

Mariusz DUDZIAK¹ i Edyta BURDZIK-NIEMIEC¹

BADANIA PORÓWNAWCZE ROZKŁADU WYBRANYCH ESTROGENÓW I KSENOESTROGENÓW W PROCESIE UV I UV/O₃

COMPARATIVE STUDIES ON ELIMINATION OF SELECTED ESTROGENS AND XENOESTROGENS BY UV AND UV/O₃ PROCESSES

Abstrakt: Obecność mikrozanieczyszczeń organicznych, a szczególnie substancji zakłócających procesy hormonalne (*Endocrine Disrupters Compounds* EDCs) w wodach powierzchniowych stanowi potencjalne zagrożenie dla zdrowia i życia organizmów żywych, w tym również dla człowieka. Niebezpieczna aktywność biologiczna tych związków (w tym ich toksyczność) oraz duża odporność na biodegradację stwarza konieczność prowadzenia badań nad ich usuwaniem w konwencjonalnych i niekonwencjonalnych procesach uzdatniania wody i oczyszczania ścieków. Na podstawie coraz częstszych doniesień w literaturze przedmiotowej, dotyczących skuteczności zastosowania różnych technik zaawansowanego utleniania do eliminacji mikrozanieczyszczeń, podjęto badania nad oceną efektywności eliminacji 17 β -estradiolu (E2), 17 α -etynyloestradiolu (EE2) oraz bisfenolu A (BPA) z rzeczywistego odpływu z oczyszczalni ścieków komunalnych w procesie fotolizy (UV) oraz w procesie łącznym fotoliza i ozonowanie (UV/O₃). Uzyskane wyniki badań porównano pod kątem skuteczności rozkładu badanych związków dla wody zdejonizowanej. Określono, że zarówno zastosowanie procesu UV, jak i UV/O₃ umożliwiło osiągnięcie wysokich stopni rozkładu dla 17 β -estradiolu oraz 17 α -etynyloestradiolu bez względu na rodzaj oczyszczanego roztworu. Rozkład związków następował w bardzo krótkim czasie trwania procesów, natomiast efektywność eliminacji bisfenolu A zależała od zastosowanego procesu oraz składu fizykochemicznego roztworu. Wykazano, że połączenie fotolizy z ozonowaniem umożliwiło osiągnięcie wyższego stopnia rozkładu badanego związku niż w przypadku pojedynczego procesu UV.

Słowa kluczowe: eliminacja mikrozanieczyszczeń, EDCs, bisfenol A, 17 β -estradiol, 17 α -etynyloestradiol, oczyszczenie ścieków, fotoliza, fotoliza i ozonowanie

Wprowadzenie

Związki zakłócające procesy hormonalne (*Endocrine Disrupters Compounds* EDCs) to substancje chemiczne, które wywołują negatywne skutki w systemach dokrewnych zwierząt i ludzi. Grupa ta obejmuje naturalne estrogeny (np. 17 β -estradiol), syntetyczne estrogeny (np. 17 α -etynyloestradiol), naturalne androgeny, hormony roślinne tzw. fitoestrogeny, a także inne związki przemysłowe, tzw. ksenoestrogeny (np. bisfenol A) [1]. Dotychczasowe badania wykazały, że EDCs w organizmach żywych mogą powodować problemy z płodnością oraz zwiększyć ryzyko zachorowania na choroby nowotworowe [2]. Źródłem EDCs dla organizmów żywych jest głównie żywność i woda. Ze względu na fakt, że konwencjonalne procesy oczyszczania ścieków oparte o metodę osadu czynnego nie pozwalają na kompletną eliminację EDCs [3-5], w ostatnich latach trwają prace nad zastosowaniem w tym aspekcie zaawansowanych procesów utleniania (*Advanced Oxidation Processes* AOPs). Aktualnie w ramach badań nad procesami AOPs podejmowane są próby wykorzystywania zjawiska synergizmu działania różnych

¹ Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska, ul. S. Konarskiego 18, 44-100 Gliwice, tel. 32 237 16 98, fax 32 237 10 47, email: edyta.burdzik@polsl.pl

^{*} Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 14, Jarnołtówek, 15-17.10.2014

utleniający, np. ozonu (O_3), oraz promieniowania UV, co ma za zadanie zwiększyć efekty, jak również szybkość rozkładu substancji organicznych [6].

Celem pracy było porównanie efektywności rozkładu trzech związków należących do grupy EDCs, tj. 17β -estradiolu (E2), 17α -etynyloestradiolu (EE2) oraz bisfenolu A (BPA), z rzeczywistego odpływu z oczyszczalni ścieków komunalnych w procesie UV oraz UV/ O_3 . Związki te przede wszystkim różniły się pochodzeniem oraz stabilnością w roztworze wodnym. 17β -estradiol to naturalny hormon płciowy z grupy estrogenów. Z kolei 17α -etynyloestradiol to syntetyczny hormon płciowy stosowany jako składnik większości współczesnych środków antykoncepcyjnych. Natomiast bisfenol A jest organicznym związkiem chemicznym z grupy fenoli wytwarzanym przez człowieka wykazującym aktywność estrogeniczną. Uzyskane wyniki badań porównano pod kątem skuteczności rozkładu wybranych związków dla wody zdejonizowanej. Stopień usunięcia badanych EDCs określono przy użyciu techniki chromatografii GC-MS (EI) po wcześniejszym wydzieleniu związków z wody z użyciem ekstrakcji do fazy stałej (*Solid Phase Extraction* SPE) i przeprowadzeniu analitów w pochodne sililowe (etap przygotowawczy przed ich chromatograficznym oznaczeniem).

Materiały i metodyka badań

Wzorce badanych związków (17β -estradiol, 17α -etynyloestradiol i bisfenolu A) pochodziły z firmy Sigma-Aldrich (Poznań, Polska). Jako czynnik sililujący stosowano N-metyl-N-(trimetylsilyl)-trifluoroacetamid (MSTFA) firmy Sigma-Aldrich (Poznań, Polska). W badaniach wykorzystano ponadto metanol o czystości $>99,8\%$ i acetonitryl o czystości $>99,5\%$ firmy Avantor (Gliwice, Polska). Do ekstrakcji do fazy stałej SPE stosowano kolumnienki SupelcleanTM ENVI-18 o objętości 6 cm^3 (1,0 g) firmy Supelco (Poznań, Polska) i komorę ciśnieniową SPE tej samej firmy.

Oczyszczaniu w procesach UV i UV/ O_3 poddano roztwory sporządzone na bazie wody zdejonizowanej oraz odpływ rzeczysty po biologicznym oczyszczaniu z dodatkiem wzorców badanych związków w stałym stężeniu $500\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Oczyszczany odpływ pierwotnie nie zawierał badanych związków. Charakterystyka fizyczno-chemiczna badanych roztworów została przedstawiona w tabeli 1.

Tabela 1
Charakterystyka fizyczno-chemiczna badanych roztworów zawierających EDCs

The physical and chemical characteristics of the investigated solutions including EDCs

Table 1

Oczyszczany roztwór	pH [*] [-]	Przewodność właściwa [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	Absorbancja (UV ₂₅₄) [1/cm]	Ogólny węgiel organiczny (OWO) [mg/dm^3]
Woda zdejonizowana	7,0	5,180	0,000	0,00
Odpływ rzeczysty		985,2	0,218	33,01

*korygowano roztworem kwasu solnego HCl o stężeniu $0,1\text{ mol}/\text{dm}^3$ lub roztworem wodorotlenku sodowego NaOH $0,1\text{ mol}/\text{dm}^3$

Odpływ rzeczysty pobrano z oczyszczalni ścieków bytowych zlokalizowanej w zachodniej Polsce pracującej w układzie mechaniczno-biologicznym. Do pomiarów pH oraz przewodności właściwej stosowano laboratoryjny miernik wieloparametrowy inoLab[®]

740 wyprodukowany przez WTW, Pomiarowy i Analityczny Sprzęt Techniczny (Wrocław, Polska). Absorbancję mierzono przy długości fali 254 nm z użyciem UV VIS Cecil 1000 firmy Analytik Jena AG (Poznań, Polska), a stężenie ogólnego węgla organicznego określano analizatorem HiPerTOC firmy Thermo Elektron (Gliwice, Polska).

W celu umożliwienia oznaczenia chromatograficznego GC-MS (EI) badanych EDCs z roztworów o objętości 100 cm³ (pH = 7) wydzielano badane związki z użyciem ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Złoże kolumnienki przed ekstrakcją kondycjonowano acetonitrylem (5 cm³) i metanolem (5 cm³), a następnie przepłukano wodą zdejonizowaną (5 cm³). Wydzielone związki eluowano mieszanką acetonitrylu z metanolem (40/60, v/v) o objętości 1 cm³. Kolejno, ekstrakt poddawano suszeniu pod lekkim strumieniem azotu, a następnie poddawano silylacji za pomocą MSTFA w ilości 30 mm³. Po 30-minutowym czasie reakcji w temperaturze 55°C otrzymane pochodne silylowe badanych związków analizowano chromatograficznie.

Oznaczenia chromatograficzne przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu gazowego sprzężonego z detektorem masowym z jonizacją elektronową GC-MS (EI) (typu pułapka jonowa), model Saturn 2100 T firmy Varian (Warszawa, Polska). Ekstrakt rozdzielano w kolumnie SLBTM-5 ms firmy Supelco (Warszawa, Polska) o wymiarach 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, stosując następujący program temperaturowy: 80°C (1 min), 20°C/min do 300°C (3,5 min). Pozostałe parametry temperaturowe były następujące: iniektor 300°C, pułapka jonowa 180°C i źródło jonów 290°C. Fazę nośną stanowił hel (przepływ 1,4 ml/min). Nastrzyki próbki o objętości 1 mm³ wykonywano manualnie przy pomocy mikrostrzykawki o pojemności 10 mm³ firmy Hamilton (Warszawa, Polska). Detektor masowy pracował w trybie rejestracji jonów w zakresie od 70 do 400 m/z.

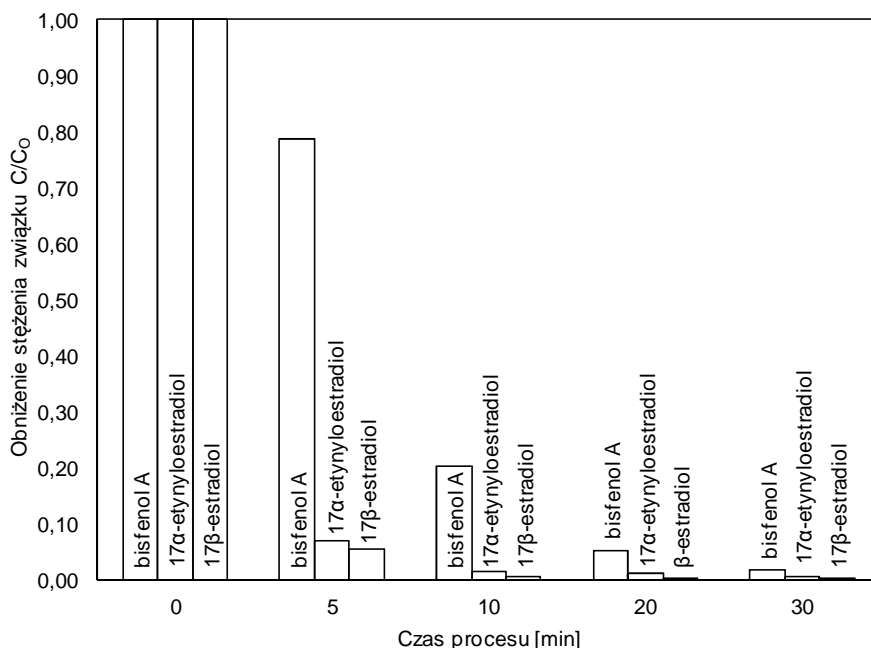
Zastosowana procedura analityczna charakteryzuje się odzyskiem badanych EDCs w zakresie od 66 (bisfenol A) do 100% (17β-estradiol i 17α-etynyloestradiol), co zostało określone dla wody zdejonizowanej z wprowadzonymi wzorcami związków o stężeniu 500 µg/dm³. Granica oznaczalności (w ng/dm³) kształtowała się następująco: 20 dla bisfenolu A, 40 dla 17α-etynyloestradiol i 200 dla 17β-estradiolu.

Proces fotolizy prowadzono w temperaturze 20°C w reaktorze porcjowym firmy Heraeus (Warszawa, Polska) ze średniociśnieniową lampą zanurzeniową o mocy 150 W. Naświetlanie prowadzono w sposób ciągły przez 30 minut. Z kolei ozon wprowadzano do reaktora poprzez dyfuzor ceramiczny z przesunięciem czasowym w stosunku do naświetlania, co miało za zadanie umożliwić porównanie efektywności pojedynczego procesu naświetlania roztworu oraz procesu łącznego. Ozon wytwarzano z powietrza w generatorze Ozoner FM 500 o wydajności 0,14 mg/s firmy WRC Multiozon. Dawka ozonu była stała i wynosiła 3 mg O₃/dm³.

Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie badań porównano skuteczność rozkładu badanych EDCs w pojedynczym procesie fotolizy przeprowadzonym dla rzeczywistego odpływu ścieków (rys. 1). Określono, że wraz ze wzrostem czasu naświetlania roztworu obniżało się stężenie 17β-estradiolu, 17α-etynyloestradiolu oraz bisfenolu A. Największe obniżenie stężenia w przypadku badanych estrogenów zaobserwowano w początkowym czasie naświetlania. Już po 5 minutach trwania procesu stopień rozkładu 17α-etynyloestradiolu wynosił

ok. 93%, a 17 β -estradiolu 94%. Natomiast porównywalne obniżenie stężenia bisfenolu A nastąpiło dopiero po 20-minutowym czasie naświetlania. Zjawisko to może wynikać z różnej budowy strukturalnej oraz właściwości fizykochemicznych badanych związków, co bezpośrednio wpływa na ich stabilność czy też reaktywność w roztworach wodnych [7]. Należy również pamiętać, że bisfenol A jest związkiem charakteryzującym się dużą trwałością w środowisku wodnym [8-11].



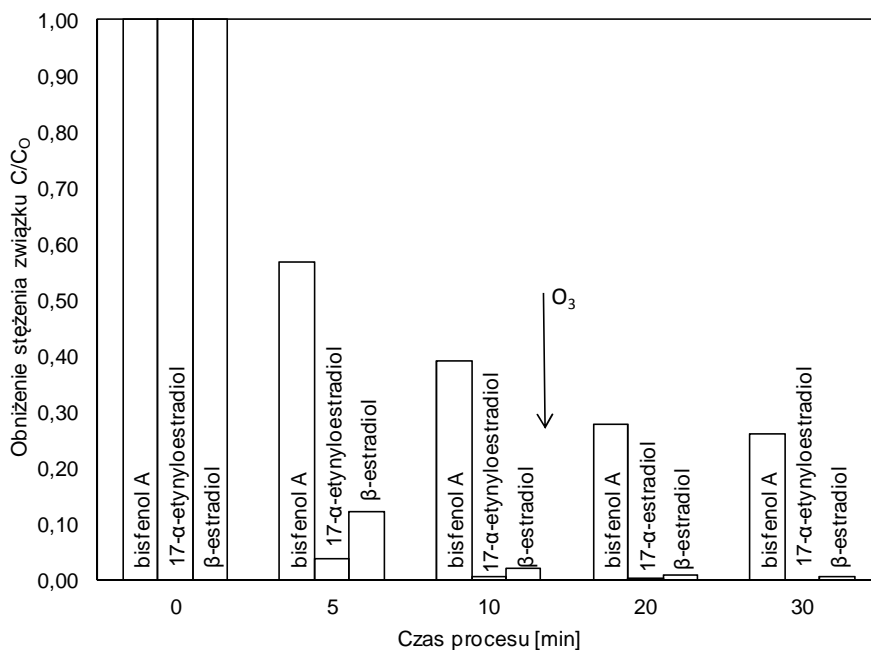
Rys. 1. Wpływ czasu naświetlania na obniżenie stężenia badanych EDCs w procesie fotolizy rzeczywistego odpływu ścieków

Fig. 1. The influence of radiation time on the decrease of EDCs concentration in the ozonation process of the real effluent

Skuteczność rozkładu estrogenów była porównywalna dla odpływu rzeczywistego i dla wody zdejonizowanej (wyników tych badań nie zamieszczono w pracy). W przypadku bisfenolu A rozkład związku dla wody zdejonizowanej w porównaniu do odpływu rzeczywistego był niższy bez względu na zastosowany czas naświetlania. Wyjaśnienie tego zjawiska zamieszczono w dalszej części pracy.

W dalszym etapie eksperymentu wodę zdejonizowaną zawierającą badane związki poddano oczyszczaniu w łącznym procesie fotoliza i ozonowanie. Wprowadzenie ozonu do reaktora z opóźnieniem czasowym w stosunku do naświetlania miało za zadanie umożliwić porównanie efektywności pojedynczego procesu naświetlania oraz procesu łącznego naświetlania i ozonowanie. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 2. Zaobserwowano, że stopień rozkładu zarówno 17 β -estradiolu, jak i 17 α -etynyloestradiolu po dodaniu do reaktora ozonu nie zwiększył się, natomiast w przypadku bisfenolu A po dołączeniu

ozonowania stopień rozkładu związku wynosił ponad 75% (wzrost o ok. 20%). Następnie pomimo dalszego naświetlania roztworu stężenie związku utrzymywało się na zbliżonym poziomie. Wyniki uzyskane dla 17 β -estradiolu i 17 α -etynyloestradiolu dowodzą, że efekt synergiczny działania różnych procesów nie zawsze jest obserwowany. Należy jednak zaznaczyć, że skuteczność rozkładu estrogenów była już wysoka w pojedynczym procesie fotolizy. Jednak można było zakładać, że po dodaniu ozonu związki te zostaną całkowicie usunięte. Także Esplugas i in. w pracy [12] nie zaobserwowali efektu synergii przy zastosowaniu różnych kombinacji procesów utleniania (O₃/H₂O₂, UV/O₃ i O₃/UV/H₂O₂) w przypadku eliminacji fenolu z roztworów wodnych. Może to wynikać z faktu, że efektywność procesu utleniania zależy od wielu czynników, takich jak na przykład odczyn i skład fizykochemiczny roztworu, stężenie usuwanej substancji czy też właściwości samego reagenta [13].

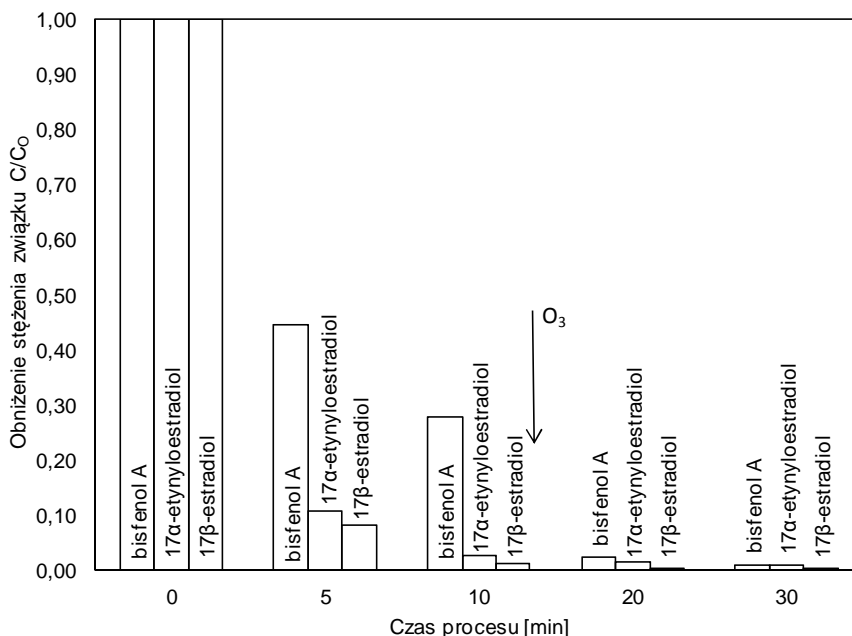


Rys. 2. Wpływ czasu naświetlania na obniżenie stężenia EDCs w łącznym procesie fotolizy i ozonowania wody zdejonizowanej

Fig. 2. The influence of the radiation time on EDCs decomposition in a combined process of photolysis and ozonation of the deionized water

W końcowej części badań oczyszczaniu poddano rzeczywisty odpływ ścieków (rys. 3). Otrzymane wyniki dowodzą, że w przypadku 17 β -estradiolu oraz 17 α -etynyloestradiolu również dla rzeczywistego odpływu ścieków nie zaobserwowano efektu synergicznego działania różnych procesów. Natomiast po wprowadzeniu ozonu do reaktora stężenie bisfenolu A obniżyło się do bardzo wysokiego poziomu ok. 98% (wzrost o ok. 40%).

Obserwowany wyższy stopień rozkładu bisfenolu A dla rzeczywistego odpływu ścieków w porównaniu do wody zdejonizowanej (rys. 2) może wynikać z faktu, że w ściekach po biologicznym oczyszczaniu mogły być obecne substancje chemiczne wykazujące podobne działanie do fotosensybilizatorów wspomagające proces utleniania. Zjawisko to zostało opisane przez Neamtu i Frimmela w pracy [14]. Fotosensybilizatory to związki chemiczne posiadające zdolność pochłaniania energii promieniowania elektromagnetycznego i przekazywania jej innym substancjom biorącym udział w reakcjach fotochemicznych. Prace w tym zakresie wymagają jednak kontynuacji.



Rys. 3. Wpływ czasu naświetlania na obniżenie stężenia EDCs w łącznym procesie fotolizy i ozonowania rzeczywistego odpływu ścieków

Fig. 3. The influence of the radiation time on EDCs decomposition in a combined process of photolysis and ozonation of the real effluent

Wnioski

Określono, że zarówno zastosowanie procesu UV, jak i UV/O₃ umożliwiło osiągnięcie zbliżonych stopni rozkładu dla 17β-estradiolu oraz 17α-etynyloestradiolu. Rozkład związków następował w bardzo krótkim czasie trwania procesów. W przypadku eliminacji estrogenów dodawanie ozonu do układu oczyszczania nie jest jednak konieczne. Estrogeny pomimo zastosowania złożonego procesu oczyszczania nie zostały kompletnie usunięte. Nie zaobserwowano także wyraźnych różnic pomiędzy oczyszczanymi roztworami (woda zdejonizowana, odpływ rzeczywisty). W przypadku bisfenolu A wykazano, że łączne wykorzystanie naświetlania i ozonowania jest korzystniejsze niż stosowanie pojedynczego procesu fotolizy. Rozkład bisfenolu A podczas oczyszczania odpływu rzeczywistego

był wyższy niż w przypadku wody zdejonizowanej. Prawdopodobnie związane jest to z obecnością w odpływie rzeczywistym ścieków, tzw. fotosensybilizatorów, które wspomagają proces rozkładu bisfenolu A. Prace w tym zakresie wymagają jednak kontynuacji w celu identyfikacji substancji wspomagających lub hamujących proces utleniania małocząsteczkowych mikrozanieczyszczeń. Niezbędne będzie przeprowadzenie szeregu eksperymentów z wykorzystaniem modelowego odpływu ścieków.

Literatura

- [1] Liu ZH, Kanjo Y, Mizutani S. *Sci. Total Environ.* 2009;407:731-748. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.08.039.
- [2] Campbell CG, Borglin SE, Green FB, Grayson A, Wozni E, Stringfellow WT. *Chemosphere.* 2006;65:1265-1280. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.08.003.
- [3] Snyder SA, Keith TL, Verbrugge DA, Snyder EM, Gross TS, Kannan K, et al. *Environ Sci Technol.* 1999;33:2814-2820. DOI: 10.1021/es981294f.
- [4] Hai FI, Li X, Price WE, Nghiem LD. *Bioresour Technol.* 2011;102:10386-10390. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.09.019.
- [5] Tadkaew N, Hai FI, McDonald JA, Khan SJ, Nghiem LD. *Water Res.* 2011;45:2439-2451. DOI: 10.1016/j.watres.2011.01.023.
- [6] Pereira VJ, Galinha J, Crespo MT, Crespo JG. *Sep Purif Technol.* 2012;95:89-96. DOI: 10.1016/j.seppur.2012.04.013.
- [7] Zhang Z, Feng Y, Liu Y, Sun Q, Gao P, Ren N. *J Hazard Mater.* 2010;181:1127-1133. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.05.132.
- [8] Matejczyk M, Zalewski P. *Kosmos. Probl Nauk Biol.* 2011;290-291:17-32.
- [9] Perkowski J, Kos L. *Zastosowanie ozonu.* Łódź: Polska Akademia Nauk; 2005.
- [10] Stuer-Lauridsen F, Birkved M, Hansen LP, Holten Lützhøft H-C, Halling-Sørensen B. *Chemosphere.* 2000;40:783-793. DOI: 10.1016/S0045-6535(00)00152-1.
- [11] Toyama Y, Suzuki-Toyota F, Maekawa M, Ito C, Toshimori K. *Archives Histol Cytol.* 2004;67:373-381. DOI: 10.1067/aohc.67.373.
- [12] Esplugas S, Gimenez J, Contreras S, Pascual E, Rodriguez M. *Water Res.* 2002;36:1034-1042. DOI: 10.1016/S0043-1354(01)00301-3.
- [13] Gottschalk C, Libra JA, Saupe A. *Ozonation of Water and Wastewater. A Practical Guide to Understanding Ozone and its Application.* New York: Wiley-VCH; 2000.
- [14] Neamtu M, Frimmel FH. *Water Res.* 2006;47:3745-3750. DOI: 10.1016/j.watres.2006.08.019.

COMPARATIVE STUDIES ON ELIMINATION OF SELECTED ESTROGENS AND XENOESTROGENS BY UV AND UV/O₃ PROCESSES

¹ Institute of Water and Wastewater Engineering, Silesian University of Technology, Gliwice

Abstract: The presence of organic micropollutants, especially endocrine disrupting compounds (EDCs) in surface waters is a potential threat to the health and life of living organisms, including humans. Dangerous biological activity of these compounds (including their toxicity) and high biodegradation resistance leads to investigations on their removal in the conventional and unconventional processes of water purification and sewage treatment, such as UV and UV/O₃. Based on the frequent reports in literature, studies on the elimination efficiency of 17 β -estradiol (E₂), 17 α -ethinylestradiol (EE₂) and bisphenol A (BPA) from real urban wastewater effluents by means of photolysis (UV) and photolysis with ozonation (UV/O₃) processes were undertaken. The obtained results were juxtaposed in terms of the efficiency of these compounds elimination from deionized water. It was established that both process, UV and the combination of UV/O₃ resulted in high level of 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol decomposition. Even very short duration of the processes were sufficient for decomposition of the compounds. However, bisphenol A elimination efficiency differed depending on the chemical composition of the solution and kind of the investigated processes. It was indicated that the combination of photolysis and ozonation led to the highest level of compound decomposition.

Keywords: micropollutants elimination, EDCs, bisphenol A, 17 β -estradiol, 17 α -ethinylestradiol, wastewater effluent, photolysis, photolysis with ozonation