Dies zeigte sich dadurch, dass im akuten Immobilisierungstest am Wasserfloh, im Versuch mit den Modellkläranlagen bis zum Einsatz der Flockung und im Sedimenttest bis einschließlich Tag 15 die Nominalkonzentrationen mittels HPLC gefunden wurden.

Biologischer Abbau konnte weder in den Versuchen mit Belebtschlammorganismen noch im aquatischen Sediment festgestellt werden. Bei den MRT-Kontrastmitteln handelt es sich um Gd-Verbindungen mit DTPA-Derivaten, die tertiäre Stickstoffatome enthalten. Dass diese Derivate gegenüber einem mikrobiologischen Angriff sehr stabil sind, bestätigten frühere Arbeiten von PITTER ET AL. [42] (siehe Kapitel 2.5).

Die Flockung in den Modellkläranlagen führte zu einer Destabilisierung der Komplexe. Das deckt sich mit den Ergebnissen von ZWIENER (2007) [36], der in seinen Versuchen zum

Verhalten von Gd-DTPA bei der Flockung in Trinkwasser beobachtete, dass sowohl Fe(III), als auch Al(III) in der Lage ist, Gd aus dem Komplex zu verdrängen. Aufgrund des in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Flockungsversuchs mit entsalztem Wasser und Leitungswasser und den dabei festgestellten geringen pH-Werten kann vermutet werden, dass der Verlust der Stabilität durch den geringen pH-Wert beeinflusst wurde (vergleiche Kapitel 2.5: Einfluss des pH-Wertes auf die Menge des freien Gd³⁺). Es ist denkbar, dass die Transmetallisierung (Austausch von Gd gegen Fe) durch die Destabilisierung erleichtert wurde. Da bei der Zugabe von 200 mL einer 0,3 M FeCl₃-Lösung (81,1 g/L) in die Modellkläranlage, die ein gepuffertes System darstellt und außerdem von 12 L Leitungswasser pro Tag durchflossen wird, keine entscheidenden Veränderungen des pH-Werts zu erwarten sind und es auch hier zu einer Destabilisierung des Komplexes kam, spielt aber offensichtlich der pH-Wert keine entscheidende Rolle im Transmetallisierungsprozess. Das makrozyklische Gadobutrol war im Flockungsversuch in der Modellkläranlage weniger von der Transmetallisierung betroffen als die lineare Dimeglumin-Gadopentetsäure. Aufgrund des geringeren log K' von Gadobutrol war eigentlich zu erwarten, dass dieses mehr von der Transmetallisierung betroffen ist. Jedoch hat hier die Halbwertszeit der Dissoziation einen größeren Einfluss als die Stabilitätskonstante log K', denn sie ist für Makrozyklen größer als für lineare Gd-Chelate (siehe Kapitel 2.3).

Nach 100 Tagen wurde im Sedimenttest ein etwas geringerer Anteil an Dimeglumin-Gadopentetsäure im wässrigen Überstand nachgewiesen als zu Beginn des Versuches (93,82 mg/L an Tag 100 versus 101,11 mg an Tag 1). Offensichtlich wurde dieser Verlust aber nicht durch biologischen Abbau verursacht. Da zu diesem Zeitpunkt mehr Gd im Sediment gefunden wurde als zu Beginn der Inkubation, ist denkbar, dass die Menge an freiem Gd, die im Gleichgewicht vorliegt, durch Anionen wie Phosphat, Carbonat und Hydroxid gebunden und somit ausgefällt wurde. In der Studie zum biologischen Abbau in Modellkläranlagen wurde keine Verminderung der Kontrastmittel nach 47 Tagen Inkubation festgestellt, obwohl in Kläranlagen natürlicherweise wesentlich mehr Mikroorganismen vorhanden sind als im Sediment. Auch das bestätigt die Vermutung, dass der Verlust an Dimeglumin-Gadopentetsäure nicht auf biologischen Abbau zurückzuführen ist, sondern auf chemische Umsetzung bzw. Dekomplexierung. Durch die Anwesenheit eines komplexen Gemisches von Anionen und konkurrierenden Kationen um DTPA ist zudem die Verschiebung des Gleichgewichts in Richtung des dissoziierten Komplexes denkbar.

Dimeglumin-Gadopentetsäure wurde, verglichen mit $GdCI_3 \times H_2O$, nur in sehr geringen Konzentrationen in Fischen nachgewiesen. Die höchste nachgewiesene Menge lag bei 10,2 mg/kg TS in einem Fisch. (Im Gegensatz dazu wurde im Versuch mit $GdCI_3 \times H_2O$ in

einem Fisch 907 mg/kg TS gefunden.) Die Konzentrationserhöhung im Versuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure war offensichtlich reversibel, denn nach der Ausschwemmphase wurde kein Gd mehr in den Fischen gefunden. Da die Mengen mit Ausnahme des einen Fisches, in dem 10,2 mg/kg TS nachgewiesen wurden, nur im Bereich der Nachweisgrenze lagen (~ 1 mg/kg), ist davon auszugehen, dass entweder durch Anhaften der wässrigen Lösung am Fischkörper und/oder durch Reste des Wassers im Verdauungstrakt des Fisches der marginale Gehalt an Gd verursacht wurde.

Gd aus GdCl₃ verhält sich in der aquatischen Umwelt vollkommen anders als die MRT-Kontrastmittel.

In allen Versuchen mit GdCl₃ zeigte sich, dass Gd sehr schlecht löslich ist und in natürlichen Gewässern ausfällt. Der Niederschlag ist schlecht löslich, wie der Sedimenttest und das anschließende Filtrationsverfahren zeigten; verdünnte HCI war nicht in der Lage, ihn in Lösung zu bringen, was die geringen Mengen an Gd im HCI-Filtrat bewiesen. Vergleicht man die Mengen an Gd in den Filtraten vom Versuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure mit denen vom Versuch mit GdCl₃ x 6H₂O, so fällt auf, dass in den erstgenannten höhere Konzentrationen bestimmt wurden als in den letzteren. Die Ursache hierfür liegt wahrscheinlich darin, dass bei der Filtration nicht die gesamte Menge des wässrigen Überstandes dem Sediment entzogen wurde und so der gut lösliche Wirkstoff in die Folgefiltrate "verschleppt" wurde. Im Versuch mit freiem Gd schlug sich schon an Tag 2 eine größere Menge an Niederschlag nieder und sammelte sich auf dem Sediment. Je länger die Ansätze standen, desto größer war der Anteil an Niederschlag im Sediment und desto geringer war der Anteil an gelöstem Gd in der wässrigen Phase. Das erklärt, warum die Konzentrationen an Gd im zeitlichen Verlauf der Prüfung in allen Filtraten abnahmen. Phosphat scheint einen größeren Einfluss bei der Bildung des Niederschlags zu haben als Hydroxid (vergl. Kapitel 2.5). Das lässt die Tatsache vermuten, dass in entsalztem Wasser eine höhere Menge an gelöstem Gd festgestellt wurde (bestätigt durch die Konzentration in der Stammlösung des Algenwachstumshemmtest) als in Leitungswasser und Seewasser. Die in Kapitel 2.5 angesprochene Komplexierung und damit Löslichkeitserhöhung durch den DOC (Humin- und/oder Fulvosäuren) spielte offenbar keine Rolle.

Große Konzentrationsunterschiede in den verschiedenen Replikaten des Bioakkumulationstests sowohl in den Fischen als auch im Wasser lassen darauf schließen, dass bei Verwendung der Prüfsubstanz GdCl₃ x H₂O keine homogene Lösung vorlag. Vielmehr ist eine Mischung von Partikeln des Niederschlags und gelöstem Gd wahrscheinlich. Dies erklärt die Schwankungen bei der Konzentrationsbestimmung mittels ICP-MS, denn wenn ein größerer Partikel oder mehrere kleine Partikel in der zu messenden Lösung vorhanden waren, wurde eine höhere Konzentration gemessen als in der Lösung, in der die gelösten Anteile die Summe an Gd bestimmten.

Dass Gd auch in der Ausschwemmphase sowohl in der wässrigen Lösung als auch in den Fischen bestimmt wurde, ist darauf zurückzuführen, dass an den Becken und in den Schläuchen noch sichtbare Partikel des Niederschlags anhafteten, die weiterhin für eine Zufuhr an Gd sorgten, obwohl die Infusionspumpen, die die Stammlösung förderten, bereits abgestellt war.

5.3 Abschätzung des Umweltrisikos

Um eine Umweltrisikobewertung zu erstellen, müssen neben den Daten zu toxischen Konzentrationen auch die Konzentrationen, die in der Umwelt zu erwarten sind, abgeschätzt werden. Abbildung 5.3.1 zeigt das allgemeine Vorgehen einer Umweltrisikobewertung. Es basiert auf der Berechnung des Verhältnisses der zu erwartenden Konzentration im betroffenen Kompartiment (im Fall der MRT-Kontrastmittel die Oberflächengewässer), der PEC (predicted environmental concentration), zu der Konzentration, bei der keine Effekte zu erwarten sind, der PNEC (predicted no effect concentration). Ist dieses Verhältnis kleiner als 1, ist kein Risiko zu befürchten, bei Werten größer oder gleich 1 ist von einem Risiko für die Umwelt auszugehen.



Abbildung 5.3.1: Vorgehen bei der Umweltrisikobewertung

Diskussion

Die European Medicines Evaluation Agency (EMEA) hat 2006 eine Guideline herausgegeben, die für die Berechnung der zu erwartenden Umweltkonzentration maßgebend ist [76]. Sie basiert auf verschiedenen Annahmen:

- Das Abwassersystem ist der Haupteintragspfad für Arzneimittel in Oberflächengewässer.
- In der Kläranlage werden die Arzneimittel nicht zurückgehalten oder durch Mikroorganismen abgebaut.
- Metabolismus im Patienten wird nicht berücksichtigt.
- Die Menge des eingetragenen Arzneimittels ist gleichmäßig über das Jahr und die Region verteilt.
- Ein Marktdurchdringungsfaktor, der den Marktanteil des Arzneimittels berücksichtigt, geht in die Berechnung mit ein. Dieser basiert auf Marktdaten, die epidemiologisch erhoben wurden. Gibt es keine solchen Angaben, wird ein vorgegebener Standardwert eingesetzt.

Mit diesen Annahmen kann eine theoretische Umweltkonzentration berechnet werden, die auch die maximale Dosis pro Person und die Verdünnung durch das Abwasser berücksichtigt.

Für die Berechnung der PEC wird in der Guideline folgende Formel vorgeschlagen:

Gleichung 15: $PEC_{Surfacewater} = \frac{Dosis_{ai} \times F_{pen}}{Wastew_{inhab} \times Dilution}$

wobei:

PEC _{Surfacewater}	Lokale Konzentration im Oberflächengewässer [mg/L]
Dosis _{ai}	Maximale tägliche Dosis pro Person
F _{pen}	Marktanteil
Wastew _{inhab}	Menge Abwasser pro Einwohner und Tag (200 L x Einwohner ¹ x d^{-1}
Dilution	Verdünnungsfaktor (10)

Der Marktanteil F_{pen} berechnet sich nach folgender Formel. Gleichung 16:

$$F_{pen}[\%] = \frac{consumption [mg/year] \times 100}{Dosis_{ai} [mg \times d^{-1} \times inhab^{-1}] \times inhabi \tan ts [inhab] \times 365 d \times year^{-1}}$$

wobei:

Dosis_{ai} maximale tägliche Dosis pro Person

consumption Verkaufsmenge (38000 L/y)

inhabitants Anzahl der Einwohner

Setzt man Gleichung 16 in Gleichung 15 ein, so erhält man:

Gleichung 17: $PEC = \frac{\text{consumption x 100}}{\text{Wastew}_{\text{inhab}} \text{x Dilution x inhabitants x 365 d}}$

Für die Berechnung der PEC wird die Gesamtabsatzmenge der in der vorliegenden Arbeit verwendeten vier Gd-haltigen MRT-Kontrastmittel verwendet. Sie lag in Deutschland bei insgesamt 38 000 L im Jahr 2006. Da nur dieser Wert verfügbar ist, muss bei der Berechnung eine weitere Annahme vorgenommen werden, um einen Wert in mg/Jahr für die Verbrauchsmenge zu erhalten. Es wird die Konzentration des am höchsten konzentrierten Verkaufsprodukts (Gadovist[®] mit 604,72 mg Gadobutrol/mL) eingesetzt, was eine deutliche Überschätzung darstellt. Damit erhält man einen Wert von 2,29 x 10¹⁰ mg Kontrastmittel im Jahr 2006 bezogen auf Deutschland.

Damit und mit einer Einwohnerzahl von 82 012 000 erhält man einen Wert für die PEC von 0,04 mg/L.

Da Kontrastmittel bisher noch nicht in der aquatischen Umwelt analysiert wurden, ist ein Vergleich mit tatsächlichen Umweltkonzentrationen nicht möglich. Aufgrund der gemessenen Gd-Konzentrationen in Oberflächengewässern, die im Bereich von 10-100 ng/L liegen (siehe Einleitung), ist aber davon auszugehen, dass es sich bei der berechneten PEC um eine deutliche Überschätzung handelt. Da Gd ca. 26 % des Molekulargewichts von Gadobutrol ausmacht, wäre nach den obigen Ausführungen eine Umweltkonzentration von 0,01 mg/L Gd in Oberflächengewässern zu erwarten. Dieser Wert wurde aber bisher nicht einmal im Ablauf von Kläranlagen erreicht.

Ein weiterer für die Bewertung des Umweltrisikos wichtiger Wert ist die PNEC. Sie bezeichnet die Konzentration, unterhalb derer keine Effekte zu erwarten sind und wird mit folgender Formel berechnet:

Gleichung 18:

wobei:

PNEC Konzentration, unterhalb derer keine Effekte zu erwarten sind

 $PNEC = \frac{NOEC}{SF}$

- NOEC höchste Konzentration, bei der noch keine Effekte in der empfindlichsten Spezies beobachtet wurden
- SF Sicherheitsfaktor (bei Ergebnissen einer Langzeitexposition: 10)

Die PNEC basiert auf den Ergebnissen von aquatischen Toxizitätstests. Für deren Berechnung wird die NOEC der empfindlichsten Spezies verwendet.

In der vorliegenden Arbeit wurden in den Toxizitätstests mit den MRT-Kontrastmitteln keine Effekte bei Fischen und Wasserflöhen beobachtet. Die niedrigste NOEC wurde beim Algenwachstumshemmtest mit dem Kontrastmittel Omniscan[®] (Wirkstoff: Gadodiamid) festgestellt. Sie lag bei 20 mg/L. Da der Algenwachstumshemmtest an der Grünalge eine Langzeitexposition darstellt, wird ein Sicherheitsfaktor von 10 eingesetzt. Damit erhält man einen Wert von PNEC = 2 mg/L. Dies ist ein sehr konservativer Wert, da für die anderen Kontrastmittel die NOEC deutlich höher lag.

Teilt man nun die PEC durch die PNEC, so erhält man ein Verhältnis der beiden Schätzgrößen von 0,02. Dieser Wert liegt deutlich unterhalb von 1, weshalb von keiner Gefährdung durch die Kontrastmittel ausgegangen werden kann.

5.4 Bewertung

Um die Ergebnisse der gesamten Arbeit zu bewerten und diskutieren, sollen nun noch einmal die Fragestellungen der Einleitung wiederholt und beantwortet werden:

1. Sind die eingesetzten Gd-Verbindungen in der aquatischen Umwelt stabil?

Die Gd-Chelate wurden in den Modellkläranlagen nicht biologisch abgebaut. Allerdings wurden sie durch das Flockungsmittel FeCl₃ destabilisiert. Der makrozyklische Komplex Gadobutrol war hierbei stabiler als sein linearer Versuchspartner Dimeglumin-Gadopentetsäure. Im 100 Tage dauernden Sedimenttest zeigte sich eine überwiegende Stabilität, aber auch hier muss erwähnt werden, dass geringe Mengen des Komplexes dekomplexiert wurden und im Sediment in Form eines stabilen (nicht durch verdünnte HCl zerstörbaren) Niederschlags gefunden wurden.

2. Wirken die Gd-Verbindungen auf aquatische Organismen toxisch?

Die Gd-Komplexe wirken auf aquatische Organismen nicht toxisch. Nur bei zwei von vier MRT-Kontrastmitteln wurde bei hohen Konzentrationen eine toxische Wirkung auf Algen festgestellt. Die Konzentrationen waren aber deutlich oberhalb der zu erwartenden Konzentration in der aquatischen Umwelt.

3. Wie verhalten sich die Gd-Verbindungen bei der Abwasserbehandlung und bei der Trinkwasseraufbereitung?

Bei der Abwasserbehandlung bzw. Trinkwasserbehandlung (denn dort wird ebenfalls und vor allem Flockung durchgeführt) wird der Komplex bei ausreichenden Mengen des Flockungsmittels destabilisiert. Welche Produkte entstehen, wurde nicht untersucht. Aufgrund der Ergebnisse von ZWIENER (2007) [36] ist davon auszugehen, dass Gd und Fe-DTPA entstanden. Da auch im Trinkwasser Gd nachgewiesen wurde (siehe Einleitung), ist außerdem davon auszugehen, Berlin durchgeführten dass bei der in Trinkwasseraufbereitung nicht die gesamte Menge an Gd-Komplexen entfernt wird und/oder lösliche Gd-Verbindungen nach der Flockung entstehen.

4. Welche Auswirkungen hat freies Gd auf die aquatische Umwelt?

Freies Gd liegt in natürlichen Gewässern mit einem pH-Wert > 6 nicht vor, bzw. nur in sehr geringen Mengen (1,78 % bei den in Kapitel 2.5 eingesetzten Mengen). Ein großer Anteil fällt aus und liegt dann in unlöslicher Form im Sediment vor. Allerdings hat freies Gd eine toxische Wirkung auf Wasserflöhe und Algen, Fische akkumulieren zwar Gd, in der vorliegenden Form hat dies hat jedoch keine Folgen für den Organismus des Fisches.

5.5 Ausblick

Ziel der Arbeit war das Erstellen einer Umweltrisikobewertung für verschiedene Gd-haltige MRT-Kontrastmittel. Diese zeigten keine toxischen Effekte auf die untersuchten aquatischen Organismen. Außerdem zeigte sich, dass die verwendeten Gd-Chelate in wässrigem Medium stabil sind. Nach einer abschließenden Berechnung des PEC/PNEC-Verhältnis ist von keiner Gefährdung durch die Kontrastmittel für die aquatische Umwelt auszugehen.

Es wurde jedoch festgestellt, dass beim Einsatz von FeCl₃ als Flockungsmittel die Stabilität der MRT-Kontrastmittel beeinträchtigt wird. Deshalb wäre es interessant, die Transformations-produkte, die bei der Destabilisierung entstehen, zu identifizieren. Besondere Aufmerksamkeit sollte dem Vorliegen von freiem Gd gewidmet werden, da sich dieses als toxisch für aquatische Organismen herausstellte. Ob mit Aluminiumsalzen, die ebenfalls bei der Flockung eingesetzt werden, ähnliche Destabilisierungseffekte in einer Modellkläranlage erzielt werden können, wäre eine weitere interessante Fragestellung. Die Untersuchungen, die mit GdCl₃ durchgeführt wurden, zeigten, dass sich "freies Gd" im Sediment anreichert. Ergebnisse von Toxizitätstests mit Organismen, die das Sediment besiedeln (z.B. Mückenlarven) könnten deshalb eine Umweltrisikobewertung komplettieren.

6 Anhang

6.1 Ergebnisse

Tabelle A 4.1.1.1.1: Berechnete Zellzahlen (SD) nach 24 h,	, 48 h und 72 h Exposition mi
Dimeglumin-Gadopentetsäure	

Nominale	Zellzahlen (x 1000) (SD)				
Konzentration von	24 h	48 h	72 h		
Dimeglumin-					
Gadopentetsäure					
[mg/L]					
0.0 (n = 6)	17,76 (1,20)	57,77 (5,94)	254,4 (49,45)		
1,25 (n = 3)	24,39 (2,80)	70,82 (8,08)	307,2 (27,42)		
2,00 (n = 3)	17,54 (3,23)	60,55 (7,44)	243,1 (23,54)		
4,00 (n = 2)	16,37 (1,36)	62,58 (9,53)	317,7 (68,99)		
10,00 (n = 3)	15,83 (3,76)	65,90 (3,54)	332,3 (29,98)		
20,00 (n = 3)	14,12 (4,21)	59,05 (4,85)	245,6 (21,57)		
100,00 (n = 3)	16,90 (2,67)	61,40 (1,96)	230,2 (13,98)		

SD Standardabweichung

Tabelle A 4.1.1.2.1: Berechnete Zellzahlen (SD) nach 24 h, 48 h und 72 h Exposition mit Gadoteridol

Nominale	Zellzahlen (x 1000) (SD)				
Konzentration von	24 h	48 h	72 h		
Gadoteridol					
[mg/L]					
0,0 (n = 6)	17,76 (1,20)	57,77 (5,94)	254,4 (49,45)		
1,250 (n = 3)	17,12 (0,98)	53,70 (10,38)	222,9 (50,66)		
2,000 (n = 3)	18,61 (1,70)	64,40 (7,44)	329,7 (48,86)		
4,000 (n = 3)	15,19 (0,98)	56,91 (2,43)	215,5 (9,66)		
10,000 (n = 3)	14,12 (1,93)	57,34 (7,10)	310,7 (69,99)		
20,000 (n = 3)	15,40 (0,0)	62,47 (4,73)	309,2 (30,54)		
100,000 (n = 3)	14,12 (3,57)	52,63 (2,94)	212,0 (42,20)		

SD Standardabweichung

Nominale	Zellzahlen (x 1000) (SD)				
Konzentration von	24 h	48 h	72 h		
Gadodiamid					
[mg/L]					
0.0 (n = 6)	17,76 (1,20)	57,77 (5,94)	254,4 (49,45)		
1,250 (n = 3)	16,05 (2,22)	62,05 (4,27)	284,6 (39,44)		
2,000 (n = 3)	17,76 (0,37)	56,27 (3,54)	223,2 (32,86)		
4,000 (n = 3)	17,54 (1,34)	61,83 (4,13)	276,0 (19,77)		
10,000 (n = 3)	16,05 (1,11)	56,48 (6,79)	213,3 (47,23)		
20,000 (n = 3)	16,47 (1,48)	73,17 (7,81)	288,6 (47,43)		
100,000 (n = 3)	12,20 (1,70)	17,54 (2,06)	23,32 (2,59)		

Tabelle A 4.1.1.3.1: Berechnete Zellzahlen (SD) nach 24 h, 48 h und 72 h Exposition mit Gadodiamid

SD Standardabweichung

Tabelle A 4.1.1.4.1: Berechnete Zellzah	len (SD) nach 24 h	, 48 h und 72 h	Exposition mit	t Gd aus
GdCl ₃ x 6 H ₂ O			-	

Konzentration von	Zellzahlen (x 1000) (SD)					
Gd [mg/L]	24 h	48 h	72 h			
0.0 (n = 6)	15,57 (9,42)	59,75 (27,16)	191,19 (104,65)			
0,53 (n = 3)	9,78 (1,81)	5,43 (12,67)	185,03 (74,59)			
1,05 (n = 3)	9,05 (5,79)	77,85 (30,05)	228,49 (77,49)			
2,09 (n = 3)	8,69 (3,98)	43,81 (6,16)	82,92 (17,74)			
5,22 (n = 3)	5,79 (4,35)	16,29 (1,81)	21,00 (5,07)			
10,44 (n = 3)	0,72 (1,09)	3,62 (0)	13,40 (4,35)			
41,76 (n = 3)	-3,56 (2,54)	-4,71 (0,36)	-3,26 (2,17)			

SD Standardabweichung

Tabelle A 4.1.2.1.1: Kumulative Mortalität

Konzentration Dimeglumin-Gadopentetsäure	Gesamtanzahl	Anzahl imn	nobilisierter
[mg/L]	Daphnien	Dapl	nnien
(Mittelwert)		24 h	48 h
< NWG	20	0	0
96,9	20	0	0

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.2.1.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

	Konzentration Dimeglumin-Gadopentetsäure [mg/L				
	0 h	48 h			
Kontrolle	< NWG	< NWG			
Testlösung Vial 1	96,0	97,3			
Testlösung Vial 2	96,7	97,4			
Mittelwert	96,9				

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.1.1: Kumulative Mortalität

Gemessene Konzentration Dimeglumin-Gadopentetsäure	Kum	ulative	Morta	alität	(Anzahl	toter
[mg/L]	Fische)					
(Mittelwert)	3 h	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h
< NWG	0	0	0	0	0	0
106,0	0	0	0	0	0	0

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.1.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

	0 h	48 h	96 h
Gd-Gehalt Kontrolle [mg/L)	< NWG	< NWG	< NWG
Gd-Gehalt Testlösung [mg/L]	18,5	17,2	17,6
berechneter Wert Dimeglumin-Gadopentetsäure [mg/L]	110,4	102,6	105,0
Mittelwert Dimeglumin-Gadopentetsäure [mg/L]	106,0		

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.2.1: Kumulative Mortalität

Konzentration Gadobutrol [mg/L]	Kumulative Mortalität (Anzahl toter Fische)					
(Mittelwert)	3 h	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h
< NWG	0	0	0	0	0	0
106,1	0	0	0	0	0	0

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.2.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

	0 h	48 h	96 h
Gd-Gehalt Kontrolle [mg/L)	< NWG	< NWG	< NWG
Gd-Gehalt Testlösung [mg/L]	27,4	27,5	27,7
berechneter Wert Gadobutrol [mg/L]	105,6	106,0	106,7
Mittelwert Gadobutrol [mg/L]	106,1		

NWG Nachweisgrenze
Tabelle A 4.1.3.3.1: Kumulative Mortalität

Konzentration Gadodiamid [mg/L]	Kum	ulative	Mortalit	ät (Anza	hl toter l	Fische)
(Mittelwert)	3 h	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h
< NWG	0	0	0	0	0	0
101,9	0	0	0	0	0	0

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.3.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

	0 h	48 h	96 h
Gd-Gehalt Kontrolle [mg/L)	< NWG	< NWG	< NWG
Gd-Gehalt Testlösung [mg/L]	27,1	27,1	27,0
berechneter Wert Gadodiamid [mg/L]	102,0	102,0	101,6
Mittelwert Gadodiamid [mg/L]	101,9		

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.4.1: Kumulative Mortalität

Konzentration Gadoteridol [mg/L]	Kumı	ulative	Mortalita	ät (Anza	hl toter I	Fische)
(Mittelwert)	3 h	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h
< NWG	0	0	0	0	0	0
106,9	0	0	0	0	0	0

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.4.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse

	0 h	48 h	96 h
Gd-Gehalt Kontrolle [mg/L)	< NWG	< NWG	< NWG
Gd-Gehalt Testlösung [mg/L]	31,3	29,3	29,7
berechneter Wert Gadoteridol [mg/L]	111,2	104,1	105,5
Mittelwert Gadoteridol [mg/L]	106,9		

NWG Nachweisgrenze

Tabelle A 4.1.3.5.1: Kumulative Mortalität

Konzentration GdCl ₃ x 6 H ₂ O [mg/L]	Kumu	ulative	Mortalita	ät (Anza	hl toter F	-ische)
(gemessener Wert nach 96 h)	3 h	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h
< NWG	0	0	0	0	0	0
13,2	0	0	0	0	0	0

NWG Nachweisgrenze

Nominale	Neue Prüflösung				Alte Prüflösung				MV ±
Konzentration an	Tag 1	Tag 8	Tag	MV ±	Tag 8	Tag	Tag	MV ±	SD
Gd [mg/L]			15	SD		15	22	SD	(n=6)
				(n=3)				(n=3)	
0	<	<	<	< NWG	<	<	<	< NWG	< NWG
	NWG	NWG	NWG		NWG	NWG	NWG		
0,2	0,06	0,07	0,07	0,07	0,03	0,06	0,04	0,05	0,06 ±
				± 0,01				± 0,01	0,01
2,0	0,75	0,69	0,66	0,70	0,47	0,66	0,63	0,58	0,64 ±
				± 0,04				± 0,08	0,09
10,0	3,27	3,48	3,64	3,46	1,62	2,88	3,86	2,79	3,13 ±
				± 0,15				± 0,92	0,74

Tabelle A 4.1.4.5.1: Ergebnisse der Gehaltsanalyse, nicht zentrifugierte Lösung

NWG Nachweisgrenze

MV Mittelwert

SD Standardabweichung

Tabelle A 4.1.4.5.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse, zentrifugierte Lösung

Nominale	Neue F	Prüflösun	g		Alte Prüflösung				MV ±
Konzentration an	Tag 1	Tag 8	Tag	MV ±	Tag 8	Tag	Tag	MV ±	SD
Gd [mg/L]			15	SD		15	22	SD	(n=6)
				(n=3)				(n=3)	
0	<	<	<	< NWG	<	<	<	< NWG	< NWG
	NWG	NWG	NWG		NWG	NWG	NWG		
0,2	0	0,01	0,01	0,01 ±	0	0,01	0	0,00 ±	0,01±
				0,01				0,01	0,01
2,0	0,13	0,12	0,10	0,11	0,017	0,12	0,03	0,06 ±	0,09 ±
				± 0,02				0,04	0,04
10,0	0,36	0,36	0,33	0,35 ±	0,01	0,52	0,13	0,22 ±	0,28 ±
				0,01				0,22	0,17

NWG Nachweisgrenze

MV Mittelwert

SD Standardabweichung

Tag	Ansatz	Gd-Konz	entration [I	ng/kg TS]	TS [mg]		
		Fisch 1	Fisch 2	Fisch 3	Fisch 1	Fisch 2	Fisch 3
4	Replikat a	2,96	1,04	< 1	167,7	143,5	93,6
	Replikat b	< 1	1,03	< 1	343,3	199,1	124,0
14	Replikat a	1,27	1,01	1,57	164,5	198,5	151,7
	Replikat b	2,86	3,62	1,66	281,0	226,1	222,6
21	Replikat a	2,16	< 1	-	91,6	192	-
	Replikat b	7,07	10,2	-	261,1	216,3	-
28	Replikat a	<1	1,60	-	164,8	166,3	-
	Replikat b	5,93	2,13	-	376,2	135,8	-
42	Replikat a	< 1	< 1	-	276,6	166,3	-
	Replikat b	< 1	< 1	< 1	223,8	160,4	115,2

Tabelle A 4.1.5.2: Einzelwerte der Fische im	NVersuch mit GdCl ₃ x H ₂ O
--	---

Tag	Ansatz	Gd-Konzo	entration [I	ng/kg TS]	TS [mg]		
		Fisch 1	Fisch 2	Fisch 3	Fisch 1	Fisch 2	Fisch 3
4	Replikat a	14,2	14,7	25,7	283,8	234,8	243,1
	Replikat b	29,1	5,25	49,6	190,7	135,8	286,1
14	Replikat a	11,0	9,14	21,7	229,1	180,8	124,7
	Replikat b	21,0	175	21	225,7	237,0	109,6
21	Replikat a	53,9	23	-	287,8	180,9	-
	Replikat b	88,9	18,2	-	307,6	236,0	-
28	Replikat a	18,4	6,69	-	156,6	107,7	-
	Replikat b	531	67,8	-	184,7	80,7	-
42	Replikat a	6,39	2,35	907	132,9	134,9	304,8
	Replikat b	3,8	53,9	-	72,8	137,4	-

6.2 Verzeichnis der Formeln

Gleichung 1:	$aA + bB \Leftrightarrow cC + dD$
Gleichung 2:	$K_{C} = \frac{[C]^{c} \ [D]^{d}}{[A]^{a} \ [B]^{b}}$
Gleichung 3:	$[M] + [L] \leftrightarrows [M L]$
Gleichung 4:	$K = \frac{[M L]}{[M][L]}$
Gleichung 5:	$K'\!\!=\!\frac{[ML]}{[M]\{L+[HL]+[H_2L]+\}}$
Gleichung 6:	$GdL + [M]^{2+} \leftrightarrows Gd^{3+} + [ML]$
Gleichung 7:	Dissoziationsrate = K _{diss} [H ⁺] [GdL]
Gleichung 8:	Dissoziationsrate = K _{obs} [GdL]
Gleichung 9:	$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n}$
Gleichung 10:	$I_{\mu i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c}$
Gleichung 11	$BCF_F = c_F/c_W$
Gleichung 12:	Abbaugrad = (1-DOC _{Ablauf} /DOC _{Zulauf}) x 100
Gleichung 13:	SI = SV x 10/TG
Gleichung 14:	AF _S = c _S /c _W
Gleichung 15:	$PEC_{Surfacewater} = \frac{Dosis_{ai} \times F_{pen}}{Wastew_{inhab} \times Dilution}$

Gleichung 16:

$$F_{pen}[\%] = \frac{consumption [mg/year] \times 100}{Dosis_{ai} [mg \times d^{-1} \times inhab^{-1}] \times inhabitants [inhab] \times 365 d \times year^{-1}}$$

Gleichung 17:

 $PEC = \frac{\text{consumption x 100}}{\text{Wastew}_{\text{inhab}} \text{x Dilution x inhabitants x 365 d}}$

Gleichung 18:

$$PNEC = \frac{NOEC}{SF}$$

6.3 Verzeichnis der Abkürzungen

BMA	bismethylamide
BOPTA	4-carboxy-5,8,11-tris(carboxymethyl)-1-phenyl-2-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-
	oic säure
BMEA	bismethylethylamide
BT-DO3A	butrol
Cit	citrate
DO3A	1, 4, 7, 10 tetraazacyclodecane1, 4, 7 triacetic acid
DOC	dissolved organic carbon
DOTA	1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid
DTPA	2-{2-({2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl}(carboxymethyl)amino)-
	ethyl}carboxymethyl)amino}acetic acid (Diethylentriaminpentaessigsäure)
EC	effect concentration
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
EOB-DTPA	ethoxybenzyl
ESI	electrospray ionization tandem mass spectroscopy
MRT	Magnetresonanztomographie
Gd-DTPA	2-{2-({2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl}(carboxymethyl)amino)-
	ethyl}carboxymethyl)amino}acetic acid, disodium gadolinium salt
Gd-HP-DO3A	2[1,4,7,10-tetraaza-4,7-bis(carboxymethyl)-10-(2-
	hydroxypropyl)cyclododecyl]acetic acid, gadolinium salt
Gd-CPA-DO3	A 2-(1,4,7,10-tetraaza-4,7-bis(carboxymethyl)-10-([N-carboxymethyl)-N-(4-
	cyclohexylphenyl)carbamoyl]methyl)cyclododecyl)acetic acid, monosodium
	gadolinium salt
HPLC	high pressure liquid chromatogaphie
IC	inhibitive concentration
ICP-MS	Inductively coppled plasma mass spectroscopy
MV	Mittelwert
NOEC	no observed effect concentration
NTA	nitriloacetic acid
NWG	Nachweisgrenze
REEs	Rare Earth Elements
RP	reversed phase
SD	Standardabweichung

6.4 Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1.1.1: Konzentration an Gd in Rhein, Spree, Havel, Leitungswasser (LW) aus Berlin/	
Steglitz und dem Ablauf der Kläranlage (KA) Berlin/Ruhleben [ng/L] aus: Bau, M.,	,
Dulski, P. Anthropogenic origin of positive gadolinium anomalies in river waters,	
Earth and Planetary Science Letters 143, (1996), 245-255	9
Abbildung 2.2.1 Ionenradius der Lanthanoide	. 13
Abbildung 2.2.2: Chemische Struktur verschiedener Gd-Chelate (Handelsnamen in Klammern,	
Abkürzungen siehe Tabelle 3.1.1)	. 15
Abbildung 2.5.1: Verteilung der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 3	. 26
Abbildung 2.5.2: Verteilung der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 7	. 28
Abbildung 2.5.3: Verteilung der Gd-Spezies bei einem pH-Wert von 10	. 29
Abbildung 3.1: Wechselwirkungen im aquatischen Ökosystem und zugehörige Test-Systeme auf	
verschiedenen trophischen Ebenen	. 31
Abbildung 3.2.1.1: Testorganismus Desmodesmus subspicatus	. 35
Abbildung 3.2.2.1: Testorganismus Daphnia magna	. 36
Abbildung 3.2.3.1: Testorganismus Danio rerio	. 37
Abbildung 3.2.4.1: Reproduktionstest am Wasserfloh	. 38
Abbildung 3.2.5.1: Prüfaufbau des Bioakkumulationstests	. 39
Abbildung 3.3.1.1: Aufbau einer Modellkläranlage	. 42
Abbildung 3.3.3.1: Aufbau eines Sedimentansatzes	. 46
Abbildung 3.3.3.2: Filtrationsverfahren in der Sedimentstudie	. 47
Abbildung 4.1.1.1.1: Wachstumskurven von Desmodesmus subspicatus (Prüfsubstanz: Dimeglumir	۱-
Gadopentetsäure)	. 52
Abbildung 4.1.1.2.1: Wachstumskurven von Desmodesmus subspicatus (Prüfsubstanz: Gadoteridol	l)
	. 53
Abbildung 4.1.1.3.1: Wachstumskurven von Desmodesmus subspicatus (Prüfsubstanz: Gadodiamic	(t
	. 54
Abbildung 4.1.1.4.1: Wachstumshemmung von Desmodesmus subspicatus durch Gd	. 55
Abbildung 4.1.2.2.1: Mortalität [%] in Abhängigkeit der gemessenen Konzentration an Gd	. 57
Abbildung 4.1.4.5.1: Gemessene Konzentration an Gd in Abhängigkeit von der nominalen	
Konzentration an $GdCl_3 \times 6H_2O$. 67
Abbildung 4.1.5.1: Fischgewicht [mg] im Bioakkumulationstest	. 68
Abbildung 4.1.5.2: Konzentration an Gd im Wasser in den Testansätzen mit Dimeglumin-	
Gadopentetsäure [µg/L]	. 69
Abbildung 4.1.5.3: Konzentration an Gd im Fisch in den Testansätzen mit Dimeglumin-	
Gadopentetsäure	. 70
Abbildung 4.1.5.4: Konzentration an Gd im Wasser in den Testansätzen mit GdCl ₃ x H ₂ O	. 71
Abbildung 4.1.5.5: Konzentration an Gd im Fisch in den Testansätzen mit GdCl ₃ x H ₂ O	. 72
Abbildung 4.2.4.6: Verlauf des pH-Wertes im Bioakkumulationstest am Fisch	. 73

<u>Anhang</u>

Abbildung 4.2.4.7: Verlauf des Sauerstoffgehaltes im Bioakkumulationstest am Fisch	74
Abbildung 4.2.4.8: Temperaturverlauf im Bioakkumulationstest am Fisch	75
Abbildung 4.2.2.1.1: Verlauf des TG während der Vorlaufphase	79
Abbildung 4.2.2.1.2: Verlauf des SI während der Vorlaufphase	80
Abbildung 4.2.2.1.3: Verlauf des Sauerstoffgehaltes während der Vorlaufphase	81
Abbildung 4.2.2.1.4: Temperaturverlauf während der Vorlaufphase	81
Abbildung 4.2.2.2.1: Verlauf des TG während der Inkubation	82
Abbildung 4.2.2.2.2: Verlauf des SI während der Inkubation	83
Abbildung 4.2.2.2.3: Verlauf des Sauerstoffgehaltes während der Inkubation	84
Abbildung 4.2.2.2.4: Temperaturverlauf während der Inkubation	84
Abbildung 4.2.2.2.5: Gehalt an Dimeglumin-Gadopentetsäure	85
Abbildung 4.2.2.2.6: Gehalt an Gadobutrol	86
Abbildung 4.2.3.1.1: Anteil an Gesamt-Gd [%] in den Testansätzen mit Dimeglumin-Gadoper	ntetsäure
	88
Abbildung 4.2.3.2.1: Anteil an Gesamt-Gd [%] in den Testansätzen mit GdCl ₃ x 6 H ₂ O	89
Abbildung 5.1.1: Wachstumskurven der Algenwachstumshemmtests mit verschiedenen Gd-	Chelaten
Abbildung 5.3.1: Vorgehen bei der Umweltrisikobewertung	100

6.5 Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 2.2.1: Akute LD_{50} -Werte für unkomplexiertes Gd(III), freie Liganden und Gd(III)-Komplexe 16
Tabelle 2.3.1: Vergleich der Stabilitätskonstanten linearer und makrozyclischer Gd-Chelate sowie
Vergleich von log K und log K' (aus [27;28])18
Tabelle 2.3.2: Stabilitätskonstanten von Protonen und verschiedenen Metall-Ionen mit DTPA-
Derivaten und EDTA [29-31] 19
Tabelle 2.3.3: Dissoziationskonstanten und Halbwertszeiten verschiedener Gd-Chelate ([24])
Tabelle 2.5.1 a - e: Stabilitätskonstanten von Gd mit verschiedenen Anionen [50-59]
Tabelle 2.5.2: Konzentrationen verschiedener Kationen und Anionen in anthropogen beeinflussten
Gewässern
Tabelle 2.5.3: Theoretisch mögliche Feststoffe und Sättigungsinidizes bei einem pH-Wert von 3 27
Tabelle 2.5.4: Theoretisch mögliche Feststoffe bei einem pH-Wert von 77
Tabelle 2.5.5: Theoretisch mögliche Feststoffe bei einem pH-Wert von 10
Tabelle 2.5.6: Löslichkeitsprodukte(-log L) von Gd mit verschiedenen Anionen [60]
Tabelle 3.3.3.1: Kenngrößen des verwendeten Sedimentes 45
Tabelle 3.3.3.2: Probenahmezeitpunkte, Analyseverfahren und anfallende Proben (Sedimenttest) 47
Tabelle 4.1.2.2.1: Kumulative Mortalität 56
Tabelle 4.1.2.2.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse
Tabelle 4.1.3.5.1: Ergebnisse der Gehaltsanalyse 60
Tabelle 4.1.4.1.1: Kumulative Anzahl der Nachkommen und Anzahl der Bruten
Tabelle 4.1.4.1.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse (berechnet aus den mittels ICP-MS ermittelten
Konzentration an Gd) 62
Tabelle 4.1.4.2.1: Kumulative Anzahl der Nachkommen und Anzahl der Bruten
Tabelle 4.1.4.2.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse (berechnet aus den mittels ICP-MS ermittelten
Konzentration an Gd)63
Tabelle 4.1.4.3.1: Kumulative Anzahl der Nachkommen und Anzahl der Bruten
Tabelle 4.1.4.3.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse (berechnet aus den mittels ICP-MS ermittelten
Konzentration an Gd)65
Tabelle 4.1.4.4.1: Kumulative Anzahl der Nachkommen und Anzahl der Bruten
Tabelle 4.1.4.4.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse
Tabelle 4.1.4.5.1: Kumulative Anzahl der Nachkommen und Anzahl der Bruten
Tabelle 4.2.1.1: pH-Werte der Stammlösungen
Tabelle 4.2.1.2: pH-Werte und Temperatur der Testansätze nach 72 h
Tabelle 4.2.2.1.1: TOC Gehalte [mg/L] in Zu- und Ablauf der Modellkläranlagen sowie Abbaugrad des
synthetischen Abwassers [%]78
Tabelle 4.2.3.1.1: Wiederfindung Gd [%] in der Studie mit Dimeglumin-Gadopentetsäure
Tabelle 4.2.3.2.1: Wiederfindung Gd [%] in der Studie mit GdCl ₃ x 6 H ₂ O 90
Tabelle 5.1.1: NOECs der Toxizitätstests am Fisch, am Wasserfloh und an der Grünalge [mg/L] 91
Tabelle 5.1.2: Konzentration an Gd ³⁺ von verschiedenen Gd-Chelaten 92

Tabelle 5.2.1: Ergebnisse der Studien zum Umweltverhalten	
Tabelle A 4.1.1.1.1: Berechnete Zellzahlen (SD) nach 24 h, 48 h und 72 h Exposition mit D	imeglumin-
Gadopentetsäure	106
Tabelle A 4.1.1.2.1: Berechnete Zellzahlen (SD) nach 24 h, 48 h und 72 h Exposition mit G	adoteridol
	106
Tabelle A 4.1.1.3.1: Berechnete Zellzahlen (SD) nach 24 h, 48 h und 72 h Exposition mit G	adodiamid
	107
Tabelle A 4.1.1.4.1: Berechnete Zellzahlen (SD) nach 24 h, 48 h und 72 h Exposition mit G	d aus
$GdCl_3 \times 6 H_2O$	107
Tabelle A 4.1.2.1.1: Kumulative Mortalität	107
Tabelle A 4.1.2.1.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse	108
Tabelle A 4.1.3.1.1: Kumulative Mortalität	108
Tabelle A 4.1.3.1.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse	108
Tabelle A 4.1.3.2.1: Kumulative Mortalität	108
Tabelle A 4.1.3.2.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse	108
Tabelle A 4.1.3.3.1: Kumulative Mortalität	109
Tabelle A 4.1.3.3.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse	109
Tabelle A 4.1.3.4.1: Kumulative Mortalität	109
Tabelle A 4.1.3.4.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse	109
Tabelle A 4.1.3.5.1: Kumulative Mortalität	109
Tabelle A 4.1.4.5.1: Ergebnisse der Gehaltsanalyse, nicht zentrifugierte Lösung	110
Tabelle A 4.1.4.5.2: Ergebnisse der Gehaltsanalyse, zentrifugierte Lösung	110
Tabelle A 4.1.5.1: Einzelwerte der Fische im Versuch mit Dimeglumin-Gadopentetsäure	111
Tabelle A 4.1.5.2: Einzelwerte der Fische im Versuch mit GdCl ₃ x H ₂ O	111

6.6 Literaturverzeichnis

- 1. Bau M. and Dulski P., Anthropogenic origin of positive gadolinium anomalies in river waters, *Earth and Planetary Science Letters* **143**, pp. 245-255 (1996).
- 2. Kümmerer K. and Helmers E., Hospital effluents as a source of Gadolinium in the aquatic environment, *Environ. Sci. Technol.* **34**, pp. 573-577 (2000).
- 3. M. Reiser and W. Semmler, *Magnetresonanztomographie*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York (2002).
- 4. D. Weishaupt, V. D. Köchli and B. Marincek, *Wie funktioniert MRI*? (4. Auflage Edn). Springer, Berlin, Heidelberg, New York (2002).
- 5. H. S. Thomsen, R. N. Muller and R. F. Mattrey, *Trends in contrast media* (First edition Edn). Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1999).
- 6. P. Dawson, D. O. Cosgrove and R. G. Grainger, *Textbook of contrast media* (First Edition Edn). Isis Medical Media Ltd., Oxford (1999).
- 7. A. J. Spencer, S. A. Wilson, J. Batchelor, A. Reid, J. Rees and E. Harpur, Gadolinium chloride toxicity in the rat, *Toxicol. Pathol.* **25**, pp. 245-255 (1997).
- 8. A. Spencer, S. Wilson and E. Harpur, Gadolinium chloride toxicity in the mouse, *Hum. Exp. Toxicol.* **17**, pp. 633-637 (1998).
- 9. S. Yoneda, N. Emi, Y. Fujita, M. Ohmichi, S. Hirano and K. T. Suzuki, Effects of gadolinium chloride on the rat lung following intratracheal instillation, *Fundam. Appl. Toxicol.* **28**, pp. 65-70 (1995).
- 10. J. B. Lansman, Blockage of current through single calcium channels by trivalent lanthanide cations. Effect of ionic radius on the rates of ion entry and exit, *J. Gen. Physiol.* **95**, pp. 679-696 (1990).
- 11. B. A. Biagi and J. J. Enyeart, Gadolinium blocks low- and high-threshold calcium currents in pituitary cells, *Am. J. Physiol.* **259**, pp. 515-520 (1990).
- 12. N. Itoh and M. Kawakita, Characterization of Gd³⁺ and Tb³⁺ binding sites on Ca²⁺, Mg²⁺ adenosine triphosphatase of sarcoplasmic reticulum, *J. Biochem. (Tokyo)* **95**, pp. 661-669 (1984).
- 13. E. Husztik, G. Lazar and A. Parducz, Electron microscopic study of Kupffer-cell phagocytosis blockade induced by gadolinium chloride, *Br. J. Exp. Pathol.* **61**, pp. 624-630 (1980).
- 14. M. J. Berridge, Elementary and global aspects of calcium signalling, *J. Physiol* **499** (Pt 2), pp. 291-306 (1997).
- A. P. Fox, M. C. Nowycky and R. W. Tsien, Kinetic and pharmacological properties distinguishing three types of calcium currents in chick sensory neurones, *J. Physiol.* **394**, pp. 149-172 (1987).
- 16. R. B. Martin and F. S. Richardson, Lanthanides as probes for calcium in biological systems, *Q. Rev. Biophys.* **12**, pp. 181-209 (1979).

- H. J. Weinmann, R. C. Brasch, W. R. Press and G. E. Wesbey, Characteristics of gadolinium-DTPA complex: a potential NMR contrast agent, *AJR Am. J. Roentgenol.* 142, pp. 619-624 (1984).
- 18. Tweedle M.F., Brittain H.G. and Eckelman W.C., *Magnetic Resonance Imaging* (2 Edn). Saunders W.B., Philadelphia (1987).
- M. F. Tweedle, G. T. Gaughan, J. Hagan, P. W. Wedeking, P. Sibley, L. J. Wilson and D. W. Lee, Considerations involving paramagnetic coordination compounds as useful NMR contrast agents, *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B* 15, pp. 31-36 (1988).
- 20. A. D. Watson, J. Alloy Comp. 207/208, (1994).
- 21. W. P. Cacheris, S. C. Quay and S. M. Rocklage, The relationship between thermodynamics and the toxicity of gadolinium complexes, *Magn Reson. Imaging* **8**, pp. 467-481 (1990).
- G. Vittadini, E. Felder, P. Tirone and V. Lorusso, B-19036, a potential new hepatobiliary contrast agent for MR proton imaging, *Invest Radiol.* 23, pp. 246-248 (1988).
- 23. Bianchi A., Calabi L., Corana F., Fontana S., Losi P., Maiocchi A., Paleari L. and Valtancoli B., Thermodynamic and structural properties of Gd(III)complexes with polyamino polycarboxylic ligands: basic compounds for the development of MRI contrast agents, *Coordination Chemistry Reviews* **204**, pp. 309-393 (2000).
- 24. Bonnemain, B., Bourrinet, Ph., Caillaud, E., Idee, J.-M., Pines, E., Petijean, A., and Verriere, F. White paper on the role of gadolinium chelates in the pathogenesis of nephrogenic systemic fibrosis. Potgieter, A. http://www.ajoveco.com.co/admin/upfiles/gadoliniumwhite%20paperversion2.pdf . 16-2-2007.
- Ref Type: Electronic Citation
 - D. L. Wright, J. H. Holloway and C. N. Reilley, Heats and entropies of formation of metal chelates of polyamine and polyaminocarboxylate ligands, *Anal. Chem.* 37, pp. 884-892 (1965).
 - 26. B. Yang, P. Yang and L. Song, The binding of gadolinium (III) to human serum albumin, *Kexue Tongboa* **29**, pp. 1502-1505 (1984).
 - 27. R. M. Smith and A. E. Martell, Critical stability constants. Plenum, New York (1974).
 - 28. M. F. Tweedle, J. J. Hagan, K. Kumar, S. Mantha and C. A. Chang, Reaction of gadolinium chelates with endogenously available ions, *Magn Reson. Imaging* **9**, pp. 409-415 (1991).
 - 29. P. L. Williams, G. L. Anderson, J. L. Johnstone, A. D. Nunn, M. F. Tweedle and P. Wedeking, Caenorhabditis elegans as an alternative animal species, *J. Toxicol. Environ. Health A* **61**, pp. 641-647 (2000).
 - 30. A. C. P. H. den Ouden, Aquatisch ecotoxicologisch onderzoek van zeldzame aardmetalen, *B. Sc. thesis, Higher Laboratory Education (HLO), Netherlands Organization for Applied Scientific Research - Environmental Science (TNO-MW), Delft, The Netherlands* (1995).

- 31. Y. Wang, M. Zhang and X. Wang, Population growth responses of Tetrahymena shanghaiensis in exposure to rare earth elements, *Biol. Trace Elem. Res.* **75**, pp. 265-275 (2000).
- 32. L. Weltje and J. J. M. de Goeij, Toxicity studies with lanthanides and *Vibrio fischeri*importance of the free ion and QSAR development, *Abstracts of the 13th Annual Meetings of SETAC-Europe* p. 107 (2003).
- 33. C. H. Evans, *Biochemistry of the lanthanides*. Plenum Press, New York (1990).
- 34. M. Tlalka and H. Gabrys, Influence of calcium on blue-light-induced chloroplast movement in Lemna trisulca, *L. Planta* **189**, pp. 491-498 (1993).
- 35. S. Kulaksiz and Bau M., Contrasting behaviour of anthropogenic gadolinium and natural rare earth elements in estuaries and the gadolinium input into the North Sea, *Earth and Planetary Science Letters* **260**, pp. 361-371 (2007).
- 36. C. Zwiener, Das Verhalten von Gadolinium-Spezies in der Trinkwasseraufbereitung, *GIT Labor-Fachzeitschrift* **10**, p. 816 (2007).
- 37. V. Sykora, P. Pitter, I. Bittnerova and T. Lederer, Biodegradability of ethylenediaminebased complexing agents, *Water Res.* **35**, pp. 2010-2016 (2001).
- 38. G. R. Choppin, Speciation of trivalent f elements in natural waters, *Journal of the Less-Common Metals* **126**, pp. 307-313 (1986).
- 39. R. A. Torres and G. R. Choppin, Europium (III) and americanum (III) stability constants with humic acid, *Radiochim. Acta* **35**, pp. 143-148 (1994).
- 40. B. Duprè, J. Viers, J. L. Dandurand, M. Polve, P. Benezeth, P. Vervier and J. J. Braun, Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: ultrafiltration of natural and spiked solutions, *Chem. Geol.* **160**, pp. 63-80 (1999).
- 41. J. F. McCarthy, W. E. Sanford and P. L. Stafford, Lanthanide field tracers demonstrate enhanced transport of transuranic radionuclides by natural organic matter, *Environ. Sci. Technol.* **32**, pp. 3901-3906 (1998).
- 42. Sun H., Wang X. and Wang L., Bioconcentration of Rare Earth Elements Lanthanum, Gadolinium and Yttrium in Algae (*Chlorella Vulgarize Beijerinck*): Influence of chemical species, *Chemosphere* **34**, pp. 1753-1760 (1997).
- 43. Yang X., Yin D., Sun H., Wang X., Dai L., Chen Y. and Cao M., Distribution and bioavailability of Rare Earth Elements in aquatic microcosm, *Chemosphere* **39**, pp. 2443-2450 (1999).
- 44. T. Qiang, X. Wang and L. Tian, Bioaccumulation of the rare earth elements Lanthanum, Gadolinium and Yttrium in carp (Cyprinus carpio), *Environmental Pollution* **85**, pp. 345-350 (1994).
- 45. L. Weltje, A. H. Brouwer, T. G. Verburg, H. T. Wolterbeek and J. J. M. de Goeij, Accumulation and elimination of Lanthanum by duckweed (*Lemna minor* L.) as influenced by organism growth and Lanthanum sorption to glass, *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**, pp. 1483-1489 (2002).
- A. E. Martell and R. M. Smith, Critically selected stability constants of metal complexes database, *National Institute of Standards and Technology (NIST)* Version 4.0-6.0, (2001).

- 47. G. D. Klungness and R. H. Byrne, Comparative hydrolysis behavior of the rare earth and yttrium: the influence of temperature and ionic strength, *Polyhedron* **19**, pp. 99-107 (2000).
- 48. J. H. Lee and R. H. Byrne, Examination of comparative rare earth element complexation behavior using linear free-energy relationships, *Geochim. Cosmochim. Acta* **56**, pp. 1127-1137 (1992).
- 49. J. H. Lee and R. H. Byrne, Complexation of trivalent rare-earth elements (Ce, Eu, Gd, Tb, Yb) by carbonate ions, *Geochim. Cosmochim. Acta* **57**, pp. 295-302 (1993).
- 50. J. R. S. E. L. Haas and D. C. Sassani, Rare earth elements in hydrothermal systems: Estimates of standard partial molal thermodynamic properties of aqueous complexes of the rare earth elements at high pressures and temperatures, *Geochim. Cosmochim. Acta* **59**, pp. 4329-4350 (1995).
- 51. X. W. Liu and R. H. Byrne, Rare earth and ytrrium phophate solubilities in aqueous solution, *Geochim. Cosmochim. Acta* **91**, pp. 1625-1633 (1997).
- 52. F. J. Millero, Stability constants for the formation of rare earth inorganic complexes as a function of ionic strength, *Geochim. Cosmochim. Acta* **56**, pp. 3123-3132 (1992).
- 53. J. Schijf and R. H. Byrne, Determination of stability constants for the mono- and difluoro-complexes of Y and the REE, using a cation-exchange resin and ICP-MS, *Polyhedron* **18**, pp. 2839-2844 (1999).
- 54. C. Bonal, J. P. Morel and N. Morel-Desrosiers, Interactions between lanthanide cations and nitrate anions in water. Part 2. Microcalorimetric determination of the Gibbs energies, enthalpies and entropies of complexation of Y³⁺and trivalent lanthanide cations, *J. Chem. Soc. , Faraday Trans.* **94**, pp. 1431-1436 (1998).
- 55. H. Itoh, M. Fujisawa, Y. Ikegami and Y. Suzuki, Stability constants of rare earth citrate complex species, *Lanthanide Actinide Res.* **1**, pp. 79-88 (1985).
- I. I. R. K. V. Diakonov and B. R. Tagirov, Standard thermodynamic properties and heat capacity equations of rare earth hydroxides: II. Ce(III)-, Pr-, Sm-, Eu(III)-, Gd-, Tb-, Dy-, Ho-, Er-, Tm-, Yb-, and Y-hydroxides. Comparison of thermochemical and solubility data, *Chem. Geol.* **151**, pp. 327-347 (1998).
- 57. P. Möller, T. Paces, P. Dulski and G. Morteani, Anthropogenic Gd in surface water, drainage system, and the water supply of the city of Prague, Czech Republic, *Environ. Sci. Technol.* **36**, pp. 2387-2394 (2002).
- 58. Möller P., Dulski P., Bau M., Knappe A., Pekdeger A. and Sommer-von Jarmerstedt C., Anthropogenic gadolinium as a conservative tracer in hydrology, *Journal of Geochemical Exploration* **69-70**, pp. 409-414 (2000).
- 59. Möller P., G. Morteani and Dulski P., Anomalous Gadolinium, Cerium and Yttrium contents in the Adige and Isarco River Waters and in the water of their tributaries (provinces Trento and Bolzano/Bozen, NE Italy), *Acta hydrochim. hydrobiol.* **31**, pp. 225-239 (2003).
- Knappe A., Möller P., Dulski P. and Pekdeger A., Positive gadolinium anomaly in surface water and ground water of the urban area Berlin, Germany, *Chemie der Erde* 65, pp. 167-189 (2005).

- 61. Knappe A., Sommer-von Jarmerstedt C., Pekdeger A., Bau M. and Dulski P., Gadolinium in aquatic systems as indicator for sewage water contamination. In *Geochemistry of the earth's surface* (Edited by Armannson), Rotterdam (1999).
- 62. OECD Guidelines for testing of chemicals:201: Algae, growth inhibition test, OECD (1993).
- 63. OECD guidelines for testing of chemicals: 202, Daphnia sp. Acute immobilization test and reproduction test, Part I and II, OECD (1993).
- 64. Environmental Assessment Technical Assisstance Handbook: Technical Assisstance Document 4.08:Daphnia Acute Toxicity, *Food and Drug Administration* (1987).
- 65. OECD guidelines for testing of chemicals: 203: Fish, acute toxicity test, OECD (1993).
- 66. Environmental Assessment Technical Assisstance Handbook: Technical Assisstance Document 4.11: Freshwater Fish Acute Toxicity, *Food and Drug Administration* (1987).
- 67. OECD Guidelines for testing chemicals: 211: Daphnia magna Reproduction Test, OECD (1998).
- 68. OECD Guidelines for testing of chemicals: 305: Bioconcentration: Flow-through fish test, OECD (1996).
- DIN 38412 L8: Deutsches Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L), Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Bakterien (Pseudomonas-Zellvermehrungs-Hemmtest) L8, Beuth, Berlin, *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.* 259, p. -520 (1988).
- 70. OECD Guideline for the testing of chemicals: Aerobic an anaerobic transformation in aquatic sediment systems, OECD (2002).
- P. L. Williams, G. L. Anderson, J. L. Johnstone, A. D. Nunn, M. F. Tweedle and P. Wedeking, Caenorhabditis elegans as an alternative animal species, *J. Toxicol. Environ. Health A* 61, pp. 641-647 (2000).
- 72. K. Fent, Ökotoxikologie. Stuttgart (1998).
- 73. E. Nieboer and D. H. S. Richardson, The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions, *Environ. Pollut. (Ser. B)* **1**, pp. 3-26 (1980).
- 74. R. Roer and R. Dillaman, The structure and calcification of the crustacean cuticle, *Amer. Zool.* **24**, pp. 893-909 (1984).
- B. T. A. Muyssen, K. A. C. De Schamphelaere and C. R. Janssen, Understanding Zn toxicity and recovery in Daphnia magna: from Ca balance to survival, SETAC Europe 17th Annual Meeting 20-24 May 2007, PORTO (Poster), (2007).
- 76. European Medicines Agency (EMEA), Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use, *Committee for medicinal products for human use (CHMP)* (2006).