

Jolanta BOHDZIEWICZ¹, Edyta KUDLEK¹ i Mariusz DUDZIAK¹

ZMIANY TOKSYCZNOŚCI WODY ZAWIERAJĄCEJ WYBRANE FARMACEUTYKI W PROCESIE UTLENIANIA FOTOKATALITYCZNEGO

TOXICITY CHANGES OF WATER CONTAINING SELECTED PHARMACEUTICALS DURING THE PHOTOCATALYTIC OXIDATION PROCESS

Abstrakt: Spośród metod badań jakościowych wody i ścieków wymienia się obecnie test MICROTOX[®], w którym w charakterze bioindykatora są stosowane bakterie luminescencyjne *Vibrio fischeri*. W pracy przedstawiono wyniki analizy toksyczności roztworów wodnych, zawierających wybrane farmaceutyki z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (diklofenak, ibuprofen) przed i po procesie utleniania fotokatalitycznego. Badano zarówno wpływ stężenia leku, jak i czasu utleniania na zmianę toksyczności próbek wodnych. Stopień usunięcia badanych farmaceutyków został oceniony z użyciem HPLC. Określono, że zastosowanie testu MICROTOX[®] może być przydatne w ocenie ryzyka wynikającego z możliwości powstawania produktów ubocznych procesu utleniania badanych związków farmaceutycznych.

Słowa kluczowe: mikrozanieczyszczenia, oczyszczanie strumieni wodnych, toksyczność, test MICROTOX[®], uboczne produkty utleniania

Wstęp

Wzrastające stężenia mikrozanieczyszczeń o aktywności farmaceutycznej w środowisku wodnym budzą współcześnie duży niepokój. Wprawdzie liczne badania wykazały ich nieznaczny wpływ na organizmy wodne poddane krótkotrwałej ekspozycji danego specyfiku, to jednak nieznany jest efekt długotrwałego narażenie organizmów na z pozoru niewielkie stężenia substancji uznawanych za substancje wysoko reaktywne biologicznie, kształtujące się na poziomie od kilku ng/dm³ do kilku µg/dm³ [1, 2]. Farmaceutyki podlegają w środowisku wielu przemianom, w wyniku których powstają niejednokrotnie związki charakteryzujące się znacznie większą toksycznością niż związek pierwotny [3, 4]. W trakcie procesu chemicznego utleniania farmaceutyków oraz innych mikrozanieczyszczeń [5] powstaje szeroka gama nowych zanieczyszczeń, będących produktami reakcji pomiędzy utleniaczem a składnikami oczyszczanej wody [6].

W pracy podjęto próbę oceny toksyczności roztworów wodnych zawierających wybrane związki farmaceutyczne z grupy niesteroidowych leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych (diklofenak - DCL, ibuprofen - IBU) przed i po procesie utleniania fotokatalitycznego. Stopień usunięcia badanych farmaceutyków określono przy użyciu HPLC.

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

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'13, Jarnołtówek, 23-26.10.2013

Materiały i metodyka badań

Fotokatalizie poddano roztwory wody modelowej sporządzone na bazie wody dejonizowanej (pH = 7) z dodatkiem wzorca diklofenaku i ibuprofenu o stężeniach 0,5, 1, 2 oraz 5 mg/dm³. Wzorce obu badanych farmaceutyków pochodziły z firmy Sigma-Aldrich.

Efektywność procesu, wyrażoną stopniem usunięcia podmiotowych mikrozanieczyszczeń farmaceutycznych, oceniono z wykorzystaniem chromatografii HPLC. Analizę toksyczności próbek wody wykonano za pomocą testu MICROTOX[®].

Proces fotokatalicznego utleniania prowadzono w reaktorze porcjowym firmy Heraeus, wyposażonym w średniociśnieniową lampę zanurzeniową o mocy 150 W, umieszczoną w płaszczu chłodzącym, co zapewniało utrzymanie stałej temperatury prowadzenia procesu wynoszącej 20°C. Układ napowietrzano za pomocą pompki napowietrzającej. Jako katalizator zastosowano komercyjny dwutlenek tytanu firmy Degussa, oznaczony symbolem handlowym P25 w dawce 50 mg TiO₂/dm³. Próbki wody pobierano po dodaniu katalizatora (15 min), a następnie po 5, 10, 15, 30, 45 oraz 60 min naświetlania.

Stężenie diklofenaku oraz ibuprofenu w próbkach wody przed i po procesie utleniania fotokatalicznego oznaczono za pomocą analizy ilościowej badanego farmaceutyku techniką chromatografii cieczowej HPLC poprzedzonej ekstrakcją do fazy stałej SPE. Do ekstrakcji wykorzystano kolumnienki Supelclean[™] ENVI-8 (objętość 6 cm³ i 1,0 g fazy) firmy Supelco. Złoże kolumnienki kondycjonowano metanolem, a następnie przepłukiwano wodą dejonizowaną o pH = 7. Po ekstrakcji złoże osuszano pod próżnią. Wydzielone związki odmywano metanolem. Do oznaczeń wykorzystano wysokosprawny chromatograf cieczowy HPLC firmy Varian (detektor UV, długość fali λ = 220 nm), wyposażony w kolumnę Hypersil GOLD firmy Thermo Scientific o długości 25 cm, średnicy 4,6 mm i uziarnieniu 5 μ m. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitryl/woda w proporcjach 85:15 (v/v).

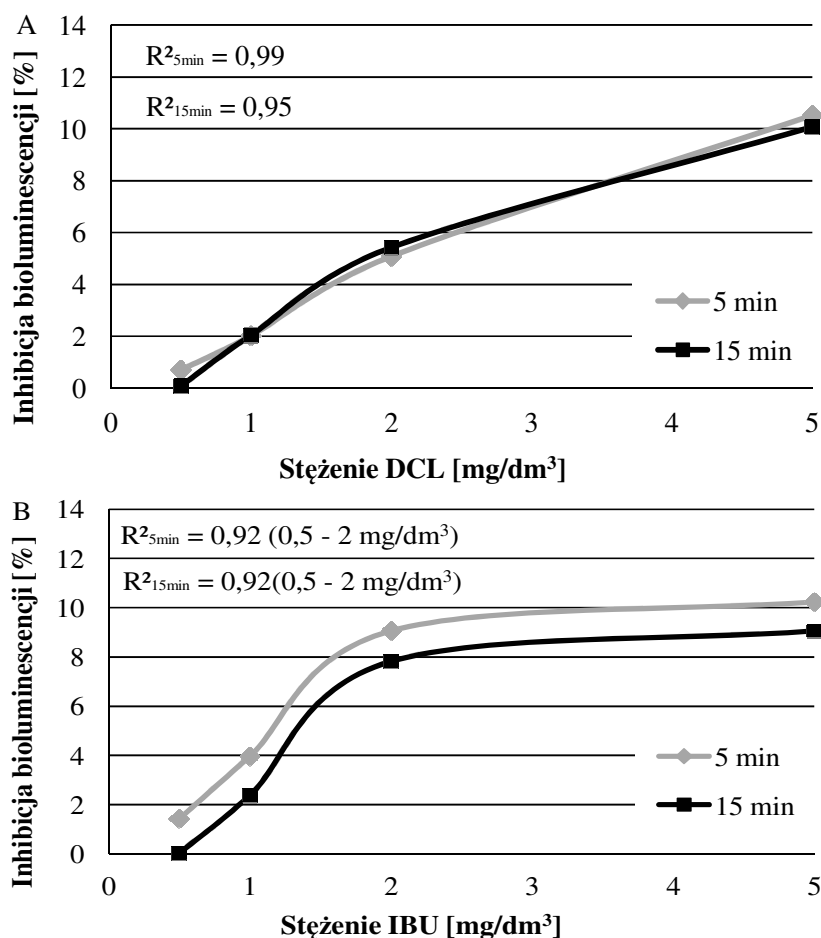
Zmiany toksyczności próbek wody oceniono na podstawie wyników testu MICROTOX[®], wykorzystującego bakterie bioluminescencyjne *Vibrio fischeri*, wykazujących wysoką wrażliwość na szerokie spektrum substancji toksycznych [7]. W trakcie ekspozycji bakterii na działanie substancji toksycznych dochodzi do przemian metabolicznych lub zmniejszenia populacji bakterii, co w konsekwencji skutkuje zmianą natężenia światła emitowanego przez mikroorganizmy [8]. Badanie przeprowadzono zgodnie z procedurą Screening Test systemu MicrotoxOmni w analizatorze Microtox Model 500 pełniącym funkcje zarówno inkubatora, jak i fotometru. Procent inhibicji bioluminescencji względem próby kontrolnej (bakterie niepoddane działaniu toksykanta) zmierzono po 5- oraz 15-minutowym czasie ekspozycji.

Wyniki i dyskusja

W pierwszej fazie badań na podstawie wyników testu MICROTOX[®] dokonano oceny toksyczności wody zawierającej badane farmaceutyki (rys. 1). Wraz ze wzrostem stężenia diklofenaku oraz ibuprofenu obserwowano wzrost stopnia inhibicji bioluminescencji. Świadczyło to o możliwym toksycznym oddziaływaniu farmaceutyków z grupy niesteroidowych leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych na przebieg procesów metabolicznych bakterii wskaźnikowych. W przypadku najwyższej zastosowanej dawki

obu farmaceutyków wartość inhibicji bioluminescencji przekroczyła 10%. Jednak, odnosząc uzyskane wyniki do powszechnie stosowanych systemów klasyfikacji toksyczności próbek środowiskowych na podstawie efektu wywoływanego w przypadku organizmów wskaźnikowych [9], można stwierdzić, że badane wody były nietoksyczne.

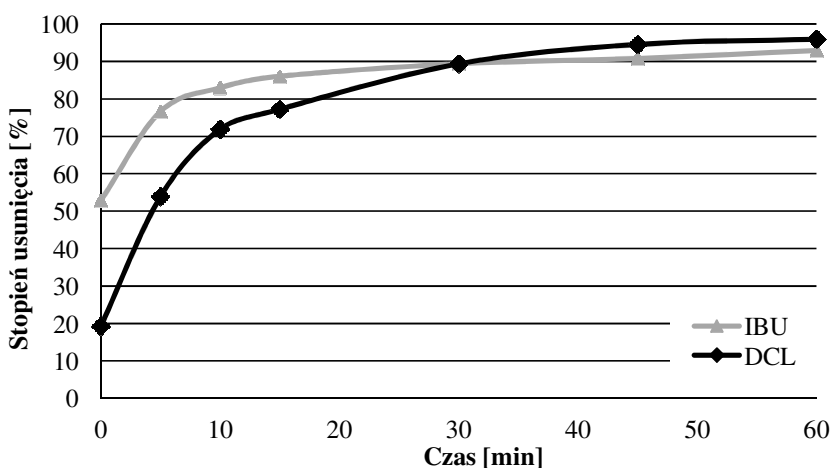
Zależność stopnia inhibicji bioluminescencji od stężenia diklofenaku przyjęła charakter liniowy w całym zakresie badanych stężeń ($R^2 > 0,95$), natomiast dla ibuprofenu liniowość zaobserwowano tylko w zakresie stężeń 0,5-2 mg IBU/dm³ ($R^2 > 0,92$), ponadto czas ekspozycji nie miał zasadniczego wpływu na wartość stopnia inhibicji bioluminescencji, dlatego do dalszych badań wybrano 5-minutowy czas ekspozycji.



Rys. 1. Wpływ stężenia farmaceutyku i czasu ekspozycji (A - diklofenak; B - ibuprofen) na toksyczność wody

Fig. 1. The influence of the pharmaceutical concentration and the exposure time (A - diclofenac; B - ibuprofen) on the water toxicity

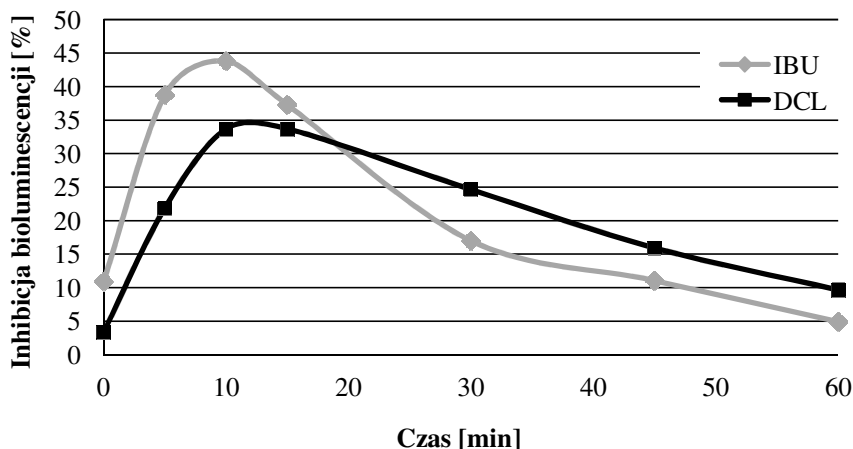
W dalszym etapie eksperymentu wodę zawierającą najwyższe z badanych stężeń farmaceutyków poddano procesowi fotokatalitycznego utleniania. Próbkę wody pobierane w trakcie przebiegu procesu poddano analizie jakościowo-ilościowej metodą HPLC (rys. 2). Określono stopień adsorpcji mikrozanieczyszczeń farmaceutycznych na powierzchni fotokatalizatora w mieszaninie przed rozpoczęciem naświetlania (czas 15 min). Adsorpcja ibuprofenu na cząsteczkach katalizatora pozwoliła na ponad 50% usunięcie związku z wody. W przypadku diklofenaku stopień usunięcia wyniósł 19%. Po 30 min prowadzenia procesu fotokatalitycznego utleniania stopień usunięcia badanych farmaceutyków sięgał 90%. Uzyskane rezultaty badań są zbliżone do obserwacji poczynionych w pracach [8-13] dotyczących fotoutleniania farmaceutyków spoza grupy niesteroidowych leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych, takich jak antybiotyki, leki psychotropowe, regulatory tłuszczów i inne.



Rys. 2. Stopień usunięcia diklofenaku (DCL) i ibuprofenu (IBU) w procesie fotokatalitycznego utleniania wyznaczony z wykorzystaniem techniki HPLC (dawka farmaceutyku 5 mg/dm³)

Fig. 2. Removal degree of diclofenac (DCL) and ibuprofen (IBU) during the photocatalytic oxidation process determined by the HPLC technique (dose of drug 5 mg/dm³)

W próbkach wody po procesie fotokatalizy dokonano oceny zmiany jej toksyczności. Wykazano, że wprowadzenie do wody katalizatora spowodowało w przypadku diklofenaku wzrost intensywności bioluminescencji w odniesieniu do wody niepoddanej oczyszczeniu. Zjawiska tego nie zaobserwowano dla ibuprofenu. W trakcie prowadzenia fotokatalitycznego utleniania następuje obniżenie aktywności metabolicznej bakterii. Związane jest to prawdopodobnie z powstawaniem ubocznych produktów utleniania badanych związków charakteryzujących się znacznie wyższą toksycznością w porównaniu z pierwotnymi formami farmaceutyków. Maksymalny stopień inhibicji luminescencji osiągnął dla diklofenaku i ibuprofenu w tym samym czasie prowadzenia procesu fotokatalizy (po 10 min) i wynosi odpowiednio 34 i 44%. Dalsze prowadzenie procesu powoduje obniżenie efektu toksycznego. Jednak w przyjętym czasie prowadzenia procesu fotokatalizy wszystkie badane próbki wody nadal wywoływały efekt toksyczny wobec bakterii *Vibrio fischeri*.



Rys. 3. Zmiany toksyczności wody w trakcie procesu fotokatalitycznego utleniania farmaceutyków

Fig. 3. Toxicity changes of water during the photocatalytic oxidation process of pharmaceuticals

Wnioski

- Fotokataliza pozwala na obniżenie stężenia diklofenaku oraz ibuprofenu w wodzie, przy czym w trakcie tego procesu generowane są uboczne produkty utleniania badanych farmaceutyków.
- Pomimo tego, że wraz ze wzrostem stężenia związków farmaceutycznych w wodzie obserwowano obniżenie aktywności metabolicznej bakterii *Vibrio fischeri*, to jednak w żadnym przypadku woda nie była toksyczna.
- Na podstawie pomiaru toksyczności wody wykazano, że w początkowym okresie fotokatalizy następuje wzrost toksyczności wody w wyniku generowania ubocznych produktów utleniania. Dlatego niezbędne jest stosowanie długiego czasu naświetlania.
- Po 60 min fotokatalizy stopień usunięcia obu badanych farmaceutyków był wysoki (> 93%), ale badana woda wciąż oddziaływała toksycznie na bakterie bioluminescencyjne.

Literatura

- [1] Carlsson C, Johansson A-K, Alvan G, Bergman K, Kuhler T. *Sci Total Environ.* 2006;364:67-87. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.06.035.
- [2] Fent K, Weston AA, Caminada D. *Aquat Toxicol.* 2006;76:122-159. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.09.009.
- [3] López-Serna R, Petrović M, Barceló D. *Sci Total Environ.* 2012;440:280-289. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.06.027.
- [4] de Jongh CM, Kooij PJF, de Voogt P, ter Laak TL. *Sci Total Environ.* 2012;427-428:70-77. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.04.010.
- [5] Dudziak M, Zgórska A. *Proc ECOpole.* 2013;7:319-323.
- [6] Fatta-Kassinos D, Vasquez MI, Kümmerer K. *Chemosphere.* 2011;85:693-709. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.06.082.
- [7] Marugán J, Bru D, Pablos C, Catalá M. *J Hazard Mater.* 2012;213-214:117-122; DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.01.075.

- [8] Trajkovska S, Mbaye M, Gaye Seye MD, Aaron J, Chevreuril M, Blanchoud H. *Anal Bioanal Chem.* 2009;394:1099-1106. DOI: 10.1007/s00216-009-2783-z.
- [9] Werle S, Dudziak M. *Przem Chem.* 2013;92:1350-1353.
- [10] Elmolla ES, Chaudhuri M. *Desalination.* 2010; 252:46-52. DOI: 10.1016/j.desal.2009.11.003.
- [11] Dimitrakopoulou D, Rethemiotaki I, Frontistis Z, Xekoukoulotakis NP, Venieri D, Mantzavinos D. *J Environ Manage.* 2012;98:168-174. DOI: 10.1016/j.jenvman.2012.01.010.
- [12] Nasuhoglu D, Rodayan A, Berk D, Yargeau V. *Chem Eng J.* 2012;189-190:41-48. DOI: 10.1016/j.cej.2012.02.016.
- [13] Baran W, Sochacka J, Wardas W. *Chemosphere.* 2006;65:1295-1299. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.04.040.

CHANGES IN TOXICITY OF WATER CONTAINING SELECTED PHARMACEUTICALS DURING THE PHOTOCATALYTIC OXIDATION PROCESS

Institute of Water and Wastewater Engineering, Silesian University of Technology

Abstract: Nowadays one of the water and wastewater quality test methods is the MICROTOX[®] test, in which luminescent bacteria *Vibrio fischeri* are employed as a bioindicator. The study presents the results of the toxicity tests of water solutions containing selected pharmaceuticals from the group of non-steroidal anti-inflammatory drugs (diclofenac, ibuprofen) before and after the photocatalytic oxidation process. The influence of the drug concentration and the oxidation time on the change of the water samples toxicity was examined. The removal degree of chosen pharmaceuticals has been evaluated by HPLC. The obtained results indicate that the MICROTOX[®] test is thought to be useful in assessment of the risk resulting from the possible formation of by-products of the oxidation of selected pharmaceutical micropollutants.

Keywords: micropollutants, treatment of water streams, toxicity, MICROTOX[®] test, oxidation by-products