

Józef RZEPA

Instytut Chemii, Zakład Chemii Ogólnej i Chromatografii
Uniwersytet Śląski w Katowicach

OZNACZANIE LEKÓW I PESTYCYDÓW W WODACH POWIERZCHNIOWYCH

WSTĘP

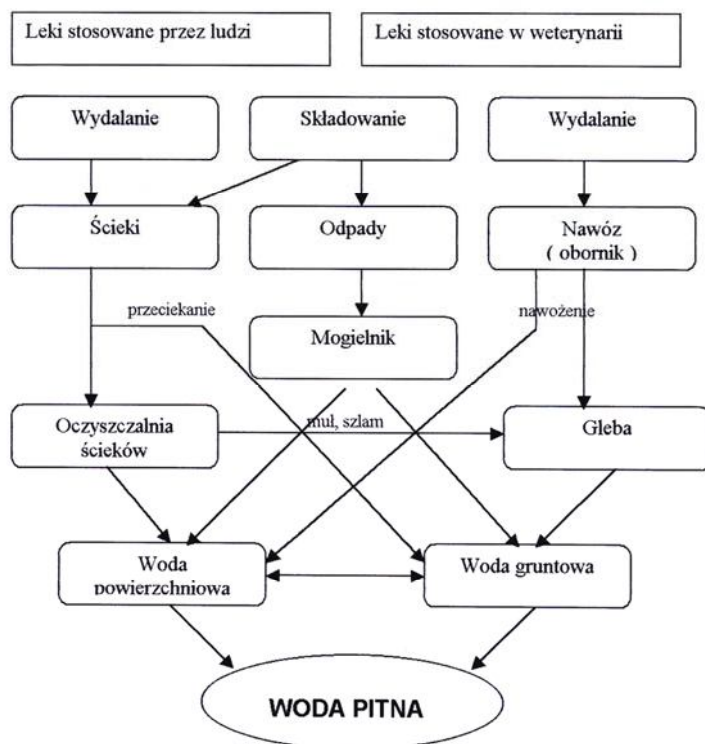
Każdego roku tysiące ton leków są produkowane i następnie zużywane w medycynie i weterynarii. Znaczna ich część przedostaje się do wód powierzchniowych w formie niezmienionej. Badania nad obecnością leków i ich metabolitów prowadzone są od lat 90. XX wieku między innymi w Europie Zachodniej (Niemcy [2], Grecja, Szwajcaria [3]) oraz Ameryce Południowej (Brazylia [4]), dotyczyły leków stosowanych w medycynie i weterynarii. [5] Głównym źródłem zanieczyszczeń środowiska wodnego farmaceutykami są gospodarstwa domowe oraz szpitale. [6] Leki zażywane przez chorych nie ulegają całkowicie metabolizmowi w ich organizmach i wraz z moczem lub kałem trafiają do systemu kanalizacji, a stamtąd kierowane są do oczyszczalni ścieków. Oprócz gospodarstw i szpitali źródłami zanieczyszczeń są również zakłady farmaceutyczne, a także farmy zwierząt hodowlanych, gdzie profilaktycznie podaje się w paszy antybiotyki i bakteriostatyki (sulfonylamidy), aby uchronić zwierzęta hodowlane przed ewentualnymi infekcjami. [3] Farmaceutyki, które wraz ze ściekami przedostają się do miejskich oczyszczalni ścieków, nie są całkowicie usuwane w procesach biologicznego oczyszczania. [2], [4]

Ze względu na swoje właściwości farmaceutyki nie są eliminowane z wód w procesach samooczyszczania, a dodatkowo mają zdolności do kumulacji w tkankach organizmów wyższych, przez co stanowią bezpośrednie zagrożenie dla ich zdrowia lub życia. Szerokie, wręcz nadmierne stosowanie leków przeciwbólowych z grupy fenoksy kwasów np. ibuprofenu, potęgowane jeszcze nachalną reklamą w mediach prowadzi do wzrostu ich stężenia we wszystkich elementach środowiska.

MIGRACJA LEKÓW W ŚRODOWISKU

Leki odznaczają się dużą polarnością i niską adsorpcją w mule i glebie, co jest przyczyną coraz większego zanieczyszczenia wód powierzchniowych i gruntowych. Oczyszczalnie ścieków nie dysponują technologią umożliwiającą wyeliminowanie zanieczyszczeń tego typu. Każdy środek zanieczyszczający środowisko musi być sklasyfikowany i umieszczony w normach. Jest to jeden z powodów rozwoju coraz to czulszych metod analitycz-

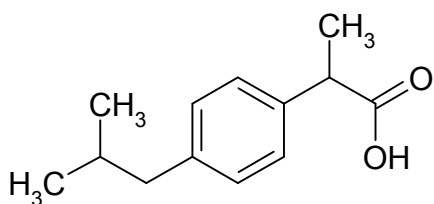
nych umożliwiających oznaczanie farmaceutyków w wodnych matrycach [8]. Drogi migracji leków w środowisku przedstawia rysunek 1.



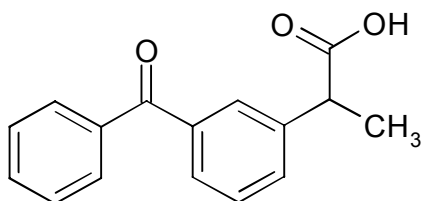
Rys. 1. Drogi migracji leków w środowisku [7]

Przedmiotem badań było oznaczanie leków kwaśnych i neutralnych w wodach powierzchniowych w rzekach zlewni górnej Wisły i górnej Odry, płynących na obszarze Górnego Śląska.

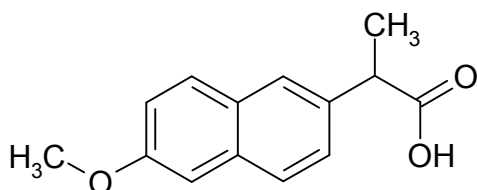
Ibuprofen



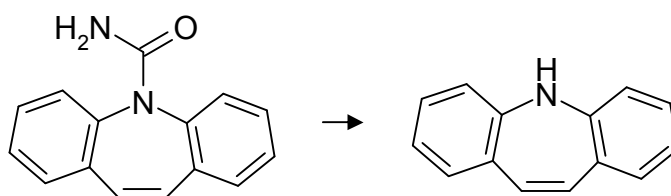
Ketoprofen



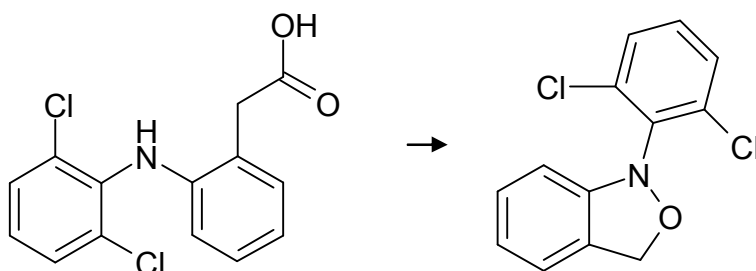
Naproksen



Karbamazepina i metabolit imminostilben

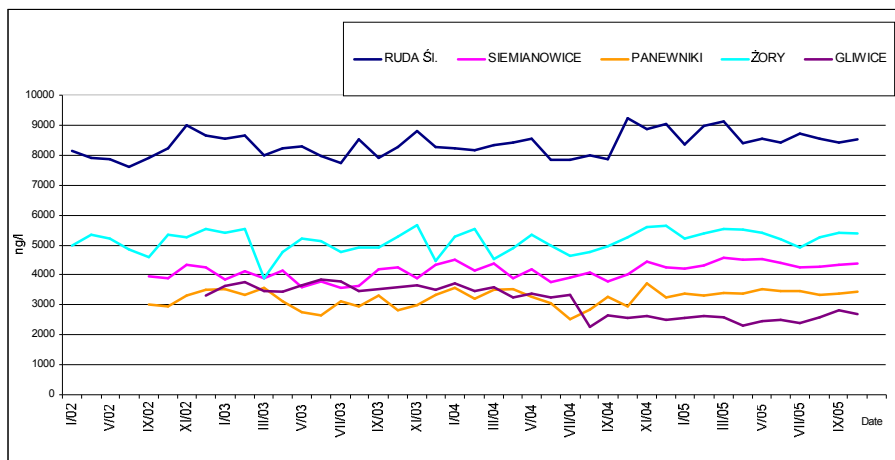


Diklofenaki jego metabolit 1,3-dihydro-1-(2,6 dichlorofenilo)indol-2-on



W trakcie prowadzonych badań oznaczano także niektóre pestycydy, które izolowano wraz z oznaczanymi lekami. Były to: triazyny: atrazyna i symazyna, chlorofenoksykwasy: 2,4-D, MCPA i mekoprop oraz pyretroidy: cypermetryna i lambdacyhalotryna.

W monitoringu wód powierzchniowych, których poziom w punktach poboru próbek jest zmienny często w szerokim zakresie, konieczna jest znajomość ilości przepływającej wody lub posiadanie innego punktu odniesienia. W czasie monitoringu oczyszczalni ścieków stwierdzono, że w wodach zrzutowych z tych instalacji najbardziej stabilnym zanieczyszczeniem i możliwym do oznaczania w tej samej procedurze analitycznej, jest kofeina.



Rys. 2. Zawartość kofeiny w wodach zrzutowych (oczyszczonych) wybranych oczyszczalni ścieków w latach 2002-2005

Śląsk jest regionem silnie zurbanizowanym i większość ścieków komunalnych jest oczyszczana. Można więc przyjąć, że ilość kofeiny wprowadzanej do wód powierzchniowych jest w przybliżeniu stała. Jako wartość odnośnikową zawartości kofeiny w punkcie poboru przyjęto średnią z 12 oznaczeń z próbek pobieranych co miesiąc. Wartość ta jest na pewno obciążona znacznym błędem, ale pozwala na porównanie zawartości leków w wodzie w wybranych przedziałach czasowych.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO ANALIZY

Próbki wody pobierano co miesiąc do butelek z ciemnego szkła. Do próbek dodawano 15 izopropanolu. Następnie próbki sączono i przy użyciu HCl wyrównywano pH do wartości pH = 4. Wprawdzie najlepsza efektywność ekstrakcji leków do fazy stałej jest przy pH = 2 (około 88-94%), ale ilość ekstrahowanej kofeiny jest rzędu zaledwie kilku procent. Przy pH = 4 efektywność ekstrakcji kofeiny jest 33-35%.

Do ekstrakcji do fazy stałej używano kolumnienek 6 ml/100 mg BakerBond spe C18 Polar Plus (J.T. Baker) kondycjonowanych heksanem 3x3 ml, acetonem 1x3 ml, metanolem 2x3 ml i dejonizowaną wodą 2x3 ml. Ekstrakcję próbek wody (500-1000 ml) prowadzono pod próżnią z prędkością 8-10 ml/min. Następnie kolumnienki przemywano wodą (2x1 ml) i suszono

w strumieniu azotu. Anality eluowano mieszaniną metanolu i acetonu (1:1) – 4x0,5 ml.

Uzyskany ekstrakt odparowywano azotem do sucha i substancje kwaśne estryfikowano metanolowym roztworem HCl (temp. 60°C). W późniejszych badaniach stosowano silylowanie tych związków odczynnikiem silylującym BESTFA + TMCS w pirydynie (temp. 60°C).

Po przereagowaniu uzupełniano objętość próbki do 0,5 ml i analizowano chromatograficznie.

WARUNKI ANALIZY CHROMATOGRAFICZNEJ

Analizy prowadzono w chromatografii GC Trace z detektorem masowym MS Trace Finnigan (ThermoQuest) and autosamplerem CombiPAL (CTC).

Kolumny kapilarne: MDN – 5S 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm (Supelco)
DB – 5ms 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm (J&W)

Prekolumna: 3 m x 0.32 mm, Injector: 280°C splitless,

Objętość dozowanej próbki: 1 µl. Gaz nośny: hel p = 100 kPa.

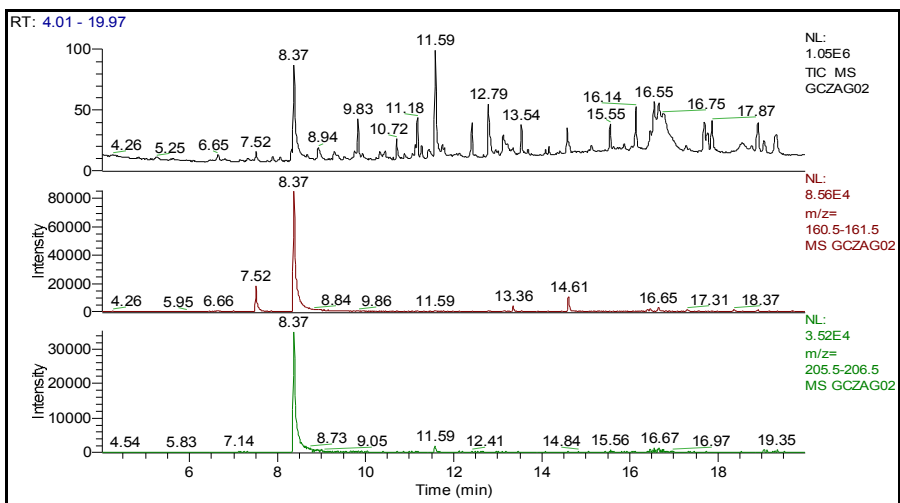
Termostat: izotermicznie – 100°C (3 min), program: 100°C – 280°C (15^o/min), 280°C – 15 min.

Detektor MS: Interface – 280°C. Źródło jonów EI: 250°C. Energia jonizacji: 70eV,

Analizę ilościową prowadzono z wykorzystaniem techniki pojedynczego jonu (SIM) charakterystycznego dla oznaczanego związku, pozwalającej na oznaczenie ich stężenia rzędu kilku ng/l.

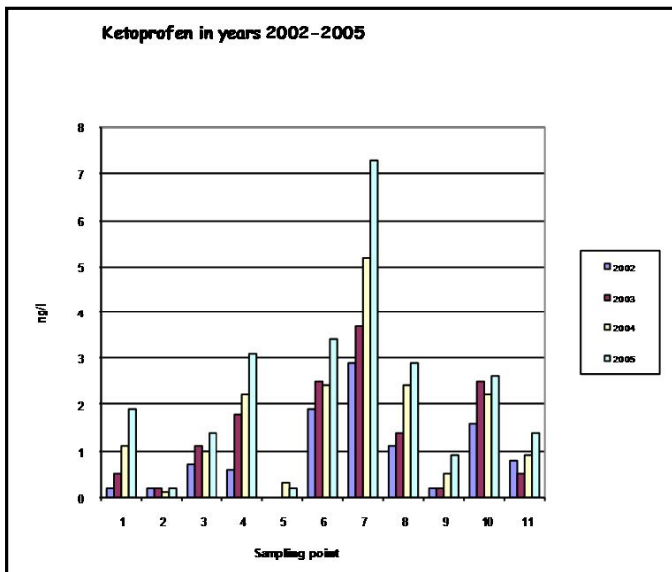
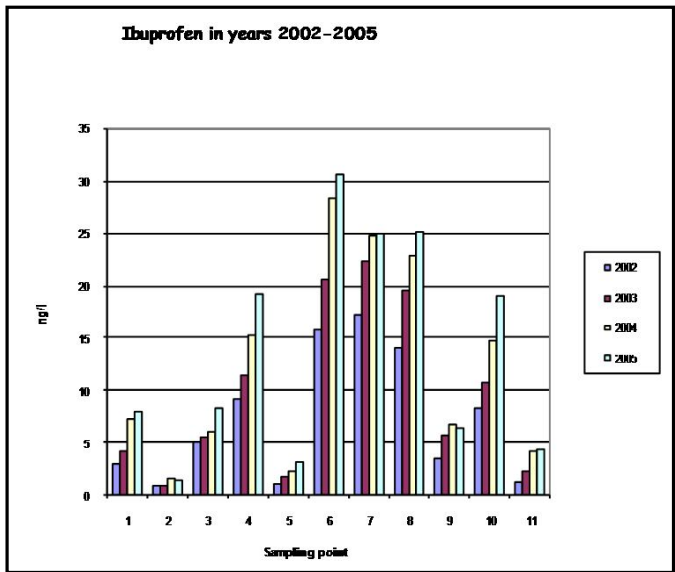
WYNIKI BADAŃ

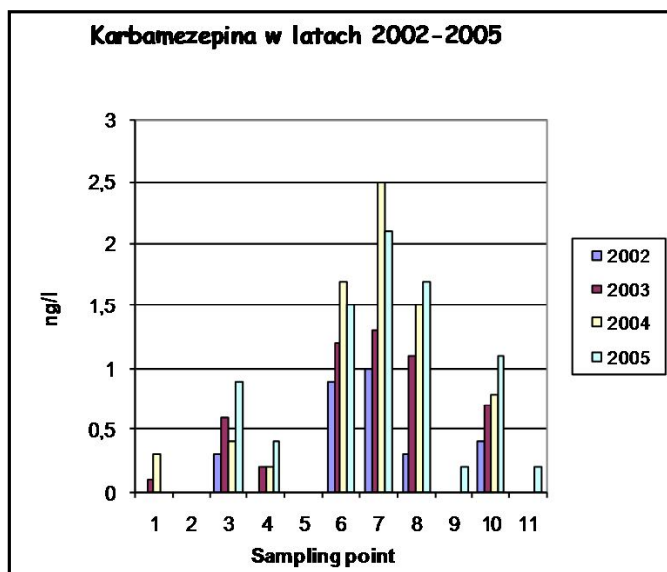
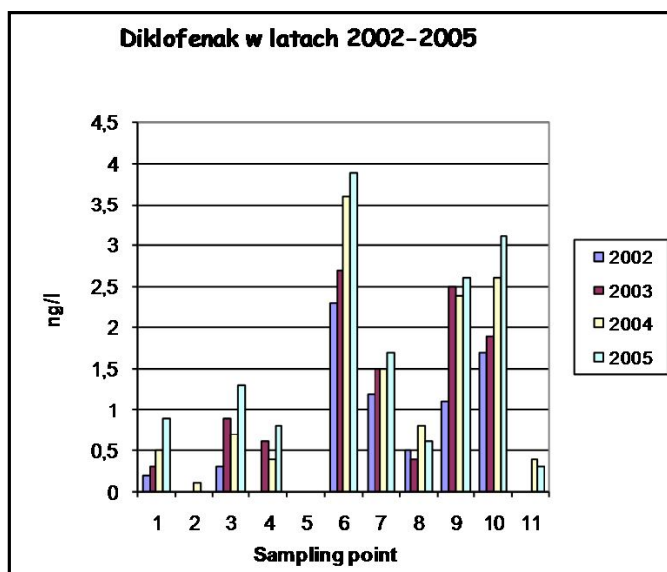
W wynikach przedstawiono jedynie część wyników ilustrujących podstawowe zaobserwowane prawidłowości. Analizę ilościową prowadzono w oparciu o kalibrację wykonaną dla wybranych jonów (SIM), charakterystycznych dla oznaczanego leku czy pestycydu. Na rysunku 3 przedstawiono chromatogram (TIC) ekstraktu próbki wody i chromatogramy SIM wybranych jonów ibuprofenu.



Rys. 3. Chromatogram (TIC) próbki wody pobranej z Wisły na wlocie do jeziora Goczałkowickiego (styczeń 2005), oraz chromatogramy pojedynczych jonów (SIM) $m/z=161$ i $m/z=206$, charakterystycznych dla ibuprofenu

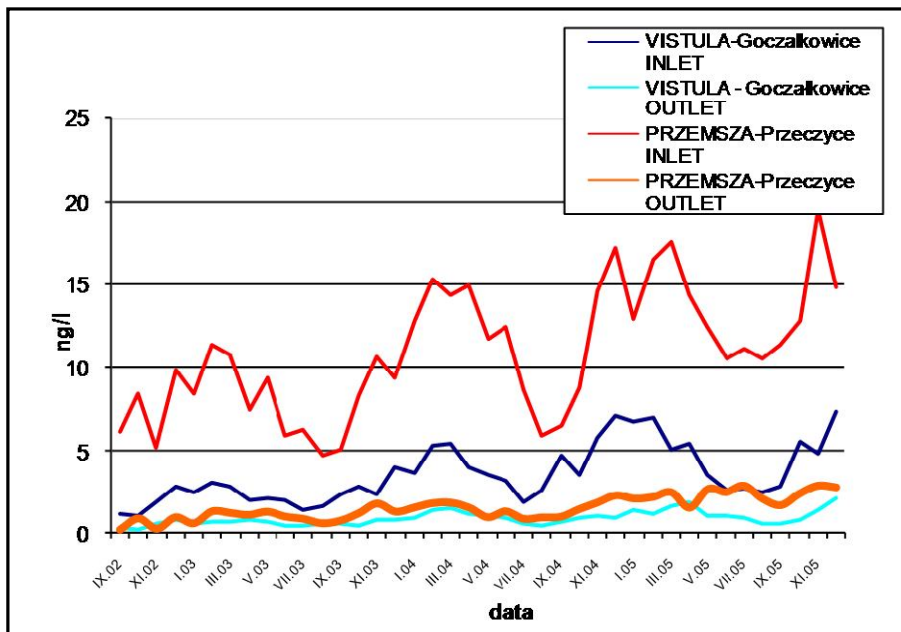
Na wykresach (rysunek 4) przedstawiono wyniki uzyskane w przeciągu czterech lat dla ibuprofenu, ketoprofenu, diklofenaku i karbamazepiny w wybranych punktach poboru próbek na Wiśle i jej dopływach. W największych ilościach w wodach powierzchniowych występuje ibuprofen – lek przeciwbólowy dostępny bez recepty i szeroko stosowany. Najistotniejszy jest jednak fakt, że jego ilość w wodach powierzchniowych wykazuje ciągły wzrost. Największe przyrosty procentowe obserwowano jednak w przypadku ketoprofenu. Podobną prawidłowość wykazuje też diklofenak. Karbamazepina jest lekiem stosowanym pomocniczo w wielu chorobach i jego ilości – najniższe, nie wykazuje tendencji wzrostu.





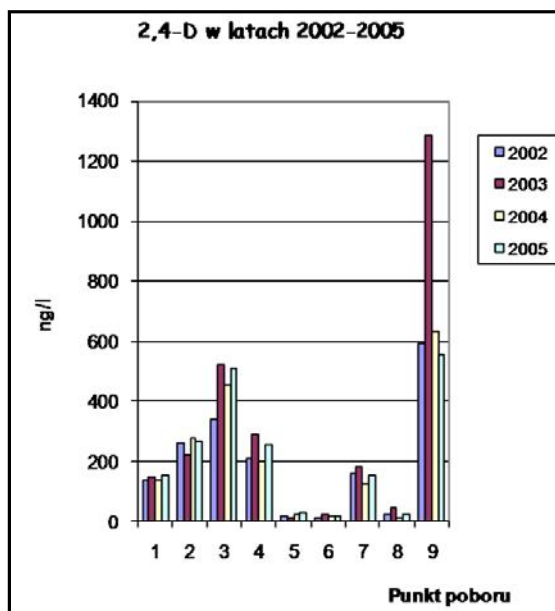
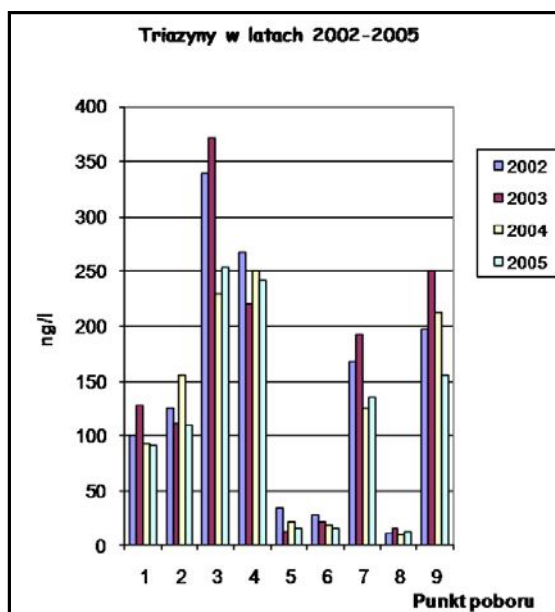
Rys. 4. Maksymalne stężenia wybranych leków w latach 2002-2005 w wybranych punktach poboru w zlewni rzeki Wisły. Punkty poboru: 1 - Rzeka WISŁA (Strumień), 2 - Rzeka WISŁA (Goczałkowice), 3 - Rzeka PSZCZYNKA, 4 - Rzeka CZ. PRZEMSZA (Siewierz), 5 - Rzeka CZ. PRZEMSZA (Przezyce), 6 - Rzeka CZ. PRZEMSZA (Sosnowiec), 7 - Rzeka RAWA (ujście), 8 - Rzeka BRYNICA (ujście), 9 - Rzeka B. Przemsza (ujście), 10 - Rzeka CZ. PRZEMSZA (ujście), 11 - Rzeka WISŁA (Babice)

Ciekawą rolę pełnią zbiorniki wodne na rzekach. Stężenie leków na wlocie rzeki do jeziora jest zdecydowanie wyższe niż na wylocie z jeziora. Następuje więc istotny spadek stężenia leków w zbiornikach wodnych, choć nie jest pewne, że ulegają one w nich przemianom chemicznym, czy też jest to efekt sorpcji na osadach dennych. Na rysunku 5 przedstawiono ten efekt dla ibuprofenu.



Rys. 5. Zawartość ibuprofenu na wlocie i wylocie do jeziora Goczalkowickiego i jeziora w Przeczycach

Oznaczane pestycydy występują w wodach powierzchniowych okresowo, co wiąże się z cyklem prac polowych i intensywnością opadów. Na rysunku 6 przedstawiono wyniki monitoringu triazyn i 2,4-D w wybranych punktach poboru w zlewni Odry. Są to wyniki maksymalne pojawiające się zwykle na przełomie lata i jesieni. W punktach poboru 7 i 8 widoczny jest efekt znacznego spadku stężenia oznaczanych pestycydów w wodzie na wylocie z jeziora Dzierżno. Efekt ten opisano wcześniej także w przypadku oznaczanych leków. Co charakterystyczne, atrazyna i inne triazyny od wielu lat są wycofane z użycia w rolnictwie. Ich ciągłą obecność w wodach powierzchniowych można tłumaczyć trwałością triazyn w środowisku lub, co nie wykluczone, wykorzystywaniem starych zapasów.



Rys. 6. Maksymalne stężenia pestycydów – sumy triazyn i 2,4-D w wybranych punktach poboru zlewni rzeki Odry. Punkt poboru próbki: 1 - ODRA(granica), 2 - Rzeka RUDA (Żory), 3 - Rzeka RUDA (ujście do Odry), 4 - Rzeka BIERAWKA (ujście), 5 - Rzeka KŁODNICA (Ligota), 6 - Rzeka KŁODNICA (Bielszowice), 7 - Jezioro DZIERZNO (wlot), 8 - Jezioro DZIERZNO (wylot), 9 - ODRA (Kanał Gliwicki)

Stosowana w badaniach procedura analityczna jest pracochłonna, ale pozwoliła na uzyskanie wiarygodnych wyników. Nie sprawdziły się w badaniach ekstrakcji do fazy stałej SPE tzw. speediski, pozwalające wprawdzie na duże skrócenie czasu ekstrakcji spe, ale powodujące duży rozrzut wyników. Uzyskiwane chromatogramy ekstraktów były często bardzo bogate i nasycały kłopoty z pełnym rozdzieleniem oznaczanych analitów od obecnych w ekstrakcie zanieczyszczeń. Dlatego zastosowanie detektora masowego i analiza z wykorzystaniem monitorowania pojedynczego jonu (SIM) pozwoliła na ominięcie problemów z niecałkowitym rozdzieleniem składników próbki.

LITERATURA

1. Rodriguez I., Quintana J.B., Carpinteiro J., Carro A.M., Lorenzo R.A., Cella R.: „Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as tert.-butyldimethylsilyl derivatives”, 2002, 265-274.
2. F. Sacher, F.T. Lange, H.-J. Brauch, J. Blankenhorn, 2001; “Pharmaceuticals in groundwaters. Analytical methods and results of a monitoring program in Boden – Württemberg, Germany”; *Journal of Chromatography A*, Vol. 938, pp. 199-210.
3. V.Koutsouba, Th. Heberer, B. Fuhrmann, K. Schmidt-Baumler, D. Tsipi, A. Hiskia, 2003; “Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas – chromatography – mass spectrometry”; *Chemosphere*, Vol. 51, pp. 69-75.
4. M. Stumpf, T. Ternes, R.-D. Wilken, S.V. Rodrigues, W. Bauman, 1999; “Polar drug residues in sewage I natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil”; *Science of Total Environment*, Vol. 225, pp. 135-141.
5. M.A. Soliman, J.A. Pedersen, J.H. Suffet, 2004; “Rapid gas chromatography – mass spectrometry screening method for human pharmaceuticals, hormones, antioxidants and plasticizers in water”; *Journal of Chromatography A*, Vol. 1029, pp. 223-237.
6. S. Weigel, U. Berger, E. Jensen, R. Kallenborn, H. Thoresen, H. Hühnerfuss, 2004; “Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites”; *Chemosphere*, Vol. 56, pp 583-592.
7. Ternes Th.A., Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water research*. 1998, 32, 3245-3260.

