

# Inhaltsverzeichnis

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 1       | <b>Einleitung</b>   | 1  |
| 2       | <b>Literaturübersicht</b>   | 2  |
| 2.1     | Endokrine Disruptoren   | 2  |
| 2.2     | Östrogene und östrogen wirksame Substanzen  | 2  |
| 2.2.1   | Xenoöstrogene   | 2  |
| 2.2.2   | Phytoöstrogene  | 3  |
| 2.2.3   | Synthetische Östrogene  | 4  |
| 2.2.4   | Natürliche Östrogene  | 6  |
| 2.3     | Gefährdung von Lebewesen durch Östrogene und<br>östrogen wirksame Substanzen            | 9  |
| 2.4     | Testung der biologischen Wirksamkeit  | 12 |
| 2.5     | Identifizierung und Quantifizierung von Östrogenen und<br>östrogen wirksamen Substanzen | 13 |
| 2.6     | Eintrag von Östrogenen in die aquatische Umwelt   | 14 |
| 2.7     | Vorkommen von Östrogenen in der aquatischen Umwelt                                      | 16 |
| 2.7.1   | Abwasser  | 16 |
| 2.7.2   | Oberflächenwasser   | 17 |
| 2.7.3   | Grundwasser und Trinkwasser   | 18 |
| 2.8     | Eliminierung von Östrogenen in der aquatischen Umwelt                                   | 19 |
| 2.8.1   | Biodegradation im Abwasser  | 19 |
| 2.8.2   | Biodegradation im Oberflächenwasser   | 21 |
| 2.9     | Methoden zur Testung der biologischen Abbaubarkeit<br>von Substanzen                    | 22 |
| 2.10    | Methoden zur Untersuchung der biologischen Abbaubarkeit<br>von Östrogenen               | 25 |
| 3       | <b>Material und Methoden</b>  | 28 |
| 3.1     | Beschreibung der Versuche   | 28 |
| 3.1.1   | Vorversuche   | 28 |
| 3.1.2   | Hauptversuche   | 29 |
| 3.1.2.1 | Östronkonzentration im Flusswasser (Versuchsserie 1)                                    | 29 |
| 3.1.2.2 | Östronkonzentration im Wasser mit einem<br>Belebtschlamminokulum (Versuchsserie 2)      | 30 |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 3.1.2.3  | Östronkonzentration im Wasser mit inokulierten Bakterien<br>(Versuchsserie 3)                     | 30        |
| 3.1.2.4  | 17β-Östradiolkonzentration im Flusswasser (Versuchsserie 4)                                       | 31        |
| 3.1.3    | Ergänzungsversuche  | 31        |
| 3.1.4    | Herstellung der Östrogenstammlösungen und des Assaypuffers  | 32        |
| 3.1.5    | Isolierung von Bakterien aus dem Flusswasser  | 33        |
| 3.2      | Beschreibung des Enzymimmunoassays zur Östrogenbestimmung   | 33        |
| 3.2.1    | Testkit   | 33        |
| 3.2.2    | Beschichtung der Mikrotiterplatten  | 34        |
| 3.2.3    | Belegung der Mikrotiterplatten  | 35        |
| 3.2.4    | Inkubation, Detektion und Messung   | 36        |
| 3.2.5    | Herstellung der Arbeitsverdünnungen und Stammlösungen   | 37        |
| 3.3      | Versuchsbegleitende Untersuchungen  | 39        |
| 3.3.1    | Zählung der koloniebildenden Einheiten  | 39        |
| 3.3.2    | Chemische Wasseruntersuchung  | 39        |
| 3.4      | Auswertung und Darstellung der Ergebnisse   | 40        |
| <b>4</b> | <b>Ergebnisse</b>   | <b>41</b> |
| 4.1      | Vorversuche   | 41        |
| 4.1.1    | Prüfung des Versuchsmodells   | 41        |
| 4.1.2    | Schlussfolgerungen für die Versuchsdurchführung   | 45        |
| 4.2      | Hauptversuche   | 46        |
| 4.2.1    | Verlauf der Östronkonzentration im Flusswasser (Versuchsserie 1)                                  | 46        |
| 4.2.1.1  | Verlauf der Östronkonzentration im nicht sterilisierten Flusswasser                               | 46        |
| 4.2.1.2  | Verlauf der Östronkonzentration im sterilisierten Flusswasser                                     | 49        |
| 4.2.1.3  | Wertung der Ergebnisse von Versuchsserie 1  | 52        |
| 4.2.2    | Einfluss von Belebtschlamm auf den Verlauf der<br>Östronkonzentration im Wasser (Versuchsserie 2) | 52        |
| 4.2.2.1  | Verlauf der Östronkonzentration im Aqua bidest.<br>mit einem Belebtschlamminokulum                | 52        |
| 4.2.2.2  | Verlauf der Östronkonzentration im Flusswasser<br>mit einem Belebtschlamminokulum                 | 53        |
| 4.2.2.3  | Verlauf der Östronkonzentration im Flusswasser<br>ohne Belebtschlamminokulum                      | 55        |
| 4.2.2.4  | Verlauf der Östronkonzentration im Aqua bidest.<br>mit einem sterilisierten Belebtschlamminokulum | 56        |

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| 4.2.2.5   | Wertung der Ergebnisse von Versuchsserie 2   | 56 |
| 4.2.3     | Verlauf der Östronkonzentration im Wasser mit einer Bakteriensuspension (Versuchsserie 3a, b, c)                 | 57 |
| 4.2.3.1   | Einfluss von <i>Escherichia coli</i> auf den Verlauf der Östronkonzentration im Wasser (Versuchsserie 3a)        | 57 |
| 4.2.3.1.1 | Verlauf der Östronkonzentration im sterilisierten Flusswasser mit <i>Escherichia coli</i>                        | 57 |
| 4.2.3.1.2 | Verlauf der Östronkonzentration in Natriumchlorid-Lösung mit <i>Escherichia coli</i>                             | 58 |
| 4.2.3.2   | Einfluss von <i>Pseudomonas fluorescens</i> auf den Verlauf der Östronkonzentration im Wasser (Versuchsserie 3b) | 59 |
| 4.2.3.2.1 | Verlauf der Östronkonzentration im sterilisierten Flusswasser mit <i>Pseudomonas fluorescens</i>                 | 59 |
| 4.2.3.2.2 | Verlauf der Östronkonzentration in Natriumchlorid-Lösung mit <i>Pseudomonas fluorescens</i>                      | 60 |
| 4.2.3.3   | Einfluss von <i>Aeromonas hydrophila</i> auf den Verlauf der Östronkonzentration im Wasser (Versuchsserie 3c)    | 61 |
| 4.2.3.3.1 | Verlauf der Östronkonzentration im sterilisierten Flusswasser mit <i>Aeromonas hydrophila</i>                    | 61 |
| 4.2.3.3.2 | Verlauf der Östronkonzentration in Natriumchlorid-Lösung mit <i>Aeromonas hydrophila</i>                         | 63 |
| 4.2.3.4   | Wertung der Ergebnisse von den Versuchsserien 3a, b, c   | 64 |
| 4.2.4     | Verlauf der 17 $\beta$ -Östradiolkonzentration im Flusswasser (Versuchsserie 4)                                  | 64 |
| 4.2.4.1   | Verlauf der 17 $\beta$ -Östradiolkonzentration im nicht sterilisierten Flusswasser                               | 64 |
| 4.2.4.2   | Verlauf der 17 $\beta$ -Östradiolkonzentration im sterilisierten Flusswasser                                     | 65 |
| 4.2.4.3   | Wertung der Ergebnisse von Versuchsserie 4   | 66 |
| 4.3       | Ergänzungsversuche   | 67 |
| 4.3.1     | Reduktion der Varianzen  | 67 |
| 4.3.1.1   | Belegung der Mikrotiterplatten   | 67 |
| 4.3.1.2   | Kalibration durch das Auswertprogramm EIA-Star   | 67 |
| 4.3.1.3   | Kalibration durch eine logistische Funktion  | 69 |
| 4.3.2     | Anpassung einer Funktion an die Daten  | 71 |
| 4.3.2.1   | Anpassung einer exponentiellen Funktion an die Daten   | 71 |

|         |  |     |
|---------|--|-----|
| 4.3.2.2 | Anpassung einer doppelt exponentiellen Funktion an die Daten | 72  |
| 4.3.2.3 | Anpassung einer logistischen Funktion an die Daten           | 74  |
| 4.3.3   | Wertung der Ergebnisse des Ergänzungsversuchs                | 75  |
| 5       | <b>Diskussion</b>  | 76  |
| 5.1     | Methodische Vorbereitungen                                   | 76  |
| 5.2     | Östrogenabbau im Flusswasser                                 | 77  |
| 5.3     | Optimierung der Mess- und Auswertmethode                     | 80  |
| 5.4     | Bedeutung der Östrogene für die Umwelt                       | 82  |
| 5.5     | Schlussfolgerungen   | 84  |
| 6       | <b>Zusammenfassung</b>                                       | 85  |
| 7       | <b>Summary</b>   | 87  |
| 8       | <b>Literaturverzeichnis</b>                                  | 89  |
| 9       | <b>Anhang</b>  | 109 |
| 9.1     | Zählung der koloniebildenden Einheiten                       | 109 |
| 9.2     | Konzentrationsmessung von Östron und 17 $\beta$ -Östradiol   | 113 |

## **Danksagung**