

Toxizitätsmessungen von Medikamenten mit *Vibrio fischeri*

Einfluss der rezeptfreien Schmerzmittel auf
die Lumineszenz von *V. fischeri* und LD₅₀-Vergleich



Folgende Maturaarbeit [2012] wurde von David Stadler an der Kantonsschule Sursee betreut und für den Nationalen Wettbewerb 2013 von Schweizer Jugend forscht durch die Unterstützung von James A. Edwards überarbeitet

Autorin:
Céline Ghidoni
Untertannberg 27
6214 Schenkon
celine2e@gmail.com

Abstract

In der folgenden Arbeit wurden rezeptfreie Schmerzmittel und deren Wirkstoffe auf ihre Toxizität mittels *Vibrio fischeri* untersucht.

Anhand von Versuchen soll geklärt werden, welchen toxischen Einfluss Schmerzmittel auf *Vibrio fischeri* hat. Die Vermutung, dass sich die Leuchtkraft des Bakteriums reduzieren würde, je grösser die Konzentration des Wirkstoffes oder der Schmerzmittel wäre, sollte bewiesen werden. Um dies zu überprüfen wurden verschiedene Konzentrationen der Wirkstoffe und Medikamente *V. fischeri* verabreicht.

Dazu wurden zuerst die sechs Wirkstoffe in ihrer Reinsubstanz (Wirkstoff / handelsübliches Medikament: Paracetamol / Panadol[®], Ibuprofen / Algifor[®], Acetylsalicylsäure / Aspirin[®], Diclofenac / Olfen 50[®], Ascorbinsäure und Coffein in Kombinationen z.B. Panadol C[®], Panadol Extra[®]) in einer 2%igen-Kochsalzlösung, die den optimalen Lebensraum herstellen sollte, aufgelöst in Kulturen mit *Vibrio fischeri* gegeben.

Zudem wurden auch die Medikamente in ihrer Tablettenform ebenfalls mit NaCl und in der gleichen Konzentration (10 mg/ml) dem Leuchtbakterium *Vibrio fischeri* verabreicht.

Die Vermutungen haben sich schon nach wenigen Versuchen bestätigt: Ein toxischer Effekt anhand der Leuchtkraft des Bakteriums ist festzustellen.

Anschliessend sollte analysiert werden, wie gut sich das Testsystem *Vibrio fischeri* zur Untersuchung toxischer Stoffe eignet und inwiefern es Tierversuche ersetzen könnte. Der Vergleich der Wirkstoffkonzentration, welche zu einer Halbierung der Leuchtkraft führt und aus der Literatur entnommenen LD₅₀-Wert für Ratten ergab eine Korrelation (R^2) von 0.87.

V. fischeri kann eine erste Aussage über die Toxizität eines Stoffes geben, doch um dieses potenzielle Testsystem als ein Modell für eine beschränkte Wirkstoffgruppe im Alltag zu benutzen, braucht es mehr Forschung.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung.....	1
1.1	Schmerzen und Schmerzmittel.....	1
1.2	Das Leuchtbakterium <i>Vibrio fischeri</i>	1
1.3	Relative Light Units.....	2
1.4	Letale Dosis (50).....	3
2	Material und Methode.....	5
2.1	Benötigte Materialien.....	5
2.1.1	Reagenzien.....	5
2.1.2	Materialien.....	5
2.1.3	Geräte.....	5
2.2	Methode.....	6
2.2.1	Anfertigung der Stammlösungen.....	6
2.2.2	Leuchtbakterientest.....	8
2.2.3	Schematische Darstellung der Messungen.....	9
2.2.4	Berechnung der 50%-Leuchtkraft <i>V. fischeri</i>	10
3	Resultate.....	11
3.1	Leuchtkraftveränderungen.....	11
3.2	LD ₅₀ -Vergleich.....	14
4	Diskussion.....	15
4.1	Leuchtkraftabnahme.....	15
4.2	Folgeuntersuchungen.....	18
4.2.1	Erholungszeit der <i>V. fischeri</i>	18
4.2.2	Weitere Versuche mit grösseren Konzentrationen an Wirkstoff.....	18
5	Reflexion.....	19
6	Quellenverzeichnis.....	20
6.1	Onlinequellen.....	20
6.2	Bildquellen.....	21
7	Danksagung.....	22
8	Redlichkeitserklärung.....	42

1 Einführung

1.1 Schmerzen und Schmerzmittel

Wir leiden in unserem Leben oft an Schmerzen. Jeder kennt sie und weiss, dass sie lästig und unangenehm sind. Kaum setzen sie ein, kommt der Wunsch nach deren Linderung auf. Heutzutage gibt es zahlreiche Medikamente, die den Schmerz unterdrücken, ohne das Bewusstsein zu trüben oder die Funktionstüchtigkeit einzuschränken. Dies kann durch zwei verschiedene Methoden geschehen: Entweder wird die Schmerzweiterleitung gehemmt oder die Wahrnehmung des Schmerzes im Gehirn wird verändert. [1] [2] Schmerzen jedoch sind kein gutes Zeichen. Sie deuten darauf hin, dass an der Stelle, an der sie auftreten, etwas nicht (mehr) in Ordnung ist. Schmerzmittel bekämpfen eher die Symptome, statt die Ursachen. Rezeptfreie Schmerzmittel werden in der heutigen Gesellschaft gar nicht mehr richtig als Medikament angeschaut und werden jahrelang bedenkenlos geschluckt. Die zu wenig bedachten Nebenwirkungen werden nicht zur Kenntnis genommen oder sind teils gar nicht bekannt.

In dieser Arbeit werden folgende rezeptfreie Medikamente und ihren Wirkstoff in ihrer Reinform untersucht: (Medikament/Wirkstoff) Aspirin[®]/Acetylsalicylsäure, Dafalgan[®]/Paracetamol, Panadol S[®]/Paracetamol, Panadol C[®]/Paracetamol mit Ascorbinsäure, Panadol Extra[®]/Paracetamol mit Coffein und Algifor forte[®]/Ibuprofen und der Wirkstoff Diclofenac. (Ausführungen befinden sich im Anhang, S. 22 ff.)

Die Hypothese vor den Versuchen war, dass je stärker die Konzentration des Wirkstoffs bzw. des Schmerzmittels ist, desto schwächer leuchtet *Vibrio fischeri* (Leuchtkraftabnahme).

Es wird zwischen Schmerzmittel und Wirkstoff unterschieden. Unter Schmerzmittel wird das Medikament verstanden, wie sie in der Apotheke anzutreffen sind, z.B. Dafalgan[®]; der Wirkstoff ist die pharmakologische Substanz, die sich im Schmerzmittel befindet, bspw. ist es Paracetamol in Dafalgan[®]. Da Schmerzmittel oft mit Coffein oder Ascorbinsäure kombiniert werden, werden diese beiden Stoffe zu den „Wirkstoffen“ gezählt.

Die toxische Wirkung ist die hervorgerufene Leuchtkraftveränderung im Leuchtbakterium durch Zugabe eines Wirkstoffs oder Schmerzmittel. Dies geschieht vermutlich durch die Hemmung des Luciferin-Luciferase-Systems (siehe S. 3, oben).

1.2 Das Leuchtbakterium *Vibrio fischeri*

Vibrio fischeri ist ein gramnegatives¹, marines Leuchtbakterium. [3] Entdeckt wurde es 1889 von Martinus Willem Beijerinck, erstmals 1888 von Johann Friedrich Bernhard Fischer erwähnt. Es hat Flagellen, mit denen es sich fortbewegen kann und lebt von sich aus anaerob. Zudem ist es biolumineszent und lebt in häufiger Symbiose mit anderen Lebewesen, wie Herzingen und Kalmaren, zusammen. [4]

Biolumineszenz ist die Fähigkeit von selbst oder mithilfe von Symbionten zu leuchten. Das Licht wird dabei in speziellen Leuchtorganen unter chemischen Prozessen erzeugt, bei Bakterien im Zytoplasma. [5] Zur Erzeugung von Licht wird Luciferin, ein Biomolekül, genützt, welches vom Organismus selbst gebildet wird. Mit dem Enzym Luciferase, welches katalysierend wirkt, und Sauerstoff wird das Luciferin in einen energiereichen Zustand versetzt – Dioxetane entstehen. Dabei zerfallen diese unter Kohlenstoffdioxidabgabe und die gespeicherte Energie wird in Form von Licht abgegeben. [6]

¹Gramnegativ bedeutet, dass das Bakterium nur eine dünne und einschichtige Mureinhülle besitzt, die ungefähr 10 % der Bakterienhülle ausmacht und weist keine Teichonsäuren auf. Alkohol wirkt lipidlösend, so werden Farbkomplexe vom Ethanol ausgewaschen und das Bakterium wird „entfärbt“ (Gramfärbung) [3.1]

Das Testobjekt *V. fischeri* ist schnell und einfach zu kultivieren und robust, weshalb es sich gut eignet toxische Stoffe zu untersuchen. Anhand dieser Eigenschaften ist ein Schnelltest möglich, ohne Tieren in Versuchen zu schaden. Das biologische Optimum der Bakterien im Labor liegt bei einer zwei prozentigen Kochsalzlösung.

V. fischeri reagiert also rapide auf Veränderungen in seiner Atmungskette, indem seine Leuchtkraft abnimmt. Das Leuchten entsteht aufgrund enzymatischer, stoffwechselbedingter Prozesse und wird durch Schadstoffe gehemmt.

Die Bakterien sind heute teilweise für die Untersuchung der Wasserqualität in Anwendung, unter anderem wird auf die Sauberkeit des Wassers geprüft. Die Wasserproben werden mit NaCl angereichert, dann mit einer kleinen Konzentration der Leuchtbakterien beimpft und deren Lichtintensität mit einem Luminometer (mehr dazu unter 2.2.2) gemessen. Die Messung wird nach 30 Minuten wiederholt, um die Leuchtdifferenz festzustellen, da *V. fischeri* ihre Leuchtstärke und Vermehrungsrate der Wasserqualität anpassen. [7]

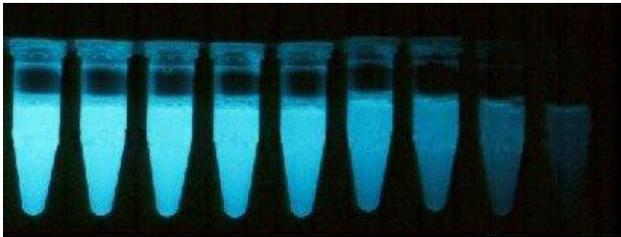


Abb. 1 Leuchtabnahme der Wasserproben mit *V. fischeri* angereichert, von links nach rechts eine Konzentrationszunahme eines Schadstoffs [A]

Eine gleichmässige Lumineszenz verweist auf einen ungestörten Stoffwechsel, bei Beeinträchtigung wird die Lichtemission verringert.



Abb. 2: *V. fischeri*-Kultur auf einer Petrischale [B]

1.3 Relative Light Units

Das Leuchten des Bakteriums wird mit der fiktiven Grösse RLU (Relative Light Units/Relative Leuchteinheiten) gemessen. Bei der Zugabe von verschiedenen Konzentrationen der Wirkstoffe /Medikamente verändert sich die Leuchtstärke, wodurch auf ihre Toxizität geschlossen werden kann. [8]

Es gilt, je höher die Leuchtkraftdifferenz, desto grösser ist die Hemmung des natürlichen Leuchtens (Lichtemission) von *V. fischeri*, was für einige Bakterien tödlich enden kann. Es wird daher vermutet, dass die Leuchtkraft der Leuchtbakterien mit zunehmender Konzentration des Wirkstoffe (in ihrer Reinform) und des Schmerzmittels abnimmt.

Die angewandte Technologie misst die ATP-Biolumineszenz mithilfe einer Enzymreaktion. Adenosinriphosphat (ATP) ist eine Verbindung, die sofort verfügbare Energie in jeder lebenden Zelle entstehen lässt.

Energie entsteht bei der Trennung ATP zu ADP und Phosphat, welches wieder von der Zelle genutzt wird. Nun kann durch das Luciferin-Luciferase-System ATP festgestellt werden. Luciferin wird mit Luciferase unter ATP-Verbrauch zu AMP, Oxyluciferin und Kohlenstoffdioxid abgebaut. [9]

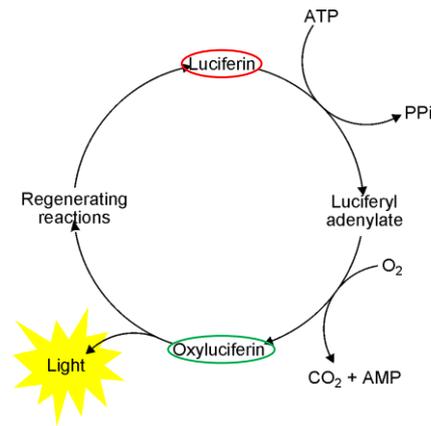


Abb. 3: Luciferin-Luciferase-System und der Lichterzeugung

Die freigesetzte Energie, also das entstehende, sichtbare Licht, verhält sich proportional zur extrahierten ATP-Menge. [9] Ein hoher Wert bedeutet eine hohe Anzahl Leuchtkraft der vorhandenen Leuchtakterien, ein tiefer, eine geringe Anzahl, welche der Luminometer ermittelt. [10]

1.4 Letale Dosis (50)

LD steht für Letale Dosis und ist in mg pro kg Körpergewicht berechnet. Der LD₅₀ ist ein übliches Mass der Giftigkeit, welches besagt, bei welcher Dosis (pro kg) 50% der Ratten (oder Mäuse) der Population stirbt. Es ist also die Dosis eines Stoffes oder einer Strahlung, die für ein bestimmtes Lebewesen tödlich wirken kann. [11]

Um die Letale Dosis herauszufinden wird die Prüfsubstanz so hoch dosiert, dass die Hälfte der Tiere stirbt. Hauptsächlich werden Ratten und Mäuse für diesen Test verwendet. Es werden gleichzeitig vier bis fünf Dosierungen einer Substanz in einer Gruppe von zehn Tieren verabreicht. [12] Dieser Versuch wird solange durchgeführt bis 50 % der Versuchstiere sterben wodurch die LD₅₀ herausgefunden wird. Deshalb leiden und sterben pro Test über 40 Tiere. [13] Die Pharmakologie ist stets auf der Suche nach Möglichkeiten eines Stoffes auf seine Giftigkeit zu testen, ohne Tiere zu quälen oder umzubringen.

In dieser Arbeit wird der Frage nachgegangen, ob neue Medikamente auf ihre Schädlichkeit mit *V. fischeri* getestet werden können und sich zu einer Alternative entwickelt. Gewiss reagiert ein Tier oder Bakterium nicht wie ein Mensch. [14] Doch es wäre möglich, dass *V. fischeri* 50%-Leuchtkraft mit dem LD₅₀ der Ratten in Verbindung gebracht werden kann. Da Medikamente auch in Verbindung mit Coffein und Ascorbinsäure (Vitamin C) zur Untersuchung ausgewählt werden, werden die beiden Reinstoffe ebenfalls analysiert. Eine Beeinflussung von ihrer Seite wird demzufolge erwartet.

Die Toxizität der Wirkstoffe und der zugehörigen Schmerzmittel wird mithilfe vom Leuchtbakterium *V. fischeri* mit aufeinanderfolgenden Tests ermittelt. Verschiedene Konzentrationen an toxische Substanzen werden dem Leuchtbakterium verabreicht und die Leuchtkraft in RLU gemessen. Durch die Leuchtdifferenz kann die Toxizität herausgefunden werden. Es wird eine Verknüpfung vom LD₅₀ bekannt aus der Literatur und dem LD₅₀ vom Bakterium vermutet, was eine Alternative zu den bestehenden Tierversuchen werden könnte.

Der LD_{50} gibt keine Information über die Dosis-Wirkungs-Kurve. Es können also zwei ganz unterschiedliche Kurven zu einem Zeitpunkt denselben LD_{50} -Wert besitzen (Abb. 4). Dies gerät leider in der Praxis zu oft in Vergessenheit, da allein die Werte zur Chemikalienbeurteilung beachtet werden.

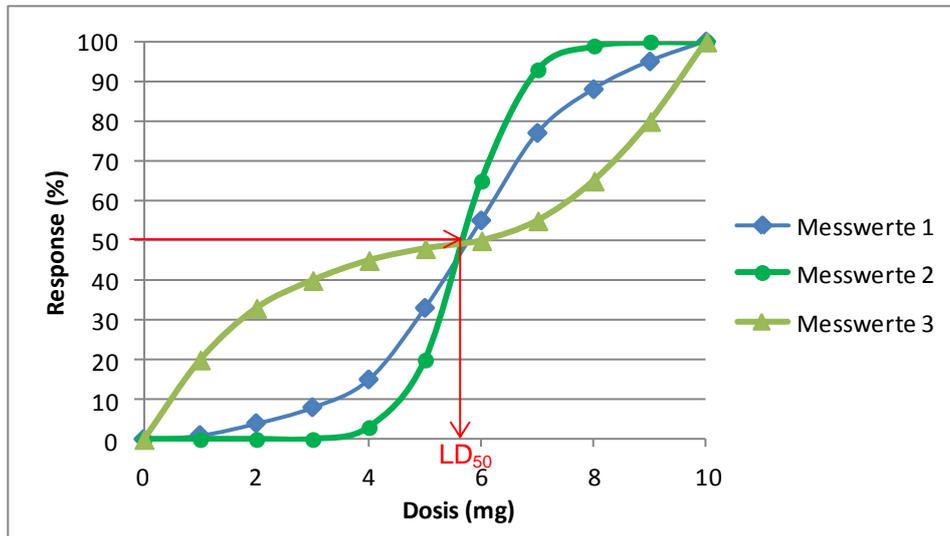


Abb. 4: LD_{50} wird herausgelesen, drei Kurven mit demselben LD_{50}

2 Material und Methode

2.1 Benötigte Materialien

2.1.1 Reagenzien

- 2% NaCl-Lösung: 4 g NaCl und 200 ml dest. H₂O
- 4% NaOH-Lösung: 4 g NaOH auf 100 ml dest. H₂O
- Wirkstoffe (Reinsubstanzen, 10mg/ml):
 - 4-Acetylamino-phenol (Paracetamol)
 - Dichlorphenylaminophenyllessigsäure (Diclofenac)
 - Acetylsalicylsäure
 - 2-4-Isobutylphenylpropionsäure (Ibuprofen)
 - Ascorbinsäure (Vitamin C)
 - 1,3,7-Trimethylxanthin (Coffein)
- Medikamente (in Tablettenform):
 - Panadol S[®] (GlaxoSmithKline)
 - Panadol C[®] (Brausetabletten von GlaxoSmithKline)
 - Panadol Extra[®] (GlaxoSmithKline)
 - Aspirin[®] (Bayer AG)
 - Algifor-L[®] 400 forte (Vifor SA)
 - Dafalgan[®] 1g (Bristol-Myers Squibb SA)

Der Tabeletteninhalt und Wirkstoff eines Medikaments ist im Anhang aufgelistet.

2.1.2 Materialien

- Sterile Falcon-Röhrchen 50 ml und 15 ml
- *Vibrio fischeri* im Erlenmeyerkolben (Bakterien von Dr. Lange, siehe Anhang)
- Becherglas 250 ml
- Messzylinder 100 ml
- Pipette 10 ml
- pH-Indikatorenstäbchen

2.1.3 Geräte

- Mikroliterpipetten: 2-20µl/20-200µl/100-1000µl wurden verwendet
- Luminometer: Lumitester PD-10N von Kikkoman
- Magnetrührer (mit Magnetstäbchen)
- Analysewaage: Mettler AT 400
- pH-Messstäbchen
- Vortexmischer und Kühlschrank

2.2 Methode

2.2.1 Anfertigung der Stammlösungen

Ein paar Tage vor den Versuchstagen wurden die sechs Stammlösungen der Wirkstoffe (Acetylsalicylsäure, Paracetamol, Ibuprofen, Diclofenac, Coffein und Ascorbinsäure) hergestellt.

Es wurde eine 2% ige-NaCl-Lösung (200 ml) angefertigt, die bei den Tests zugeführt werden. So wird sichergestellt, dass eine Abnahme des Leuchtens wirklich an der Substanz liegt und nicht durch andere Faktoren entsteht.

Um die gewollte Konzentration von 10mg/ml des jeweiligen Wirkstoffs mit der 2%-Kochsalzlösung zu erreichen, wurde zuerst 500µg Wirkstoff genau auf einer Analysewaage abgemessen. Anschliessend wurde dieser mit 40 ml destilliertem Wasser gemischt und in die beschrifteten 50 ml Falcon-Röhrchen abgefüllt. Für die Einstellung des pH-Werts bleibt 10 ml noch Platz, da es anschliessend mit Natronlauge und destilliertem Wasser auf die 50ml aufgefüllt wird.

Der pH-Wert wurde mithilfe von pH-Indikatorenstäbchen gemessen und zwischen pH 6.5 und 7.5 standardisiert, da saure Lösungen auf das Leuchten von *V. fischeri* einwirken. Aufgefallen ist, dass die Acetylsalicylsäure-Lösung sehr sauer war und 1.8 ml NaOH zugegeben werden musste.

Darauf wurde jede Lösung in einem geeichten Messkolben mit dest. Wasser exakt auf 50 ml pipettiert.

Damit die Salzkonzentration das Leuchten der Bakterien nicht beeinflusst, wurden die Stammlösungen mit 1.0 g NaCl aufgesalzen. Die Aufsalzung ahmt den *V. fischeri*-Lebensraum nach. Weil Acetylsalicylsäure und Diclofenac sich schlecht in der Kochsalzlösung lösten, wurden diese gevortext. Die Diclofenac-Lösung reagierte unerwartet stark auf das zusätzliche Gramm Salz, es wurde trüb und begann zu schäumen. Dieses Verhalten lässt sich aufgrund der schlechten Löslichkeit des Diclofenac im Wasser (2.37 mg/l bei 25°C) erklären. Bei Diclofenac musste deshalb auf eine Aufsalzung verzichtet werden. Die fertigen Lösungen wurden in den Kühlschrank gestellt.



Abb. 5: Wirkstoffe in der 2%-NaCl-Lösung gelöst und aufgesalzen, in Falconröhrchen, Konzentration 10mg/ml

Dieser Vorgang wurde mit den Schmerzmitteln ähnlich wiederholt, damit die Wirkungsweisen miteinander verglichen werden können:

Je eine Tablette der folgenden Medikamente: Aspirin[®], Dafalgan[®], Algifor forte[®], Panadol S[®], Panadol C[®] und Panadol Extra[®], wurde mit dem Mörser zerrieben.

Es wurden ebenfalls Stammlösungen mit einer Konzentration von 10mg/ml hergestellt. Das Pulver des Schmerzmittels wurde mit einer 2% igen-Kochsalzlösung in ein steriles Falconröhrchen (50 ml) gemischt. Dabei wurde weder der pH-Wert verändert, noch zusätzliches Salz hinzugefügt.



Abb. 6: Eine Tablette Aspirin[®] wurde mit dem Mörser zerrieben, um mit NaCl eine Lösung herzustellen und den *V. fischeri* zu verabreichen.



Abb. 7: Schmerzmittelpackungen und die zugehörigen Stammlösungen

Hier sieht man die Vorbereitung von *V. fischeri* auf ihren Einsatz. 3 ml Bakterienlösung wurde mit 300 ml Medium gemischt und auf dem Magnetrührer langsam gerührt. („Anzüchten und Umzüchten“ - vergleiche Anhang)



Abb. 8: *Vibrio fischeri* auf dem Magnetrührer (300 rpm)

2.2.2 Leuchtbakterientest

Das Luminometer LUMITESTER PD-10N ist ein Gerät, welches zur Messung der Lichtintensität von *V. fischeri* dient. Damit der Luminometer die Leuchtstärke messen kann, muss die Küvette mit 1 ml Flüssigkeit gefüllt sein. Zur Messung werden die Bakterien mit einer 2% iger wässriger NaCl-Lösung 1:1 verdünnt.

Die Messung erfolgte bei Raumtemperatur (20°C). Die Reagenzien aus dem Kühlschrank mussten zuerst aufgewärmt werden, da die Temperatur das Leuchten beeinflusst.

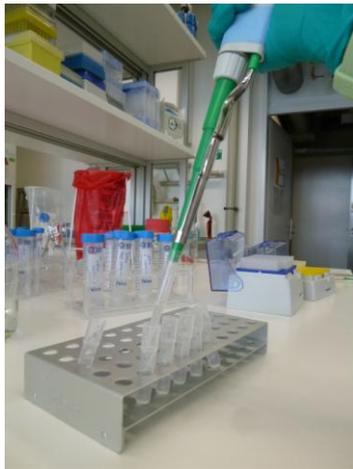


Abb. 9: Das Pipettieren der Kochsalzlösung, Wirkstoffkonzentration und kurz vor der Messung wurden die Leuchtbakterien *V. fischeri* hinzugegeben



Abb. 10: Küvette wird in den LUMITESTER PD-10N mit Applikator gesteckt

Als Erstes wurden die verschiedenen Wirkstoff-Konzentrationen in die 7 Küvetten mit der NaCl-Lösung pipettiert (Testsubstanzen mussten zusammen 500 µl ergeben) und nur kurz vor der Messung 500 µl *V. fischeri* hinzugegeben. Das ist eine Empfehlung des Herstellers (Dr. Lange, vgl. Anhang), denn die Werte verändern sich innerhalb von wenigen Minuten wesentlich stärker.

Pro Küvette wurden fünf Werte gemessen. Dabei wird die Küvette im Luminometer belassen, und nach Ende der vorherigen Messung, im Zeitraum von ungefähr 20 Sekunden, nochmal gemessen. Dank den fünf Messungen können statische Ausreisser ausgeschlossen werden.

Die Küvetten wurden nach ihrem Einsatz mit destilliertem Wasser gespült und nach dem Trocknen wiederverwendet. Der Inhalt wurde dabei in den Abguss geleert, da die Wirkstoffe nur in geringen Konzentrationen verwendet wurden. *V. fischeri* gilt laut Hersteller als „ungefährlich und als Bakterien ohne Risiko“.

Bei der Messung mit dem LUMITESTER PD-10N sind die Kommastellen zu beachten. Die Zahlen, die vom Display angezeigt werden, sind keine Kommastellen, sondern 1000er Stellen.

z.B. 20.934 = 20934

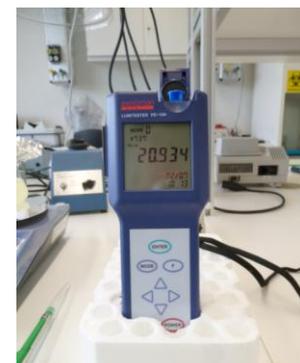


Abb. 11: LUMITESTER PD-10N mit einer Messzahl (RLU)

2.2.3 Schematische Darstellung der Messungen

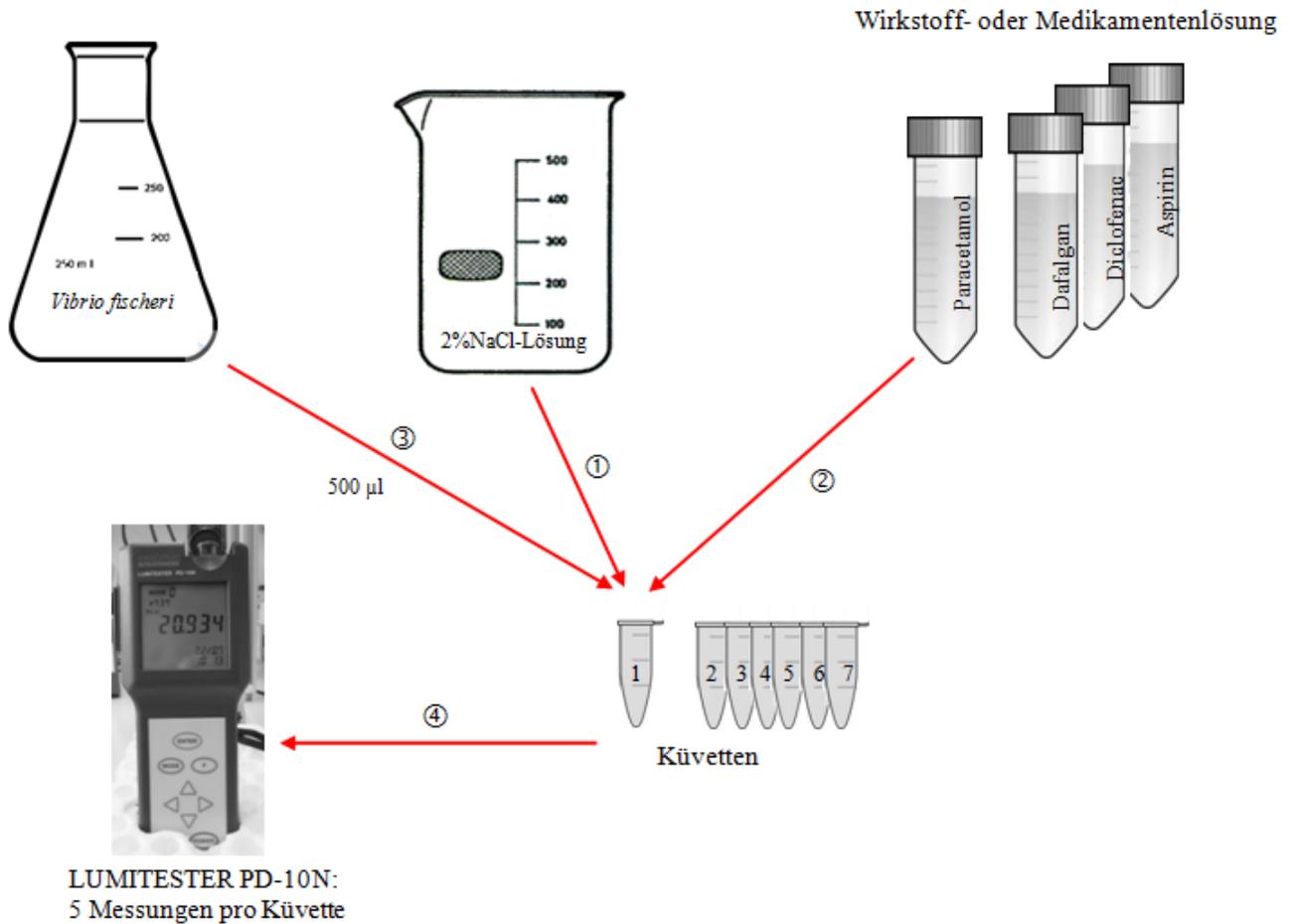


Abb. 12: Ablauf der Messung am Bsp. Paracetamol, die umkreisten Nummern symbolisieren die Reihenfolge

Tab. 1: Inhalt eines Eppendorfröhrchen einer Konzentrationsstufe in ml von *V. fischeri*, mit der 2%igen-NaCl-Lösung und der Wirkstofflösung; hier am Beispiel von Paracetamol

Eppendorfröhrchen	<i>V. fischeri</i> (ml)	2% NaCl-Lösung (ml)	Wirkstofflösung (ml)
1	0.5	0.5	0
2	0.5	0.49	0.01
3	0.5	0.48	0.02
4	0.5	0.45	0.05
5	0.5	0.4	0.1
6	0.5	0.3	0.2
7	0.5	0.1	0.4

Bildquellen: [G]-[K]

2.2.4 Berechnung der 50%-Leuchtkraft *V. fischeri*

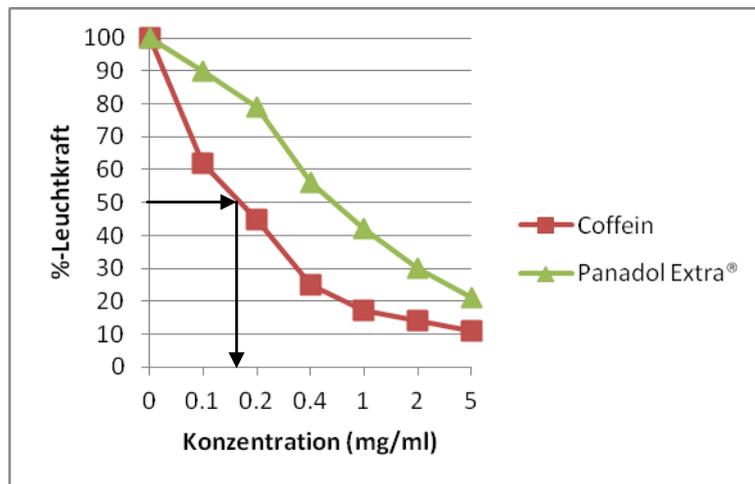


Abb. 13: Das Herauslesen der Konzentration, die die Leuchtkraft der *V. fischeri* um die Hälfte reduziert, am Beispiel Coffein.

Die Konzentration, die eine 50%-Leuchtkraft der *V. fischeri* verursacht, wurde direkt aus dem Diagramm herausgelesen und für den sogenannten LD₅₀-Vergleich (S.14) verwendet. Mit dieser Methode wird der genaue Wert festgehalten und nicht einen Mittelwert. Dabei sagt dieser wiederum nichts über den Kurvenvergleich aus. Es können also zwei ganz unterschiedliche Kurven denselben Wert besitzen.

3 Resultate

3.1 Leuchtkraftveränderungen

Die Leuchtkraft einer Konzentration wurde fünf Mal nacheinander vom Luminometer gemessen. Zwei davon wurden aufgrund ihrer Differenz (Ausreisser) mit den anderen Werten ausgeschlossen. Anschliessend wurde der Mittelwert errechnet.

Anhand der Nullprobe konnte die maximale Leuchtkraft pro Messung festgehalten werden. Die folgenden Werte wurden als prozentualer Anteil des Maximums errechnet, schliesslich handelt es sich um einen lebendigen Organismus, dessen Zustand sich stets verändern kann.

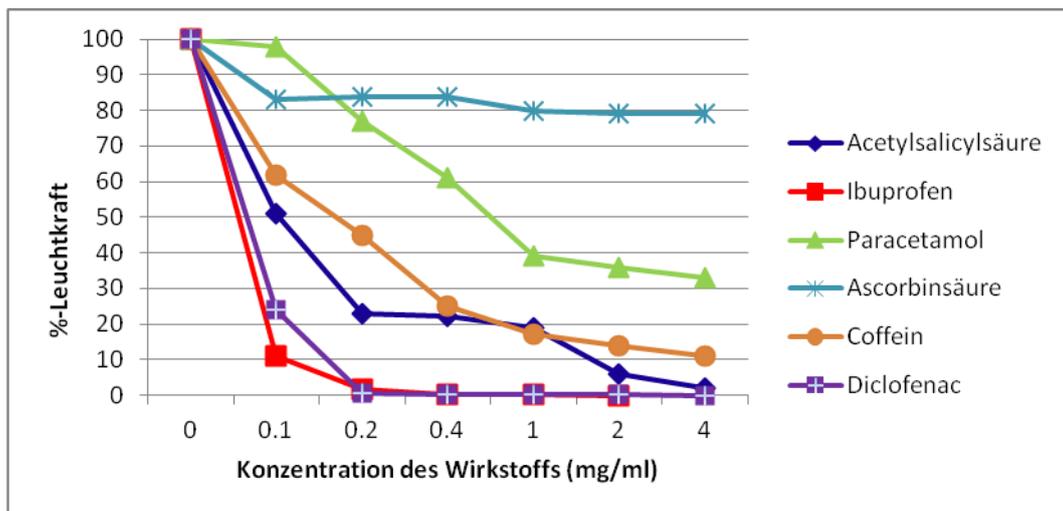


Abb. 14: Leuchtkraftänderung (in Prozent) der *V. fischeri* bei der Wirkstoffzugabe: Acetylsalicylsäure, Diclofenac, Ibuprofen, Ascorbinsäure, Coffein und Paracetamol.

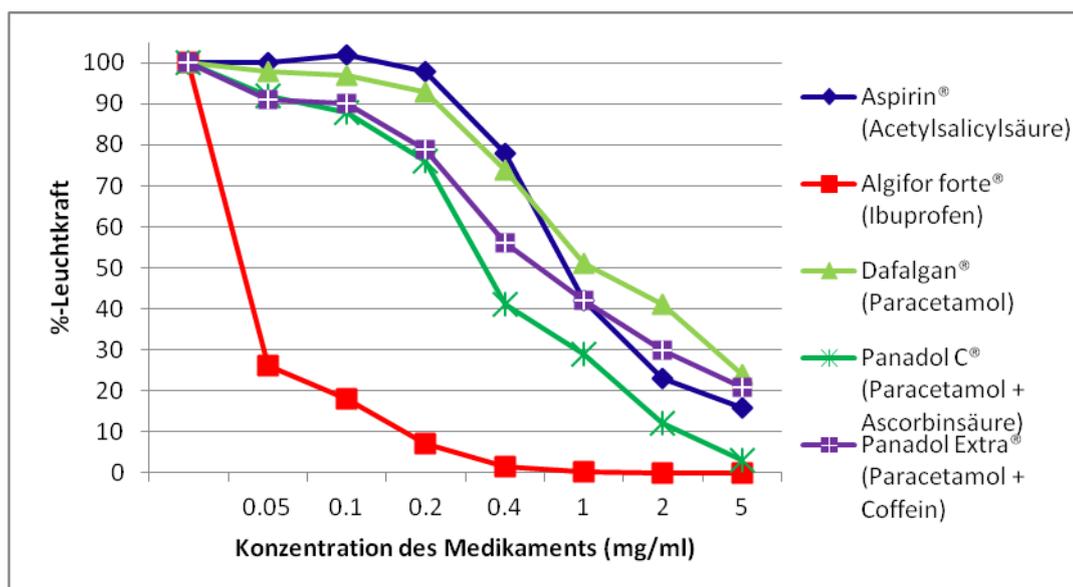


Abb. 15: Leuchtkraftänderung (in Prozent) der *V. fischeri* nach der Zugabe der Schmerzmittel: Aspirin®, Dafalgan®, Panadol S®, Panadol C®, Algifor forte® und Panadol Extra®, in Bezug zur Wirkstoffmenge

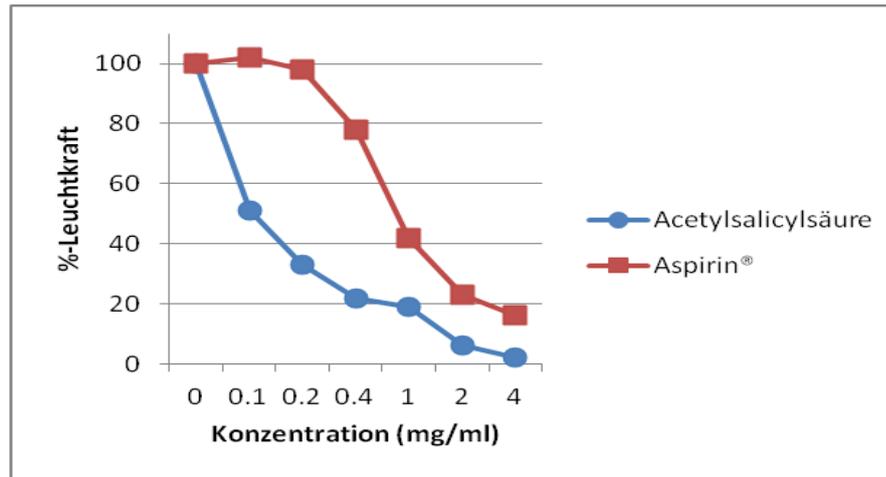


Abb. 16: Die prozentuale Leuchtkraftveränderung der *V. fischeri* im Vergleich Acetylsalicylsäure und Aspirin®. Ein ähnlicher Kurvenverlauf lässt sich nicht erkennen, obwohl in Aspirin® die gleiche Menge Acetylsalicylsäure, wie die verwendete, enthalten ist.

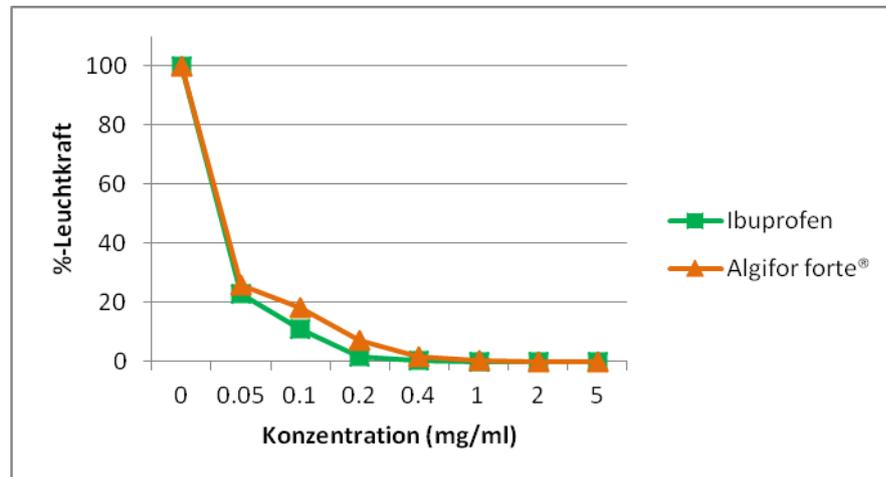


Abb. 17: Die prozentuale Leuchtkraftveränderung der *V. fischeri* durch Ibuprofen und des Medikamentes Algifor forte®.

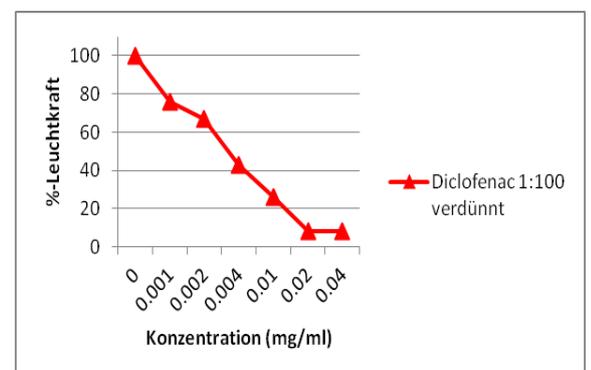
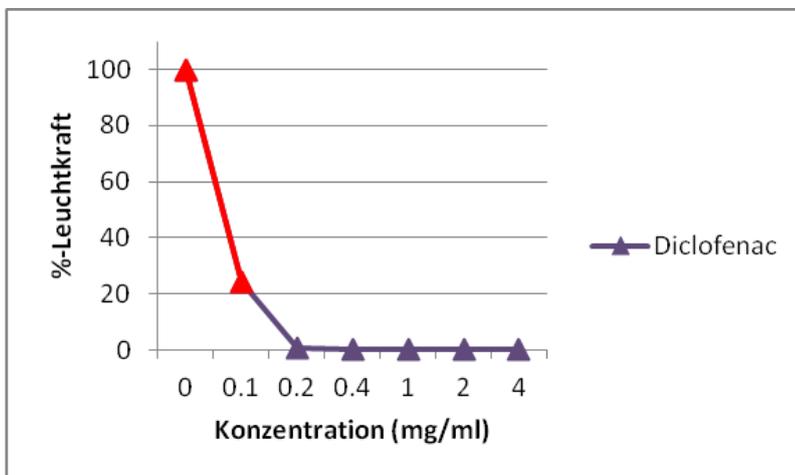


Abb. 18 (links): Die prozentuale Leuchtkraftveränderung der *V. fischeri* durch die Zugabe von Diclofenac. In **Abb. 19 (rechts)** ist die rot markierte Strecke Diclofenac in kleineren Konzentrationen zu begutachten.

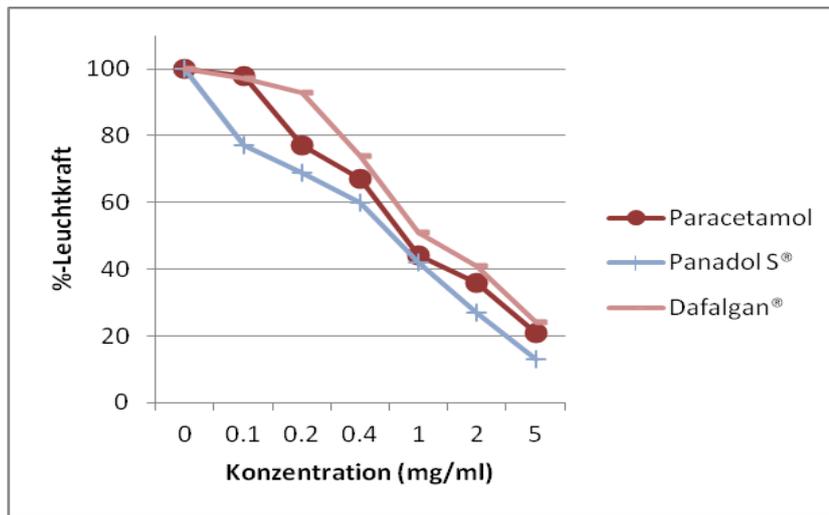


Abb. 20: Die prozentuale Leuchtkraftveränderung der *V. fischeri* bei Zugabe von Paracetamol, Panadol S® und Dafalgan®. In Panadol S® und Dafalgan®.

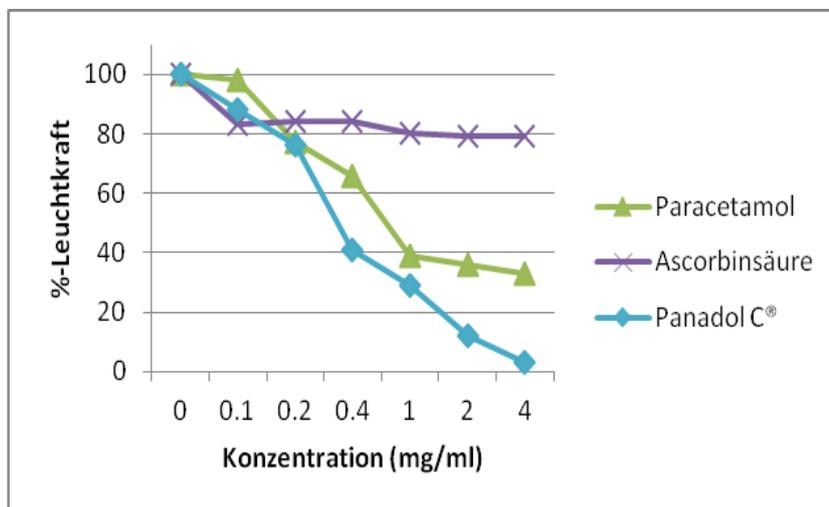


Abb. 21: Die prozentuale Leuchtkraftveränderung von *V. fischeri* bei der Zugabe von Paracetamol, Ascorbinsäure und Panadol C®.

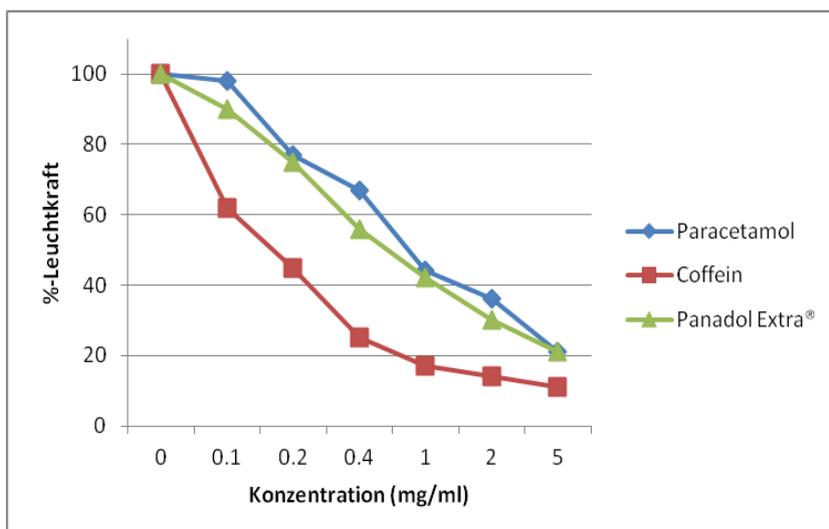


Abb. 22: Die prozentuale Leuchtkraftveränderung von *V. fischeri* bei der Zugabe von Paracetamol, Coffein und Panadol Extra®. Panadol Extra® setzt sich aus Paracetamol und Coffein zusammen, was die Kurve ebenfalls mittels der gleichmässigen und leicht tieferliegenden Kurvenverlauf als Paracetamol, zeigt.

3.2 LD₅₀-Vergleich

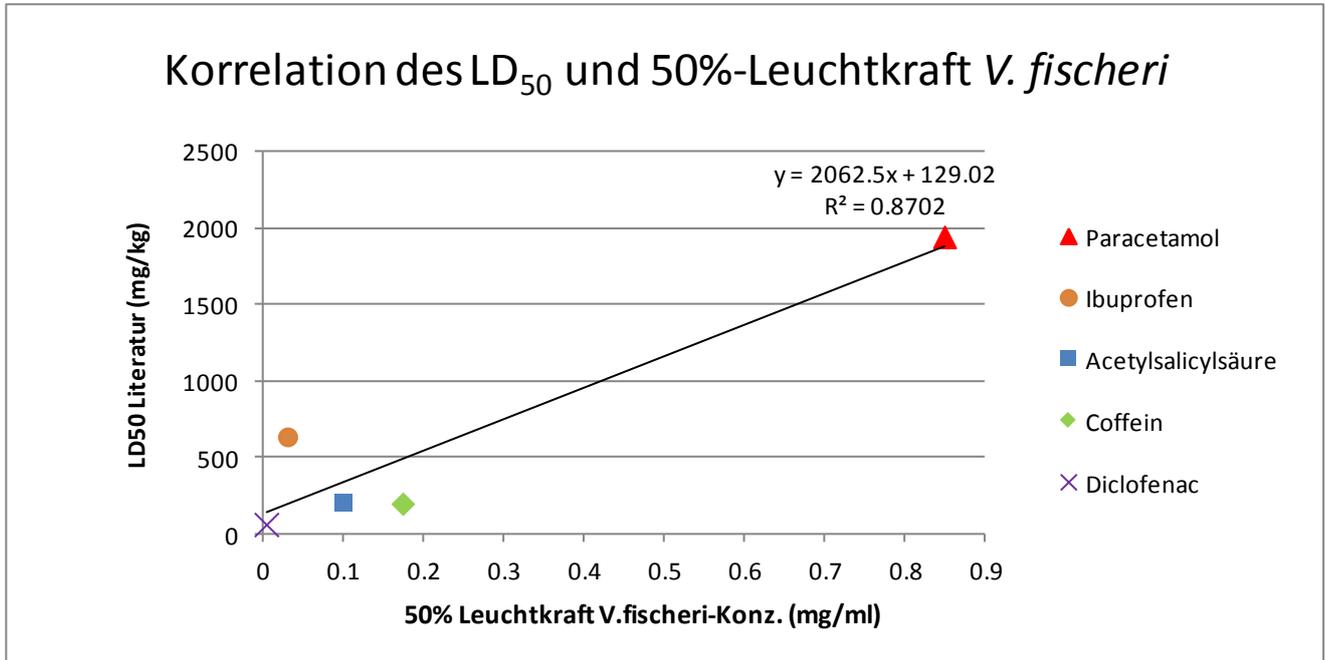


Abb. 23: Vergleich der LD₅₀ aus der Literatur und nach *V. fischeri* von Paracetamol, Acetylsalicylsäure, Diclofenac, Ibuprofen, Coffein und Ascorbinsäure.

Die Konzentration des Wirkstoffs auf ein Liter *V. fischeri*, Korrelation (R^2) von 0.87.

4 Diskussion

4.1 Leuchtkraftabnahme

Auf den Abbildungen 14 und 15 ist eine Leuchtkraftabnahme der *V. fischeri* durch die Wirkstoffe und Medikamente erkennbar. Die erste Hypothese vor den Versuchen war, dass je stärker die Konzentration der Wirkstoffe/Schmerzmittel, desto weniger leuchtet *V. fischeri*. Einige erweisen sich als schädlicher als andere: *V. fischeri* verliert 50% ihrer Leuchtkraft bei 0.85 mg/ml Paracetamol und mit Ibuprofen schon bei einer Konzentration (1 Liter *V. fischeri*) von 0.005 mg/ml. Dass Paracetamol nicht so toxisch wirkt wie Ibuprofen, ist schon anhand der tiefen/hohen LD₅₀-Werte ersichtlich.

In Abbildung 17 ist Algifor forte[®] und die schädliche Wirkung von Ibuprofen zu erkennen. Die nahezu deckungsgleiche Kurve verrät denselben Inhaltsstoff.

Erstaunlich ist der Kurvenunterschied zwischen Panadol S[®] und Dafalgan[®] (vgl. Abb. 20). Obwohl die beiden Medikamente denselben Wirkstoff, Paracetamol, enthalten, ist eine leicht unterschiedliche Kurve zu erkennen. Paracetamol als Mittelwert: die Leuchtkraft der *V. fischeri* nimmt unter dem Einfluss von Paracetamol in Form von Dafalgan[®] nicht so steil ab. Der Kurvenverlauf ist bei allen drei Testsubstanzen jedoch gleich konstant.

Dafür werden zwei Gründe als möglich erachtet. Auf der einen Seite könnte eine nicht ausreichend aufgelöste Stammlösung die Ursache sein, auf der anderen Seite könnten gewisse Hilfsmittel in der Tablette die Leuchtbakterien beeinflussen. Die Hilfsmittel können die (Bio-)Verträglichkeit erhöhen, die Wirkstoffabgabe steuern oder als Sprengmittel wirken. [15]

Panadol Extra[®] besteht aus 88% Paracetamol und 11% Coffein (siehe Anhang). Die zugehörige Kurve liegt ein bisschen tiefer als das reine Paracetamol, weil sie vom Coffein heruntergezogen wird. Der toxische Zusammenhang zwischen dem Medikament und den inhaltlichen Wirkstoffen ist somit eindeutig.

Es ist noch zu erwähnen, dass bei allen Medikamenten sich die zermahlte Tablette sich schlecht in der Kochsalzlösung gelöst hat und der pH-Wert nicht verändert wurde, um eine möglichst echte Einnahme zu simulieren. Dabei könnten die Resultate leicht verfälscht sein, denn es handelte sich nicht immer um eine gutgemischte Lösung. Zudem haben die Medikamentenhersteller oft nicht vermerkt, was ausser dem Wirkstoff sonst noch in der Tablette enthalten ist. Oft sind es Klebstoffe oder Farbstoffe, die das Äussere ausmachen (Inhalt der Schmerzmittel, siehe Anhang), die einen Einfluss auf die Leuchtkraft und deren Entfaltung haben könnten.



Abb. 24: Dafalgan löst sich mit der 2%-NaCl-Lösung schlecht auf: trübe Lösung

Diese obengenannte Vermutung ist beim Vergleich von Acetylsalicylsäure mit Aspirin[®] gut erkennbar. Acetylsalicylsäure scheint sehr schädlich zu sein, jedoch das Aspirin[®], welches ebenfalls zu 10mg/ml aufgemischt wurde, zeigt eine flachere Kurve (vgl. Abb. 16).

Coffein scheint schädlicher für Säugetiere als für *V. fischeri* zu sein. Dies liegt daran, dass Coffein das Zentralnervensystem anregt, sowie die Kontraktionskraft des Herzens, als auch die Herzfrequenz erhöht und eine Wirkung auf die Blutgefäße zeigt. Da Bakterien keine Blutgefäße o.ä. mit zugehörigem Rezeptor besitzen, fällt diese Wirkung aus und vertragen Coffein vermutlich deshalb besser. [16]

Unklar ist, wie toxisch Diclofenac ist. (vgl. Abb. 13) Ein Leuchtkraft reduzierender Effekt steht schon wegen der LD₅₀-Rate von 62.5 mg/kg fest, doch wie viel die fehlende Aufsaltung den Effekt beeinflusst, ist nicht ermittelbar. Daher kann die LD₅₀-Korrelation für Diclofenac nicht bestätigt werden.

In dieser Arbeit wurde versucht eine weitere Alternative für Tierversuche zu finden.

Das Problem liegt darin, dass Bakterien anders auf Giftstoffe reagieren als Ratten, sowie können die Ergebnisse nicht direkt auf den Mensch übertragen werden, da noch viele andere Faktoren im Spiel sind. Ebenfalls besitzt der Mensch ein taugliches Entgiftungssystem.

Damit der LD₅₀-Vergleich vollständig für weitere Untersuchungen verwendet werden kann, braucht es noch einige Schmerzmittel, die im „Zwischenbereich“ Resultate bringen. Es lässt sich jedoch sagen, dass Medikamente mit einem hohen LD₅₀ werden auch einer hohen Konzentration, bis es die Hälfte der Leuchtkraft reduziert. Die Korrelation von 0.87 sagt nicht über die eigentliche Wirkung im Leuchtbakterium aus. Ob der Wirkstoff toxisch wirkt oder nur enzymhemmend ist mittels dieser Resultate nicht zu bewerten. Hingegen reicht so eine Korrelation um die giftige Komponente einer Substanz zu ermitteln und eine mögliche Weiterverwendung zu bestimmen.

Die Hemmung der Leuchtkraft zeigt eine Korrelation mit LD₅₀ innerhalb einer bestimmten Kategorie von Medikamenten. Durch gezielte Forschung könnte eine verbesserte Korrelation erreicht werden.

Von der kritischen Seite betrachtet, könnte eine Scheinkorrelation in Abbildung 23, S.14 vorliegen. Auf der anderen Seite wäre es möglich durch dieses Testsystem ein beschränktes Feld von Wirkstoffe, die auf den gleichen Mechanismus reagieren, abzudecken. Den genauen Mechanismus mithilfe dieser fünf Substanzen lässt sich nur schwer zu bestimmen. Möglicherweise spielen die Cyclooxygenasen hier eine Rolle.

Die zweite Hypothese – dass der LD₅₀ von *V. fischeri* mit dem LD₅₀ der Ratten in Verbindung gebracht werden kann – kann weder widerlegt noch bestätigt werden, denn weitere Versuche sind dafür erforderlich.

Nun stellt sich ebenfalls die Frage, was eine Leuchtkraftabnahme der *Vibrio fischeri* tatsächlich bedeutet. Einerseits kann sie für die Leuchtbakterien den Tod bedeuten (eher unwahrscheinlich), andererseits können sie vielleicht ihre Atmung reduzieren oder auf einen anderen Stoffwechsel zurückgreifen, der kein Licht produziert.

Mit diesen Ergebnissen lässt sich die Anzahl der lebendigen Leuchtbakterien nicht bestimmen, denn das marine Leuchtbakterium lässt sich nicht so einfach zählen wie auf Nährböden wachsende Bakterien.

Klar ist, dass die Leuchtkraftabnahme aufgrund einer Substanz eine reduzierte Vitalität der *V. fischeri* bedeutet. Ob ihr Leuchtsystem gehemmt wird oder ihre Atmung einfach einschränken kann, lässt sich nicht sagen, doch aus verschiedenen Ursachen nimmt die Leuchtkraft ab und die Fitness der Leuchtbakterien leidet darunter. (mehr dazu bei 4.2 Folgeuntersuchungen)

V. fischeri eignen sich gut dafür, einen ersten Eindruck über die Toxizität eines Stoffes zu gewinnen. Der Schnelltest führt zu einem tierversuchsfreien Resultat, was wegen den heutigen Tierschützer wünschenswert ist.

So könnte ein neues Desinfektionsmittel oder Putzmittel mit dem Leuchtbakterium auf seinen tödlichen Effekt getestet werden und das Ergebnis als eine erste Rückmeldung über das Produkt verstehen.

Um dieses System routinemässig einzusetzen, braucht es mehr Forschung. Der Test könnte für eine beschränkte Gruppe von Substanzen, mit ähnlicher Wirkung, aussagekräftige Resultate liefern.

Der Vergleich der Leuchtkraftabnahme von Wirkstoff – Medikament wurde ohne eine Anpassung an die verschiedenen Mengen der sogenannten Hilfsstoffe durchgeführt. Der auffällig anders verlaufende Kurvenverlauf von Aspirin[®] und Wirkstoff Acetylsalicylsäure (Abb. 16) deutet auf dessen Beeinflussung hin. Auskunft über den prozentualen Inhalt eines Wirkstoffes in einem Medikament befindet sich im Anhang, A8, S. 31).

Diese Arbeit hat sich nur mit der Leuchtkraftabnahme von *V. fischeri* beschäftigt. Gewiss wurde die Frage gestellt, ob es einen Stoff gibt, der die Leuchtkraft erhöht. Möglicherweise könnte man einen Stoff anfertigen, der in die DNA des Leuchtbakteriums eingreift und ein Gen so verändert, dass schlussendlich mehr ATP produziert wird, ergo mehr leuchtet. Wie bereits aus der Praxis bekannt, sind solche Mutationen ziemlich schwierig durch „Zufall“ herzustellen und dazu die gewünschte Funktion zu erzielen.

Als allgemeines Fazit: Je grösser die Leuchthemmung einer Probe ist, desto grösser ist deren schädigende Wirkung (Leuchtkraftabnahme) auf *V. fischeri*.

(vgl. Abb. 14, 15) Durch mehrere Daten könnte das Testsystem sich auf eine Wirkstoffgruppe beschränken und sinnvoll eingesetzt werden. (vgl. Abb. 23)

4.2 Folgeuntersuchungen

4.2.1 Erholungszeit der *V. fischeri*

Bei den Rohdaten von Paracetamol, in grösseren Konzentrationen gemessen (siehe Anhang), ist zu erkennen, dass die dritte Messung liegt höher als die anderen. Dies deutet darauf hin, dass die Leuchtakterien sich vom Gift erholen und wieder mehr Licht produzieren bzw. atmen. Es wäre interessant herauszufinden, wie lange sie brauchen um die gleiche Leuchtkraft wie am Anfang zu produzieren. Dafür müsste man die Testlösung entfernen, die Bakterien zurückgewinnen und in einem optimalen Lebensraum weiterwachsen lassen.

Bei Diclofenac (siehe Rohdaten im Anhang) ist es gerade umgekehrt: es scheint als würde der Wirkstoff länger brauchen, bis seine vollständige Wirkung einsetzt.

4.2.2 Weitere Versuche mit grösseren Konzentrationen an Wirkstoff

Es wäre interessant, wenn dieselben Versuche mit grösseren Konzentrationen durchgeführt und geschaut würde, ob der Kurvenverlauf stets weiter abnimmt oder ob es ab einer bestimmten Konzentration auf einem gleichen Wert bleibt – also ob ein Plateau (vgl. Abb. 24) entsteht.

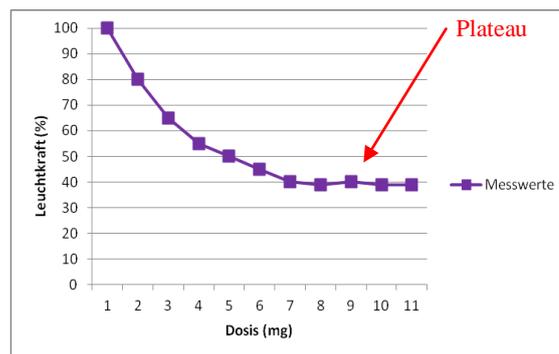


Abb. 24: Roter Pfeil zeigt ein Plateau (Beispiel), Leuchtkraft (%) und Dosis (mg) angegeben

5 Reflexion

Das Ziel meiner Arbeit war, ein Forschungsgebiet anzuschneiden, welches noch Entwicklungspotenzial hat. Meiner Meinung nach konnte dieses Ziel erfüllt werden und ich bin überzeugt, dass durch diese Diagnostik noch mehr über das Leuchtbakterium *V. fischeri* entdeckt werden kann und soll.

Von Anfang an wusste ich, dass ein Schmerzmittel nach meinen Versuchen nicht als total giftig gelten kann. Schliesslich mussten die Medikamente schon einige Prüfungen bestehen um auf den Markt zu kommen. Erstaunliche Werte über Medikamente wurden demgemäss abgeschlossen.

Auf meine Arbeit schaue ich zufrieden zurück: Persönlich hat mich diese Arbeit weitergebracht und mir zusätzliche interessante Einblicke in das Laborleben und in die Forschung gegeben. Trotz der vielen investierten Stunden hat mich die Thematik stets fasziniert und mir Freude bereitet. Durch die ganze Arbeit habe ich mich vom Thema betroffen gefühlt, da ich mir anfangs Juni eine Sportverletzung am Ellbogen zugezogen habe und eine Zeitlang „abhängig“ von diesen Schmerzmittel war. Ich zeigte anhand *Vibrio fischeri* wie schädlich diese Medikamente sind und musste sie dennoch einnehmen.

Ich könnte mir vorstellen, in Zukunft noch weitere Versuche mit *V. fischeri* zu machen. Denn das interessante, umfangreiche und tierversuchsfreie Thema ist noch nicht weit erforscht und birgt noch einige Geheimnisse.

Diese Arbeit wird mir immer gut in Erinnerung bleiben.

6 Quellenverzeichnis

6.1 Onlinequellen

- [1] SCHIWEK, FREDERICK, Geschäftsführer der International Services Company
<http://schmerzmittel.de/> (27.06.12)
- [2] <http://de.wikipedia.org/wiki/Cyclooxygenasen> (19.05.12)
- [3] MAIDEN, STEPHANIE, Autorin der Website
http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2004/V_fischeri.htm (05.10.04)
- [3.1] <http://de.wikipedia.org/wiki/Gramnegativ> (03.10.12)
- [4] http://de.wikipedia.org/wiki/Aliivibrio_fischeri (26.05.12)
- [5] <http://de.wikipedia.org/wiki/Biolumineszenz> (08.08.12)
- [6] UNIPROT CONSORTIUM MEMBERS, EMBL OUTSTATION (European Bioinformatics Institute, Hixton Cambridge), SIB (Swiss Institute of Bioinformatics, Geneva), PROTEIN INFORMATION RESOURCE (PIR, Georgetown University Medical Center, Washington)
<http://www.uniprot.org/uniprot/?query=vibrio+fischeri&sort=score> (03.07.12)
- [7] WANDER, CHRISTIAN, Verantwortlicher von der UNI BERLIN,
<http://www.saugstelle.de/69.htm> (14.07.12)
- [8] DiNURZZO, FRANCIS M., CEO of SDIX
<http://www.sdix.com/Technologies/Luminescent-Bacteria.aspx> (26.08.12)
- [9] ZELLER Fa, GmbH <http://www.labworld.at/PDFs/ATP%20Reinigungskontrolle.pdf>
(20.02.03)
- [10] Dr. HAGEDORN III CHALRES,
http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Methods/luminometry.html
(Spring 2010)
- [11] http://de.wikipedia.org/wiki/Letale_Dosis (22.06.12)
- [12] <http://de.wikipedia.org/wiki/Tierversuch> (25.07.12)
- [13] UNBEKANNT, Autor, <http://www.maeuseknast.de/ohne.pdf> (07.08.12)
- [14] KÖHLER-MA, CHRISTIAN, Geschäftsführer von FIZ CHEMIE, Berlin,
<http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/antioxsys.vlu/Page/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/evolution.vscml.html> (04.07.12)
- [15] WEHNER, JÜRGEN, Gründer von MEDZINFO®,
<http://www.medzinfo.de/arzneimittel/galenik/hilfsmittel.shtml> (07.10.12)
- [16] <http://de.wikipedia.org/wiki/Coffein> (22.07.12)
- [17] WEY, ANDY, Webmaster der Stadtverwaltung Sursee
<http://www.sursee.ch/de/umweltundverkehr/versorgung/wasser/> (07.08.12)
- [18] <http://de.wikipedia.org/wiki/Paracetamol> (08.08.12)
- [19] <http://de.wikipedia.org/wiki/Aspirin> (26.07.12)
- [20] PANAXIS GMBH, Adler Apotheke (08.08.12)
<https://www.adler-shop.ch/p2333/dafalgan-1g-16-filmtabletten>
- [21] ZUR ROSE SUISSE AG, Verantwortlich (17.06.12)
<http://www.zurrose.ch/saridon-n-forte-400-mg.html>
- [22] <http://de.wikipedia.org/wiki/Ibuprofen> (02.08.12)

- [23] <http://de.wikipedia.org/wiki/Voltaren> (29.07.12)
[24] <http://de.wikipedia.org/wiki/Ascorbins%C3%A4ure> (06.08.12)
[25] FUMMER GUNDULA, Vertretungsberechtigte geschäftsführende Gesellschafterin
<http://www.bleib-gesund-service.de/-vitamine/vitamin-c/> (09.08.12)

6.2 Bildquellen

- [A] PROST LAURA; ARMAND MELISSA; LAM ISABELLE, Autorinnen der Webseite
<http://tpe-bioluminescence.e-monsite.com/pages/1-la-biomasse.html> (05.10.12)
- [B] UNBEKANNT, Photograph, <http://www.marengel.ch/Projekte/Vibrio-fischeri/index.html>
(03.04.11)
- [C] PANAXIS GMBH, Adler Apotheke <https://www.adlershop.ch/p9184/panadol-s-filmtabl-500-mg-20-stk> (08.08.12)
PANAXIS GMBH, Adler Apotheke <https://www.adlershop.ch/p5211/panadol-antigrippine-500mg-18-tabletten>(08.08.12)
PANAXIS GMBH, Adler Apotheke <https://www.adlershop.ch/p5214/panadol-c-10-brausetabletten>(08.08.12)
PONET, L. Apotheke Piringen NV, Farmaline
<http://www.farmaline.de/gesund/bestellen/panadol-plus-20-tabletten/> (21.03.12)
- [D] BRUCKNER, MANFRED, Blogger
<http://manfredbruckner.blogspot.com/2011/09/Aspirin-fur-die-osterreicherinnen.html>
(06.04.12)
DARKRICH, Informatikstudent und Blogger
<http://darkrich.wordpress.com/tag/Aspirin/> (27.10.10)
- [E] MEDICO SEARCH AG, Kontaktperson
<http://www.medicosearch.ch/Vifor+SA+Algifor%C2%AE/profile/11561816> (03.07.12)
PANAXIS GMBH, Adler Apotheke <https://www.adlershop.ch/p223/algifor-forte-400mg-10-filmtabletten> (08.08.12)
- [F] SARNETZKI, PETER, Rathaus-Apotheke Inhaber (09.08.12)
http://www.bioapotheke.de/product_info.php?products_id=445417&com_cid=80e880
SAUTA, ERICA, Sauta-Texte <http://www.sauta-texte.ch/textrezepte-59-modalverben>
(17.12.09)
- [G] OMIKRON GmbH, Abt. Feinchemikalien
<http://www.omikron-online.de/cyberchem/preise/labor/bechergl.htm> (16.10.06)
- [H] ALL FREE DOWNLOAD-TEAM, Verantwortliche, http://de.all-free-download.com/frei-vektoren/vektoren-clip-art/falconr%C3%B6hrchen_clip_art_16028.html (24.08.12)
- [I] Rolera LLC, (Illinois Limited Liability Corporation).<http://www.clker.com/clipart-empty-open-ependorf-tube.html> (25.08.12)
- [J] SWIEGOT, Elmar und ANTLIGER, Gabriele, Geschäftsführer der WITEG Labortechnik GmbH
<http://www.witeg.de/1749797951/1/PD61/5506xxx/auto/32030304/0/1/61+Bild.html>
(24.08.12)
- [K] AJAY, Jain, Company Owner <http://www.jaynaglass.com/pipettes-147.html> (03.08.10)

7 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei einigen Personen bedanken, die einen wesentlichen Teil zur Fertigstellung meiner Maturaarbeit beigetragen haben:

Der erste Dank geht an meinen Betreuer Herrn David Stadler, Biologielehrer der Kantonschule Sursee, der mich tatkräftig unterstützt hat und immer für Fragen offenstand.

Ein grosses Dankeschön geht an das Schullabor der Novartis in Basel. Ohne diese Möglichkeit hätte ich keine Arbeit über *V. fischeri* schreiben können.

Die Betreuung von Frau Dr. Gesche Standke und Frau Dr. Christiane Röckl Michel schätzte ich sehr.

Somit möchte ich mich bei der Novartis für die ganze Infrastruktur und den Betreuerinnen für ihre Offenheit, ihre Unterstützung und ihr entgegengebrachtes Vertrauen herzlich bedanken.

Die tolle Zeit, die ich in Basel erleben durfte, nehme ich sehr gerne mit in meine Zukunft.

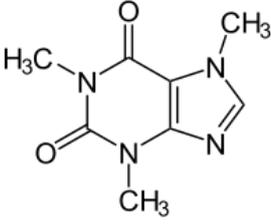
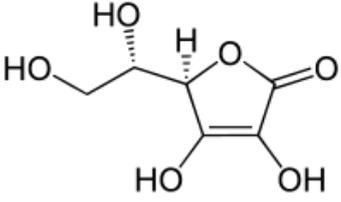
Ebenfalls würde ich gerne einen Dank an Herr Dr. James A. Edwards aussprechen, der mir in der Verbesserungsphase der Arbeit Unterstützung leistete. Durch sein Wissen und bemerkenswerte Erfahrung habe ich einen anderen, interessanten Einblick in die Toxikologie erhalten.

8 Anhang

A1: Medikamenteninhalt

Medikament (Foto)	Inhalt	Löslichkeit in Wasser	LD ₅₀ des Wirkstoffs (Ratte, oral)
	<p>Panadol S</p> <p>500 mg Paracetamol</p> <p>Konservierungsstoffe wie Propylis (E 219) und Ethylis (E217) und Methylis parahydroxybenzoas natrium (E 215)</p> <p>...und weitere Hilfsstoffe (mehr dazu unter [15])</p>	<p>14 g·l⁻¹ bei 20 C</p> <p>Wirkmechanismus: Hemmung der Cyclooxygenase-2 (COX-2) im Rückenmark</p> <p>Paracetamol:</p> <chem>CC(=O)Nc1ccc(O)cc1</chem>	1944 mg·kg ⁻¹
	<p>Panadol C (Brausetablette)</p> <p>500mg Paracetamol</p> <p>300 mg Ascorbinsäure</p> <p>Süsstoffe, Vanillin, Aromen und Konservierungsstoffe und weitere Hilfsmittel</p>	Brausetablette	1944 mg·kg ⁻¹
	<p>Panadol Extra</p> <p>500 mg Paracetamol</p> <p>65 mg Coffein</p> <p>Konservierungsstoff E202 und weitere Hilfsmittel</p>	14 g·l ⁻¹ bei 20 C	1944 mg·kg ⁻¹
	<p>500 mg Acetylsalicylsäure</p> <p>Und weitere Hilfsstoffe</p>	<p>wenig löslich in Wasser (2,5 g·l⁻¹ bei 15 C)</p> <p>Hemmung der Cyclooxygenase COX-1</p> <chem>CC(=O)Oc1ccccc1C(=O)O</chem>	200 mg·kg ⁻¹

	<p>Algifor-L forte 400mg Ibuprofen Und weitere Hilfsstoffe</p>	<p>praktisch unlöslich in Wasser (21 mg·l⁻¹ bei 25 C)</p> <p>Wirkungsmechanismus: hemmt nichtselektiv die Cyclooxygenasen 1 und 2</p> <p>Ibuprofen:</p>	<p>636 mg·kg⁻¹</p>
	<p>50 mg Diclofenac Farbstoff E 104 Und weitere Hilfsstoffe</p>	<p>wenig löslich in Wasser (2,37 mg·l⁻¹ bei 25 C)</p> <p>Wirkungsmechanismus: eine Inhibition der Cyclooxygenasen (COX-1 und COX-2)</p> <p>Diclofenac:</p>	<p>62,5 mg·kg⁻¹</p>
	<p>1 g Paracetamol Titanium dioxide E 171 und Indigocarmin E 132 Und weitere Hilfsstoffe</p>	<p>14 g·l⁻¹ bei 20 C</p> <p>Wirkmechanismus: Hemmung der Cyclooxygenase-2 (COX-2) im Rückenmark</p> <p>Paracetamol:</p>	<p>1944 mg·kg⁻¹</p>

	Coffein	<p>mässig in Wasser ($20 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$)</p> <p>Coffein:</p> 	192 mg kg^{-1}
	Ascorbinsäure	<p>gut wasserlöslich, $330 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$</p> 	<p>$> 6 \text{ g/Tag}$ (Nierensteine)</p> <p>$6\text{--}15 \text{ g/Tag}$ (Durchfall)</p>

Quellen: Packungsbeilage der Medikamente, [16]; [18]- [25]

Bildquelle: [C]-[F]



Leuchtbakterientest LCK 484

Leuchtbakterientest für die Betriebsanalytik

Prinzip

Bestimmung der akuten Toxizität auf gefriergetrocknete Leuchtbakterien. Gemessen wird die natürliche Leuchtleistung der verwendeten Mikroorganismen. Die Leuchthemmung durch die Probe wird gegen einen nicht toxischen Kontrollansatz bestimmt.

Anwendungsbereich

kommunales und industrielles Abwasser, wässrige Eluate von Böden und Abfall, Lösungen und Oberflächenwässer

Messbereich

Der lineare Messbereich liegt zwischen 10% und 90% Hemmung.

Ergebnisangaben

% Hemmung : je größer die % Leuchthemmung durch eine Probe ist, desto größer ist deren schädigende Wirkung auf die verwendeten Mikroorganismen.

Packungsinhalt

- Röhrchen mit gefriergetrockneten Leuchtbakterien des Stammes *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177
- Reaktivierungslösung (Natrium / Kalium / Magnesium / Chlorid-Lösung)

Zubehör

2% NaCl-Lösung (LCK 481)
 Glasküvetten (LZP 187)
 Farbkorrekturküvetten (LZP 340)
 LUMISterra Feststofftest (LYW 429)
 Variable Pipette 0,2 – 1,0 ml (BBP 078)
 Pipettenspitzen 0,2 – 1,0 ml (BBP 079)
 Variable Pipette 1,0 – 5,0 ml (BBP 065)
 Pipettenspitzen 1,0 – 5,0 ml (BBP 068)

Lagerhinweise

Die Testreagenzien sind bei -18°C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Reaktivierungslösung kann eingefroren oder im Kühlschrank bei maximal 8°C aufbewahrt werden. Ein Transport der Bakterienkonserven und der Reaktivierungslösung ist bei Temperaturen bis maximal 20°C über einen Zeitraum von bis zu drei Tagen möglich. Die Leuchtbakterienkonserven und die Reaktivierungslösung müssen unmittelbar vor der Reaktivierung gekühlt werden (8°C oder kälter). Reaktivierte Bakterien sollten möglichst innerhalb von 30 Minuten aufgebraucht werden. Eine Zwischenlagerung der reaktivierten Bakterien darf nur im Kühlschrank erfolgen. Mit fortschreitender Aufbewahrungszeit reaktivierter Bakterien kann es zu einer Verschiebung des Empfindlichkeitsspektrums der Bakterien kommen. Ein Wiedereinfrieren von aufgetauten Röhrchen mit gefriergetrockneten aber nicht reaktivierten Leuchtbakterien ist möglich.

Störungen

Gefärbte oder getrübe Proben verursachen Mehrbefunde durch physikalische Lichtabsorption oder Streuung. Im LUMIStox 300 Messgerät können diese Effekte mit Hilfe der integrierten Farb- und Trübungskompensation während der Testdurchführung beseitigt werden. Bei anderen Messgeräten (LUMISmini, LUMIStox LPG 259) kann der Farbeffekt durch die Verwendung von Farbkorrekturküvetten (Zubehör) in einem gesonderten Test berücksichtigt werden.

Proben mit akut hoher Sauerstoffzehrung können Leuchthemmungen verursachen, die nicht auf Toxizität zurückzuführen sind.

Die Verwendung von Cellulosenitrat- oder Celluloseacetatfiltern zur Probenfiltration kann zu nicht probenbedingten Leuchthemmungen führen. Die Verwendung von Polysulfonfiltern (LUMISterra, Zubehör) führt nicht zu Störungen im Test.

NaCl-Konzentrationen der Probe von weniger als 15 g/l oder mehr als 50 g/l bzw. deren Osmolaritätsäquivalente führen zu osmotisch bedingten Leuchthemmungen.

pH-Wert

Der pH-Wert der Probe sollte zwischen pH 6 und pH 8 liegen.

Temperatur

Der Leuchtbakterientest ist ein biologisches Testverfahren und deshalb im Ergebnis stark temperaturabhängig.

Reaktivierungstemperatur: Das Leuchten der Leuchtbakterien ist von der Temperatur bei der Reaktivierung abhängig. So sollten die Leuchtbakterien und die Reaktivierungslösung möglichst in kaltem Zustand zusammengegeben werden (Konserven und Reaktivierungslösung vor Reaktivierung auf unter 8°C kühlen).

Testtemperatur: Der Test kann bei Umgebungstemperaturen von 15 bis 23°C durchgeführt werden. Die Temperatur der Probe und die der nicht toxischen Kontroll-Lösung (2% NaCl) sollten gleich sein und der Umgebungstemperatur des Testes entsprechen.

Für die Vergleichbarkeit von Testergebnissen ist es entscheidend, daß die Ergebnisse bei gleicher Umgebungstemperatur erzeugt wurden.

Sicherheitshinweise

Die Leuchtbakterien *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177 sind noch nie als Krankheitserreger in Erscheinung getreten. Sie sind in die Gruppe 1 (Bakterien ohne Risiko) laut Merkblatt B006 1/92 ZH 1/346 der Berufsgenossenschaft Chemie eingeordnet.

Analytische Qualitätssicherung

Zur Überprüfung der korrekten Funktionsweise des Systems vor Ort kann eine Eigenkontrollmessung mit Standard durchgeführt werden. Der LUMISmini Standard kann von der Dr. Bruno Lange GmbH angefordert werden.

0,5 ml Standardlösung ergeben mit 0,5 ml Bakteriensuspension 40 bis 70 % Hemmung nach 15 Minuten Inkubationszeit.

Entsorgung

Die Leuchtbakterien sind ungefährlich und können über den normalen Laborausguß entsorgt werden. Auf eine sachgerechte Entsorgung von toxischen Proben muß geachtet werden. Die Um- und Versandverpackung werden von der Dr. Bruno Lange GmbH zurückgenommen. Melden Sie bitte die Abholung bei einer Ihrer nächsten Bestellungen mit an.

Vergleichbarkeit der Testergebnisse mit den Ergebnissen des Leuchtbakterientestes nach DIN 38412 L34, L341

Wegen der unterschiedlichen Konservierungsmethodik, der unterschiedlichen Testtemperatur und der unterschiedlichen Kontaktzeit von Probe mit Leuchtbakterien ist das Meßergebnis aus diesem Test (LCK 484) nicht unbedingt mit dem Ergebnis aus dem normgerechten Leuchtbakterientest (LCK 480, LCK 482 oder LCK 487) vergleichbar.

Hinweis

Die durch das neue Ausgabedatum und die neue Farbe der Arbeitsvorschrift gekennzeichnete Änderung bezieht sich auf eine **Änderung der gesamten Arbeitsvorschrift**.



Dr. Bruno Lange GmbH, Willstätterstr. 11, D-40549 Düsseldorf, ☎ ##49-(0)211-5288-0, 📠 ##49-(0)211-5288-175

A2: Herstellernotiz Dr. Lange für *V. fischeri*

Vibrio fischeri-Bakterien Anzüchten und Umzüchten

Herstellung des Nährmediums für Leuchtbakterium *Vibro fischeri*

Chemikalien

	ad 5 L	ad 2 L	ad 1 L	
	150.0 g	60 g	30 g	NaCl
	30.5 g	12.2 g	6.1 g	Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat
	10.5 g	4.2 g	2.1 g	Dikaliumhydrogenphosphat-Trihydrat
	1.0 g	0.4 g	0.2 g	Magnesiumsulfat-Heptahydrat
	2.5 g	1 g	0.5 g	Diammoniumhydrogenphosphat
	25.0 g	10 g	5 g	Pepton aus Casein (= Trypton)
	2.5 g	1 g	0.5 g	Hefeextrakt
	8.5 mL	3.4 mL	1.7 mL	Glycerin 87% (mL = g)

in 2 L bzw. 5 L-Messkolben mit entmineralisiertem Wasser auf Marke auffüllen

Ausserdem benötigt: NaOH-Lösung und ggf. Phosphorsäure zum Einstellen des pH-Wertes

Geräte und Materialien etc. (für 5 Liter)

- Becherglas 100mL
- Becherglas 2L
- Messkolben 5L mit Glasstopfen: In Autoklavier-Raum WKL-125.2.44 auf Fensterbrett
- Spatel
- Indikatorpapier für neutralen Bereich
- Magnetrührer
- grosser Rührfisch
- Glas-Trichter
- 5L entmineralisiertes Wasser

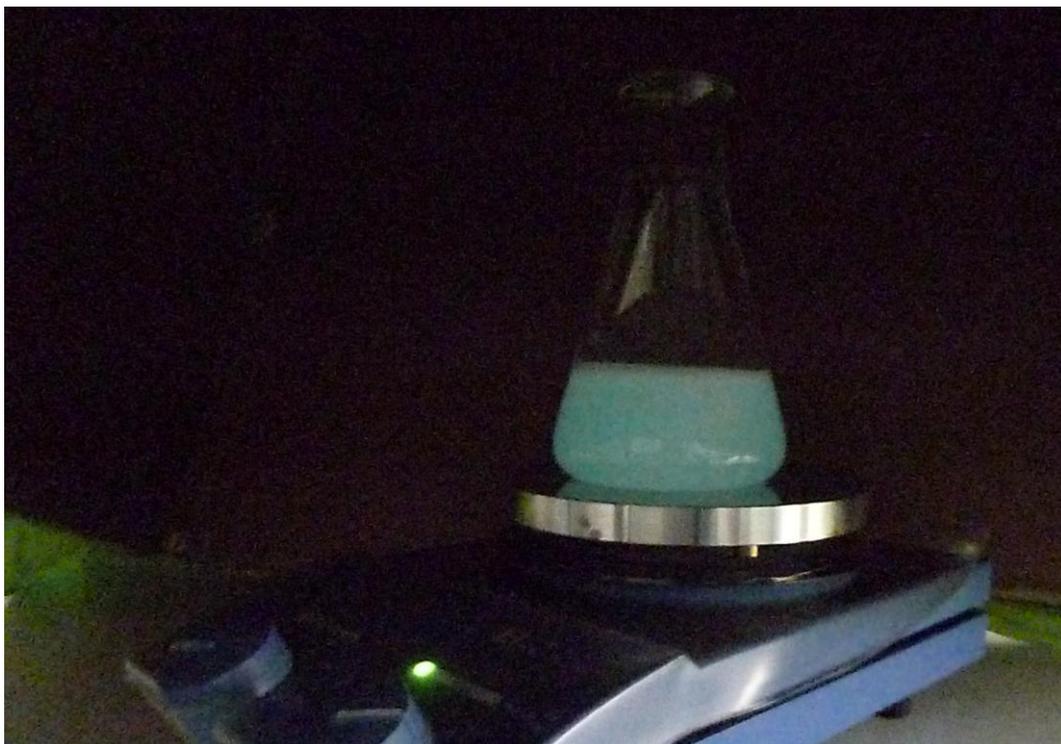
A3: Das An- und Umzüchten von *V. fischeri*

pH- Wert der Schmerzmittel



A4: pH-Indikatorenstäbchen der Schmerzmittel. Von links nach rechts folgende Medikamenten: Algifor forte[®], Panadol Extra[®], Panadol C[®], Panadol S[®], Aspirin[®] und Dafalgan[®]. Nur Algifor forte[®] und Panadol S[®] haben ungefähr pH 7, die andern sind alle sauer.

Das Leuchtbakterium *Vibrio fischeri*



A5: *V. fischeri* leuchten auf einem Magnetrührer im Dunkeln

A6: Messung mit LUMITESTER PD-10N: Schritt für Schritt erklärt

1. Luminometer einschalten (Modus 0)
2. in die schon vorbereiteten Küvette mit 0.5 ml 2%-NaCl-Lösung und Wirkstoffkonzentration 0.5 ml *V. fischeri* hinzugeben
3. Applikator auf die Küvette setzen
4. Abdeckung am Luminometer öffnen
5. Applikator mit Küvette in den Schacht des Luminometers stellen
6. Abdeckung schliessen
7. „Enter“ drücken (1.Messung)
8. 10 sec warten (Messung braucht so lange)
9. Wert notieren
10. Küvette im Luminometer lassen
11. erneut „Enter“ drücken
12. Wert wieder notieren
13. 3x wiederholen, sodass am Schluss 5 Werte pro Messung vorhanden sind
14. Abdeckung öffnen
15. Applikator mit Küvette entnehmen
16. Küvette den Ausguss hinuntergiessen und mit dest. Wasser ausspülen und trocknen lassen
17. 0.5 ml *V. fischeri* in die nächste Küvette geben
18. Schritte 2-17 wiederholen
19. Nach Ende der letzten Messung die Abdeckung des Luminometer schliessen
20. Luminometer ausschalten

A7: Tabelle des „LD₅₀-Vergleichs“

Substanz:	50% Leuchtkraft 1l V.f. (Konz. mg/ml)	LD50 Literatur (Ratte oral) mg/kg
Coffein	0.175	192
Paracetamol	0.85	1944
Acetylsalicylsäure	0.1	200
Diclofenac	0.0035	62.5
Ibuprofen	0.03	636
Ascorbinsäure	1.034	> 6g

A8: Gewichtsmessungen der getesteten Medikamente mithilfe einer Analysewaage

Der Vergleich der Leuchtkraftabnahme von Wirkstoff – Medikament wurde ohne eine Anpassung an die verschiedenen Mengen der sogenannten Hilfsstoffe durchgeführt. Der auffällig anders verlaufende Kurvenverlauf von Aspirin® und Wirkstoff Acetylsalicylsäure (Abb. 16, S.12) deutet auf dessen Beeinflussung hin und leitete die genauere Untersuchung ein.

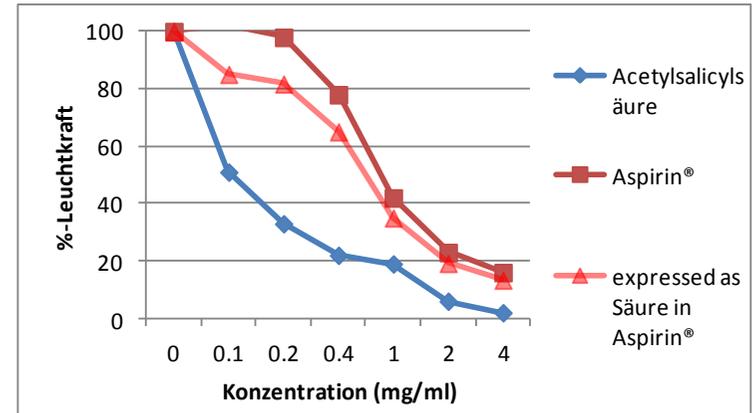
Der prozentuale Anteil der Wirkstoffkonzentration in einer Tablette wurde mit der folgenden Prozentformel berechnet:
$$\frac{(\text{Wirkstoffmenge (g)} * 100)}{(\text{Gesamtgewicht der Tablette})}$$

Schmerzmittel in Tablettenform	Gewicht (g)	Davon Wirkstoff/e (g)	Davon „Hilfsstoffe“ (g)	Wirkstoff in Prozent (%)	Hilfsstoffe in Prozent (%)
Aspirin® (Acetylsalicylsäure)	0.599 5	0.5	0.0995	83.40	16.60
Dafalgan® (Paracetamol)	1.97	1	0.97	50.76	49.24
Panadol S® (Paracetamol)	0.682 5	0.5	0.1825	73.26	26.74
Panadol Extra® (Paracetamol + Coffein)	0.694	0.5 + 0.065	0.129	81.41	18.59
Panadol C® (Paracetamol + Ascorbinsäure)	3.707	0.5 + 0.3	2.907	21.58	78.42 (Natriumcarbonat für die Brausetablette!)

Somit wurde die Wirkstoffmenge in einer Tablette mit dem reinen Wirkstoff auf deren Hemmung der Lichtemission verglichen.

Beispiel 1: Acetylsalicylsäure - Aspirin®

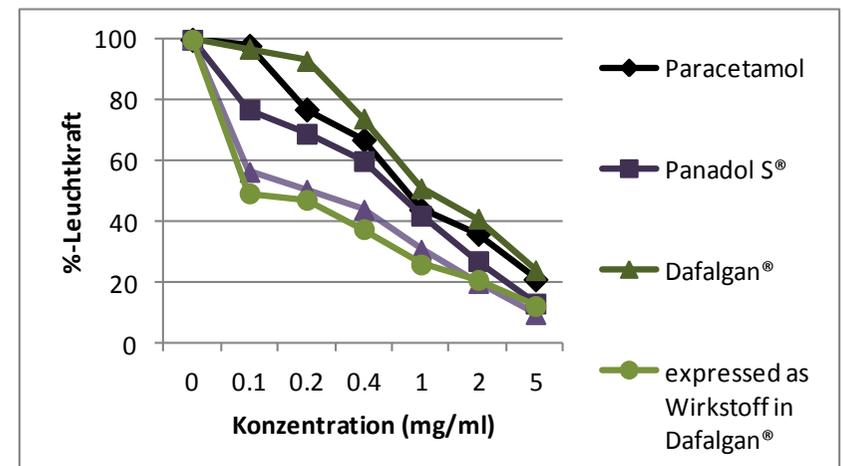
Konzentration (mg/ml)	Acetylsalicylsäure	Aspirin®	Expressed as Säure in Aspirin®
0	100	100	100
0.1	51	102	85.07
0.2	33	98	81.73
0.4	22	78	65.05
1	19	42	35.03
2	6	23	19.18
4	2	16	13.34



Betrachtet man den Unterschied zwischen der reinen Aspirin-Kurve und „expressed as Säure“-Kurve bei einer Konzentration von 0.1 mg/ml, ist einen verschiedenartigen Kurvenverlauf festzustellen. Genau dies ist der entscheidende Unterschied.

Beispiel 2: Paracetamol – Panadol S® und Dafalgan®

	Paracetamol	Panadol S®	Dafalgan®	Expressed as Wirkstoff in Panadol S® (%)	Expressed as Wirkstoff in Dafalgan® (%)
0	100	100	100	100	100
0.1	98	77	97	56.41	49.34
0.2	77	69	93	50.55	47.21
0.4	67	60	74	43.96	37.56
1	44	42	51	30.77	25.888
2	36	27	41	19.78	20.812
5	21	13	24	9.52	12.1824



A9: Wirkung von Reinsubstanzen auf *Vibrio fischeri* / Luminometer-Messungen

Auf den folgenden Diagrammen ist die schädliche Wirkung der Reinsubstanzen der Schmerzmittel auf *V. fischeri* mit Zunahme der Konzentration des Wirkstoffs erkennbar.

Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure-Lösung: 10 mg/ml
NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Acetylsalicylsäure	Konz. Acetylsalicylsäure in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.0	106366	114522	116196	80335	94608
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	55365	56683	58926	51516	60199
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	33163	34735	34759	30548	31300
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	23971	24542	25419	23500	23392
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	20648	20838	20934	20512	21969
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	4668	5933	7971	9875	12610
7	500 µl	100 µl	400 µl	4.0	1624	2413	3949	6361	11014

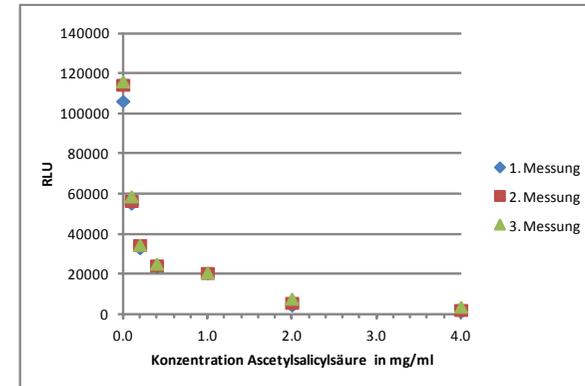


Diagramm 1: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Acetylsalicylsäure, 1., 2. und 3. Messung

Coffein

Coffein-Lösung: 10 mg/ml
NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Coffein	Konz. Coffein in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.0	110784	114250	115407	91346	105279
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	69053	71547	71568	49275	68079
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	50226	51399	52055	37267	65179
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	27285	28943	29653	26438	29789
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	19274	19096	19764	20064	20117
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	16171	16565	16406	15966	16665
7	500 µl	100 µl	400 µl	4.0	12812	13676	13446	12454	13819

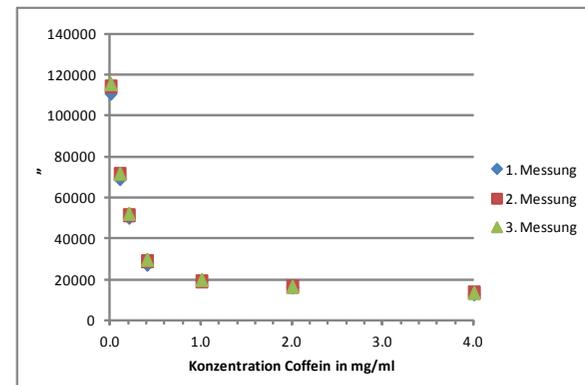


Diagramm 2: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Coffein, 1., 2. und 3. Messung

Paracetamol

Paracetamol-Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibriosis	NaCl	Paracetamol	Konz. Paracetamol in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.0	91414	102968	106876	68917	80335
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	100385	111192	112310	77413	86792
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	95696	102696	110543	68373	78364
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	83326	91346	101408	64635	72315
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	90530	97191	104818	68577	79248
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	67897	74640	76041	43566	61237
7	500 µl	100 µl	400 µl	4.0	34248	38682	42879	21194	29225

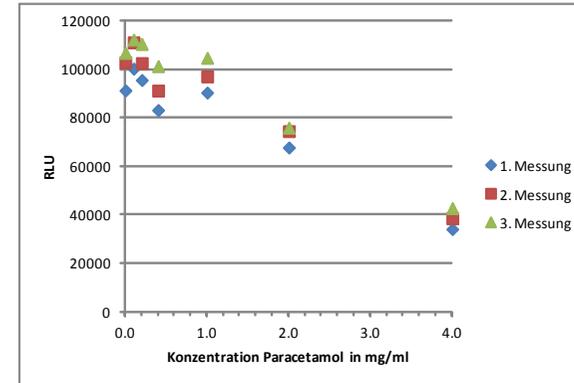


Diagramm 3: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Paracetamol, 1., 2. und 3. Messung

Ibuprofen

Ibuprofen-Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100mL dest. H₂O

	Vibriosis	NaCl	Ibuprofen	Konz. Ibuprofen in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.0	94880	105551	112938	73878	85161
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	9969	11697	13852	8629	15503
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	2487	1529	1050	6736	3598
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	175	264	463	105	853
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	17	17	18	1	25
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	0	0	0	0	0
7	500 µl	100 µl	400 µl	4.0					

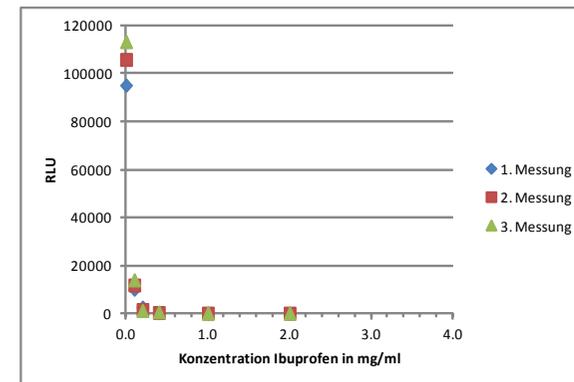


Diagramm 4: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Ibuprofen, 1., 2. und 3. Messung

Diclofenac

Diclofenac-Lösung: 10 mg/ml
NaCl: 2g NaCl / 100mL dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Diclofenac	Konz. Diclofenac in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.0	98142	106842	115497	75781	84957
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	35590	26098	15267	8231	4847
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	239	462	1072	124	2024
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	160	144	134	121	108
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	9	11	12	11	12
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	7	8	8	6	9
7	500 µl	100 µl	400 µl	4.0	2	1	1	0	2

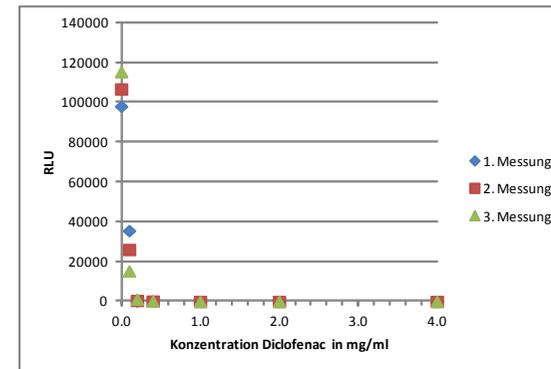


Diagramm 5: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Diclofenac, 1., 2. und 3. Messung

Ascorbinsäure

Ascorbinsäure-Lösung: 10 mg/ml
NaCl: 2g NaCl / 100mL dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Ascorbinsäure	Konz. Ascorbinsäure in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.0	111192	118532	120170	86316	97802
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	83937	98414	107046	74694	114604
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	87132	97463	109357	76801	118138
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	85365	98618	109289	75714	118138
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	82102	93521	106366	71704	115042
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	80335	93521	103512	68509	113171
7	500 µl	100 µl	400 µl	4.0	81966	91550	104327	73471	115285

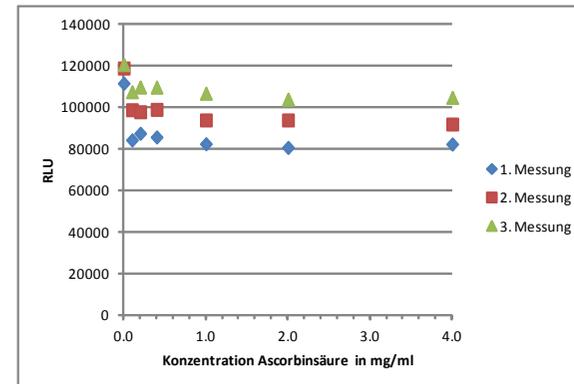


Diagramm 6: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Ascorbinsäure, 1., 2. und 3. Messung

Diclofenac 1:100 verdünnt

Diclofenac-Lösung: 10 mg/ml 1:100 verdünnt

NaCl: 2g NaCl / 100mL dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Diclofenac	Konz. Diclofenac in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.000	112687	114503	116091	127879	122950
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.001	84345	87064	91550	73403	94438
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.002	74898	76665	76915	69189	70888
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.004	46284	49275	52197	44721	56207
5	500 µl	400 µl	100 µl	0.010	37041	28749	23652	18822	47576
6	500 µl	300 µl	200 µl	0.020	15091	8284	5599	3713	32147
7	500 µl	100 µl	400 µl	0.040	16447	7163	4105	2582	30176

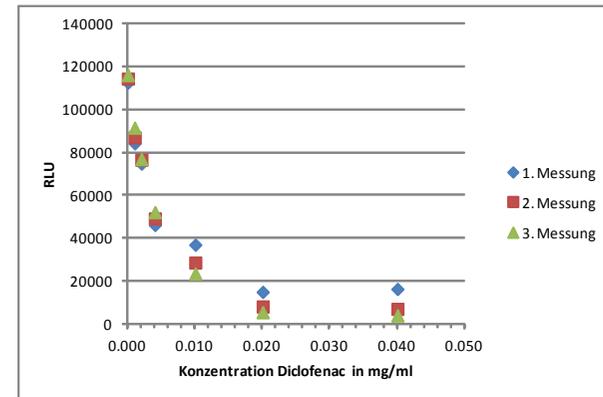


Diagramm 7: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Diclofenac 1:100 verdünnt, 1., 2. und 3. Messung

Ibuprofen 1:100 verdünnt

Ibuprofen-Lösung: 10 mg/ml 1:100 verdünnt

NaCl: 2g NaCl / 100mL dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Ibuprofen	Konz. Ibuprofen in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.000	123562	135184	135186	101405	142324
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.001	108201	116493	118926	93725	120748
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.002	92674	95310	95699	79927	89361
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.004	59086	59877	61334	63736	63004
5	500 µl	400 µl	100 µl	0.010	41984	42572	43158	43936	45102
6	500 µl	300 µl	200 µl	0.020	27053	27668	27942	26707	30448
7	500 µl	100 µl	400 µl	0.040	20596	20804	20985	20423	23652

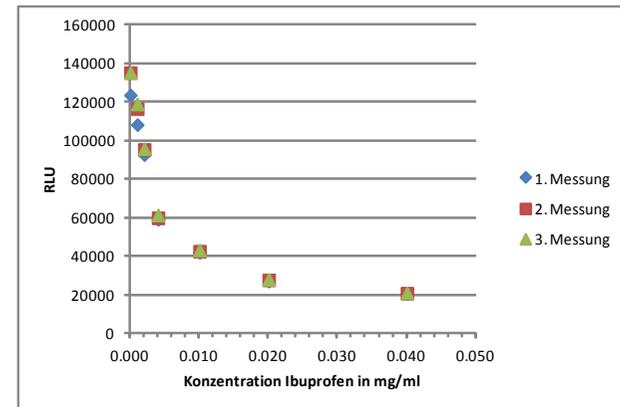


Diagramm 8: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Ibuprofen 1:100 verdünnt, 1., 2. und 3. Messung

Paracetamol (grössere Konzentrationen)

Paracetamol-Lösung: 10 mg/ml 1:100 verdünnt

NaCl: 2g NaCl / 100mL dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Ibuprofen	Konz. Ibuprofen in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung/Min	5. Messung/Max
1	500 µl	500 µl	0 µl	0.0	121455	133349	135931	98618	141562
2	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	92433	102764	107114	78908	111047
3	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	84549	95288	98414	71092	101705
4	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	49343	56139	61215	37517	63402
5	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	39828	48119	53796	31264	56083
6	500 µl	100 µl	400 µl	4.0	37245	43294	47780	26234	53611
7	500 µl	0 µl	500 µl	5.0	21345	27755	32005	14499	34407

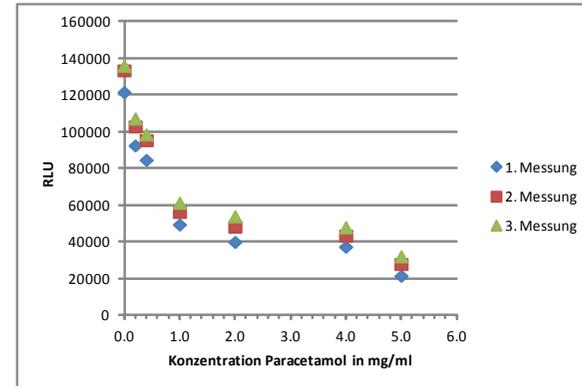


Diagramm 9: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Paracetamol, 1., 2. und 3. Messung

A10: Wirkung der Schmerzmittel auf *Vibrio fischeri* / Luminometer-Messungen

Aspirin: Rezeptur 500 mg Aspirin

Aspirin-Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Acetylsalicylsäure	Konz. Acetylsalicylsäure in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	5. Messung
1	500 µl	500 µl	0	0.0	172769	184799	184799	172769	161758
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	180381	186362	186974	129814	162574
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	171410	175148	182763	121862	149525
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	136747	142932	145899	98006	114182
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	73539	77499	77618	64853	80643
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	40400	40966	39895	37992	36565
7	500 µl	0 µl	500 µl	5.0	29972	30144	29330	28430	35206

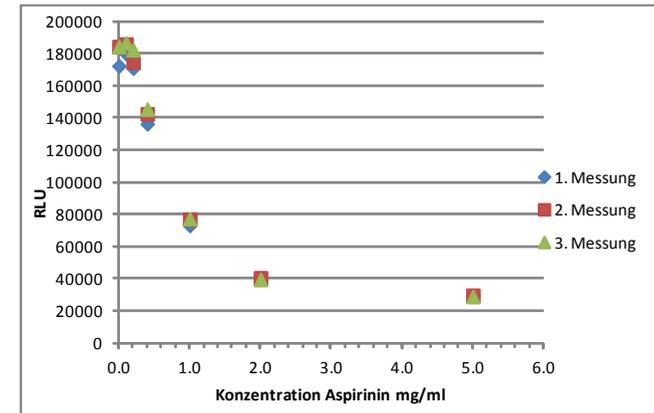


Diagramm 10: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Aspirin®, 1., 2. und 3. Messung

Panadol S: Rezeptur 500 mg Paracetamol

Panadol S-Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Panadol	Konz. Panadol in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	5. Messung
1	500 µl	500 µl	0	0.0	241550	249231	257471	178954	218034
2	500 µl	490 µl	20 µl	0.1	184323	194858	195809	186362	178206
3	500 µl	480 µl	50 µl	0.2	163254	174604	175827	125125	144019
4	500 µl	450 µl	100 µl	0.4	147486	150340	152923	134096	99298
5	500 µl	400 µl	200 µl	1.0	97463	105415	112497	68169	86520
6	500 µl	300 µl	400 µl	2.0	63140	68441	74030	42002	53421
7	500 µl	0 µl	500 µl	5.0	156049	35206	46488	51993	60161

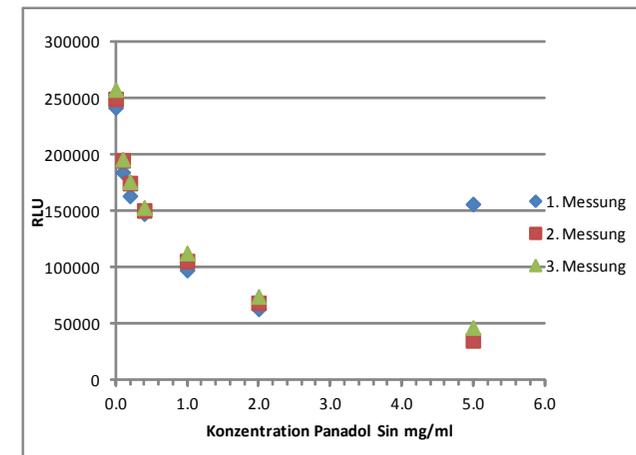


Diagramm 11: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Panadol S, 1., 2. und 3. Messung

Panadol + Coffein: Rezeptur 500mg Paracetamol + 65 mg Coffein

Panadol Extra -Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Panadol Extra	Konz. Paracetamol in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	5. Messung
1	500 µl	500 µl	0	0.0	192139	195469	199208	143340	166788
2	500 µl	490 µl	20 µl	0.1	170186	178002	179158	119823	148301
3	500 µl	480 µl	50 µl	0.2	149389	157137	157748	106842	130290
4	500 µl	450 µl	100 µl	0.4	100929	110512	118134	75849	86044
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	78976	83937	86248	58178	69800
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	55596	60532	62346	42342	51110
7	500 µl	0 µl	500 µl	5.0	40455	40478	40636	38234	39647

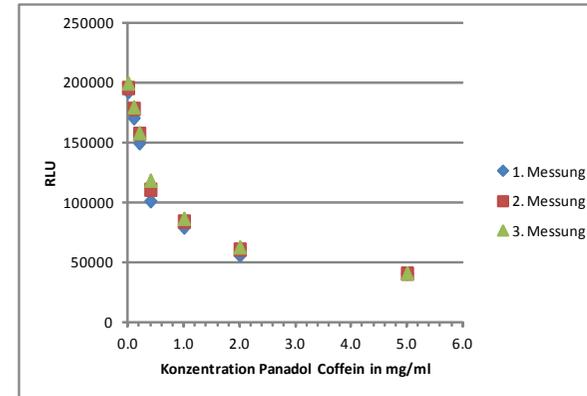


Diagramm 12: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Panadol Extra (Coffein), 1., 2. und 3. Messung

Panadol + Vitamin C : Rezeptur 500 mg Panadol + 300mg Vitamin C

Panadol Vit C-Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Panadol C	Konz. Paracetamol in mg/ml	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	5. Messung
1	500 µl	500 µl	0	0.0	183983	190304	196163	127775	152243
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	169031	172429	175623	111939	151224
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	144019	152039	150544	105754	128591
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	72655	81966	87608	63344	93164
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	55370	57838	58943	40915	50090
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	23312	23376	23436	17337	23422
	500 µl	0 µl	500 µl	5.0	4878	5292	5759	4562	4878

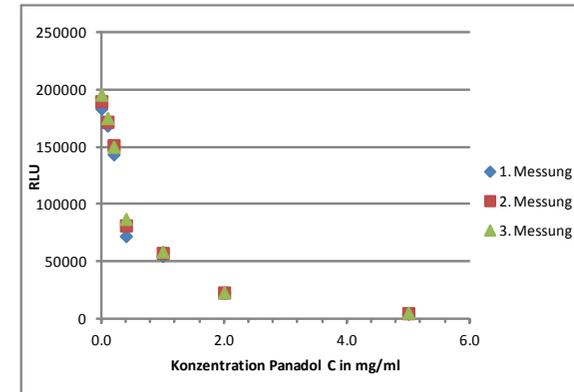


Diagramm 13: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Panadol C (Vitamin C), 1., 2. und 3. Messung

Algifor Rezeptur: 500 mg Algifor forte

Algifor-Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Algifor	Konz. Ibuprofen in mg/mL	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	5. Messung
1	500 µl	500 µl	0	0.0	218306	223811	227685	171613	208111
2	500 µl	495 µl	5 µl	0.1	57393	57771	57825	58019	62188
3	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	39561	39692	39880	39212	46148
4	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	18897	14437	11010	9915	9282
5	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	4750	2947	2092	1643	6906
6	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	1531	499	318	197	119
7	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	34	8	3	4	5
8	500 µl	0 µl	500 µl	5.0	0	0	0	0	0

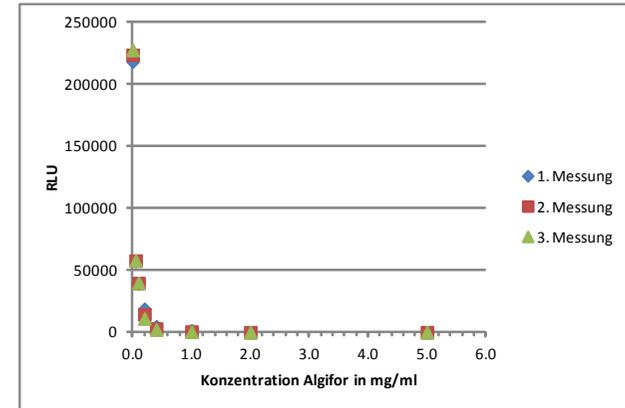


Diagramm 14: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Algifor (forte) 1., 2. und 3. Messung

Dafalgan: Rezeptur 500 mg Paracetamol

Dafalgan-Lösung: 10 mg/ml

NaCl: 2g NaCl / 100ml dest. H₂O

	Vibrios	NaCl	Paracetamol	Konz. Paracetamol in mg/mL	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	5. Messung
1	500 µl	500 µl	0	0.0	227821	229282	231831	166176	193702
2	500 µl	490 µl	10 µl	0.1	217355	220889	233384	158972	187857
3	500 µl	480 µl	20 µl	0.2	208927	210422	222085	150000	190848
4	500 µl	450 µl	50 µl	0.4	160671	171817	173992	119416	134096
5	500 µl	400 µl	100 µl	1.0	105687	119144	126076	91550	130548
6	500 µl	300 µl	200 µl	2.0	85908	97187	99904	65111	75917
7	500 µl	0 µl	500 µl	5.0	49207	54712	59694	41459	62088

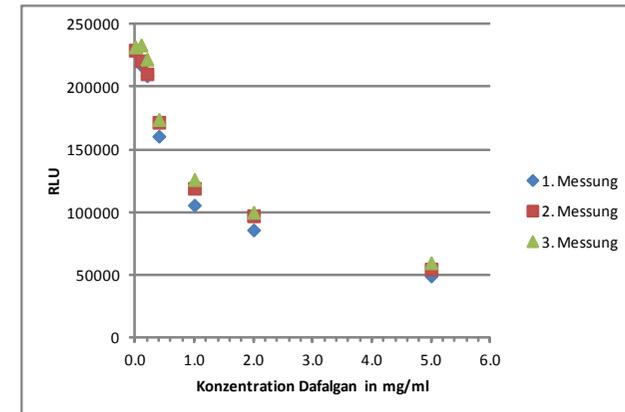


Diagramm 15: Leuchtkraftabnahme (RLU) der *V. fischeri* wegen der Konzentrationsänderung von Dafalgan 1., 2. und 3. Messung

A11: Daten zur Berechnung der Abbildungen 13-21 – Wirkstoffe

Konz. des Wirkstoffs (mg/ml)	Acetylsalicylsäure			Diclofenac			Ibuprofen			Coffein			Ascorbinsäure			Paracetamol		
	Durchschnittswert (RLU)	Standartabweichung (RLU)	%-Leuchtkraft															
0	112361	5230	100	106827	8678	100	104456	9078	100	113480	2405	100	116631	4781	100	130245	8040	100
0.1	56991	1800	51	25651	10168	24	11839	1945	11	70723	1446	62	96465	11677	83	128040	6586	98
0.2	25664	914	23	591	413	0.6	1688	731	1.6	51226	927	45	97984	11122	84	100770	7428	77
0.4	24644	729	22	146	13	0.14	300	147	0.3	28627	1215	25	97757	11985	84	92750	9060	71
1	20806	145	19	11	1.5	0.01	17	0.6	0.016	19378	346	17	93996	12139	80	51255	7149	39
2	6190	1666	6	8	0.6	0.007	0	0	0	16380	198	14	92456	11625	79	47247	4354	36
4	2662	1182	2	1	0.6	0.0009				13311	447	11	92614	11218	79	42773	4316	33

Tabelle: Durchschnittswert und Standartabweichung in RLU angegeben, sowie die Leuchtkraftabnahme in Prozent der Wirkstoffe

A12: Daten zur Berechnung der Abbildungen 13-21 – Schmerzmittel

Konz. des Wirkstoffs (mg/ml)	Aspirin®			Dafalgan®			Panadol S®			Panadol C®			Panadol Extra®			Algifor forte®		
	Durchschnittswert (RLU)	Standartabweichung (RLU)	%-Leuchtkraft															
0	180789	6946	100	229644	2029	100	249417	7962	100	190150	6091	100	195605	3536	100	223267	4713	100
0.05																57663	235	26
0.1	184572	3642	102	223876	8422	97	191663	6374	77	172361	3297	88	175782	4881	90	39711	160	18
0.2	176440	5785	98	213811	7204	93	171228	6933	69	148867	4265	76	154758	4660	79	14781	3955	7
0.4	141859	4669	78	168826	7146	74	150249	2719	60	80743	7551	41	109858	8621	56	3163	1357	1.4
1	76218	2321	42	116969	10367	51	105125	7521	42	57383	1829	29	83053	3716	42	783	654	0.35
2	40420	536	23	94333	7422	41	68537	5446	27	23375	62	12	59491	3493	30	15	17	0.007
5	29815	429	16	54538	5246	24	32433	66750	13	5310	441	3	40523	99	21	0	0	0

Tabelle: Durchschnittswert und die prozentuale Leuchtkraftabnahme von *V. fischeri* der Wirkstoffe Acetylsalicylsäure, Diclofenac, Ibuprofen, Coffein und Ascorbinsäure, Paracetamol, nach der Konzentration

A13/14: Daten zur Berechnung der Abbildungen 15-21, Konzentrationsänderung von Paracetamol, Diclofenac und Ibuprofen

Konzentration des Wirkstoffs (mg/ml)	Paracetamol		
	Standardabweichung (RLU)	Durchschnittswert (RLU)	%-Leuchtkraft
0	7721	130245	100
0.2	7541	100770	77
0.4	7273	92750	71
1	5957	55566	43
2	7025	47247	36
4	5287	42773	33
5	5366	27035	21

Konzentration des Wirkstoffs (mg/ml)	Diclofenac 1:100 verdünnt			Ibuprofen 1:100 verdünnt		
	Durchschnittswert (RLU)	%-Leuchtkraft	Standardabweichung (RLU)	Durchschnittswert (RLU)	%-Leuchtkraft	Standardabweichung (RLU)
0	114427	100	1703	131310	100	6710
0.001	87653	76	3638	114540	87	5623
0.002	76159	67	1099	94561	72	1646
0.004	49252	43	2957	60099	46	1140
0.01	29814	26	6758	42571	32	578
0.02	9658	8	4893	27554	21	455
0.04	9238	8	6427	20795	16	195

Tabelle: Durchschnittswert und die prozentuale Leuchtkraftabnahme von *V. fischeri* der Wirkstoffe Paracetamol, Diclofenac und Ibuprofen 1:100 verdünnt, nach der Konzentration

9 Redlichkeitserklärung

Ich erkläre hiermit,

- dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen verfasst habe,
- dass ich auf eine eventuelle Mithilfe Dritter in der Arbeit ausdrücklich hinweise,
- dass ich vorgängig die Schulleitung und die betreuende Lehrperson informiere, wenn ich diese Maturaarbeit, bzw. Teile oder Zusammenfassungen davon veröffentlichen werde, oder Kopien dieser Arbeit zur weiteren Verbreitung an Dritte aushändigen werde.

Ort: Schenkon

Datum: 15.10.2012

Unterschrift: Céline Ghidoni