



Untersuchungen zur Bewertung und Vermeidung von toxischen Oxidationsnebenprodukten bei der oxidativen Abwasserbehandlung von Fluorquinolonen

Jochen Türk¹ (tuerk@iuta.de), Andrea Börgers¹ (boergers@iuta.de), Claudia vom Eyser¹ (vomeyser@iuta.de), Jessica Richard^{2,3} (j.richard@iww-online.de), Elke Dopp^{2,3} (e.dopp@iww-online.de), Kai Bester^{4,5} (kb@dmu.dk)

¹ Institut für Energie- und Umwelttechnik e. V. (IUTA), Duisburg, Deutschland

² Universität Duisburg-Essen, Universitätsklinikum Essen, Institut für Hygiene und Arbeitsmedizin, Essen,

³ IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung GmbH, Mülheim a. d. Ruhr

⁴ Universität Duisburg-Essen, Institut für Umweltanalytik, Essen,

⁵ Aarhus University, National Environmental Research Institute, Roskilde, Dänemark

Zusammenfassung

Steigende Konzentrationen von Spurenschadstoffen in Kläranlagenabläufen stellen immer höhere Anforderungen an die Abwasserreinigung. Erweiterte Oxidationsverfahren können zur Elimination dieser Mikroverunreinigungen eingesetzt werden. Wichtige Fragen zur Entstehung toxikologisch relevanter Transformationsprodukte sind jedoch bis heute nicht geklärt. Im Rahmen des hier vorgestellten Projektes wurden Untersuchungen zur chemischen und toxikologischen Bewertung oxidativer Abwasserbehandlungsverfahren durchgeführt. Im Hinblick auf die Trinkwasseraufbereitung sind neben östrogenen Effekten vor allem Cytotoxizität, Genotoxizität und mutagene Eigenschaften von unbekanntem Substanzen im Wasserkreislauf besonders besorgniserregend. Mit Hilfe der verwendeten wirkungsbezogenen Analytik konnte die Arbeitshypothese bestätigt werden, dass die untersuchten Verfahrensvarianten (O₃, UV und UV/H₂O₂) in realen Kläranlagenabläufen sicher angewendet werden können.

Einleitung

Bei der kommunalen Abwasserbehandlung sind Belebtschlammanlagen Stand der Technik. Diese sind darauf ausgelegt, die organische Fracht des Abwassers, gemessen als chemischer und biologischer Sauerstoffbedarf (CSB und BSB₅) bzw. dem Gesamtgehalt an organischem Kohlenstoff (TOC) zu eliminieren. Hinzu gekommen sind in den letzten Jahrzehnten die Stickstoffeliminierung (Nitrifikation/Denitrifikation) und die Phosphorfällung. Nicht abschließend gelöst ist hingegen die Entfernung von organischen Mikroverunreinigungen, wie zum Beispiel von Pharmazeutika oder Personal Care Produkten (PPCP). Ein erheblicher Teil dieser Substanzen wird in der kommunalen Abwasserbehandlung nicht vollständig eliminiert und gelangt über die Vorfluter in Oberflächengewässer. Dies steht im Gegensatz zu der europäischen Wasserrahmenrichtlinie, welche einen guten chemischen und biologischen Zustand der Gewässer fordert [1]. Somit können mittels herkömmlicher Abwasserbehand-

lungsverfahren die in der Diskussion stehenden Umweltqualitätsnormen nicht immer eingehalten werden [2].

Durch so genannte erweiterte Oxidationsverfahren (advanced oxidation processes, AOP), wie Ozonung oder UV-Oxidation mit und ohne Wasserstoffperoxid (H₂O₂), lassen sich viele dieser Mikroverunreinigungen aus Kläranlagenabläufen entfernen. Diese Verfahren lassen sich zusätzlich auch einfach in den klassischen Klärprozess integrieren. Die Effizienz dieser oxidativen Verfahren wird i. d. R. anhand substanzspezifischer Analytik untersucht. Eine Bewertung anhand toxikologischer Parameter, oder die Kombination aus chemischen und toxikologischen Analysen wurde bisher nur in sehr wenigen Fällen durchgeführt. Aus diesem Grund ist das IGF-Forschungsvorhaben Nr. 15862 N „Oxidationsnebenprodukte“ durchgeführt worden, welches die chemische und toxikologische Validierung und Bewertung oxidativer Abwasserbehandlungsverfahren zur Eliminierung von Mikroverunreinigungen aus Kläranlagenabläufen zum Ziel hatte [3]. Zur Identifizierung der entstandenen Transformationsprodukte erfolgte ein „non-target screening“. Neben der Untersuchung von 16 ausgewählten Spurenstoffen wurden zu zehn weiteren Arzneimittelwirkstoffen Literaturliteraturauswertungen zur Bildung und Toxizität von Transformationsprodukten durchgeführt [3-5].

Material und Methoden

Ozonung und UV-Oxidation wurden im Labormaßstab durchgeführt (O₃: Ozomat COM-AD-01, Anseros, Tübingen; UV: TNN15/32 Quecksilber-Niederdruckstrahler, Heraeus, Hanau). Die Quantifizierung von Ciprofloxacin und Ofloxacin, sowie das „non-target screening“ erfolgten mittels HPLC-MS/MS (3200 Q Trap, AB Sciex, Darmstadt) und hochauflösender Massenspektrometrie (LC-TOF-MS Leco Unique, GSG, Bruchsal). Die Cytotoxizität wurde mittels des PAN I-Test an CHO-9 Zellen ermittelt. Zur Bestimmung der Genotoxizität wurde der Alkaline Comet Assay ebenfalls an CHO-9 Zellen eingesetzt. Der Ames-Test zur Bestimmung der Mutagenität wurde im Microwell-Platten-Format an den *Salmonella typhimurium* Stämmen TA98 und TA100 durchgeführt. Die antibakterielle Aktivität wurde mittels Hemmhofstest anhand

der Bakterienstämme *Pseudomonas fluorescens* und *Bacillus coagulans* untersucht. Eine detaillierte Beschreibung der verwendeten Materialien und Methoden kann dem Abschlussbericht entnommen werden [3].

Ergebnisse und Diskussion

Ciprofloxacin wird in Kläranlagenabläufen im Mittel in Konzentrationen von 200 ng/L nachgewiesen. Die Konzentrationen von Ofloxacin liegen bei etwa 100 ng/L. Die Ozonung mit 10 mg Ozon/L erzielte sowohl im Reinstwasser als auch im Kläranlagenablauf einen Substanzabbau von mindestens 80% für Ciprofloxacin und 88% für Ofloxacin. Die Elimination der antibakteriellen Aktivität gegenüber *Pseudomonas fluorescens* und *Bacillus coagulans* ging bei allen Ozonungsversuchen mit dem Substanzabbau einher.

Mittels UV-Oxidation mit und ohne H₂O₂-Zugabe konnte ein kompletter Substanzabbau des Fluorquinolones Ciprofloxacin in beiden Matrices innerhalb von 15 bis 45 Minuten erreicht werden (Abbildungen 1A und 1C). Ofloxacin hingegen wurde in der Matrix Kläranlagenablauf nicht ohne die Zugabe von Wasserstoffperoxid mittels UV-Oxidation eliminiert (Abbildung 1D). Nur bei der reinen UV-Oxidation konnte auch nach 60 Minuten Behandlungszeit die antibakterielle Aktivität gegenüber *Bacillus coagulans* nicht vollständig abgebaut werden (Abbildung 1B).

Die Untersuchungen zur Toxizität von Fluorquinolonen vor und nach der oxidativen Behandlung sind von großem Interesse, da zuvor bereits toxische Effekte für Ciprofloxacin nachgewiesen werden konnten [6, 7]. Die Ergebnisse der cytotoxischen Untersuchungen zeigten, dass im Kläranlagenablauf vor und nach der oxidativen Behandlung keinerlei cytotoxische Effekte nachgewiesen werden konnten. Durch den Alkaline Comet Assay konnte zusätzlich keine Schädigung der DNA nachgewiesen werden (Abbildung 2).

In ergänzende Untersuchungen mittels Ames-Test waren keine mutagenen Effekte nachweisbar. Ein Grund für die Unterschiede zur Literatur kann der Einsatz verschiedener Testsysteme und Konzentrationen sein. So zeigten zum Beispiel Hartmann et al., dass die untersuchten ciprofloxacinhaltigen Krankenhausabwässer in V79 Zellen zu Chromosomenabberationen führen. Allerdings waren die gleichen Proben im Ames und im UmuC Test negativ.

Insgesamt konnten 22 Transformationsprodukte des Ciprofloxacins und 14 des Ofloxacins nachgewiesen werden. Die beschriebene Abstraktion der Carboxylgruppe, Addition von Sauerstoff sowie die postulierten Ringöffnungsmechanismen [8, 9] konnten im Rahmen dieser Arbeit für beide Fluorquinolone bestätigt werden. In Abbildung 3 ist der für Ciprofloxacin vorgeschlagene Abbauweg dargestellt. Vier in der Literatur noch nicht beschriebene Transformationsprodukte sind farblich markiert. Sowohl Ozonung als auch UV-Oxidation konnten erfolgreich als mögliche Verfahren zur Eliminierung von Spurenstoffen aus der Matrix Kläranlagenablauf etabliert werden. Zusammenfassend zeigen die Ergeb-

nisse, dass im Hinblick auf die toxikologische Bewertung das Oxidationsverfahren, die Behandlungsdauer und die Menge der eingesetzten Oxidantien eine wichtige Rolle spielen.

Die Labor- und Technikumsversuche mit realen Abläufen unterschiedlicher Kläranlagen haben die Arbeitshypothese bestätigt, dass mit Hilfe der verwendeten wirkungsbezogenen Analytik (antibakterielle Aktivität, Cytotoxizität, Genotoxizität und Mutagenität) die untersuchten AOP-Verfahrensvarianten (O₃, UV und UV/H₂O₂) ohne die Bildung von toxikologisch relevanten Transformationsprodukten zur Spurenstoffelimination eingesetzt werden können.

Mit dem Nachweis der sicheren Anwendung oxidativer Verfahren in der Abwassertechnik ist die Grundlage für umfangreiche Investitionen in diese Abwasserreinigungsverfahren gelegt. Erste großtechnische Umsetzungen zur Ozonung finden derzeit an den Kläranlagen Bad Sassendorf, Schwerte und Duisburg-Vierlinden statt.

Literatur:

- [1] Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik.
- [2] Vorschlag für eine Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates zur Änderung der Richtlinien 2000/60/EG und 2008/105/EG in Bezug auf prioritäre Stoffe im Bereich der Wasserpolitik, COM(2011) 876 vom 31.01.2012.
- [3] Türk, J., et al., Abschlussbericht zum IGF-Forschungsvorhaben Nr. 15862 N "Untersuchungen zur Bewertung und Vermeidung von toxischen Oxidationsnebenprodukten bei der oxidativen Abwasserbehandlung", http://www.veu.de/files/abschlussbericht_15862.pdf, 2011.
- [4] Chen, X., et al., Ozonation products of triclosan in advanced wastewater treatment, *Water Research*, 2012, 46: 2247-2256.
- [5] Janzen, N., et al., Transformation products and reaction kinetics of fragrances in advanced wastewater treatment with ozone, *Chemosphere*, 2011, 85: 1481-1486.
- [6] Hartmann, A., et al., Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospital wastewaters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1999, 36(2): 115-119.
- [7] Golet, E.M., et al., Environmental exposure and risk assessment of fluorquinolones antibacterial agents in wastewater and river water of the Glatt valley watershed, Switzerland. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(17): 3645-3651.
- [8] Cardoza, L.A. et al., Factors affecting the fate of ciprofloxacin in aquatic field system, *Water Air Soil Pollut*, 2005, 161: 383-398.
- [9] De Witte, B. et al., Ozonation of ciprofloxacin in water: HRMS identification of reaction products and pathways, *Environmental Science & Technology*, 2008, 42, 4889-4895.

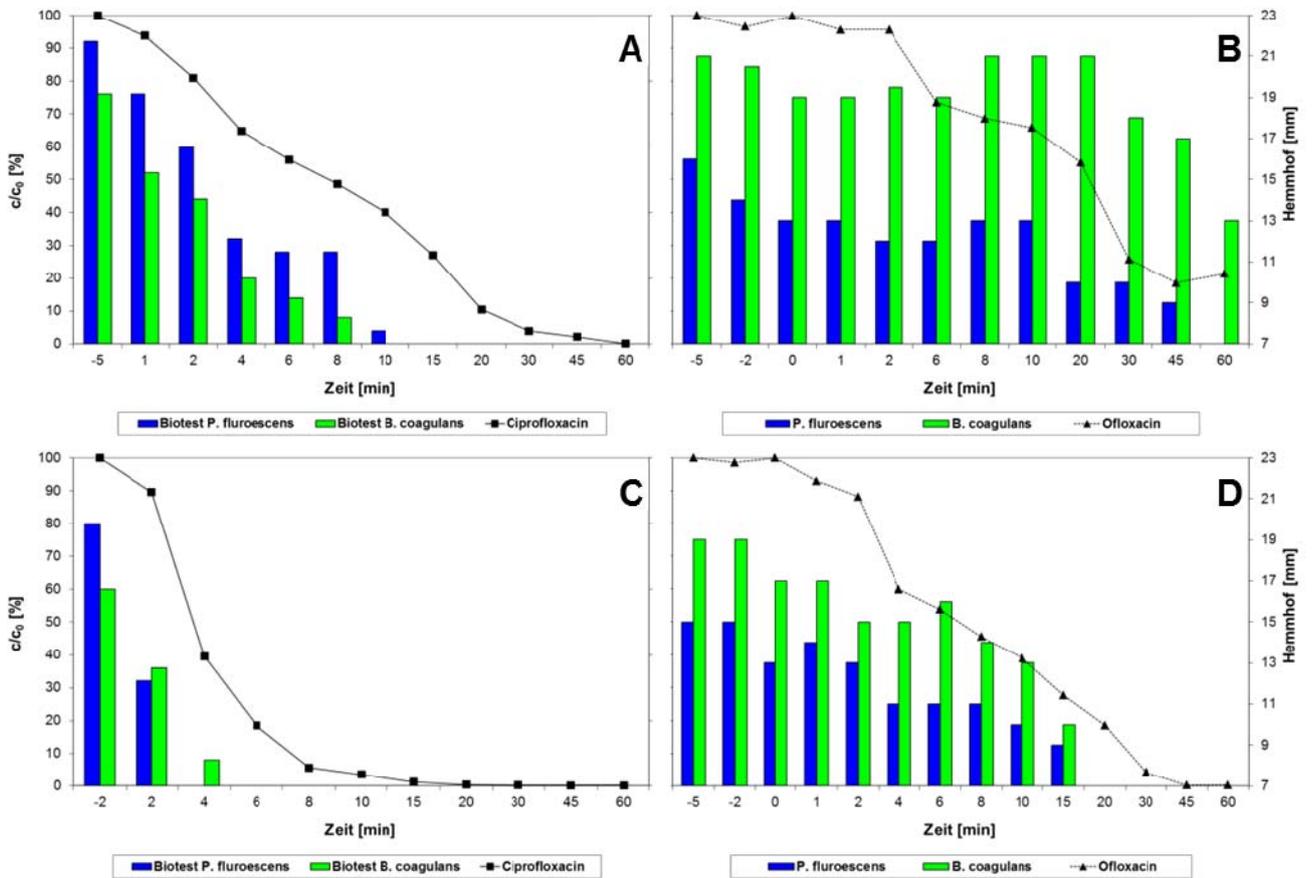


Abb. 1: Abbau der Fluorquinolone Ciprofloxacin (links) und Ofloxacin (rechts) durch UV-Oxidation (A und B) und UV/H₂O₂-Oxidation (C und D) in Kläranlagenablauf mit Indikation der mikrobiellen Aktivität. [c₀ (Ciprofloxacin und Ofloxacin) = 50 μmol/L].

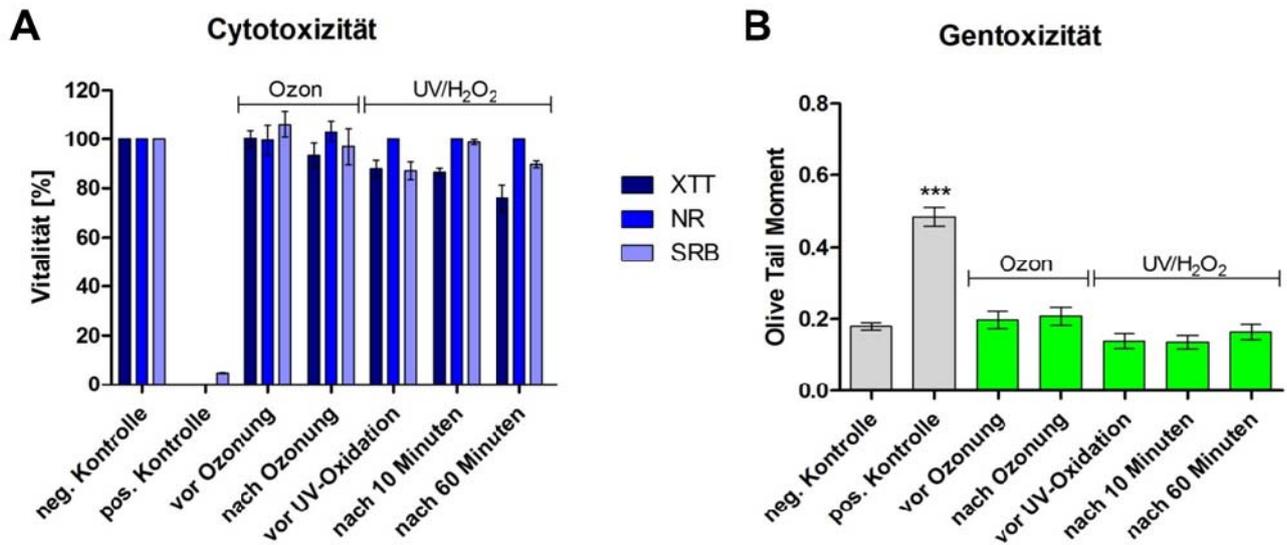


Abb. 2: Untersuchung der Cytotoxizität (A) und Genotoxizität (B) von mit Ciprofloxacin dotierten Kläranlagenabläufen vor und nach der oxidativen Abwasserbehandlung [c₀ = 1,4 mg/L (Ozonierung) und 0,1 mg/L (UV-Oxidation)].

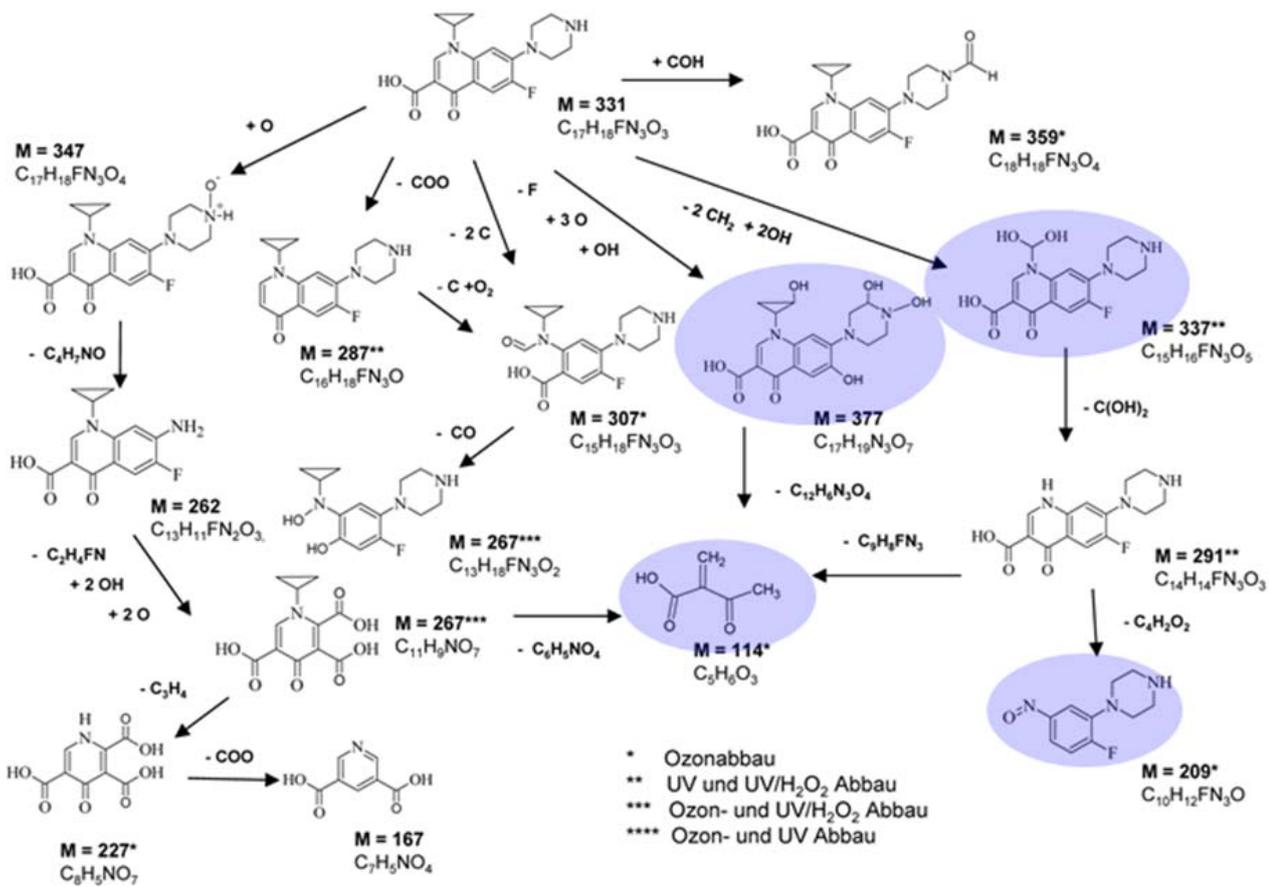


Abb. 3: Vorgeschlagener Abbauweg von Ciprofloxacin nach der Behandlung mit Ozon, UV, oder UV/H₂O₂. In der Literatur bisher nicht beschriebene Transformationsprodukte sind blau hinterlegt.

Korrespondenzadresse:



Dr. Jochen Türk
 Institut für Energie- und Umwelttechnik
 e.V. (IUTA), Bliersheimer Str. 58 – 60,
 D-47229 Duisburg
 E-Mail: tuerk@iuta.de,
 Internet: <http://www.iuta.de>

Tel.: +49(02065) 418 179, Fax: +49(02065) 418 211