

COMPOUND SPECIFIC ISOTOPE ANALYSIS TO TRACK SOURCES AND TRANSFORMATION PROCESSES OF MICROPOLLUTANTS

-

INVESTIGATIONS IN ENGINEERED AND NATURAL SYSTEMS WITH A SPECIAL FOCUS ON DICLOFENAC AND CHIRAL HERBICIDES

ZUSAMMENFASSUNG

Arzneimittel und Pestizide gelangen über Kläranlagen und Felder in die Umwelt und zählen zu den am häufigsten nachgewiesenen Spurenstoffen in Gewässern. Es besteht daher großes Interesse herauszufinden, in welchem Ausmaß und durch welche Prozesse Spurenstoffe in der Umwelt abgebaut werden können. Allerdings ist es häufig schwierig, Abbauprozesse allein durch Konzentrationsmessungen zu bestimmen, da beispielsweise auch Verdünnungsprozesse zu einem Rückgang der Konzentrationen führen können. Dabei wird allerdings die Menge an Spurenschadstoffen in der Umwelt nicht reduziert, sondern nur ihre Gegenwart verschleiert. Außerdem können durch die Konzentrationsmessung von Spurenschadstoffen keine Abbauprozesse unterschieden werden. Dies ist zwar durch die Analyse von Transformationsprodukten (TPs) möglich, jedoch sind diese häufig nicht vollständig bekannt und können weiter abgebaut werden. Außerdem führen in manchen Fällen mehrere Prozesse zu demselben Abbauprodukt. Daher eignen sich bestehende Methoden nur bedingt zur (quantitativen) Untersuchung von Abbauprozessen in realen Systemen.

Komponentenspezifische Isotopenanalyse (CSIA) kann Transformationsprozesse unabhängig von Verdünnungseffekten nachweisen und sogar verschiedene Transformationsmechanismen unterscheiden. Dabei werden die natürlicherweise im Molekül enthaltenden Isotopenverhältnisse von $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ analysiert. Solange kein Abbau stattfindet, sind diese charakteristisch für die Herkunft eines Stoffes. Findet Abbau statt, so ändern sich die Isotopenverhältnisse im Substrat in Abhängigkeit vom zugrunde liegenden Reaktionstyp. Durch die alleinige Analyse der

Isotopenverhältnisse des Substrats ist es dann möglich, Abbauprozesse zu untersuchen. Bisher mit diesem Ansatz allerdings noch nie Arzneimittel untersucht und außerdem war seine Anwendung auf relativ hohe Konzentrationen beschränkt. Daher wurde erstmals eine CSIA Methode für die Modellsubstanz Diclofenac entwickelt, welche sowohl in der Medizin, als auch in der Umwelt zu den am weitesten verbreiteten Arzneimitteln zählt. Diese neu entwickelte Methode wurde einerseits genutzt um die Anwendung von CSIA in den ng L^{-1} Bereich vorzuspüren. Andererseits wurde sie eingesetzt um durch CSIA von Kohlenstoff- und Stickstoffisotopen neue Erkenntnisse auf drei Ebenen zu erhalten.

(i) Da Isotopenverhältnisse durch die Wahl der Rohstoffe und des Synthesewegs beeinflusst werden konnten die meisten der getesteten Diclofenac Produkte (Tabletten, Gele) durch C und N Isotopenanalyse unterschieden werden. Dadurch können einerseits pharmazeutische Produkte mit einer fälschungssicheren Methode verifiziert werden. Andererseits können verschiedene Quellen von Diclofenac in der Umwelt verfolgt werden, wie zum Beispiel Kläranlagen oder Gülle von Tieren, welche mit Diclofenac behandelt wurden.

(ii) CSIA konnte als neue Beweislinie für Abbauprozesse etabliert werden, welche unabhängig von der Detektion von TPs ist. Sechs verschiedene Transformationspfade wurden untersucht und alle konnten durch CSIA nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich das interessante Bild, dass sich umweltrelevante Reaktionen durch die Analyse der C und N Isotopenverhältnisse in 2 Gruppen unterteilen lassen. Während Ozonierung und Photolyse inverse N-Isotopeneffekte verursachen, zeigen biologischer Abbau und Abbau durch Manganoxide normale N-Isotopeneffekte. Dies ist einerseits von großem Interesse, da sowohl Photolyse als auch biologischer Abbau als potentiell wichtigste Eliminationspfade in der Umwelt gelten und CSIA beide Prozesse in-situ unterschieden kann. Andererseits kann CSIA auch wertvolle Einblicke in die (Abwasser-) Aufbereitung liefern, wenn die Effizienz von biologischer Reinigung, Mangandioxid-Zugabe und/oder Ozonierung untersucht werden soll.

(iii) Dadurch, dass Isotopeneffekte Übergangszustände von Transformationsreaktionen widerspiegeln, liefern sie einzigartige Einblicke in Reaktionsmechanismen, welche durch andere Methoden unter umweltrelevanten Bedingungen nicht zugänglich sind. Das damit einhergehende Potential von CSIA wurde beim Vergleich der Reaktionen von Diclofenac mit MnO_2 und ABTS deutlich. Beide Reaktionen wurden als Modelle für Ein-Elektron-Oxidation angesehen, welche häufig bei enzymatischen Reaktionen auftritt. Allerdings zeigte CSIA, dass sich beide Reaktionen fundamental

unterscheiden. Während ABTS tatsächlich durch Outer-Sphere-Ein-Elektron-Oxidation reagiert und inverse N-Isotopeneffekte verursacht, zeigte sich bei MnO_2 ein ausgeprägter normaler N-Isotopeneffekt der zudem mit dem Fraktionierungsmuster des biotischen Abbaus übereinstimmt. Ferner wurde durch CSIA deutlich, dass die ausgeprägte Isotopenfraktionierung einen wichtigen, aber noch unerforschten Transformationspfad widerspiegelt, welcher momentan nicht durch Transformationsprodukte detektierbar ist. Als weitere wichtige Reaktion Außerdem wurden mittels CSIA zum ersten Mal Transformationsprozesse bei der Ozonierung studiert. Dabei lieferte CSIA ein starkes Indiz dafür, dass das Ozonmolekül nicht am N-Atom von Diclofenac angreift, sondern am aromatischen Ring.

Neben Diclofenac wurden im Rahmen dieser Arbeit auch chirale Herbizide untersucht. Dazu wurde CSIA mit enantioselektiver Trennung kombiniert um die Transformationsprozesse von chiralen Herbiziden mit einem noch vielfältigeren Ansatz zu untersuchen. Es zeigte sich, dass Isotopen- und Enantiomerenverhältnisse komplementär verhalten. Während in dieser Studie ein Fall untersucht wurde, bei dem keine Isotopenfraktionierung, allerdings Enantiomerenfraktionierung gemessen werden konnte, wurde in einer anderen Studie genau das Gegenteil für ein Insektizid beobachtet. Interessanterweise konnten in einer ersten Feldstudie beide Prozesse parallel nachgewiesen werden.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass CSIA und ESIA in vielfältiger Weise dazu beitragen können, den Abbau von Spurenschadstoffen in der Umwelt zu untersuchen und vor allem besser zu verstehen. Für Diclofenac wurde exemplarisch aufgezeigt, dass Isotopenanalyse einzigartige Einblicke in das Transformationsverhalten von Arzneimitteln geben kann. Es kann besteht daher großes Potential die in dieser Studie vorgestellte Methodik auf eines der anderen 10.000 Arzneimittel zu übertragen, welche momentan auf dem Markt sind. Auch im Bereich der chiralen Isotopenanalyse (ESIA) gibt es noch unbegrenzte Möglichkeiten. Neben der Analyse weiterer Pestizide haben nicht zuletzt die Ergebnisse für Diclofenac gezeigt, dass die Analyse eines zweiten Elements (H oder N) den Erkenntnisgewinn vervielfachen kann. Außerdem liegt die Möglichkeit auf der Hand ESIA auch auf chirale Blockbuster-Arzneimittel, wie z.B. Ibuprofen oder Metoprolol, anzuwenden.