

Oxidative Transformation von Krebsmedikamenten in der wässrigen Phase

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN (Dr. rer. nat.)

von der KIT-Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)
genehmigte

DISSERTATION

Von

M. Sc. Stephan Zimmermann
aus Solingen

Tag der mündlichen Prüfung: 30.07.2024

Erstgutachter: Prof. Dr. Harald Horn

Zweitgutachterin: Prof. Dr. Julia Bornhorst

Danksagungen

Zuallererst möchte ich mich bei Prof. Harald Horn dafür bedanken, dass er mir ermöglicht hat meine Doktorarbeit in seinem Arbeitskreis zu schreiben. Ihre Unterstützung hat mich durch die Höhen und Tiefen dieser Doktorarbeit geführt.

Mein Dank gilt ebenfalls Dr. Ewa Borowska, für das Vertrauen, mich mein eigenes Thema entwickeln zu lassen und die Betreuung während der ersten 18 Monate meiner Promotion. Danke auch, dass du mir danach weiter unterstützend zur Seite standst.

Ein besonderer Dank gebührt Rafael Peschke, Matthias Weber und Axel Heidt für die Unterstützung bei der Probenmessung. Alle drei haben mir bei technischen Problemen und Fragen zu Messdaten stets geholfen und so zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Auch den anderen Doktoranden und Projektingenieuren, besonders Amélie und Andreas, möchte ich für die angenehme Atmosphäre und die interessanten Diskussionen während der letzten vier Jahre danken.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Dr. Gudrun Abbt-Braun bedanken, die mir in vielerlei Hinsicht fachlich und organisatorisch geholfen hat. Bei Messika Revel möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, an der UniLaSalle in Bruz, Frankreich die Toxizitätstests durchzuführen zu können. Dieser Auslandsaufenthalt wurde vom Karlsruhe House of Young Scientists (KHYS) gefördert.

Ich möchte mich bei Prof. Julia Bornhorst für die Übernahme der Zweitkorrektur dieser Thesis bedanken.

Vielen Dank auch an Jana für das Auffinden aller fehlenden bzw. überflüssigen Kommata, und an meine Eltern für die Unterstützung während des Studiums und der Promotion. Eure Unterstützung über die letzten zehn Jahre hat diese Promotion mit möglich gemacht.

Zusammenfassung

Krebsmedikamente zählen zu den Grundpfeilern der Krebstherapie und werden im Rahmen der Chemotherapie zur Behandlung von Krebserkrankungen eingesetzt. Diese Substanzen werden im Körper teilweise metabolisiert, teilweise aber auch unverändert wieder ausgeschieden und gelangen so in das Abwasser. Erfolgt in der Kläranlage kein vollständiger Abbau, können die Medikamente Oberflächengewässer erreichen, wo sie potentiell eine Gefahr für Wasserorganismen darstellen. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob eine zusätzliche Behandlung von Wasser mit Ozon oder UV-Strahlung in der Lage ist, den Eintrag von drei ausgewählten Krebsmedikamenten in die Umwelt zu reduzieren. Die drei Substanzen, Capecitabin, Bicalutamid und Irinotecan, wurden aufgrund ihrer Einstufung als potentiell bedenkliche Krebsmedikamente ausgewählt.

Durch Versuche in Reinstwasser konnten die kinetischen Parameter der Transformationsreaktionen bestimmt werden. Die Strahlung einer Niederdruck-UV-Lampe ist in der Lage, alle drei Substanzen vollständig zu transformieren und sie bis zu 70 % zu mineralisieren. Besonders die für die Mineralisierung benötigte Strahlungsmenge ist aber sehr hoch. Ozon transformiert Capecitabin und Irinotecan in Reinstwasser schnell, die Konzentration von Bicalutamid nahm in diesen Versuchen praktisch nicht ab. Die für Capecitabin und Irinotecan bestimmten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten deuten darauf hin, dass die Behandlung von Abwasser mit Ozon ein geeignetes Verfahren darstellt, um den Eintrag dieser Substanzen aus Abwasser in die Umwelt zu verhindern. Versuche in biologisch gereinigtem Abwasser ergaben für die Transformation mit UV-Strahlung der drei Substanzen eine geringere Effizienz als in Reinstwasser, auch die Behandlung von Capecitabin und Irinotecan mit Ozon war langsamer. Bicalutamid hingegen wurde in dieser Matrix schneller abgebaut, vermutlich aufgrund der vermehrten Bildung von hochreaktiven OH-Radikalen. Beide Prozesse verursachten in biologisch gereinigtem Abwasser eine Transformation von größeren Matrixmolekülen hin zu kleineren Substanzen. Drei Toxizitätstests konnten keinen klaren Unterschied zwischen nicht, teilweise und vollständig abgebauten Lösungen der Medikamente feststellen. Dies ist vermutlich auf die geringe Konzentration der verwendeten Lösungen zurückzuführen. Eine akute Gefährdung der Umwelt durch die einzelnen Substanzen wird deshalb als unwahrscheinlich eingeschätzt.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente zeigen, dass die Behandlung mit UV-Strahlung nicht geeignet ist, die Substanzen in biologisch gereinigtem Abwasser zu transformieren. Die Ozonung von Capecitabin und Irinotecan hingegen könnte den Eintrag dieser Substanzen in die Umwelt ausreichend reduzieren.

Abstract

Anticancer drugs are used as part of chemotherapy to treat cancer and are one of the cornerstones of cancer therapy. These substances are partially metabolized in the body, while parts are excreted unchanged and thus end up in wastewater. If these substances are not completely degraded in the wastewater treatment plant, as is often the case, they can reach surface waters, where they potentially pose a risk to the aquatic environment. This study investigated whether additional treatment of water with ozone or UV radiation is able to reduce the release of three selected anticancer drugs into the environment. The three substances, capecitabine, bicalutamide and irinotecan, were selected due to their classification as potential priority drugs.

The kinetic parameters of the transformation reactions were determined through experiments in ultrapure water. The radiation from a low-pressure UV lamp is capable of completely transforming all three substances and mineralizing up to 70 % of them. However, the radiation dose required for transformation and especially mineralization of the substances is very high. Ozone rapidly transforms capecitabine and irinotecan in ultrapure water while the concentration of bicalutamide practically did not decrease in these tests. The reaction rate constants determined for capecitabine and irinotecan indicate that treatment with ozone is a suitable method for preventing the release of these substances into the environment.

Tests in treated wastewater showed a lower efficiency for the transformation with UV radiation of the three substances than in ultrapure water. The treatment of capecitabine and irinotecan with ozone was also slower. Bicalutamide, on the other hand, was degraded more efficiently in this matrix, presumably due to the increased formation of highly reactive OH radicals. Both processes caused a degradation of large matrix molecules in treated wastewater, creating smaller substances in the process. Three toxicity tests could not detect a clear difference between non-degraded, partially degraded and fully degraded solutions of the drugs. This is presumably due to the low concentration of the solutions used. An acute risk to the environment from the individual substances is therefore considered unlikely.

The experiments carried out as part of this work show that treatment with UV radiation is not suitable for transforming the substances in treated wastewater. Ozonation of capecitabine and irinotecan, on the other hand, could sufficiently reduce the entry of these substances into the environment.

Publikationsliste

Peer-reviewed Publikationen

S. Zimmermann, M. Revel, E. Borowska, H. Horn, *Chemosphere*, **2024**, 356, 141780.

Konferenzbeiträge

S. Zimmermann, E. Borowska, S. Nasrabadi, H. Horn, *EA3G2022*, **28.–30.11.2022**, Toulouse, Frankreich.

S. Zimmermann, H. Horn, E. Borowska, *SUK 2021*, **19. – 20.4.2021**, online/Frankfurt, Deutschland.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	II
Abstract	III
1. Einleitung	1
1.1 Krebserkrankungen und Krebstherapie	1
1.2 Untersuchte Krebsmedikamente	2
1.3 Eintrag, Vorkommen und Toxizität von Krebsmedikamenten in der Umwelt.....	6
1.4 Mögliche Behandlungsverfahren	9
1.4.1. Ozon in der Wasserbehandlung	10
1.4.2 UV-Strahlung in der Wasseraufbereitung	15
1.5 Ziele der durchgeführten Experimente	20
2. Materialien und Methoden	21
2.1 Chemikalien.....	21
2.2 UHPLC-MS/MS-Methoden	21
2.3 Festphasenextraktion.....	22
2.4 Chemische Aktinometrie	22
2.5 Messung DOC und SEC-OCD.....	23
2.6 Bestimmung der Ozon-Konzentration mit Indigo	23
2.7 Durchführung der Bestrahlungs- und Ozonungsexperimente	24
2.8 Ökotoxizitätsexperimente.....	29
3. Transformation der Krebsmedikamente in Reinstwasser und biologisch gereinigtem Abwasser 33	
3.1 Dunkelexperimente.....	33
3.2 UV-I – Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Quantenausbeuten	33
3.2.1 Chemische Aktinometrie	33
3.2.2 Photolyse.....	34
3.3 Oz-I – III: Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Transformationsreaktionen mit Ozon.....	38
3.4 Vergleich der berechneten kinetischen Parameter mit Literaturwerten	44
3.5: UV-II, Oz-IV – Mineralisierungsexperimente mit UV und Ozon	46
3.6. UV-Abw und Oz-Abw – Ergebnisse der Transformationsversuche in biologisch gereinigtem Abwasser	52
3.6.1 SEC-OCD-Messungen der UV-Abw und Oz-Abw-Experimente	58
3.7 Ergebnisse der Ökotoxizitätsexperimente	65

3.7.1 Immobilisierungstest mit <i>D. magna</i>	65
3.7.2 Überprüfung der Genotoxizität mit dem Comet-Assay an den Muscheln <i>Mytilus edulis</i>	66
3.7.3 Test der Zytotoxizität mit dem MTT-Assay an menschlichen Caco-2 Zellen	68
4. Zusammenfassung.....	73
5. Quellenverzeichnis	75
Anhang.....	85

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformeln von CAP, BIC und IRI.	3
Abbildung 2: Dreistufige enzymatische Umsetzung von CAP zu 5-FU.	4
Abbildung 3: Strukturformel von Camptothecin.....	5
Abbildung 4: Strukturformel von Ozon	10
Abbildung 5: Reaktionsmechanismen der Reaktionen von Ozon mit Aminen und Olefinen.	13
Abbildung 6: Bildung von ·OH durch Reaktion von Ozon mit aromatischen DOC-Bestandteilen:	14
Abbildung 7: Schematische Darstellung der typischen photochemische Reaktionen Homolyse, Heterolyse und Photoionisation am Beispiel der Substanz PX.	16
Abbildung 8: Vergleich der Spektren von LP-UV- und MP-UV-Lampen.	18
Abbildung 9: Beispiel für den Lampenteil eines Reaktors, in welchem UV-Strahlung zur Behandlung von biologisch gereinigtem Abwasser genutzt wird.	19
Abbildung 10: Aufbau der Versuche UV-I und UV-II.	25
Abbildung 11: Semi-Batch Aufbau der Oz-I und Oz-II-Experimente.	27
Abbildung 12: Transformationskurve von Uridin bei Bestrahlung im UV-Reaktor.....	34
Abbildung 13: Logarithmierte Transformation von CAP, BIC und IRI während der Bestrahlung mit UV.	34
Abbildung 14: Mit einem UV/Vis-Spektrometer gemessene Extinktionen von CAP, BIC und IRI im UV-Bereich.	36
Abbildung 15: Transformationskurven der drei Substanzen während der Ozonung mit und ohne die Zugabe von 20 mmol L ⁻¹ t-BuOH.	40
Abbildung 16: Strukturformeln von BIC (1), CAP (2) und IRI (3). Rot markierte Funktionalitäten reagieren bevorzugt mit elementarem Ozon.....	41
Abbildung 17: Verlauf der DOC-Konzentrationen während der Mineralisierungsexperimente für UV und Ozon	46

Abbildung 18: Linearisierte DOC-Konzentration während der Mineralisierungsexperimente mit UV (UV-II) und Ozon (Oz-IV)	47
Abbildung 19: Vergleich der Konzentrationen von DOC und den drei Substanzen während UV-II.....	49
Abbildung 20: Vergleich der Konzentrationen von DOC und den drei Substanzen während Oz-IV	50
Abbildung 21: Relative Transformation der Krebsmedikamente während UV-Abw.	54
Abbildung 22: Saure Gruppen des IRI-Moleküls und dazugehörige pK_a -Werte.....	55
Abbildung 23: Relative Transformation der Krebsmedikamente durch Ozon in biologisch gereinigtem Abwasser	56
Abbildung 24: Einteilung der LC-DOC Chromatogramme in vier Fraktionen am Beispiel der Messung von UV-Abw vor Beginn des Experiments.	59
Abbildung 25: Änderung der DOC- und UV-Chromatogramme während UV-Abw.....	60
Abbildung 26: Änderung der UV-Chromatogramme während Oz-Abw.....	61
Abbildung 27: Veränderungen der SEC-OCD-Peakflächen für F1 – F4 während UV-Abw und für F1 – F3 während Oz-Abw	63
Abbildung 28: Änderung der ON-Chromatogramme während Oz-Abw.	64
Abbildung 29: Ergebnisse des Comet-Assays für die drei Krebsmedikamente	67
Abbildung 30: Zellviabilitäten nach Behandlung mit Lösungen der Krebsmedikamente	69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zu priorisierende Krebsmedikamente	7
Tabelle 2: Gemessene Konzentrationen, PNECs und RQs für CAP, BIC und IRI.	9
Tabelle 3: Einteilung elektromagnetischer Strahlung nach ihrer Wellenlänge.....	15
Tabelle 4: Fließmittelprogramm der UHPLC-MS/MS-Methode für die Messung von pCBA	21
Tabelle 5: Fließmittelprogramm der UHPLC-MS/MS-Methode zur Messung der Krebsmedikamente	22
Tabelle 6: Übersicht für die durchgeführten Transformationsexperimente	24
Tabelle 7: Kinetische Parameter der photochemischen Transformation und Absorptionskoeffizienten der drei Krebsmedikamente (UV-I).	36
Tabelle 8: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Reaktion mit Ozon für CAP, BIC und IRI (Oz-I bis Oz-III).	39
Tabelle 9: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Quantenausbeuten von CAP, BIC und IRI aus den Experimenten Oz-I bis Oz-III und UV-I und der Literatur sowie von sechs weiteren umweltrelevanten Substanzen.	44
Tabelle 10: Halbwertszeiten der DOC-Konzentrationen in UV-II und Oz-IV.	48
Tabelle 11: Wiederfindungsraten und Matrixeffekte der SPE-Methode.....	53
Tabelle 12: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Photolysereaktionen in Reinstwasser und Abwasser, sowie die relativen Unterschiede zwischen den beiden Werten.	54
Tabelle 13: Geschwindigkeitskonstanten der Transformationsreaktion für die Krebsmedikamente in Oz-I und Oz-Abw, sowie die relativen Unterschiede zwischen den beiden Werten.	56
Tabelle 14: In den D. magna-Experimenten bestimmte LC ₅₀ -Werte für CAP, BIC und IRI	65

Liste der verwendeten Abkürzungen

5-FU	5-Fluoruracil
AOPs	Erweiterte Oxidationsprozesse (engl. <i>advanced oxidation process</i>)
AU	Beliebige Einheit (engl. <i>arbitrary unit</i>)
BIC	Bicalutamid
CAP	Capecitabin
<i>D. magna</i>	<i>Daphnia magna</i>
DMEM	Dulbeccos modifiziertes Eagles Medium
DNA	Desoxyribonucleinsäure (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DOC	Gelöster Kohlenstoff (engl. <i>dissolved organic carbon</i>)
EDTA	Ethylendiamintetracetat
HOMO	Höchstes besetztes Molekülorbital (engl. <i>highest occupied molecular orbital</i>)
IRI	Irinotecan
KMW	Künstliches Meerwasser
LC50	engl. <i>lethal concentration 50</i>
LP-UV	Niederdruck-UV (engl. <i>low-pressure UV</i>)
LUMO	Niedrigstes unbesetztes Molekülorbital (engl. <i>lowest unoccupied molecular orbital</i>)
<i>M. edulis</i>	<i>Mytilus edulis</i>
ME	Matrixeffekt
MP	Mitteldruck (engl. <i>medium pressure</i>)
MPs	Mikroschadstoffe (engl. <i>micropollutants</i>)
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
N/A	Keine Angabe (engl. <i>not available</i>)
NOM	Natürliche organische Materie (engl. <i>natural organic matter</i>)
ON	Organischer Stickstoff (engl. <i>organic nitrogen</i>)
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (engl. <i>phosphate buffered saline</i>)
pCBA	<i>para</i> -Chlorbenzoesäure (engl. <i>para-chlorobenzoic acid</i>)
PNEC	engl. <i>predicted no-effect concentration</i>
QSAR	Quantitative Struktur-Aktivitätsbeziehungsmodelle (engl. <i>quantitative structure-activity relationship</i>)
RQ	Risikoquotient
RT	Retentionszeit (engl. <i>retention time</i>)

SEC-OCD	Größenausschlusschromatographie gekoppelt mit einem Detektor für organischen Kohlenstoff
SPE	Festphasenextraktion (engl. <i>solid phase extraction</i>)
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
TOP I	Topoisomerase I
TPs	Transformationsprodukte
UHPLC-MS/MS	Ultrahighperformance-Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie
UV	Ultraviolett
WR	Wiederfindungsrate

1. Einleitung

1.1 Krebserkrankungen und Krebstherapie

Krebserkrankungen waren 2015 die häufigste Todesursache für Personen im Alter von 0 – 69 Jahren in Deutschland und den meisten anderen Ländern Europas^[1]. 2020 wurden in Deutschland 492.250 neue Krebserkrankungen registriert, 230.223 Personen starben mit einer Krebserkrankung^[2]. Es wird erwartet, dass die Krebsinzidenz weltweit bis 2040 weiter ansteigt. Ein Grund für diese Entwicklung ist eine alternde Bevölkerung, vor allem in Asien und Afrika, wo der absolute Anstieg der Erkrankungen mit + 59 % bzw. + 89 % besonders stark ausfallen soll^[3]. Auch andere Risikofaktoren, von denen einige mit sozioökonomischer Entwicklung einhergehen, spielen dabei eine Rolle^[4]. Unter dem Überbegriff Krebs werden mehrere hundert verschiedene Erkrankungen zusammengefasst. Hanahan hat für diese Erkrankungen gemeinsame Charakteristiken festgelegt. Dazu zählen die Fähigkeit, den programmierten Zelltod auszuschalten, unkontrolliertes Wachstum, die Eigenschaft, in bereits von anderen Zellen belegten Raum hineinzuwachsen sowie Metastasen zu bilden^[5]. Krebserkrankungen können in drei Gruppen eingeteilt werden: Krebs aus Epithelzellen sind sog. Karzinome, Krebs aus hämatologischen Zellen wie beispielsweise Leukämie und Erkrankungen von Weichgewebe. Von diesen drei Gruppen sind Karzinome die am häufigsten vorkommende Art^[6]. Krebserkrankungen entstehen, wenn die Mutation einer Zelle zu einer unkontrollierten Vermehrung führt. Die ursprüngliche Mutation kann viele Ursachen haben: Kontakt mit karzinogenen Substanzen oder energiereicher Strahlung, Virusinfektionen oder zufällige Fehler bei der DNA-Replikation können eine Krebserkrankung zur Folge haben^[6]. Die Prognose nach einer erkannten Krebserkrankung variiert und hängt stark von dem Zeitpunkt der Diagnose, der Art der Erkrankung sowie dem Alter des Patienten ab. Während die 5-Jahres-Überlebensrate für Darmkrebs, welcher noch keine Fernmetastasen ausgebildet hat, über 70 % beträgt, überleben Patienten mit Leberkrebs nur in 10 – 23 % der Fälle die 5 Jahre nach der Diagnose^[2].

Die am weitesten verbreiteten Behandlungsarten für Krebserkrankungen sind die chirurgische Entfernung, die Strahlentherapie, die Einnahme von Medikamenten im Rahmen einer Chemotherapie und die Immuntherapie. Die Auswahl und Wirksamkeit der gewählten Therapie ist stark von der Art der Erkrankung abhängig, häufig werden mehrere Behandlungsarten kombiniert. Durch eine Operation können beispielsweise Krebszellen häufig nicht vollständig entfernt werden. Deshalb schließt sich an diese Behandlung meist eine Strahlentherapie oder Chemotherapie an. So sollen die verbliebene Zellen oder Metastasen behandelt werden, um möglichst eine vollständige Heilung zu erreichen^[6]. Im Rahmen der Strahlentherapie wird der Tumor mit ionisierender Strahlung (meist

Röntgen- oder γ -Strahlen) beschossen, um so molekularen Schaden an den Zellen zu verursachen und den kontrollierten Zelltod hervorzurufen. Der Schaden wird häufig nicht durch die Strahlung selbst verursacht, sondern durch Radikale, welche in der Zelle gebildet werden und Proteine, DNA oder die Zellmembran schädigen^[7]. Die Strahlentherapie ist besonders wirksam gegen sich schnell teilende Zellen, Krebszellen werden von ihr deshalb stärker geschädigt, als gesundes Gewebe^[7]. Durch unterschiedliche Bestrahlungswinkel mit dem Tumor als Fokuspunkt wird zusätzlich versucht, Schaden von normalen Zellen abzuwenden und auf das gewünschte Ziel zu konzentrieren. Eine Immuntherapie nutzt das Immunsystem, um Krebszellen abzutöten. Ziel dabei ist es, das Immunsystem des Patienten so zu stimulieren, dass es gegen die Krebszellen wirkt und auf diese Weise eine Reduktion der Tumorgroße zu erreichen^[8]. In den letzten 20 Jahren hat die Immuntherapie große Fortschritte gemacht und gehört inzwischen zu den am häufigsten eingesetzten Therapieformen^[9].

Chemotherapie beschreibt den Einsatz von Medikamenten zur gezielten Behandlung von Krankheiten^[7]. In der Krebstherapie werden zytotoxische und hormonell wirksame Substanzen eingesetzt. Zytotoxische Medikamente, auch Zytostatika genannt, wirken gegen Krebszellen, indem sie die Zellteilung verhindern oder in Zellen den kontrollierten Zelltod (Apoptosis) induzieren. Viele Zytostatika wirken in der Zellreplikationsphase und sind dadurch besonders wirksam gegen sich schnell teilende Zellen wie Krebszellen. So kann bei der Einnahme von Zytostatika eine gewisse Selektivität erreicht werden^[7]. Trotzdem wirken Zytostatika in allen Zellen des Körpers und die Chemotherapie mit Zytostatika ist häufig mit schweren Nebenwirkungen verbunden. Der Unterschied zwischen einer maximal wirksamen Dosis und einer Dosis, bei welcher die Nebenwirkungen so gravierend werden, dass die Behandlung für den Patienten insgesamt nachteilig ist, wird als therapeutisches Fenster bezeichnet. Für Zytostatika ist dieses Fenster häufig eng und unterscheidet sich zusätzlich von Patient zu Patient^[10]. Hormonell wirksame Krebsmedikamente basieren auf der Entdeckung, dass das Wachstum bestimmter Tumore von Hormonen beeinflusst wird. Typische Krebserkrankung, welche mit diesen Medikamenten behandelt werden können, sind Prostatakrebs und Brustkrebs^[11].

1.2 Untersuchte Krebsmedikamente

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei Krebsmedikamente untersucht: Capecitabin (CAP), Bicalutamid (BIC) und Irinotecan (IRI). CAP und IRI sind Zytostatika, BIC wird als hormonell wirksames Medikament unter anderem gegen Prostatakrebs eingesetzt. In Abbildung 1 sind die Strukturformeln der drei Substanzen dargestellt.

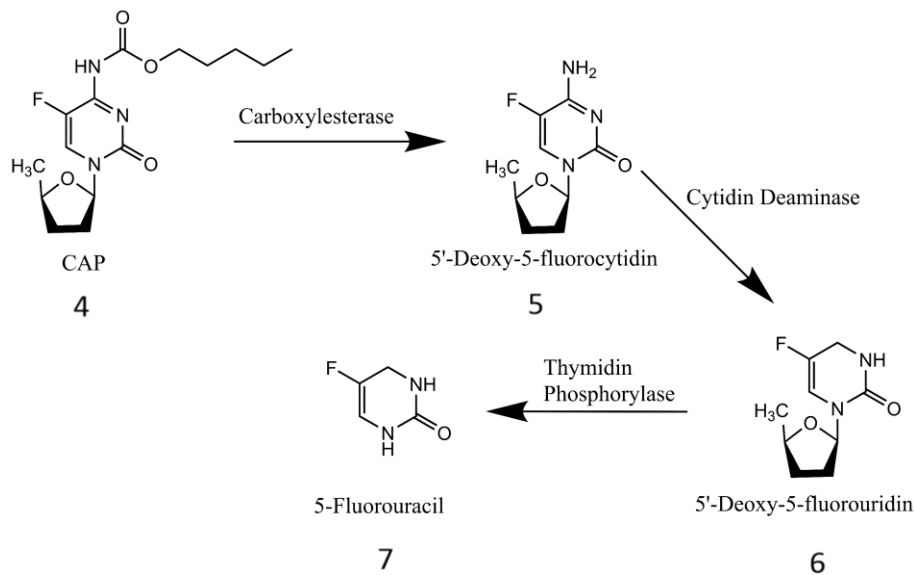


Abbildung 2: Dreistufige enzymatische Umsetzung von CAP (4) zu 5-FU (7)^[12].

5-FU wird bereits seit den 1950er Jahren als Zytostatikum eingesetzt^[13], CAP wurde unter anderem entwickelt, um die Nebenwirkungen von 5-FU zu reduzieren^[12]. Dies wird erreicht, da die Konzentration des Enzyms Thymidin Phosphorylase, welches den finalen Schritt der dreistufigen Umwandlung von CAP zu 5-FU katalysiert, gegenüber gesunden Zellen in Tumorzellen erhöht ist. Die Wirkung von CAP ist dadurch im Tumor stärker ausgeprägt, während andere Zellen nicht so stark geschädigt werden und Nebenwirkungen milder ausfallen^[12]. Ein weiterer Vorteil ist, dass CAP als Tablette eingenommen werden kann und es Patienten so möglich gemacht wird, die Chemotherapie zuhause durchzuführen. Die am häufigsten auftretenden Nebenwirkungen von CAP sind Durchfall, Übelkeit, Stomatitis und das Hand-Fuß-Syndrom^[14]. Es wird angenommen, dass CAP durch Störung der DNA-Synthese die Zellteilung verhindert, da die Struktur des wirksamen Moleküls der Struktur von DNA-Nucleotiden ähnelt. Zusätzlich stört CAP vermutlich die Synthese von RNA und die Proteinbiosynthese. Dadurch wird in den Krebszellen Apoptosis eingeleitet und die Tumorgröße so verringert^[15].

BIC ist ein Antiandrogen und wird seit 1995 Patienten mit Prostatakarzinom verschrieben, wenn dieses bereits metastasiert hat, andere Organe aber noch nicht betroffen sind. BIC ist ein Kompetitor für Testosteron und Dihydrotestosteron^[16], seine Wirkung beruht auf der Blockade von Androgenrezeptoren. Für das Wachstum von Zellen des Prostatakarzinoms werden diese Hormone benötigt. Eine Blockade der Rezeptoren soll das Wachstum verringern oder zu einem Rückgang der Tumorgröße führen^[17] und ist eine Alternative zu der chemischen oder chirurgischen Kastration, welche einen ähnlichen Effekt hat. Die Einnahme von BIC ist dabei weniger invasiv und mit nicht so schweren Nebenwirkungen für den Patienten verbunden^[18]. BIC ist endokrin wirksam, zu den am

häufigsten beobachteten Nebenwirkungen zählen Gynäkomastie, die Vergrößerung der Brustdrüsen bei Männern, Empfindlichkeit der Brüste und Hitzewallungen^[18].

IRI wird für die Behandlung von Darmkrebs und kleinzelligen Lungenkarzinomen eingesetzt und zählt zu den Topoisomerase I (TOP I)-Inhibitoren. Wie CAP ist auch IRI eine Prodrug und wird im Körper von dem Enzym Carboxylesterase II in die wirksame Form SN38 überführt. Es wurde 1994 in Japan erstmals zugelassen und leitet sich von dem Naturstoff Camptothecin ab, welcher in Abbildung 3 gezeigt ist. IRI wird intravenös verabreicht und kann deshalb, anders als CAP und BIC, nicht von Patienten zuhause eingenommen werden.

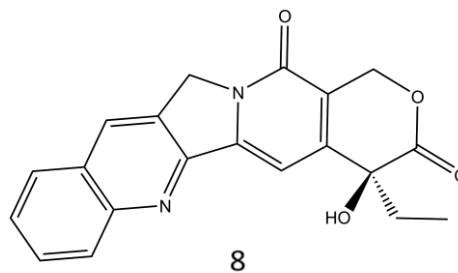


Abbildung 3: Strukturformel von Camptothecin (8)^[19].

TOP I ist ein Enzym, welches die Desoxyribonucleinsäure (engl. *deoxyribonucleic acid*, DNA) entspannt und so deren Replikation während der Zellteilung ermöglicht. Dazu verursacht TOP I Einzelstrangbrüche in der DNA und rotiert die DNA um den intakten Strang, um sie in eine Form zu bringen, in der die anderen an der Replikation beteiligten Enzyme an der DNA ansetzen können. IRI bzw. seine aktive Form wirken, indem sie einen Komplex mit TOP I bilden und auf diesem Weg die Reparatur der Einzelstrangbrüche nach der Entspannung verhindern. Stattdessen verbleibt TOP I an der Stelle des Bruchs in der DNA und wird von anderen, an der DNA-Replikation beteiligten Enzymen eingeholt. Die Kollision der beiden Enzyme verursacht einen Doppelstrangbruch an der Stelle, an der TOP I sitzt^[20]. In sich schnell teilenden Zellen, wie z.B. Krebszellen, ist TOP I besonders aktiv. IRI zeigt deshalb eine gewisse Selektivität gegenüber Krebszellen^[21]. Die toxische Wirkung von IRI beeinflusst aber auch gesunde Zellen und Bakterien im Körper. Zu den schwerwiegenden Nebenwirkungen von IRI zählen die Schwächung des Immunsystems durch das Abtöten von weißen Blutzellen und Durchfall. Der Durchfall wird durch die zelluläre Schädigung des Verdauungstraktes und der Darmflora verursacht und kann in schweren Fällen eine stationäre Behandlung erfordern^[21].

1.3 Eintrag, Vorkommen und Toxizität von Krebsmedikamenten in der Umwelt

Der Eintrag von Medikamenten und anderen anthropogenen Substanzen in die aquatische Umwelt u.a. über Ausscheidungen von Menschen und Tieren ist ein weltweites Problem^[22]. Diese Substanzen werden unter dem Begriff Mikroschadstoffe (engl. *micropollutants*, MPs) zusammengefasst und gelten als potentielle Gefahr für die Gesundheit von Ökosystemen und Menschen^[23]. Krebsmedikamente werden im Vergleich zu Substanzen wie Antibiotika in geringeren Mengen konsumiert, weisen aber meist eine höhere Toxizität auf^[24]. Eine der ersten Veröffentlichungen zu diesem Thema erschien 1997 von Kümmerer und Helmers^[25] und beschäftigt sich mit dem Eintrag von Platin in die Umwelt durch Krebsmedikamente in Krankenhausabwässern. Seitdem sind tausende Manuskripte zu Krebsmedikamenten in der Umwelt veröffentlicht worden. Wie in Kapitel 1.1 gezeigt, nimmt die Anzahl der Patienten mit Krebserkrankungen weltweit zu, deshalb wird angenommen, dass auch die Menge der konsumierten Krebsmedikamente in Zukunft steigen wird. Krebsmedikamente werden im Körper der Patienten teilweise metabolisiert, ein Teil der eingenommenen Substanzen wird aber unverändert wieder ausgeschieden und erreicht so das Abwasser. Viele Patienten führen zumindest Teile ihrer Chemotherapie zuhause durch. Selbst wenn Patienten die Zytostatika im Krankenhaus verabreicht bekommen, kehren sie danach häufig nach Hause zurück und scheiden die unmetabolisierte Substanz dort aus. Die Eintragungspunkte dieser Medikamente in das Abwasser können deshalb, abhängig von der Substanz, sehr diffus sein^[26]. Eine Behandlung der Krankenhausabwässer ist also vermutlich nicht ausreichend, um die Menge der Substanzen zu verringern, welche in den Abwasserstrom gelangen. Gelöste Krebsmedikamente werden in Kläranlagen teilweise nur unzureichend abgebaut, abhängig von den chemischen Eigenschaften und der daraus resultierenden biologischen Abbaubarkeit der Substanzen^[27]. Die Messung der Konzentrationen aller Krebsmedikamente im Abwasser ist aufwendig und teuer, eine erste Abschätzung der Umweltrelevanz von Substanzen kann jedoch auch durch den Vergleich der konsumierten Mengen und ihrer Ausscheidungs- und Abbauraten erfolgen. So können Krebsmedikamente, deren Konzentrationen in der Umwelt theoretisch besonders hoch sind, für die anschließende Messung in Umweltproben priorisiert werden. In Tabelle 1 sind die Ergebnisse von drei Studien gezeigt, die diese Berechnungen durchgeführt haben.

Tabelle 1: Krebsmedikamente, die aufgrund ihrer theoretischen Konzentrationen für Messungen in Oberflächengewässern priorisiert werden sollten^{[28][29][26]}.

Substanzen	Region	Quelle
Hydroxycarbamid, CAP, Cyclophosphamid, Ifosfamid, Mitotan, Imatinib, Lapatinib, Tamoxifen und Flutamid	Frankreich	Besse <i>et al.</i> , 2012
Cyclophosphamid, CAP, 5-FU, Hydroxyurea, Imatinib, Methotrexat, Carboplatin, Gemcitabin, Etoposid, Ifosfamid, Dacarbazin, Treosulfan	England, (Großbritannien)	Booker <i>et al.</i> , 2014
Hydroxycarbamid, CAP, BIC, Gefitinib, Tamoxifen, 5-FU, Imatinib, Panzopanib sowie 16 weitere Substanzen mit theoretischen Konzentrationen zwischen 4 ng L ⁻¹ und 1 ng L ⁻¹	Lissabon (Portugal), Belgien, Harayana (Indien)	Cristovao <i>et al.</i> , 2020

Die hier aufgeführten Medikamente haben eine theoretische Konzentration von $> 1 \text{ ng L}^{-1}$ ^{[26][28]} bzw. $> 0,1 \text{ ng L}^{-1}$ ^[29], die höchste Konzentration wurde mit 137 ng L^{-1} für Hydroxycarbamid in Belgien berechnet. Für die meisten der genannten Substanzen fällt die theoretische Konzentration in den Bereich zwischen 1 ng L^{-1} und 10 ng L^{-1} . Bei der Bewertung dieser Zahlen muss berücksichtigt werden, dass sie sich immer auf einzelne Regionen oder Städte beziehen und nicht zwangsläufig auf andere Regionen übertragen werden können.

Um diese Werte interpretieren zu können, werden verlässliche Daten über die Gefährlichkeit der Substanzen benötigt. Die wissenschaftliche Disziplin, die sich mit der Wirkung von Schadstoffen auf die Umwelt beschäftigt, ist die Ökotoxikologie, welche 1969 von René Truhaut als Erweiterung der Toxikologie benannt wurde^[30]. Eine Methode zur Abschätzung der Gefährlichkeit von Substanzen ist die Messung der Konzentration, bei der 50 % der Testpopulation in einem bestimmten Zeitraum sterben, der sogenannte LC₅₀ (engl. *lethal concentration 50*). In diesen Versuchen werden häufig Fische, Wasserflöhe oder Algen als Modellorganismen verwendet^[31]. Die Bestimmung der Toxizität durch die Bestimmung des LC₅₀ hat einige Vorteile: Die Tests sind standardisiert, wodurch eine Vergleichbarkeit zwischen Substanzen und Laboren gegeben ist, sind kostengünstig und schnell durchzuführen. Solche Experimente sind deshalb gut geeignet, um auf einfachem Weg Informationen

über die Toxizität von Substanzen zu bestimmen. Neben dem LC₅₀ kann auch die EC₅₀ bestimmt werden (engl. *effective concentration 50*). Dieser Wert wird durch die Messung anderer Endpunkte wie der Fortpflanzungsrate und dem Wachstum von Organismen bestimmt. Selbst wenn Substanzen nicht direkt tödlich sind, können sie diese beiden Endpunkte beeinflussen und so auch bei sub-letalen Konzentrationen einen negativen Effekt auf das Ökosystem haben^[32]. Die Frage, inwiefern Ergebnisse von Toxizitätstests aus dem Labor auf Ökosysteme in der Umwelt übertragen werden können, hängt dabei auch von der Art der getesteten Substanzen ab^[33]. Neben Tests mit Lebewesen hat in den letzten Jahren die Nutzung von *in silico*-Methoden zur Abschätzung der Auswirkungen von Substanzen oder Substanzgemischen auf die Umwelt zugenommen. Dazu zählen Quantitative Struktur-Aktivitätsbeziehungsmodelle (engl. *quantitative structure-activity relationship* (QSAR)-models), welche bekannte Eigenschaften von Substanzen mit deren Toxizität in Verbindung setzen^[34]. Zu diesen Eigenschaften zählen die chemische Struktur und der Oktanol-Wasser Partitionskoeffizient. QSAR-Modelle werden mit einer Bibliothek von Stoffen mit bekannter Toxizität trainiert und sollen in der Lage sein, die Gefährlichkeit von Substanzen ohne Toxizitätstests, nur anhand von chemischen Eigenschaften zu bestimmen. Diese Modelle basieren auf der Annahme, dass sich Substanzen mit ähnlichen Strukturen in der Umwelt ähnlich verhalten^[35]. Die Vorteile von *in silico*-Methoden liegen in der schnellen Anwendung von fertigen Modellen, der Tatsache, dass für ihre Nutzung keine Versuchstiere eingesetzt werden müssen und darin, dass sie kostengünstiger durchzuführen sind als klassische Toxizitätstests^[34].

Sind sowohl die Konzentration von Substanzen in der Umwelt als auch ihre Toxizität bekannt, kann das Risiko, welches von diesen Substanzen ausgeht, abgeschätzt werden. Eine Möglichkeit dafür ist die Berechnung des Risikoquotienten (RQ). Der RQ kann als Quotient der abgeschätzten oder berechneten Umweltkonzentration und der Konzentration, bei welcher keine Auswirkung auf die Umwelt erwartet wird (engl. *predicted no-effect concentration*, PNEC) berechnet werden^[36]:

$$RQ = \frac{\text{Umweltkonzentration}}{PNEC} \quad (1-1)$$

PNEC können in separaten Experimenten bestimmt oder aus Werten wie dem LC₅₀ berechnet werden. Für die Berechnung aus dem LC₅₀ wird dieser mit einem Sicherheitsfaktor multipliziert, Santos *et al.* nutzt dazu $\frac{1}{1000}$ ^[36]. Ist die Umweltkonzentration höher als die Konzentration, bei der kein adverser Effekt der Substanz erwartet wird, liegt der RQ also über 1, wird das Risiko dieser Substanz für die Umwelt als hoch eingestuft. Bei einem RQ zwischen 0,1 und 1 wird von einem mittleren Risiko ausgegangen, bei RQ < 0,1 von einem geringen Risiko^[37]. CAP, BIC und IRI wurden im Kläranlagenablauf nachgewiesen, CAP und BIC auch in Oberflächenwasser. Zusätzlich wurden PNECs für alle drei

Substanzen bestimmt, was die Berechnung von RQs erlaubt. In Tabelle 2 sind gemessene Konzentrationen, PNECs und die berechneten RQs aufgelistet:

Tabelle 2: Gemessene Konzentrationen, PNECs und RQs für CAP, BIC und IRI. Die gezeigten Konzentrationen sind jeweils die höchsten für diese Substanz gemessenen Konzentrationen in den Veröffentlichungen^{[38][39][36][40]}.

Substanz	Konzentration Abwasser [ng L ⁻¹]	Konzentration Oberflächenwasser [ng L ⁻¹]	Quellen	PNEC [µg L ⁻¹]	RQ	Quellen
CAP	11	20	Azuma <i>et al.</i> , 2015	12,0	> 0,01	Gouveia <i>et al.</i> , 2020
BIC	1032	254	Azuma <i>et al.</i> , 2015	0,96	0,26	Santos <i>et al.</i> , 2017
IRI	273	-	Olalla <i>et al.</i> , 2018	0,02	11,9	Olalla <i>et al.</i> , 2018

IRI hat mit 11,9 von den drei untersuchten Krebsmedikamenten den höchsten RQ und stellt damit eventuell ein großes Risiko für die Umwelt dar. Dabei sollte beachtet werden, dass IRI bisher noch nicht in Oberflächengewässern nachgewiesen wurde, die Berechnung des RQ erfolgt auf Grundlage von Messungen in Krankenhausabwässern. Die Konzentration von Krebsmedikamenten ist hier im Vergleich zu den Abwässern in der Kläranlage und Oberflächengewässern vermutlich erhöht. Der RQ von BIC ist 0,26, was einem mittleren Risiko entspricht. Mit einem RQ von > 0,01 stellt CAP aufgrund seiner vergleichsweise geringen Toxizität bei den gemessenen Konzentrationen nur ein geringes Risiko für die Umwelt dar.

1.4 Mögliche Behandlungsverfahren

MPs werden in Kläranlagen teilweise unzureichend entfernt^[41]. Es existieren verschiedene Prozesse, welche darauf abzielen, die Substanzen aus dem Wasser zu entfernen oder in weniger giftige Substanzen zu überführen. In den beiden folgenden Abschnitten werden zwei dieser Prozesse, die Ozonung und die Bestrahlung mit UV-Licht, vorgestellt.

1.4.1. Ozon in der Wasserbehandlung

Ozon ist ein dreiatomiges Molekül mit der Summenformel O_3 , besteht also ausschließlich aus Sauerstoff. Bei Raumtemperatur liegt Ozon als Gas vor und hat einen starken, charakteristischen Geruch, welcher ab einer Konzentration von $30 - 40 \mu\text{g m}^{-3}$ klar wahrgenommen werden kann. In der Wasserphase reagiert Ozon meist als bipolares Ion^[42]. Die Strukturformel von Ozon kann mit unterschiedlichen Elektronenkonfigurationen dargestellt werden. Eine Möglichkeit ist in Abbildung 4 gezeigt^[43].

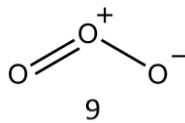


Abbildung 4: Strukturformel von Ozon. Der Bindungswinkel zwischen den Sauerstoffen beträgt 117° .

Ozon ist in Wasser löslich, mit steigender Temperatur nimmt die Löslichkeit jedoch ab. Es ist nicht stabil und zerfällt innerhalb von Stunden komplett in O_2 . In der Stratosphäre schützt Ozon niedrigere Luftschichten vor gefährlicher ultravioletter (UV)-Strahlung, indem es diese Strahlung absorbiert. Ozon wird in den oberen Schichten unserer Atmosphäre durch hochenergetische UV-Strahlung, sogenannte UV-C-Strahlung gebildet. UV-Strahlung mit größerer Wellenlänge, sog. UV-B-Strahlungen werden in der Stratosphäre von dem gebildeten Ozon absorbiert und erreichen nicht die Erdoberfläche. So werden Lebewesen vor dieser gefährlichen, energiereichen Strahlung, welche bei Menschen Hautkrebs verursachen kann, geschützt^[44]. In Bodennähe auftretendes Ozon wird durch Transport aus der Stratosphäre und durch photochemische Reaktionen von Stickoxiden, Kohlenstoffmonoxid, Methan und flüchtigen organischen Substanzen gebildet^[45]. Dies stellt ein Problem für die menschliche Gesundheit dar: Ozon ist sehr reaktiv und wird mit einer Reihe von gesundheitlichen Problemen in Verbindung gebracht, unter anderem dem vermehrten Auftreten und der Mortalität von Atemwegserkrankungen^[46]. Anenberg *et al.* haben 2010 berechnet, dass anthropogenes Ozon jährlich mit $7 \cdot 10^5$ Toden aufgrund von Erkrankungen des Respirationstraktes in Verbindung steht, was 1,1 % aller Tode entspricht^[47].

Ozon wird seit mindestens 1906 zur Behandlung von Wasser eingesetzt^[48]. In der Trinkwasseraufbereitung kommt es als Desinfektionsmittel und zur Oxidation von unerwünschten Metallen, welche anschließend mit Filtern entfernt werden können, zum Einsatz. Die Verwendung von Ozon in der Behandlung von Abwasser begann mit dem Einsatz als Desinfektionsmittel, als der Ablauf vor der Einleitung in sensitive Gewässer wie z.B. Badeseen von Mikroorganismen befreit werden musste^[49]. Ozon desinfiziert Wasser durch die Schädigung des Erbguts von Bakterien. Ist die Anzahl der

DNA-Schädigungen so hoch, dass die Reparaturmechanismen nicht in der Lage sind die Schäden zu beheben, sterben die Mikroorganismen ab. Die Desinfektionswirkung hängt deshalb von der verwendeten Ozondosis ab^[50].

In den letzten Jahren haben viele Studien Ozon aufgrund seiner Fähigkeit, Rückstände von Medikamenten, Industriechemikalien und anderen MPs in Abwasser zu oxidieren untersucht^{[51][52][53]}. Inzwischen sind erste Anlagen in Betrieb, in denen Ozon zur Elimination von MPs eingesetzt wird. Ein Grund dafür könnte sein, dass das Bewusstsein für die Gefahr, welche von MPs in der aquatischen Umwelt ausgeht, gestiegen ist. In der Schweiz hat der Bundesrat beschlossen, bis zum Jahr 2030 die 100 größten Kläranlagen mit einer zusätzlichen Reinigungsstufe zur Elimination von MPs auszustatten. Dafür kommt neben der Behandlung mit Ozon die Filtration der Abwasser mit Aktivkohle in Frage^[54].

In der Behandlung von Trinkwasser und Abwasser wird die hohe Reaktivität von Ozon genutzt, um MPs oder Mikroorganismen aus dem Wasser zu entfernen^[55]. Aufgrund seiner geringen Stabilität muss das Gas dafür kontinuierlich erzeugt werden. Die meisten kommerziellen Ozongeneratoren nutzen stille elektrische Entladung um in trockener Luft oder reinem Sauerstoff einen Teil des O₂ zu Ozon umzusetzen^[43]. Der Mechanismus der Bildung von Ozon aus O und O₂ ist in den Gleichungen 1-2 und 1-3 stark vereinfacht dargestellt^[56]:



Im ersten Schritt dissoziiert O₂ nach der Kollision mit einem Elektron und formt zwei Sauerstoffatome. Eines dieser Sauerstoffatome kann mit O₂ reagieren, in dieser Reaktion entsteht angeregtes Ozon (O₃^{*}). M ist ein Kollisionspartner, der an der Reaktion teilnimmt und Energie von O₃^{*} abführt. Wird für die Produktion von Ozon reiner Sauerstoff verwendet, kann es sich hierbei um O, O₂ oder O₃ handeln, wird Luft genutzt ist auch die Kollision mit N₂ möglich^[56]. Zusätzlich zu diesen beiden Reaktionen laufen eine Reihe von Nebenreaktionen ab, von denen einige auch Ozon erzeugen. Es konnte gezeigt werden, dass die Anwesenheit von 1 % N₂ in Sauerstoff verglichen mit der Verwendung von reinem Sauerstoff einen positiven Effekt auf die Ozonproduktion hat^[43].

Ozon reagiert unspezifisch mit vielen Wasserbestandteilen und benötigt Energie und Chemikalien in der Produktion. Um unerwünschte Nebenreaktionen zu minimieren, wird die Behandlung von Abwasser mit Ozon deshalb meist durchgeführt, nachdem die Konzentration von organischen Wasserbestandteilen in einer biologischen Reinigungsstufe reduziert wurde. Die Ozondosis wird während des Betriebs im Verhältnis zur Konzentration von gelösten organischen Kohlenstoff (engl. *dissolved organic carbon*, DOC) konstant gehalten. Bei einem niedrigeren DOC-Gehalt wird so weniger Ozon benötigt. Die verwendeten Konzentrationen unterscheiden sich in Abhängigkeit der Anwendung,

für die Ozonung von biologisch gereinigtem Abwasser werden Dosen von 0,5 g Ozon/g DOC als effizient angesehen^[57]. Die Transformation von MPs mit Ozon kann entweder direkt oder indirekt erfolgen. In einer direkten Reaktion reagieren elektronenreiche funktionelle Gruppen der MPs mit Ozon. Der Begriff „Transformation“ wurde aus dem Englischen übernommen („*transformation*“) und beschreibt die Abnahme der Konzentration von MPs und ihre Überführung in andere Substanzen. Handelt es sich bei diesen anderen Substanzen um CO₂, H₂O und anorganische Verbindungen wird dies als Mineralisierung bezeichnet. Meist sind die Produkte dieser Reaktionen aber Transformationsprodukte (TPs), also andere organische Moleküle. Es wurde bewusst nicht der Begriff „Abbau“ verwendet, welcher die restlose Entfernung einer Substanz suggeriert.

Funktionalitäten mit hohen Reaktionsgeschwindigkeiten mit Ozon sind Olefine, Aromaten und Amine^[43]. Die tatsächliche Transformationsgeschwindigkeit hängt aber von der genauen chemischen Struktur der Substanz ab. Sind Aromaten beispielsweise mit elektronenziehenden Gruppen substituiert, verringert dies die Reaktionsgeschwindigkeit stark. Auch der pH-Wert kann einen Einfluss auf die Transformationsgeschwindigkeit von MPs haben, wenn eine Verbindung dadurch protoniert bzw. deprotoniert wird. Ein Beispiel dafür sind Amine, welche bei niedrigen pH-Werten protoniert vorliegen. Das freie Elektronenpaar am Stickstoff steht in dieser Spezies nicht mehr für die Reaktion mit Ozon zur Verfügung und die Reaktionsgeschwindigkeit der Transformationsreaktion mit Ozon ist herabgesetzt^[43]. In Abbildung 5 sind zwei typische Reaktionen von Ozon in Wasser gezeigt, die Reaktion mit nicht-tertiären Aminen und die Ozonolyse von Doppelbindungen nach dem Criegee-Mechanismus.

addiert und das Peroxid 19 bildet. Dieses befindet sich im Gleichgewicht mit dem Aldehyd 20 und Wasserstoffperoxid^[60].

Die direkte Ozonreaktion, für die in Abbildung 5 zwei Beispiele gezeigt werden, ist sehr selektiv. Damit MPs von Ozon transformiert werden können, müssen sie in ihrer Struktur elektronenreiche Funktionalitäten aufweisen. Zusätzlich zu den direkten Transformationsreaktionen ist Ozon in Wasser in der Lage, mit MPs über einen indirekten Mechanismus zu reagieren und diese so zu transformieren. In einem ersten Schritt reagiert Ozon dabei mit organischen Wasserbestandteilen, dabei entstehen hochreaktive Hydroxidradikale ($\cdot\text{OH}$). $\cdot\text{OH}$ reagieren mit vielen Molekülen diffusionskontrolliert und sind in der Lage auch Substanzen abzubauen, die nicht direkt mit Ozon reagieren. Die Bildungsreaktionen von $\cdot\text{OH}$ mit DOC sind vielfältig, bei der in Abbildung 5 gezeigten Transformation von Aminen beispielsweise können als Nebenprodukte auch $\cdot\text{OH}$ entstehen^[58]. In Abbildung 6 ist der Mechanismus der Hydroxidradikalbildung durch die Reaktion von Ozon mit einem Aromaten gezeigt.

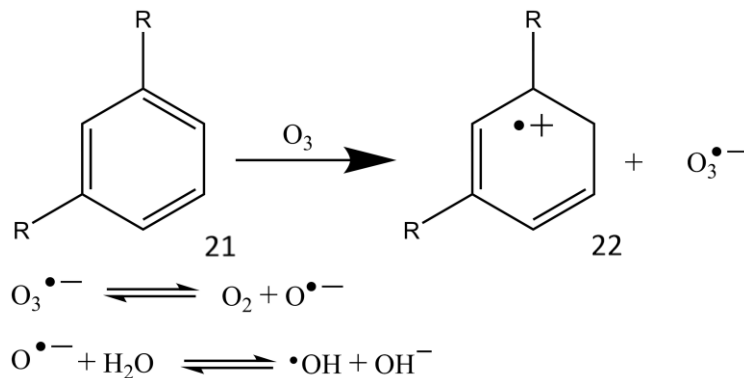


Abbildung 6: Bildung von $\cdot\text{OH}$ durch Reaktion von Ozon mit aromatischen DOC-Bestandteilen^[61].

Im ersten Schritt reagiert Ozon mit der aromatischen Funktionalität in einer Elektronentransferreaktion, dabei entsteht das aromatische Radikal 22 und ein Ozonradikal. Durch Abspaltung von O_2 und die Reaktion mit H_2O werden aus dem Ozonradikal $\cdot\text{OH}$ und ein Hydroxidion gebildet^[62]. Die Reaktion von Ozon mit Hydroxidionen kann bei hohen pH-Werten auch zu der Bildung von $\cdot\text{OH}$ führen. Bei pH-Werten, die in Wasser und Abwasser natürlich vorkommen läuft diese Reaktion jedoch so langsam ab, dass ihr Beitrag zur Bildung von Hydroxidradikalen gegenüber z.B. dem hier gezeigten Reaktionspfad vernachlässigbar ist. Wird der pH-Wert künstlich erhöht, kann die Bildung von $\cdot\text{OH}$ aus OH^- aber relevant sein^[43]. Die Anteile von direkter und indirekter Ozonreaktion an der Transformation von MPs hängen unter anderem von dessen Reaktivität mit Ozon und $\cdot\text{OH}$, der Stabilität von Ozon in der Matrix und der Bildungsrate von $\cdot\text{OH}$ ab. Soll im Anschluss an die biologische Reinigung von Abwasser eine Ozonung erfolgen, ist es sinnvoll, diese Parameter zu bestimmen. Transformationseffizienzen von MPs können so abgeschätzt werden. Wie in den Abbildungen 5 und 6

gezeigt, führt die Reaktion mit Ozon meist nicht zu der Mineralisierung von Substanzen. Als Produkte entstehen stattdessen meist Substanzen mit einem geringeren Molekulargewicht und einer höheren Polarität als die jeweiligen Ausgangsstoffe. Typische Produkte der Reaktion von organischen Molekülen mit Ozon sind Carbonsäuren und Aldehyde. Bei der Trinkwassergewinnung können diese Substanzen das Wachstum von Mikroorganismen in den Wasserleitungen fördern^[43]. Wird Abwasser mit Ozon behandelt, konnte gezeigt werden, dass giftige TPs entstehen, welche vor dem Ableiten des Wassers in die Umwelt entfernt werden müssen^[63]. Ein verbreitetes Verfahren, um diese Substanzen zu entfernen, ist die Sandfiltration, bei welcher die oxidierten Substanzen von Mikroorganismen in dem Filter biologisch abgebaut werden. Nach der Sandfiltration werden die toxischen Effekte von ozoniertem Wasser nicht mehr beobachtet^[64].

1.4.2 UV-Strahlung in der Wasseraufbereitung

UV-Strahlung bezeichnet elektromagnetische Strahlung im Wellenlängenbereich unterhalb von sichtbarem Licht von 400 nm bis 10 nm. Abhängig von seiner Wellenlänge (λ) kann UV-Strahlung in vier Bereiche unterteilt werden, diese sind zusammen mit angrenzenden Bereichen elektromagnetischer Strahlung in Tabelle 3 aufgeführt:

Tabelle 3: Einteilung elektromagnetischer Strahlung nach ihrer Wellenlänge. Adaptiert von Brinkmann (2003)^[65].

Wellenlängenbereich	λ [nm]
Sichtbares Licht	800 – 400
UV-A	400 – 320
UV-B	320 – 280
UV-C	280 – 200
Vakuum-UV	200 – 10
Röntgenstrahlung	< 10

In der Wasseraufbereitung wird UV-Strahlung aufgrund der hohen Desinfektionskapazität bereits häufig als Desinfektionsmittel eingesetzt. UV-Strahlung hat gegenüber anderen Desinfektionsprozessen den Vorteil, dass keine zusätzlichen Chemikalien eingesetzt werden müssen^[66]. Außerdem entstehen, verglichen mit der Desinfektion durch Chlorverbindungen, durch UV-Strahlung weniger unerwünschten Substanzen, sogenannte Desinfektionsnebenprodukte.^[67] Ein Nachteil der Desinfektion mit UV-Strahlen in der Trinkwasseraufbereitung ist, dass, anders als bei chlorbasierten Desinfektionsprozessen, keine Wirkung nach der Behandlung auftritt und dadurch Mikroorganismen im Verteilernetz nachwachsen können^[68]. Bei der Behandlung von Abwasser zählt

UV in Europa bereits zu den am häufigsten verwendeten Methoden zur Desinfektion^[66]. Die Wirkung von UV-Strahlung als Desinfektionsmittel beruht auf der Absorption von UV-C-Strahlung durch DNA-Moleküle und Proteine und deren chemische Veränderung, insbesondere durch Bildung von Pyrimidin-Dimeren und DNA-Strangbrüchen^[67]. Dadurch können Bakterien und Viren inaktiviert werden. Neben der Wirkung auf Biomoleküle ist UV-Strahlung auch in der Lage, einige MPs durch photochemische Reaktionen abzubauen^[66].

Eine photochemische Reaktion beschreibt die Veränderung eines Moleküls in einer chemischen Reaktion ausgelöst durch die Absorption von Strahlung im Bereich zwischen 200 nm und 700 nm. Die Energie der absorbierten Strahlung hebt eines der Elektronen des Moleküls aus dem höchsten besetzten Molekülorbital (engl. *highest occupied molecular orbital*, HOMO) in das niedrigste unbesetzte Molekülorbital (engl. *lowest unoccupied molecular orbital*, LUMO). Strahlung mit $\lambda > 700$ nm hat meist nicht genügend Energie um die energetische Differenz zwischen HOMO und LUMO zu überbrücken^[69]. Aus diesem angeregten Zustand können Moleküle durch verschiedene Prozesse wieder in den energetischen Grundzustand zurückkehren: Neben der photochemischen Reaktion sind das die vibratorische Relaxation, also die Abgabe der Energie als Hitze an umgebende Moleküle und Lumineszenz, die Emission von Strahlung^[69]. Für die Transformation von MPs ist von den erwähnten Prozessen nur die photochemische Reaktion relevant. Typische photochemische Reaktionen sind die homolytische Bindungsspaltung, bei der zwei Radikale entstehen, die heterolytische Bindungsspaltung, bei der Ionen gebildet werden, und Photoionisation^[70]. In diesen Reaktionen entstehende Produkte haben häufig noch nicht die gesamte aufgenommene Energie wieder abgegeben und gehen sekundäre Reaktionen ein^[69]. Reaktionspartner in diesen Reaktionen können das Molekül selbst (intramolekulare Reaktion), andere gelöste Substanzen oder Wasser sein. Die Absorption eines weiteren Photons ist für diese sekundären Reaktionen nicht notwendig, sie werden deshalb auch als Dunkelreaktionen (engl. *dark reactions*) bezeichnet^[69]. In Abbildung 7 sind die drei Reaktionen schematisch dargestellt.

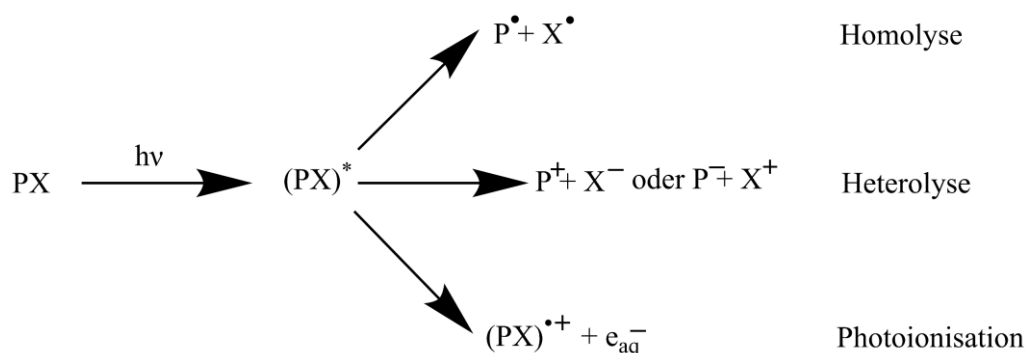


Abbildung 7: Schematische Darstellung der typischen photochemischen Reaktionen Homolyse, Heterolyse und Photoionisation am Beispiel der Substanz PX. Adaptiert von Burrows et al. (2002)^[70].

Die Strahlungsabsorption erfolgt meist durch das Molekül selbst. Sollen MPs photochemisch mit UV-Strahlung abgebaut werden, müssen diese deshalb in der Lage sein, im Wellenlängenbereich von 400 nm bis 200 nm elektromagnetische Strahlung zu absorbieren. Nach erfolgter Absorption können alle drei Prozesse (vibratorische Relaxation, Lumineszenz und chemische Reaktion) ablaufen. Der Anteil der photochemischen Reaktion an allen Prozessen kann mit der Quantenausbeute ϕ beschrieben werden^[69]:

$$\phi = \frac{\Delta n}{N_a} \quad (1-4)$$

Δn entspricht der Anzahl an Molekülen, welche eine photochemische Reaktion eingehen. N_a ist die Gesamtzahl der absorbierten Photonen. Die Effizienz der direkten photochemischen Transformation hängt folglich von der Absorptionseffizienz eines Moleküls bei der Wellenlänge λ und der Quantenausbeute der Transformationsreaktion ab. Zusätzlich zu der direkten photochemischen Reaktion können Substanzen in Wasser indirekt abgebaut werden. Ji *et al.* konnten zeigen, dass die Transformation von Atenolol in mit umweltrelevanten Konzentrationen von NO_3^- versetztem Reinstwasser fast ausschließlich über einen indirekten Mechanismus abläuft. UV-Strahlung ist in der Lage, mit NO_3^- photochemisch $\cdot\text{OH}$ zu produzieren. Die Transformation von Atenolol erfolgt anschließend durch Reaktion mit diesen Radikalen^[71]. Auch natürliche organische Materie (engl. *natural organic matter*, NOM) im Wasser kann einen positiven Effekt auf die Transformation von MPs haben. NOM ist zusammengesetzt aus unterschiedlichen organischen Molekülen und kann nach der Absorption von Sonnenlicht durch die Übertragung eines angeregten Zustands auf andere Substanzen oder durch die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies wie Superoxid (O_2^-) die Transformation von MPs beschleunigen. Gleichzeitig wirkt NOM jedoch auch als Sonnenschutz, indem es einfallendes Licht absorbiert und so die Transformation von MPs durch direkte photochemische Prozesse behindert^[72].

MPs können von verschiedenen Strahlungsquellen photochemisch abgebaut werden. In Oberflächengewässern ist Sonnenstrahlung in der Lage, anthropogene Substanzen im Wasser abzubauen^[73]. Für die Desinfektion von Wasser und den photochemischen Abbau von MPs werden häufig Quecksilberdampflampen verwendet. Bei Quecksilberdampflampen handelt es sich um Gasentladungslampen. Die Emission von Strahlung erfolgt durch die Anregung eines Gases mit Elektronen, welche während des Betriebs zwischen zwei Elektroden fließend und mit den Molekülen des Gases kollidieren. Quecksilberdampflampen bestehen meist aus einem mit Quecksilber und einigen Millibar Argon gefülltem Glasrohr mit zwei Elektroden aus Wolfram^[74]. Wird zwischen den Elektroden eine Spannung angelegt, bildet sich zuerst ein Argon-Lichtbogen am Ende der Elektrode. Die von diesem Lichtbogen emittierte Energie verdampft das in der Lampe befindliche Quecksilber

langsam, bis ein Zustand erreicht wird, in dem sich die Lampe im thermischen Gleichgewicht befindet. In diesem Gleichgewicht erfolgt die Strahlungsemission hauptsächlich durch Hg-Atome. Das Spektrum dieser Lampen hängt stark von dem Quecksilberdruck ab, der in ihrem Inneren herrscht^[74]. Niederdruck-Quecksilberdampflampen (engl. *low-pressure UV*, LP UV-Lampen) haben einen Quecksilberdruck zwischen 10^{-3} bis zu einigen Torr^[69] und emittieren bis zu 90 % ihrer Energie bei einer Wellenlänge von 254 nm. Zusätzliche Emissionslinien liegen bei 185 nm und im sichtbaren Bereich. Alle diese Wellenlängen entsprechen den Spektrallinien von Quecksilber. In Mitteldruck- (MP-) und Hochdruck-Quecksilberdampflampen herrschen Hg-Drücke von 1 atm bis zu 100 atm. Bei diesen Drücken wird ein bedeutender Anteil der von Hg emittierten Strahlung von anderen Hg-Atomen absorbiert und Strahlung bei anderen Wellenlängen im sichtbaren Bereich und UV-Bereich abgegeben. Zusätzlich kann eine Verbreiterung der Spektrallinien beobachtet werden, welche ab bestimmten Drücken so stark wird, dass diese Lampen ein kontinuierliches Spektrum von 200 bis 400 nm emittieren^[69]. In Abbildung 8 sind die Spektren von LP-UV-Lampen und Mitteldruck UV-Lampen übereinandergelegt.

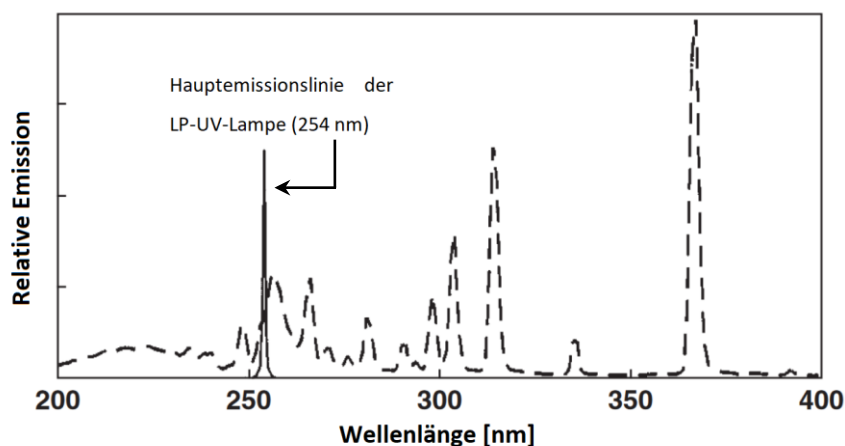


Abbildung 8: Vergleich der Spektren von LP-UV- und MP-UV-Lampen (gestrichelte Line). Mit Änderung übernommen aus Bolton und Linden (2003)^[75].

Das fast monochromatische Emissionsspektrum von LP-UV-Lampen ist in Abbildung 8 gut zu erkennen. DNA zeigt in wässriger Lösung bei $\lambda = 265$ nm ein Absorptionsmaximum. Beide Lampentypen sind deshalb in der Lage, effizient DNA zu schädigen und können zur Desinfektion eingesetzt werden^[76]. Das Glasrohr der Lampe besteht aus Quarzglas, welches Strahlung ab einer Wellenlänge von 150 nm transmittieren kann. Diese Grenze kann durch die gezielte Beimischung geringer Mengen von Zusatzstoffen während der Herstellung der Lampe („dopen“) verschoben werden^[77]. Die Betriebstemperatur von LP-UV-Lampen beträgt meist weniger als 50 °C, während die Wände von MP-UV-Lampen mehrere hundert °C erreichen können und in bestimmten Anwendungen gekühlt werden

müssen. MP-UV-Lampen sind weniger effizient in der Umsetzung von elektrischer Energie in UV-Strahlung und haben eine Lebensdauer von nur 5000 h, verglichen mit 16000 h bei LP-UV-Lampen^[66]. Die Vorteile von MP-UV-Lampen liegen neben dem für bestimmte Anwendungen besser geeignetem Emissionsspektrum darin, dass sie bei identischer Lampenlänge eine deutlich größere Leistung emittieren können als LP-UV-Lampen^[78].

Die Untersuchung der Effizienz von LP-UV und MP-UV-Lampen bei der Desinfektion von Wasser und der Transformation von MPs im Labormaßstab erfolgt häufig mit einer einzelnen, in einen Reaktor eingebetteten Lampe^{[66][79][80]}. Dabei kann durch Veränderung der Reaktionszeit die gewünschte UV-Dosis erreicht werden. In der Wasserbehandlung muss während der Aufenthaltszeit des Wassers im Reaktor, welche vom Volumenstrom bestimmt wird, eine effektive Dosis erreicht werden. UV-Anlagen zur Desinfektion von biologisch gereinigtem Abwasser nutzen deshalb dutzende UV-Lampen gleichzeitig, um den Abfluss einer Kläranlage zu desinfizieren. In Abbildung 9 ist eine solche großtechnische Anlage gezeigt.



Abbildung 9: Beispiel für den Lampenteil eines Reaktors, in welchem UV-Strahlung zur Behandlung von biologisch gereinigtem Abwasser genutzt wird. Bild mit Erlaubnis von Paredes *et al.* übernommen^[66].

Es ist gut zu erkennen, dass die Lampen dicht nebeneinander installiert sind, um eine ausreichende Desinfektion zu erreichen. Die gezeigte Anlage desinfiziert $7200 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ Abwasser^[66].

1.5 Ziele der durchgeführten Experimente

Krebsmedikamente gelangen über die Ausscheidungen von Krebspatienten in die Umwelt und können dort ein Problem für aquatische Lebewesen oder sogar Menschen darstellen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob die Bestrahlung mit UV oder die Ozonung geeignete Prozesse für die Transformation von Krebsmedikamenten darstellen. Dazu wurden drei Substanzen aufgrund ihrer Konzentration und Wirkung in der Umwelt ausgewählt: Capecitabin, Bicalutamid und Irinotecan. Die durchgeführten Experimente lassen sich nach ihren Zielen in drei Teilbereiche einordnen:

1. Untersuchung der kinetischen Parameter der Transformation:

Das Verhalten der drei Substanzen während der Bestrahlung mit UV-Licht und bei der Ozonung wurde im Labormaßstab bei umweltrelevanten Konzentrationen in Reinstwasser untersucht. Dabei wurden kinetische Parameter wie Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Quantenausbeuten bestimmt. Neben dem Rückgang der Konzentration wurde auch die Mineralisierung untersucht. Ist die Mineralisierungsrate eines Prozesses hoch, entstehen weniger potentiell toxische TPs. Sind die kinetischen Parameter und die Mineralisierungsrate bekannt, kann eine Abschätzung der Effizienz der Transformation vorgenommen werden. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in den Kapiteln 3.1 bis 3.5 dargestellt.

2. Untersuchung der Transformation in einer realistischen Matrix:

Die Transformation der drei Substanzen mit UV und Ozon wurde in biologisch gereinigtem Abwasser untersucht. Die Abwassermatrix beeinflusst potentiell die Transformation der Krebsmedikamente. In diesen Experimenten sollte das Ausmaß dieser Beeinflussung gemessen und bestimmt werden. Sind die Prozesse auch dann noch für die Behandlung von Abwasser geeignet? Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in dem Kapitel 3.6 diskutiert.

3. Untersuchung der Toxizität der unbehandelten und behandelten Substanzen:

Die meisten oxidativen Prozesse sind nicht in der Lage, MPs komplett zu mineralisieren und nach der Behandlung verbleiben meist TPs im behandelten Wasser. Diese TPs sind nicht immer weniger gefährlich als die MPs, aus denen sie hervorgegangen sind. In diesen Experimenten wurde untersucht, ob die Behandlung der drei Medikamente mit UV und Ozon in der Lage ist, die Toxizität zu verringern. Dazu wurden in Toxizitätsexperimenten mit *Daphnia magna*, *Mytilus edulis* und einer Zellkultur der LC₅₀, die Genotoxizität und die Zytotoxizität bestimmt. In dem Kapitel 3.7 werden die Ergebnisse der Toxizitätstests diskutiert.

2. Materialien und Methoden

2.1 Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien sind im Anhang in Tabelle A aufgeführt.

2.2 UHPLC-MS/MS-Methoden

Die Konzentrationen von CAP, BIC, IRI und para-Chlorbenzoesäure (pCBA) wurden durch zwei Ultrahighperformance-Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (UHPLC-MS/MS)-Methoden bestimmt. Dabei wurde ein Infinity II-UHPLC-System gekoppelt an einen Agilent 6470 MS/MS-Analysator mit einer Agilent Jet Stream Elektrosprayionisationsquelle verwendet. Die mobilen Phasen bestanden aus Wasser (Fließmittel A) und Acetonitril (Fließmittel B) mit jeweils 0,05% Ameisensäure und die Trennung erfolgte mithilfe einer ZORBAX Eclipse Plus C18 Säule (2,1 x 50 mm, 1,8 µm Partikelgröße) bei einer Fließgeschwindigkeit von 0,3 mL min⁻¹. Jede Substanz wurde durch drei Übergänge eindeutig identifiziert. Der Übergang mit der höchsten Intensität wurde zur Quantifizierung genutzt. CAP, BIC und IRI wurden durch zeitgleiche Messung eines isotonenmarkierten internen Standards und eine Kalibriergerade quantifiziert, pCBA durch eine Kalibriergerade. Die Fließmittelprogramme der beide Methoden sind in den Tabellen 4 und 5 aufgeführt:

Tabelle 4: Fließmittelprogramm der UHPLC-MS/MS-Methode für die Messung von pCBA.

Zeit [min]	Anteil Fließmittel	
	Fließmittel A [%]	B [%]
0,00	50,00	50,00
0,50	50,00	50,00
0,60	40,00	60,00
4,00	9,00	91,00
4,10	0,00	100,00
5,10	0,00	100,00
5,20	90,00	10,00
6,00	90,00	10,00

Tabelle 5: Fließmittelprogramm der UHPLC-MS/MS-Methode zur Messung der Krebsmedikamente.

Zeit [min]	Anteil	
	Fließmittel A [%]	Anteil Fließmittel B [%]
0,00	95,00	5,00
2,00	95,00	5,00
16,00	40,00	60,00
16,10	0,00	100,00
21,10	0,00	100,00
21,20	95,00	5,00
22,20	95,00	5,00

Um eine vollständige Basislinientrennung zwischen CAP und IRI zu erreichen, wurde ein flacher Gradient gewählt. Dies führt zu der langen Laufzeit von 22,20 min. Von 16,10 min bis 21,10 min wurde mit 100% Acetonitril gespült, um die Verschleppung von Substanz zu minimieren. Die Ergebnisse der Methodvalidierung (Anhang B), Beispielspektren der Quantifier und Qualifier (Anhang C) sowie Details zu den Einstellungen des MS (Anhang D) sind dieser Arbeit angehängt.

2.3 Festphasenextraktion

Bei den Experimenten in biologisch gereinigtem Abwasser wurde zur Reinigung und Aufkonzentrierung der Proben eine Festphasenextraktion (engl. *solid phase extraction*, SPE) durchgeführt^[81]. Dazu wurden Oasis HLB Kartuschen mit einem Volumen von 3 mL verwendet, welche vor dem Beladen mit 5 mL Methanol und 10 mL Reinstwasser konditioniert wurden. Die Kartuschen wurden mit 10 mL der Probe beladen und durch sanftes Spülen mit Stickstoff für 15 min getrocknet. Die auf die Kartusche aufgezugene Substanz wurde mit 5 mL Methanol und 5 mL Acetonitril eluiert, das Eluat in einem Reagenzglas aufgefangen und die Lösungsmittel unter einem sanften Stickstoffstrom verdampft. 2 mL Reinstwasser wurde in das Reagenzglas gegeben, um den Rückstand aufzunehmen und die Lösung wurde mit der UHPLC-MS/MS-Methode analysiert.

2.4 Chemische Aktinometrie

Die Bestrahlungsintensität in dem Reaktor während der Photolysexperimente wurde durch chemische Aktinometrie gemessen^{[76][82][83]}. Nach einer 15-minütigen Aufwärmzeit der UV-Lampe wurden 350 mL Uridin-Lösung mit einer Konzentration von 0,012 mmol L⁻¹ in den Reaktor gegeben und in

regelmäßigen Abständen Proben genommen. Die Uridin-Konzentration in den Proben wurde mit dem Shimadzu UV-1900 UV-Vis Spektrophotometer bei $\lambda = 262 \text{ nm}$ bestimmt. Aus der Auftragung des Logarithmus der Absorption zum Zeitpunkt $t = 0$ geteilt durch die Absorption zum Zeitpunkt der Probennahme t ($\ln(\text{ABS}_0/\text{ABS}_t)$) gegen die Zeit t konnte die Strahlungsintensität bestimmt werden. Die graphische Auftragung ist im Ergebnisteil gezeigt. Die Aktinometrie wurde dreimal durchgeführt und mit den Mittelwerten der Absorptionswerte die einfallende Photonenmenge in $\text{Einstein cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ bestimmt.

2.5 Messung DOC und SEC-OCD

Der DOC-Gehalt wurde mit dem TOC-L_{CPH} des Herstellers Shimadzu gemessen.

Während der Transformationsexperimente in biologisch gereinigtem Abwasser wurden Proben genommen und diese durch Größenausschlusschromatographie gekoppelt mit einem Detektor für organischen Kohlenstoff (engl. *size exclusion chromatography – organic carbon detection*, SEC-OCD) untersucht^[84]. Bei diesem Messverfahren werden die organischen Wasserbestandteile mithilfe von Größenausschlusschromatographie aufgetrennt und der Kohlenstoffgehalt der Fraktionen mit OCD detektiert. Dieses System besteht aus einer SEC-Säule (250 mm x 20 mm, Toyopearl HW50S, 30 μm , Toyo, Japan), einem UV-Detektor (UVD Knauer S200, Berlin, Deutschland) und einem Grätzel Dünnschichtreaktor mit Infrarotdetektor (ABB NDIR A2020, Zürich, Schweiz) zur DOC-Bestimmung. Die Kalibrierung des Infrarotdetektors erfolgte mit Kaliumhydrogenphthalat im Bereich von $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ bis 2 mg L^{-1} . Eine Kalibrierung nach Molekülgewicht wurde im Bereich von 68 g mol^{-1} bis 20000 g mol^{-1} mit Ethylenglykol, Diethylenglykol und elf Polyethylenglykolen durchgeführt. Das Exklusionsvolumen wurde mit Dextranblau, welches eine molare Masse von $2 \cdot 10^7 \text{ g mol}^{-1}$ hat, bestimmt und lag bei 30,7 min. Das Permeationsvolumen lag bei 68,6 min und wurde mit Methanol (MeOH) bestimmt.

2.6 Bestimmung der Ozon-Konzentration mit Indigo

Ozon reagiert sehr schnell mit Indigo in einer Reaktion, die zur Entfärbung führt. Diese Reaktion kann genutzt werden, um die Konzentration von Indigo in Proben zu bestimmen. Dazu wird ein Volumen der Probe zu einer Indigo-Lösung gegeben und gut gemischt, die Entfärbung tritt praktisch sofort auf. Durch Vergleich der Absorption dieser Probe und einer Probe ohne Ozonzugabe bei $\lambda = 600 \text{ nm}$, gemessen mit dem Shimadzu UV-1900 wurde die Ozonkonzentration berechnet^[85].

2.7 Durchführung der Bestrahlungs- und Ozonungsexperimente

In Tabelle 6 sind die Bedingungen aller durchgeführten Experimente aufgelistet. Während der Experimente UV-I und Oz-I – II wurde nur die Konzentrationen der Substanzen gemessen. In den Experimenten UV-II und Oz-III wurde die Mineralisierung untersucht und deshalb zusätzlich der DOC bestimmt. In den Abwasser-Experimenten wurden Substanzkonzentration, DOC und SEC-OCD-Chromatogramme gemessen.

Tabelle 6: Übersicht für die durchgeführten Transformationsexperimente.

Experiment	Substanzen	Substanzkonzentration zu Beginn [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Bedingungen	Wiederholungen
UV-I	BIC CAP IRI	1	Reinstwasser pH = 5,7 Zugabe von 20 mM t-BuOH	jeweils 3x
UV-II	BIC CAP IRI	5000	Reinstwasser pH = 5,8	jeweils 3x
Oz-I	BIC CAP IRI	1	Reinstwasser pH = 5,7	jeweils 3x
Oz-II	BIC CAP IRI	1	Reinstwasser pH = 5,6 Zugabe von 20 mM t-BuOH	jeweils 3x
Oz-III	BIC	5	Reinstwasser pH = 5,6 Zugabe von 1 μg pCBA	jeweils 3x
Oz-IV	BIC CAP IRI	5000	Reinstwasser pH = 5,7	jeweils 3x
UV-Abw	BIC CAP IRI	0,2	Abwasser pH = 8,25	jeweils 3x
Oz-Abw	BIC CAP IRI	0,2	Abwasser pH = 8,25	jeweils 3x

Zusätzlich wurden Experimente ohne Bestrahlung und Ozon durchgeführt, um die Stabilität der Substanzen in Wasser zu überprüfen.

UV-I – Bestimmung der Transformationsgeschwindigkeit mit UV-Licht in Reinstwasser

Die UV-I-Experimente wurden jeweils mit 350 mL einer Lösung der einzelnen Substanzen in Reinstwasser bei einer Konzentration von $1 \mu\text{g L}^{-1}$ durchgeführt. Als Strahlungsquelle diente die Pen-Ray 3SC-9 LP-UV-Lampe von Analytik Jena, welche sich, von einer zylindrischen Quarzhülse geschützt, in der Mitte des Reaktors befand. Der Reaktor hatte eine Höhe von 30 cm, die Quarzhülse einen Durchmesser von 3,6 cm, der Durchmesser der Reaktionskammer betrug 5,5 cm. Eine Skizze des Reaktors ist in Abbildung 10 gezeigt.

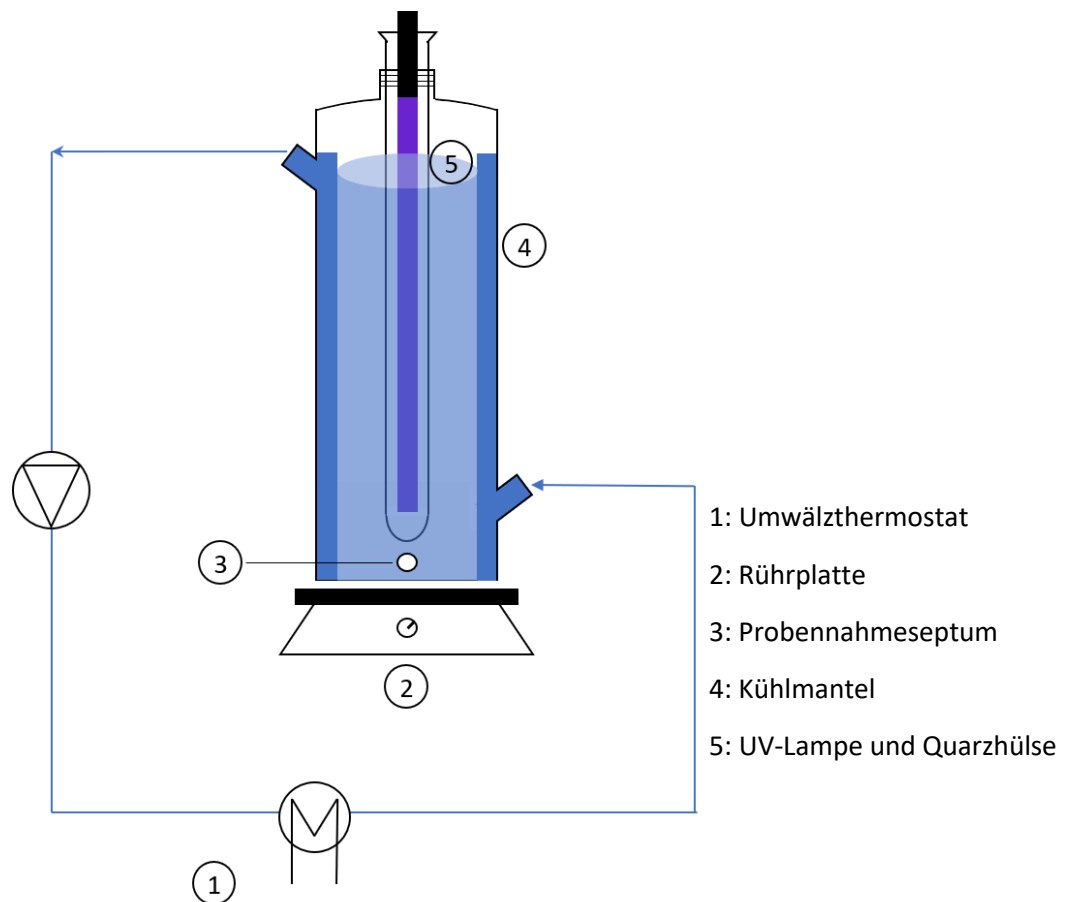


Abbildung 10: Aufbau der Versuche UV-I und UV-II.

Vor jedem Experiment wurde die Lampe 15 min aufgewärmt, um eine gleichmäßige Strahlungsemission zu erreichen. Das Wasser im Kühlmantel der Lampe hatte eine konstante Temperatur von $18 \text{ }^\circ\text{C}$. Für die Herstellung der Reaktionslösungen wurden Volumina der Stammlösungen der Krebsmedikamente in MeOH in ein Becherglas gegeben. Nach dem Verdampfen des Methanols wurde die Substanz in Reinstwasser aufgenommen um eine Konzentration von $1 \mu\text{g L}^{-1}$ zu erreichen. t-BuOH wurde der Lösung zugegeben, sodass eine t-BuOH-Konzentration von 20 mmol

erreicht wurde. Die Bestrahlungszeit betrug 45 min für alle drei Substanzen. In regelmäßigen Abständen wurden Proben genommen und die Substanzkonzentration in den Proben wurde mit der UHPLC-MS/MS-Methode gemessen. Die für die Berechnung der Quantenausbeute ϕ benötigten Absorptionskoeffizienten der Substanzen wurden mit einem Spektrophotometer durch Messung der Absorption von Lösungen der Krebsmedikamente mit einer Konzentration von 5 mg L^{-1} bestimmt.

UV-II – UV-Mineralisierungsexperimente

Mit diesen Experimenten wurde die Fähigkeit des UV-Prozesses, die drei untersuchten Substanzen zu mineralisieren, untersucht. Dazu wurden Lösungen der einzelnen Medikamente mit Konzentrationen von $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ hergestellt und ohne Zugabe von t-BuOH im Reaktor abgebaut. Wie bei UV-I wurde Wasser mit $T = 18 \text{ }^\circ\text{C}$ durch den Kühlmantel geleitet, um die Temperatur konstant zu halten. Die Reaktionszeit betrug 120 min. In regelmäßigen Abständen wurden DOC-Proben genommen und mit dem Shimadzu TOC-L_{CPH} gemessen. Aus diesen Proben wurden durch Verdünnung zusätzlich UHPLC-MS/MS-Proben hergestellt, um die Konzentrationen der Reinsubstanzen während des Versuchs zu messen.

Oz-I und II – Bestimmung der Transformationsgeschwindigkeit mit Ozon in Reinstwasser

Transformationsexperimente mit Ozon wurden bei einer Substanzkonzentration von $1 \mu\text{g L}^{-1}$ in Reinstwasser für jede Substanz dreifach in separaten Experimenten durchgeführt. In den Oz-I-Versuchen wurde die Reaktionsgeschwindigkeit der Medikamente mit elementarem Ozon und $\cdot\text{OH}$ bestimmt. Dazu wurde für die Experimente mit CAP und IRI eine Ozon-Stammlösung hergestellt. Eine Mischung aus Ozon und O_2 aus dem Ozongenerator wurde durch Reinstwasser geleitet, welches in einem Eisbad gekühlt wurde. Die Ozon-Konzentration der Stammlösung wurde mit der Indigo-Methode bestimmt und ein Aliquot zur Reaktionslösung gegeben, um eine Ozonkonzentration von $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ zu erreichen. Während der Reaktion wurden regelmäßig Proben genommen und die Konzentration des Krebsmedikaments mit der UHPLC-MS/MS-Methode bestimmt. In den Probengefäßen wurden $10 \mu\text{L}$ einer einmolaren Na_2SO_3 -Lösung vorgelegt, um das in der Lösung vorhandene Ozon sofort zu quenchen. Die Ozonkonzentration in der Versuchslösung wurde während des Experiments mit der Indigo-Methode bestimmt.

In Oz-II wurde den Reaktionslösungen zusätzlich t-BuOH ($c = 20 \text{ mmol L}^{-1}$) zugesetzt. Die restliche Durchführung entsprach Oz-I. t-BuOH reagiert sehr schnell ($k = 6 \cdot 10^8 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$)^[86] mit $\cdot\text{OH}$ und wird im Überschuss zugegeben. So werden Reaktionen zwischen $\cdot\text{OH}$ und den Medikamenten durch

schnelles Abreagieren von $\cdot\text{OH}$ verhindert, sodass nur die Reaktionsgeschwindigkeit der Substanzen mit elementarem Ozon gemessen wird.

In Vorversuchen wurde festgestellt, dass BIC nur sehr langsam ($k''_{\text{O}_3, \text{BIC}} < 10 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) mit elementarem Ozon reagiert. Um trotzdem eine Transformation mit Ozon messen zu können, wurden die Oz-I, Oz-II und Oz-III-Experimente mit BIC in einem Semi-Batch Aufbau durchgeführt. Dabei wurde dauerhaft eine Mischung aus Ozon und O_2 durch die Reaktionslösung geleitet, um eine höhere Ozonkonzentration zu erreichen. Der am Eingang zum Reaktor gemessene Gasfluss betrug 20 L h^{-1} , die gemessenen Ozonkonzentrationen in der Reaktionslösung $1,5 \text{ mg L}^{-1}$. Der Aufbau dieser Versuche ist in Abbildung 11 gezeigt.

Oz-III – Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit von BIC mit $\cdot\text{OH}$

BIC reagiert während der Ozonung praktisch ausschließlich über den indirekten Reaktionspfad, also mit $\cdot\text{OH}$ ^[87]. Deswegen wurden ergänzende Experimente zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit von BIC mit $\cdot\text{OH}$ durchgeführt. Reinstwasser mit $5 \mu\text{g L}^{-1}$ BIC und $1 \mu\text{g L}^{-1}$ pCBA wurde dafür zwei Stunden ozoniert. pCBA reagiert schnell mit $\cdot\text{OH}$, aber nur langsam mit molekularem Ozon. Aus der Abnahme der Konzentration von BIC und pCBA sowie der Messung der Ozonkonzentration ist es möglich, die Reaktionsgeschwindigkeit von BIC mit $\cdot\text{OH}$ zu berechnen. Die Konzentration der beiden Substanzen in den Proben wurde mit UHPLC-MS/MS gemessen und daraus mit dem R_{CT} -Konzept die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung von BIC und $\cdot\text{OH}$ bestimmt^[88]. Der Versuchsaufbau dieser Experimente ist in Abbildung 11 gezeigt.

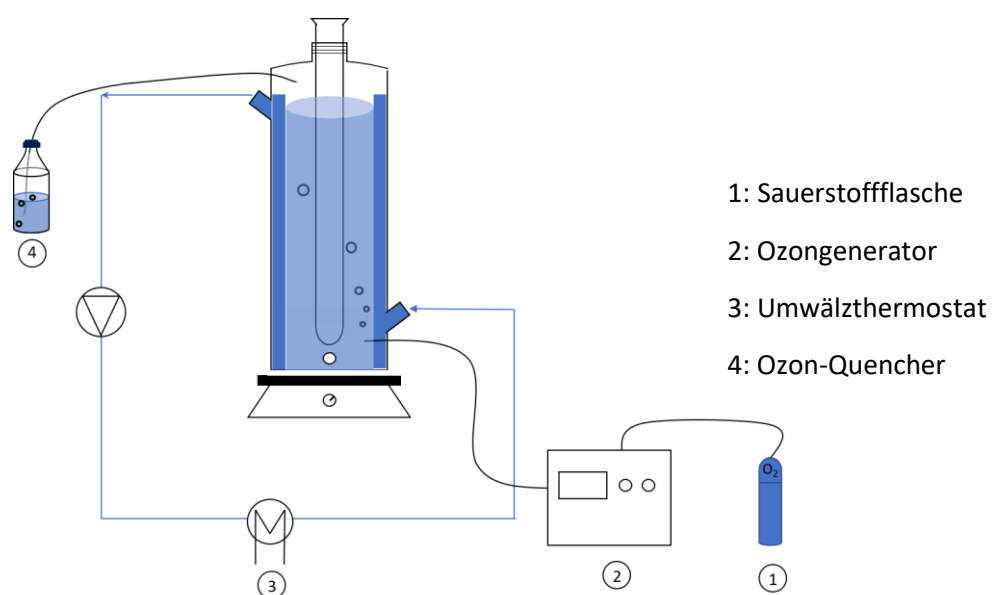


Abbildung 11: Semi-Batch Aufbau der Oz-I und Oz-II-Experimente.

UV-II – Mineralisierungsexperimente mit UV

UV-II wurde bei einer Konzentration der Krebsmedikamente von $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ für jede Substanz einzeln in dreifacher Ausführung durchgeführt. Der Versuchsaufbau ist identisch mit UV-I, auch bei UV-II wurde die Versuchslösung auf $18 \text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Während der Versuchszeit von 120 min wurden in regelmäßigen Abständen 5 mL der Versuchslösung als Probe genommen. Der TOC-Gehalt dieser Probe wurde mit dem Shimadzu TOC-L_{CPH} gemessen. Zusätzlich wurde diese Lösung 1:5000 mit Reinstwasser verdünnt und die Substanzkonzentrationen von CAP, BIC und IRI mit der UHPLC-MS/MS-Methode bestimmt.

Oz-IV – Mineralisierungsexperimente mit Ozon

Mineralisierungsexperimente wurden für alle Substanzen einzeln mit dem in Abbildung 11 gezeigten Semi-Batch Aufbau durchgeführt. Für jede Substanz wurden drei Versuche durchgeführt. Die Substanzkonzentrationen betragen jeweils $5000 \mu\text{g L}^{-1}$. Die Temperatur des Wassers im Kühlmantel wurde auf $18 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt. Während der Reaktionszeit von 120 min wurden regelmäßig Proben genommen, deren TOC-Gehalt mit dem Shimadzu TOC-L_{CPH} bestimmt wurde. Nach Verdünnung wurden die Substanzkonzentrationen in den Proben mit der UHPLC-MS/MS-Methode bestimmt. Die Ozonkonzentration der Versuchslösung wurde in regelmäßigen Abständen mit der Indigo-Methode gemessen.

UV-Abw – Bestimmung der Transformationsgeschwindigkeit mit UV-Licht in biologisch gereinigtem Abwasser

Für die Experimente in biologisch gereinigtem Abwasser wurde Wasser aus dem Abfluss der Kläranlage in Karlsruhe-Neureut entnommen und mit einem $0,45 \mu\text{m}$ Filter aus Cellulosenitrat filtriert. Die Stammlösung aller drei Krebsmedikamente wurde zu dem biologisch gereinigtem Abwasser gegeben, um die Zielkonzentrationen von 200 ng L^{-1} zu erreichen. Der Reaktionsaufbau ist in Abbildung 10 gezeigt. Nach dem Aufwärmen der Lampe wurde die Reaktionslösung in den Reaktor gegeben und in regelmäßigen Abständen Proben genommen. Damit wurde die SPE-UHPLC-MS/MS-Messung sowie eine TOC-Messung und die SEC-OCD durchgeführt. Die Versuchszeit für alle Substanzen betrug 60 min.

Oz-Abw – Bestimmung der Transformationsgeschwindigkeit mit Ozon in biologisch gereinigtem Abwasser

Transformationsexperimente mit Ozon in biologisch gereinigtem Abwasser wurden mit dem in Abbildung 11 gezeigten Versuchsaufbau durchgeführt. Das verwendete Abwasser wurde vor den Versuchen, wie in UV-Abw beschrieben, vorbehandelt. Während des Versuchs wurde die Ozonexposition durch Vergleich der Ozonkonzentration im Gasfluss vor und nach dem Reaktor bestimmt, die Versuchsdauer betrug 20 min. Proben der Reaktionslösung wurden mit SEC-OCD untersucht und die UHPLC-MS/MS-Proben wurden mit SPE vorbehandelt. Auch die Entwicklung des TOC-Gehalts während des Experiments wurde gemessen.

2.8 Ökotoxizitätsexperimente

Um die Auswirkungen der drei Krebsmedikamente und der bei deren Transformation entstehenden TP's auf die Umwelt zu untersuchen, wurden drei Toxizitätstests durchgeführt. Lösungen von CAP, BIC und IRI mit einer Konzentration von $1 \mu\text{g L}^{-1}$ in Reinstwasser wurden mit UV-Licht und Ozon behandelt. Für jede Kombination aus Krebsmedikament und Prozess wurden zu 50%, 75% und 100% abgebaute Lösungen hergestellt. Der Transformationsgrad wurde mittels UHPLC-MS/MS überprüft. Diese Proben wurden mit dem *Daphnia magna* (*D. magna*)-Immobilisierungsassay, dem Comet-Assay mit Muschelzellen und dem 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT)-Test in Zellkulturen untersucht.

Mit dem *D. magna*-Immobilisierungsassay wurden die LC_{50} -Werte bestimmt. Dazu wurden das Krustentier *Daphnia magna* Lösungen der Substanzen bei verschiedenen Transformationsgraden ausgesetzt und die Anzahl der überlebenden Tiere gezählt.

Die Organismen wurden vor den Experimenten in M4-Medium gehalten. Dieses Medium besteht hauptsächlich aus NaHCO_3 ($64,8 \text{ g L}^{-1}$); $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($293,8 \text{ g L}^{-1}$); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($123,3 \text{ g L}^{-1}$) und KCl ($5,8 \text{ g L}^{-1}$) in destilliertem Wasser, der pH-Wert lag zwischen 7 und 8. Die Wasserhärte betrug zwischen 140 und $250 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ und das Aquarium, in dem die Versuchsmodelle gehalten wurden, wurde fortlaufend belüftet. Die Organismen wurden in einem Inkubator bei $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ gehalten und 16 h am Tag beleuchtet. Fütterungen erfolgten täglich, an fünf Tagen in der Woche, mit Süßwasseralgen *Chlorella vulgaris* ($8 \times 10^6 \text{ Zellen mL}^{-1}$). Das Medium wurde wöchentlich erneuert und das Aquarium gleichzeitig gereinigt.

Die eigentlichen Experimente wurden unter den gleichen abiotischen Bedingungen in einem anderen Inkubator in Glasgefäßen durchgeführt. Mit kleinen Änderungen entsprach die Durchführung des

Assay den Richtlinien der OECD^[89]. Jede Lösung wurde gleichzeitig in drei Gefäßen getestet. Dazu wurden sieben Organismen, welche beim Start des Experiments jünger als 24 h waren, in 14 mL M4-Medium gesetzt (Kontrolle). Parallel wurden Experimente mit den behandelten Lösungen in 5, 25, 40 und 50 %-Verdünnungen durchgeführt. Die Konzentration der Salze entsprach auch bei diesen Experimenten der des M4-Mediums. Nach 48 h unter diesen Bedingungen wurde die Zahl der toten Organismen visuell festgestellt und der LC₅₀ mit der Probits-Methode berechnet.

Die Genotoxizität der drei Substanzen und ihrer TPs wurde im Comet-Assay untersucht. Dazu wurden Muscheln der Art *Mytilus edulis* (*M. edulis*) drei Tage einer Mischung aus Salzwasser und den zu 100% abgebauten Testlösungen ausgesetzt. Die Muscheln stammten von einem Muschelzüchter in Saint-Caste-le-Guildo in Nordfrankreich und wurden im Labor in künstlichem Meerwasser (KMW) mit einem Salzgehalt von 30 Salzeinheiten gehalten. Die Muscheln wurden zwecks einer Akklimatisierung acht Tage in einem Aquarium gehalten. Nach der Akklimatisierung wurden die Experimente durchgeführt, die Muscheln wurden während der gesamten Zeit bei konstanten Bedingungen von 15 ± 1 °C und 12 h : 12 h (Beleuchtung : Dunkelheit) gehalten. Die Hälfte des KMW wurde täglich erneuert und die Fütterung erfolgte mit der Meerwasseralge *Tetraselmis suecica* (Teramer, Frankreich) nach der Anleitung, die den Algen beilag (10⁸ Zellen mL⁻¹, 4.3 x 10¹⁰ Zellen Muschel⁻¹).

Zu Beginn der Experimente wurden sechs zufällig ausgewählten Muscheln Proben entnommen, um den DNA-Schaden zu Beginn des Experiments zu quantifizieren. Die anderen Organismen wurden zufällig in drei Gruppen unterteilt. Die Gruppen entsprachen einer Kontrollgruppe, eine Gruppe für UV-Abbau und einer Gruppe für Ozon. Jede Lösung wurde dreifach mit drei verschiedenen Muscheln getestet. Bei Experimenten mit BIC wurden zusätzlich zu der Negativkontrolle die Auswirkungen von MeOH auf die Muscheln untersucht. MeOH war für die Herstellung der BIC-Stammlösung verwendet worden und lag deshalb in der Lösung mit den Muscheln vor. Die DNA-Schäden in den Zellen der Kiemen der Muscheln wurden nach drei Tagen gemessen. Dazu wurden die Zellen der abgetrennten Kiemen durch 30-minütige Inkubation bei 37 °C mit Dispase II (2 U mL⁻¹) dissoziiert. Anschließend wurde mit der erhaltenen Suspension eine modifizierte Version des alkalischen Comet-Assays nach Singh durchgeführt^[90]. Zu der Lösung wurde das gleiche Volumen phosphatgepufferter Salzlösung mit 1 % Agarose mit niedrigem Schmelzpunkt gegeben. Die Mischung wurde auf einen mit 0,8 % Agaroselösung vorbehandelten Objektträger gegeben, mit einer Glasplatte abgedeckt und zehn Minuten bei 4 °C polymerisiert. Für jede getestete Lösung wurden drei unterschiedliche Gels untersucht. Die dargestellten Werte entsprechen den Mittelwerten dieser drei Messungen. Im Anschluss an die Polymerisation wurden die Glasabdeckungen entfernt und die Objektträger über Nacht bei 4 °C in einer frisch zubereiteten Lyse-Lösung gelagert. Diese Lösung enthielt 2,5 mol L⁻¹ NaCl, 100 mmol L⁻¹ Na₂EDTA, 10 mmol L⁻¹ Tris-HCl und 1 % Triton X-100. Nach der Probennahme wurde

während der gesamten Durchführung versucht, die Lichteinstrahlung auf die Proben zu minimieren, um DNA-Schäden durch Licht zu verringern. Die Elektrophorese der Gele erfolgte bei 23 V und 300 mA ($0,8 \text{ V cm}^{-1}$) in einer Pufferlösung ($1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{EDTA}$, $300 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaOH}$, $\text{pH} = 13$). Die Objektträger wurden dreimal in einem neutralen Puffer gespült, mit einer 70 %igen Ethanollösung getrocknet und bis zur Analyse bei Raumtemperatur in Holzboxen gelagert. Um die Gele auszulesen, wurden diese mit dem Farbstoff SYBRGREEN eingefärbt und direkt mit einem Fluoreszenzmikroskop analysiert. Dazu wurden die DNA im Schweif als Anteil der gesamten DNA von 50 zufällig ausgewählten Zellen pro Gel mit dem Programm KOMET 6.0 bestimmt.

Der MTT-Test wurde an Zellkulturen von menschlichen caco-2 Epithelzellen durchgeführt und misst die Viabilität der Zellen, die mit den Medikamentenlösungen in Kontakt gekommen sind. Dazu wurden von Dr. Stéphane Firmin die auch für die anderen Experimente verwendeten Lösungen zur Verfügung gestellt. Die hier beschriebenen Experimente wurden von ihm an der UniLaSalle in Beauvais, Frankreich durchgeführt. Zellen wurden dazu zwei Wochen bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 95 % Luft und 5 % CO_2 in 75-TI Flaschen mit Dulbeccos modifiziertem Eagles Medium (DMEM) mit 10 % fetalem Kälberserum kultiviert. Das Nährmedium enthielt 100 Einheiten Penicillin pro mL, $100 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ Streptomycin, 2 mmol L^{-1} L-Glutamin und 1 % nicht-essentielle Aminosäuren. An jedem vierten Tag erfolgte ein Austausch des Mediums. Für das Experiment wurden die Zellen mit 0,2 % Trypsin gelöst und nach den Herstellerspezifikationen kultiviert (OZ Biosciences, Marseille, Frankreich). $200 \text{ } \mu\text{L}$ Zelllösungen mit einer Konzentration von 10000 Zellen pro $200 \text{ } \mu\text{L}$ wurden in 96-Well-Mikrotiterplatten transferiert und vorinkubiert. Nach 24 h wurde das DMEM durch $100 \text{ } \mu\text{L}$ der Versuchslösungen, welche vorher bei $0,22 \text{ } \mu\text{m}$ filtriert und 1:1 mit frischem Medium verdünnt wurden, versetzt. Jede Lösung wurde sechsfach in unterschiedlichen Wannen untersucht. Die Kontrolle bestand aus Wasser mit 10 % MeOH. Am Ende der Inkubationszeit wurden die untersuchen Lösungen entfernt und $100 \text{ } \mu\text{L}$ einer MTT-haltigen, phosphatgepufferten Salzlösung wurde in jede Wanne gegeben. Die Platte wurde 4 h bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ in Dunkelheit inkubiert, anschließend wurden in jede Vertiefung $100 \text{ } \mu\text{L}$ einer Aufnahmelösung gegeben. Die Auswertung erfolgte durch Messung der Absorption bei 570 nm mit einem UV-Vis Spektrometer (Biochrom Asys UVM340 – UK). Die Absorption behandelte Zellen wurde mit der Kontrolle verglichen, dabei wurde die Viabilität der Kontrolle als 100 % gesetzt.

3. Transformation der Krebsmedikamente in Reinstwasser und biologisch gereinigtem Abwasser

3.1 Dunkelexperimente

Für die drei Krebsmedikamente wurden jeweils Dunkelexperimente durchgeführt, um die Transformation durch Adsorption an die Reaktorwand und Hydrolyse zu bestimmen. Wenn die Transformation über diese Transformationspfade in den Zeiträumen, die in den Versuchen genutzt wurden, signifikant ist, kann dies die berechneten Transformationsgeschwindigkeiten beeinflussen.

In den Dunkelexperimenten verringerten sich die Konzentrationen von CAP, BIC und IRI nur wenig (< 5 %). Es kann also angenommen werden, dass die Krebsmedikamente während der Transformationsexperimente in Wasser stabil sind. Der zeitliche Verlauf der Konzentrationen ist im Anhang gezeigt (Anhang E). Die in den folgenden Abschnitten beobachtete Transformation ist dementsprechend alleine auf die Oxidation der Substanzen durch die jeweiligen Prozesse zurückzuführen.

3.2 UV-I – Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Quantenausbeuten

3.2.1 Chemische Aktinometrie

Die Menge der in den Reaktor eingestrahnten UV-Strahlen wurde durch chemische Aktinometrie mit dem Nucleosid Uridin bestimmt. Chemische Aktinometrie ist eine Methode zur Messung von Strahlung und nutzt die Wechselwirkung von Strahlung mit Molekülen, um Aussagen über die Menge der eingestrahnten Photonen zu treffen. Gegenüber konventionellen Messgeräten besteht dabei der Vorteil, dass keine Wartung und Kalibrierung notwendig ist und komplizierte Reaktorgeometrien, die mit Messgeräten, welche die Strahlungsabsorption messen, nur schwer zu erfassen sind, berücksichtigt werden können^[91].

LP-UV-Lampen strahlen 85 % ihrer Energie bei $\lambda = 254 \text{ nm}$ aus^[92]. Für die Berechnung der Strahlungsmenge werden die Quantenausbeute und der Absorptionskoeffizient von Uridin bei dieser Wellenlänge verwendet. Die Auftragung von $\ln(c_t/c_0)$ gegen die Zeit in Minuten ist in Abbildung 12 gezeigt. Aus der Geradensteigung wurde mithilfe der Absorption und der Quantenausbeute von Uridin

bei 254 nm eine Bestrahlungsintensität im Reaktor von $16,60 \mu\text{Einstein s}^{-1}$ bestimmt. Die Fehlerbalken entsprechen den Standardabweichungen der jeweiligen Messungen.

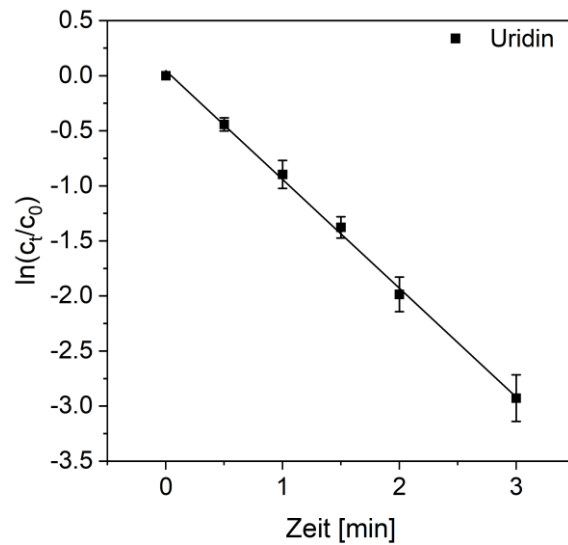


Abbildung 12: Transformationskurve von Uridin bei Bestrahlung im UV-Reaktor. Die Konzentration wurde durch Absorptionsmessung bei $\lambda = 262 \text{ nm}$ gemessen.

Die gute Linearität der Transformationskurve deutet zusätzlich auf eine gleichmäßige Strahlungsemission der UV-Lampe nach der gewählten Aufwärmzeit von 15 min hin.

3.2.2 Photolyse

In Abbildung 13 sind die logarithmierten Transformationskurven während UV - I dargestellt.

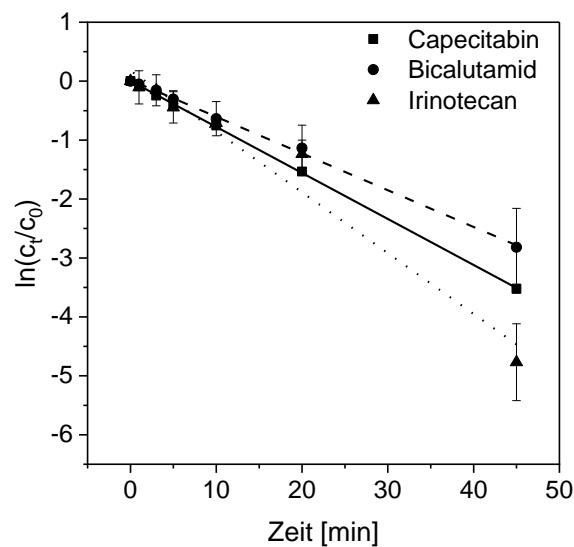


Abbildung 13: Logarithmierte Transformation von CAP, BIC und IRI während der Bestrahlung mit UV. Die Startkonzentration betrug $1 \mu\text{g L}^{-1}$.

Mit dem in Abbildung 10 gezeigten Versuchsaufbau konnte ein Großteil der drei Krebsmedikamente photochemisch transformiert werden. Die Konzentrationen von CAP, BIC and IRI wurden während der 45-minütigen Bestrahlung um 97%, 90% und 99% reduziert. Die eingezeichneten Fehlerbalken entsprechen den Standardabweichungen von drei Messungen an den jeweiligen Messpunkten. Anhand der gemessenen Konzentrationen wurden für die Transformationsreaktionen der drei Substanzen jeweils Kinetiken pseudo-erster Ordnung aufgestellt. Dafür wurde angenommen, dass die Transformationsgeschwindigkeit während der Bestrahlung einzig von der Konzentration des Krebsmedikaments abhängt und sich die Bestrahlungsintensität im Reaktor während des Experiments nicht signifikant ändert. Aufgrund der geringen Konzentration der Substanzen zu Beginn des Experiments ist das realistisch. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante pseudo-erster Ordnung (k_{UV}) wurde durch Auftragen der logarithmierten relativen Konzentration der Substanz gegen die Bestrahlungszeit aus der Geradensteigung bestimmt (Gleichung 3-1)^[79]. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten hängen von mehreren Faktoren wie der Reaktorgeometrie und der Leistung der Lampe ab und sind nicht auf andere Versuchsaufbauten übertragbar.

$$\ln\left(\frac{c_t}{c_0}\right) = -k_{UV}t \quad (3-1)$$

c_t und c_0 entsprechen den Substanzkonzentrationen zum Zeitpunkt t in min bzw. zu Beginn des Experiments. Die mit Gleichung 3-1 berechneten k_{UV} sind, ebenso wie die Halbwertszeiten ($t_{1/2}$), in Tabelle 7 gezeigt. IRI hat mit 6,7 min die geringste Halbwertszeit, BIC wird mit einer Halbwertszeit von 12,0 min etwa halb so schnell abgebaut. Die Abbaubarkeit von CAP liegt mit einer Halbwertszeit von 8,9 min zwischen den beiden anderen Substanzen. Aus den Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten konnten mit den Gleichungen 3-2 und 3-3 die Quantenausbeuten der Transformationsreaktionen berechnet werden^{[93][94]}. Die Quantenausbeute ϕ der Photolysereaktion beschreibt die absorbierten Photonen, die zum Abbau der Substanz führen relativ zur Gesamtzahl der von dem Krebsmedikament absorbierten Photonen.

$$\phi = \frac{k_{UV}}{k_s} \quad (3-2)$$

Dabei ist k_s die Gesamtzahl der absorbierten Photonen in Einstein mol⁻¹ min⁻¹, welche über Gleichung 3-3 berechnet werden kann:

$$k_s = \frac{E_p^0 \varepsilon (1 - 10^{-aL})}{a \cdot L} \quad (3-3)$$

E_p^0 ist die einfallende Photonenmenge im Reaktor, bezogen auf die Fläche in Einstein min⁻¹ cm⁻². Die berechnete Bestrahlungsintensität von 16,60 μ Einstein s⁻¹ wurde dafür durch die Reaktoroberfläche geteilt. ε ist der Absorptionskoeffizient des Krebsmedikaments bei $\lambda = 254$ nm, der Hauptemissionslinie der LP-UV-Lampe, und hat die Einheit 10⁻³ L mol⁻¹ cm⁻¹. a ist die Absorbanz der bestrahlten Lösung in

cm^{-1} und L die Pfadlänge des Lichts im Reaktor in cm. Die Absorptionskoeffizienten der Substanzen bei 254 nm wurden mit einem Spektrophotometer bestimmt. Die Extinktionsspektren der drei Substanzen im UV-Bereich sind in Abbildung 14 gezeigt, die Quantenausbeuten der Photolysereaktionen der drei Krebsmedikamente in Tabelle 7.

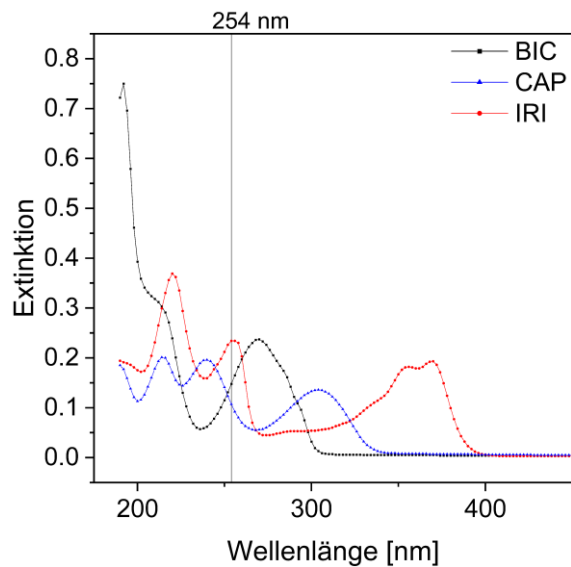


Abbildung 14: Mit einem UV/Vis-Spektrometer gemessene Extinktionen von CAP, BIC und IRI im UV-Bereich. Die Konzentrationen der Substanzen entsprachen 5 mg L^{-1} .

Obwohl IRI während des Experiments am schnellsten abgebaut wurde, sind die berechneten Quantenausbeuten von CAP und BIC höher. Dies ist auf den im Vergleich zu den beiden anderen Substanzen höheren Absorptionskoeffizienten von IRI bei $\lambda = 254 \text{ nm}$ zurückzuführen, welcher in Formel 3-3 im Nenner steht. IRI absorbiert also bei dieser Wellenlänge mehr Photonen, von denen aber anteilig weniger zu einer Transformationsreaktion führen. Die Quantenausbeute der Transformationsreaktion von BIC liegt mit $7 \cdot 10^{-4} \text{ mol Einstein}^{-1}$ zwischen denen von CAP und IRI.

Tabelle 7: Kinetische Parameter der photochemischen Transformation und Absorptionskoeffizienten der drei Krebsmedikamente (UV-I).

	k_{UV} [min^{-1}]	$t_{1/2}$ [min]	ϵ_{254nm} [$\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$]	ϕ [mol Einstein^{-1}]
CAP	$0,078 \pm 0,014$	8,9	7691	$1 \cdot 10^{-3}$
BIC	$0,058 \pm 0,017$	12,0	12739	$7 \cdot 10^{-4}$
IRI	$0,103 \pm 0,012$	6,7	27458	$6 \cdot 10^{-4}$

Die Suszeptibilität von CAP, BIC und IRI gegenüber der Transformation mit Ozon kann gut mit der chemischen Struktur erklärt werden^[43] (s. Kapitel 3.3), für die photochemische Transformation ist das

nur eingeschränkt möglich. Obwohl Modelle für die Vorhersage der Absorption^[95] und der Quantenausbeute^[96] existieren, sind diese häufig auf eine Substanzklasse beschränkt. Der beste Weg, die Abbaueffizienz von photochemischen Prozessen zu bestimmen, ist deshalb die Durchführung von Transformationsexperimenten.

Bei oxidativen Prozessen sind die kinetischen Werte wie die Quantenausbeute wichtige Parameter, um über die Eignung einer Methode zu entscheiden^[97]. Anschaffungs- und Betriebskosten der Anlage sollten bei der vollständigen Bewertung eines Prozesses aber auch einfließen^[98]. Anhand des gemessenen UV-Flusses können die gemessenen Eliminationseffizienzen mit anderen Prozessen verglichen werden.

Cedat *et al.* nennen als Obergrenze für den UV-Fluss in technischen Anwendungen zur Abwasserbehandlung eine eingestrahlte Energiemenge von $< 1000 \text{ MJ cm}^{-2}$. Bei höheren Energiemengen werden laut der Autoren die Kosten für die benötigten Lampen bei den erwarteten Verweilzeiten des Abwassers in dem Reaktor, welche meist nur einige Sekunden betragen, zu hoch^[99]. Die durch Aktinometrie gemessene UV-Dosis beträgt $266 \text{ MJ cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$, die von Cedat genannte Dosis wird so nach 3,8 min Bestrahlung erreicht. In dieser Zeit reduzieren sich die Konzentrationen von CAP, BIC und IRI in dem getesteten System um 25 %, 20 % und 32 %. Diese Werte liegen unterhalb der von Schweizer Behörden vorgeschlagenen Grenze von 80 % Entfernung^[100]. Photolyse mit einer LP-UV-Lampe ist deshalb vermutlich nicht geeignet, um eine ausreichende Konzentrationsreduktion von CAP, BIC und IRI in Abwasser zu erreichen.

Die Ergebnisse dieser Experimente sind konsistent mit den Ergebnissen anderer Veröffentlichungen. Paredes *et al.* haben die Elimination von 18 MPs im Labormaßstab und in UV-Desinfektionsstufen von Kläranlagen miteinander verglichen^[66]. Die Autoren konnten im Labor zeigen, dass viele Substanzen durch die Behandlung mit UV-Strahlung transformiert werden können, darunter auch Substanzen, die während der biologischen Reinigung nicht vollständig entfernt werden wie Diclofenac und Diazepam. Die Messung der Konzentration dieser Substanzen vor und nach der UV-Desinfektion zeigte bei den meisten Substanzen jedoch nur eine geringe Änderung der Konzentration durch die Bestrahlung. Dies wird von den Autoren auf die geringen UV-Dosen zurückgeführt, welche in den ausgewählten Kläranlagen zwischen 12 und 44 MJ cm^{-2} liegen. Sollen bereits bestehende UV-Desinfektionsstufen in Kläranlagen für die Entfernung von MPs genutzt werden, reichen deren Strahlungsintensitäten für eine photochemische Oxidation häufig nicht aus. Alternativ könnten andere Prozesse wie die Zugabe von Katalysatoren oder H_2O_2 in Kombination mit UV-Strahlung eine Möglichkeit darstellen, die Konzentrationen von MPs in bereits existierenden UV-Desinfektionsreaktoren zu reduzieren.

3.3 Oz-I – III: Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Transformationsreaktionen mit Ozon

Unter den gewählten Reaktionsbedingungen nimmt die Ozonkonzentration in den Transformationsexperimenten mit CAP und IRI nur langsam ab, da in dem Reinstwasser bis auf das zugegebene Medikament keine organischen Reaktionspartner zu Verfügung standen. Ozon lag während der Experimente im Überschuss vor, sodass die Reaktion mit dem Krebsmedikament die Ozonkonzentration nur geringfügig beeinflusst. In Experimenten mit BIC wurde die Ozonkonzentration stabil gehalten, indem die Gasmischung aus dem Ozongenerator während des gesamten Experiments durch die Versuchslösung geleitet wurde. Auch der pH-Wert von ca. 5,7 und die Temperatur des Kühlwassers von 18 °C hatten einen positiven Effekt auf die Stabilität des zugegebenen Ozons in diesen Versuchen: Bei niedrigen pH-Werten ist die Konzentration von OH⁻ geringer und weniger Ozon reagiert mit OH⁻. Aus diesen Gründen wurde angenommen, dass sich die Ozonkonzentration während der Reaktion nicht ändert und die Transformation der Substanzen in den Experimenten Oz-I – II mit einer Kinetik pseudo-erster Ordnung beschrieben werden kann, also nur von der Konzentration der Krebsmedikamente abhängt.

Die Reaktionsgeschwindigkeit zweiter Ordnung der Krebsmedikamente mit Ozon konnte aus der Geschwindigkeitskonstante pseudo-erster Ordnung und der gemessenen Konzentration von Ozon berechnet werden. Dazu wurde zuerst analog zu den UV-Versuchen mit der Gleichung 3-4 die Reaktionsgeschwindigkeit pseudo-erster Ordnung (k'_{O_3}) bestimmt:

$$\ln\left(\frac{c_t}{c_0}\right) = -k'_{O_3}t \quad (3-4)$$

Die Reaktionsgeschwindigkeit zweiter Ordnung (k''_{O_3}) wurde mit Gleichung 3-5 berechnet ^{[43][101]}:

$$k''_{O_3} = \frac{k'_{O_3}}{[O_3]} \quad (3-5)$$

Die in Versuch Oz-I bestimmten Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung werden als $k''_{O_3,app}$ bezeichnet, die in Oz-II bestimmten als k''_{O_3} . $k''_{O_3,app}$ beschreibt die Transformation der Medikamente sowohl durch die direkte Ozonreaktion als auch durch Reaktion mit ·OH. In Oz-II wurden ·OH durch die Zugabe von t-BuOH gequencht. k''_{O_3} beschreibt deshalb nur die Transformation der Substanzen durch die Reaktion mit Ozon.

Die stabile Ozonkonzentration während der Experimente ist an den in Abbildung 15 gezeigten, linearen Transformationskurven der Krebsmedikamente sowie an den bei längeren Experimenten mehrmals gemessenen Ozonkonzentrationen erkennbar. CAP und IRI wurden auch bei geringen

Ozonkonzentrationen von ca. 0,15 mg O₃ L⁻¹ innerhalb von 20 min abgebaut, für diese beiden Substanzen wurde die Ozonkonzentration während des Experiments nur einmal gemessen. Die berechneten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten sind in Tabelle 8 aufgelistet.

Tabelle 8: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Reaktion mit Ozon für CAP, BIC und IRI (Oz-I bis Oz-III).

	$k''_{O_3 \text{ app}}$ [L mol ⁻¹ s ⁻¹]	k''_{O_3} [L mol ⁻¹ s ⁻¹]	$k''_{\cdot OH}$ [L mol ⁻¹ s ⁻¹]
CAP	$(3,5 \pm 0,8) \cdot 10^3$	$(3,5 \pm 0,3) \cdot 10^3$	-
BIC	$(7,9 \pm 2,1) \cdot 10^{-1}$	$(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{-1}$	$(2,2 \pm 0,2) \cdot 10^9$
IRI	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^3$	-

Für CAP und IRI sind die jeweils in Oz-I und Oz-II berechneten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten ($k''_{O_3,app}$ und k''_{O_3}) sehr ähnlich. Dies ist auf die schnelle Reaktion zwischen Ozon und den beiden Substanzen sowie die geringe $\cdot OH$ -Konzentration zurückzuführen. Die Transformation von CAP und IRI in den Oz-I-Versuchen wird von der direkten Reaktion mit Ozon dominiert und das Quenchen von $\cdot OH$ mit t-BuOH während Oz-II hat nur einen geringen Einfluss auf die Transformationsgeschwindigkeit.

Im Gegensatz dazu reagiert BIC nur langsam mit Ozon. Um trotzdem eine Transformation von BIC beobachten zu können, wurde bei diesen Transformationsexperimenten eine höhere Ozonkonzentration von 1,5 mg L⁻¹ und ein Semi-Batch Aufbau verwendet. Es wurde eine $k''_{O_3,app}$ von $7,9 \pm 2,1 \cdot 10^{-1} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bestimmt. Bei den Oz-II-Experimenten wurde ein k''_{O_3} von $1,0 \pm 0,5 \cdot 10^{-1} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ berechnet. Der große Unterschied zwischen den beiden Werten zeigt, dass BIC während der Ozonung hauptsächlich von $\cdot OH$ abgebaut wird. Werden diese Radikale mit t-BuOH gequencht, reduziert sich die beobachtete Transformationsgeschwindigkeit um fast 90 %.

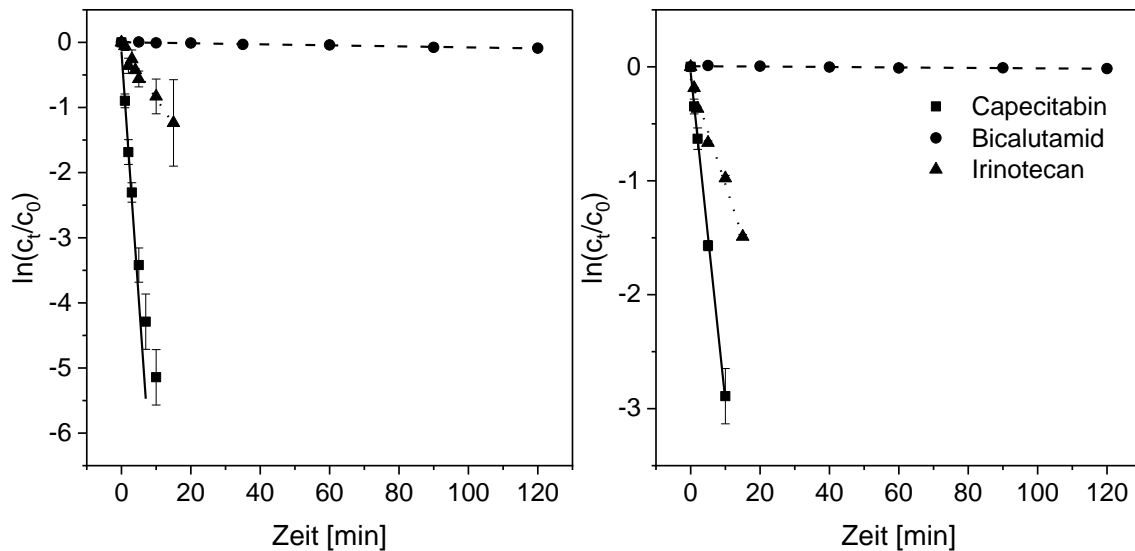


Abbildung 15: Transformationskurven der drei Substanzen während der Ozonung mit (Oz-II, rechts) und ohne (Oz-I, links) die Zugabe von 20 mmol L^{-1} t-BuOH. Die Anfangskonzentrationen der Substanzen beträgt $1 \mu\text{g L}^{-1}$.

Ozon hat ein hohes Reduktionspotential und reagiert schnell mit elektronenreichen funktionellen Gruppen, hauptsächlich durch Addition. Die Transformationsgeschwindigkeiten von Molekülen während der Ozonung können deshalb durch Betrachtung der Molekülstruktur teilweise erklärt werden. In Abbildung 16 sind die Strukturformeln von CAP, BIC und IRI gezeigt. Funktionelle Gruppen, für die in anderen Verbindungen eine hohe Reaktivität mit elementarem Ozon beobachtet wurde und welche deshalb auch die Reaktivität von CAP und IRI mit Ozon erklären könnten, sind in der Abbildung 16 farblich markiert.

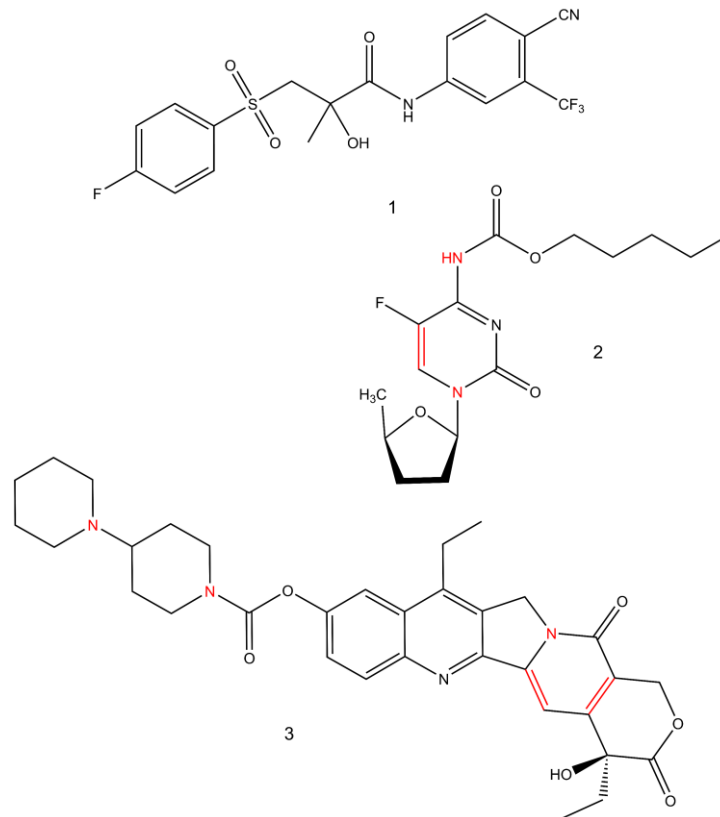


Abbildung 16: Strukturformeln von BIC (1), CAP (2) und IRI (3). Rot markierte Funktionalitäten reagieren bevorzugt mit elementarem Ozon.

CAP hat eine Molekülstruktur mit einem sekundären und einem tertiären Amin, welche beide mit Ozon reagieren können. Dabei addiert Ozon an das freie Elektronenpaar am Stickstoff. Je höher die Elektronendichte ist, desto schneller läuft die Reaktion ab. Alkylgruppen an dem Amin verschieben Elektronendichte zum Stickstoff und erhöhen so die Reaktionsgeschwindigkeit. Neben den Aminen könnte Ozon auch mit der C-C-Doppelbindung reagieren. Das Fluoratom an der Doppelbindung zieht dort jedoch Elektronendichte ab und verringert so die Reaktivität mit Ozon. Eine Addition von Ozon an die Amine ist deshalb wahrscheinlicher^[43]. In der Struktur von IRI finden sich ebenfalls Amine und Doppelbindungen, welche mit Ozon reagieren kann. Dadurch könnten die ähnlichen Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten von CAP und IRI erklärt werden. In den durchgeführten Experimenten wurde eine geringe Transformation von BIC durch Ozon beobachtet. Dies kann auf die funktionellen Gruppen von BIC zurückgeführt werden, die nur sehr langsam mit elementarem Ozon reagieren: Amide und Sulfone zeigen sehr geringe Geschwindigkeitskonstanten mit Ozon und die beiden Benzolringe sind mit elektronenziehenden Gruppen substituiert, F und CF₃^[43]. Anhand der k''_{O_3} von CAP und IRI ist erkennbar, dass diese Substanzen hauptsächlich über die direkte Ozonreaktion abgebaut werden. Ist die Ozonkonzentration bekannt, kann mit den gemessenen Geschwindigkeitskonstanten die Transformation abgeschätzt werden^[102]. Aufgrund der niedrigen

k''_{O_3} von BIC überwiegen bei der Ozonung in einer realistischen Matrix möglicherweise Transformationsreaktionen mit anderen Reaktionspartnern wie $\cdot OH$. Um das Verhalten von BIC während der Ozonung besser beschreiben zu können, wurden die Oz-III-Experimente durchgeführt und neben $k''_{O_3,app}$ und k''_{O_3} die Reaktionsgeschwindigkeit von BIC mit $\cdot OH$ ($k''_{\cdot OH}$) bestimmt. Dazu wurden die Konzentrationen von BIC, Ozon und pCBA während des Versuches gemessen und in einem ersten Schritt der R_{CT} -Wert in dem durchgeführten Experiment berechnet. R_{CT} beschreibt das Verhältnis der Konzentration von $\cdot OH$ und O_3 (Gleichung 3-6). Es konnte gezeigt werden, dass dieses Verhältnis während der Ozonung in einem Medium konstant bleibt ^[88]:

$$R_{CT} = \frac{[\cdot OH]}{[O_3]} \quad (3-6)$$

pCBA reagiert sehr langsam mit elementarem Ozon, aber schnell mit $\cdot OH$. Wird der logarithmierte Konzentrationsrückgang von pCBA gegen die O_3 -Exposition $\int [O_3] dt$ (in mol L⁻¹ s) aufgetragen, kann aus der Geradensteigung mit der bekannten Reaktivität von pCBA mit $\cdot OH$ der Wert von R_{CT} berechnet werden (Gleichung 3-7).

$$\ln \left(\frac{[pCBA]_t}{[pCBA]_0} \right) = k''_{\cdot OH, pCBA} \cdot R_{CT} \int [O_3] dt \quad (3-7)$$

In den Versuchen wurde darauf geachtet, dass die Konzentration von BIC einem Vielfachen der pCBA-Konzentration entsprach. So wird der Einfluss der Reaktion von pCBA mit $\cdot OH$ auf die BIC-Transformationsreaktion geringgehalten. Der Mittelwert der R_{CT} -Werte liegt während der durchgeführten Versuche bei $7,1 \pm 3,4 \cdot 10^{-10}$ und damit deutlich unterhalb der Werte, die in Oberflächenwasser gemessen wurden ^[103]. Stattdessen ist der berechnete Wert sehr ähnlich zu dem von Elovitz *et al.* gemessenen Wert in Grundwasser ^[103]. Dies kann mit der geringen Konzentration von organischen Substanzen in der Versuchslösung erklärt werden, die auch in Grundwasser gering ist. Reaktionen zwischen Ozon und NOM werden dadurch seltener, was die Bildungsrate von $\cdot OH$ reduziert.

Sind R_{CT} und die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante von BIC mit Ozon bekannt, kann mit Gleichung 3-8 aus der Abnahme der Konzentration von BIC die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante von BIC mit $\cdot OH$ berechnet werden ^[104].

$$\ln \left(\frac{[BIC]_t}{[BIC]_0} \right) = (k''_{\cdot OH, BIC} \cdot R_{CT} + k''_{O_3, BIC}) \int [O_3] dt \quad (3-8)$$

Mit $(2,2 \pm 0,2) \cdot 10^9$ L mol⁻¹ s⁻¹ liegt dieser Wert in einem für Mikroschadstoffe typischen Bereich, Sudhakaran *et al.* haben in ihrer Veröffentlichung Werte von $0,04 \cdot 10^9$ bis $18 \cdot 10^9$ L mol⁻¹ s⁻¹

berechnet ^[105]. Soll BIC in Wasser abgebaut werden könnten also Verfahren wirksam sein, bei denen $\cdot\text{OH}$ als oxidative Spezies erzeugt werden. Dazu zählen fortgeschrittene Oxidationsprozesse (engl. *advanced oxidation processes*, AOPs) wie die Behandlung mit H_2O_2 und UV-Strahlung oder Fenton-Prozesse.

3.4 Vergleich der berechneten kinetischen Parameter mit Literaturwerten

In der Literatur finden sich eine Vielzahl von kinetischen Konstanten für die Transformation von MPs. In Tabelle 9 werden die in Oz-I – Oz-III und UV-I bestimmten Geschwindigkeitskonstanten und Quantenausbeuten Literaturwerten gegenübergestellt. Zusätzlich sind die kinetischen Parameter der Transformationsreaktionen von umweltrelevanten MPs mit Ozon und UV-Strahlung gezeigt. Bei den ausgewählten Substanzen handelt es sich um Analgetika (Diclofenac und Ibuprofen), ein Antikonvulsivum (Carbamazepin), ein Röntgenkontrastmittel (Diatrizoat), einen Blutdrucksenker (Metoprolol) und das Antibiotikum Sulfamethoxazol.

Tabelle 9: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Quantenausbeuten von CAP, BIC und IRI aus den Experimenten Oz-I bis Oz-III und UV-I und der Literatur sowie von sechs weiteren umweltrelevanten Substanzen.

Substanz	k'_{UV} [min ⁻¹]	$t_{1/2}$ [min]	ϕ_{UV} [mol Einstein ⁻¹]	$k''_{O_3,app}$ [L mol ⁻¹ s ⁻¹]	k''_{O_3} [L mol ⁻¹ s ⁻¹]	k''_{OH} [L mol ⁻¹ s ⁻¹]	Quellen
CAP	0,078 ± 0,014	8,9	1 · 10 ⁻³	(3,5 ± 0,8) · 10 ³	(3,5 ± 0,3) · 10 ³	-	
BIC	0,058 ± 0,017	12,0	7 · 10 ⁻⁴	(7,9 ± 2,1) · 10 ⁻¹	(1,0 ± 0,5) · 10 ⁻¹	(2,2 ± 0,2) · 10 ⁹	Eigene Experimente
IRI	0,103 ± 0,012	6,7	6 · 10 ⁻⁴	(1,0 ± 0,3) · 10 ³	(1,0 ± 0,3) · 10 ³	-	
CAP	-	-	-	-	9,7 ± 0,1 · 10 ³	-	[106]
BIC	-	-	-	-	-	-	
IRI	-	-	(0,004)	-	2,2 · 10 ⁶	-	[107], [108]
Carba- mazepin	-	-	6 · 10 ⁻⁴	-	3,0 · 10 ⁵	-	[109], [110]
Diatrizoat	-	-	0,070	-	48,7	-	[111], [112]
Diclofenac	-	-	0,190	-	1,8 · 10 ⁴	-	[113], [114]
Ibuprofen	-	-	0,103	-	7,2	-	[115], [116]
Metoprolol	-	-	0,006	-	2,0 · 10 ³	-	[117]
Sulfa- methoxazol	-	-	0,250	-	4,4 · 10 ⁵	-	[118], [119]

Für die Transformationsreaktionen von BIC konnten in der Literatur keine kinetischen Parameter gefunden werden. Einige Veröffentlichungen beschäftigen sich mit dem Abbau von BIC durch Ozon,

dabei wird jedoch nur ein prozentueller Rückgang der Konzentration oder die Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung angegeben (Azuma *et al.*^[120], Garcia-Costa *et al.*^[121]). Teilweise wird dabei die niedrige Reaktionsgeschwindigkeit von BIC in der direkten Ozonreaktion angemerkt.

Die photochemische Transformation von CAP wurde in der Literatur untersucht, dabei wurde aber keine Quantenausbeute bestimmt. Für die Transformation der in Reinstwasser hauptsächlich vorliegende Spezies von CAP mit Ozon wurde von Chen *et al.* eine Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung von $9,7 \pm 0,1 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bestimmt^[106]. Dieser Wert liegt oberhalb der bestimmten k''_{O_3} , hat aber eine ähnliche Größenordnung. Die Abweichung kann teilweise mit unterschiedlichen Reaktionstemperaturen erklärt werden: Chen *et al.* haben ihre Experimente bei 27 °C durchgeführt, die in dieser Arbeit gemessenen Werte wurden bei 18 °C bestimmt. Höhere Temperaturen begünstigen die Reaktion von Ozon mit MPs, wie stark dieser Effekt ausfällt hängt von der jeweiligen Reaktion ab^[43].

Für die photochemische Transformation von IRI wurden Quantenausbeuten bei verschiedenen pH-Werten bestimmt, die Experimente wurden jedoch mit einer MP-UV-Lampe durchgeführt^[107]. Die gezeigte Quantenausbeute bezieht sich auf einen pH-Wert von sechs und ist über das gesamte Emissionsspektrum dieser Lampen von 200 – 400 nm normiert. Die Quantenausbeute von 0,004 ist deshalb nur eingeschränkt mit dem Ergebnis der in dieser Arbeit durchgeführten Experimente vergleichbar. Die von Chen *et al.* bestimmte k''_{O_3} ist mit $2,2 \cdot 10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ deutlich größer als der in diesen Experimenten gemessene Wert von $1,0 \pm 0,3 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ^[108]. Eine mögliche Erklärung dafür ist der höhere pH-Wert von 7,1, bei denen Chen die Konstanten bestimmt hat. Dadurch lag IRI während der Reaktion stärker deprotoniert vor und reagierte so schneller mit Ozon.

Die Quantenausbeuten der anderen MPs sind, mit Ausnahme von Carbamazepin und Metoprolol, größer als die gemessenen Werte der Krebsmedikamente. Für diese Substanzen ist eine höhere Transformationseffizienz während der Bestrahlung mit UV-Licht erwartbar. Bei den beiden Substanzen mit den höchsten Quantenausbeuten wird dies von experimentellen Ergebnissen bestätigt: Collado *et al.* konnten zeigen, dass sich die Konzentration von Diclofenac in biologisch gereinigtem Abwasser im Rahmen einer Teilstrombehandlung mit UV um bis zu 80 % reduzieren lässt^[122]. Auch Sulfamethoxazol lässt sich mit UV-Strahlung effizient aus biologisch gereinigtem Abwasser entfernen^[123]. Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten von Ibuprofen und Diatrizoat mit Ozon sind etwas höher als die für BIC gemessene k''_{O_3} , aber nicht so hoch, dass eine effiziente Transformation während der Ozonung zu erwarten ist. Die vier anderen Substanzen zeigen mit Ozon ähnliche bzw. höhere Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten als CAP und IRI und sollten während der Ozonung zu mehr als 80 % eliminiert werden^[43].

3.5: UV-II, Oz-IV – Mineralisierungsexperimente mit UV und Ozon

Bei der chemischen Transformation von Mikroschadstoffen in Wasser mit Ozon und UV-Strahlung entstehen eine Vielzahl von TPs. Diese können erneut reagieren und so Moleküle mit immer kleineren Molekülmassen bilden^[124]. Am Ende dieser Reaktionskaskade stehen ungefährliche Substanzen, hauptsächlich CO₂, anorganische Ionen und Wasser. Wird diese Kaskade komplett durchlaufen, spricht man von der Mineralisierung einer Substanz. Die Zwischenprodukte sind häufig besser biologisch abbaubar, aber nicht immer notwendigerweise ungefährlicher^{[124][125]}. Eine hohe Mineralisierungsrate ist deshalb für Oxidationsprozesse wünschenswert und wird häufig durch die Messung des DOC-Wertes vor und nach der Behandlung bestimmt.

In den durchgeführten Experimenten wurden Lösungen der Medikamente mit einer Konzentration von 5 mg L⁻¹ hergestellt und für 120 min mit UV-Licht bestrahlt bzw. ozoniert. Das Verhältnis c(O₃) : DOC während der Oz-IV-Versuche betrug 1:1. Dabei wurden regelmäßig Proben genommen und die Konzentrationen von DOC und den Ausgangssubstanzen gemessen. Ozon war in der Lage, die DOC-Konzentration um ca. 10% (CAP) bzw. ca. 30% (BIC und IRI) zu verringern, UV-Bestrahlung mineralisierte 80% von CAP und IRI und 50% von BIC. Die Entwicklung der DOC-Konzentrationen während der Experimente sind in den beiden Graphen der Abbildung 17 dargestellt.

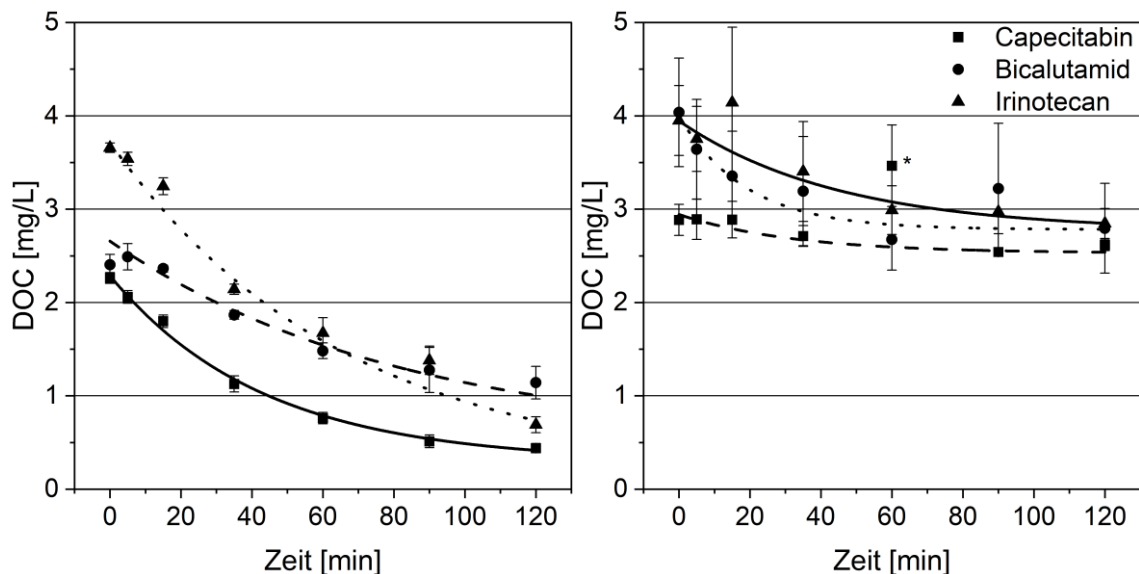


Abbildung 17: Verlauf der DOC-Konzentrationen während der Mineralisierungsexperimente für UV (links) und Ozon (rechts). Die Substanzkonzentration zu Beginn des Experiments betrug jeweils 5 mg L⁻¹. (*) Dieser Wert ist ein Ausreißer und wurde für die Berechnung der Abbaukurve nicht berücksichtigt.

Die in Versuch Oz-IV beobachtete Mineralisierung von 10% bis 30% liegt in einem Bereich, der auch in der Literatur beschrieben wird^[126]. Die Mineralisierung von organischen Substanzen durch die direkte Reaktion mit Ozon ist meist gering und tritt erst auf, wenn bereits stark oxidierte Moleküle

decarboxyliert werden^[61]. Stattdessen werden TPs gebildet, welche häufig eine geringere Reaktivität mit Ozon aufweisen, da elektronenreiche funktionelle Gruppen oxidiert wurden. Wie in Kap. 3.2 gemessen wurde, ist die Bildungsrate von $\cdot\text{OH}$ in Reinstwasser gering. Eine höhere Konzentration der Krebsmedikamente könnte aber zu einer stärkeren Radikalbildung und so zu einer höheren Mineralisierungsrate im Vergleich zu den Versuchen Oz-I – III führen.

In den Versuchen UV-II sind die beobachteten Mineralisierungsraten höher als in bisher in der Literatur beschriebenen Experimenten mit LP-UV-Lampen^{[80][107][127]}. Eine mögliche Ursache dafür ist, dass die LP-UV-Lampe neben der Hauptemissionslinie bei $\lambda = 254 \text{ nm}$ auch bei einer Wellenlänge von 185 nm Strahlung emittiert. Dies ist bei allen LP-UV-Lampen der Fall, die Emission bei 185 nm wird jedoch häufig durch Dotierung des in der Lampe verwendeten Glases absorbiert. Strahlung dieser Wellenlänge ist in der Lage, durch die Homolyse oder Ionisierung von Wassermolekülen $\cdot\text{OH}$ zu erzeugen, welche in der Lage sind, organische Substanzen zu mineralisieren^[128].

In Abbildung 18 ist erkennbar, dass der Verlauf der DOC-Konzentration während der beiden Prozesse annähernd exponentiell ist. Die Mineralisierung der drei Substanzen verläuft über Reaktionskaskaden, die eine Vielzahl von Einzelreaktionen beinhalten. Die Gesamtreaktionen können aber trotzdem jeweils mit einer Reaktionsgeschwindigkeitskonstante erster Ordnung beschrieben werden. In Abbildung 18 sind die linearisierten Graphen gezeigt, mit denen diese Konstanten bestimmt wurden.

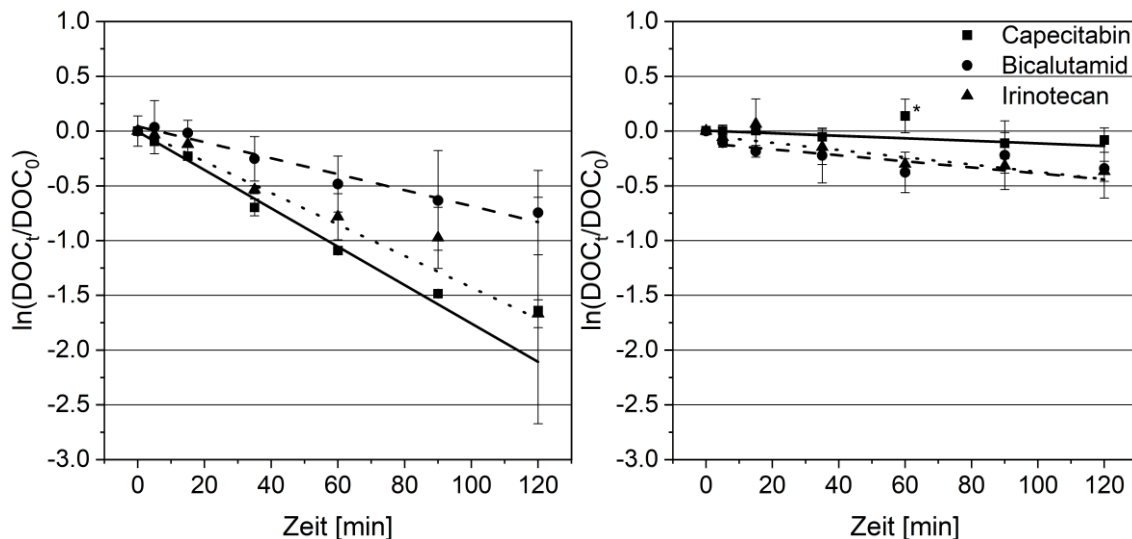


Abbildung 18: Linearisierte DOC-Konzentration während der Mineralisierungsexperimente mit UV (UV-II, links) und Ozon (Oz-IV, rechts). (*) Dieser Wert wird als Ausreißer angesehen und wurde für die Linearisierung nicht berücksichtigt.

Aus den Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten konnten, wie in Versuch UV-I, die Halbwertszeiten der DOC-Konzentration berechnet werden. Diese sind in Tabelle 10 aufgelistet.

Tabelle 10: Halbwertszeiten der DOC-Konzentrationen in UV-II und Oz-IV.

	Halbwertszeit CAP [min]	Halbwertszeit BIC [min]	Halbwertszeit IRI [min]
UV-II	56	75	76
Oz-IV	594	274	250

Die gemessenen Abbaugeschwindigkeiten und Halbwertszeiten der DOC-Konzentration korrelieren nicht mit der Abbaubarkeit der Substanzen. IRI wird in den UV-I-Experimenten am schnellsten abgebaut, gefolgt von CAP und BIC. In den UV-II-Experimenten hingegen wurde CAP mit einer Halbwertszeit von 56 min am schnellsten mineralisiert, gefolgt von BIC und IRI mit $t_{1/2} = 75$ min bzw. 76 min. CAP hat die größte $k''_{O_3,app}$, wird jedoch mit einer Halbwertszeit von 594 min am langsamsten mineralisiert. Die Mineralisierung durch Ozon verläuft über Decarboxylierungen, bei denen Carbonsäuregruppen als CO_2 abgespalten werden. Edukte in diesen Reaktionen sind folglich Substanzen, die bereits stark oxidiert vorliegen^[43]. Die Reaktionsgeschwindigkeiten dieser Substanzen mit Ozon oder $\cdot OH$ weichen von den Ausgangssubstanzen ab. Deswegen ist es in diesem Fall nicht möglich, von einer hohen Abbaugeschwindigkeit der Ausgangssubstanzen auf die Mineralisierbarkeit zu schließen.

Neben der DOC-Konzentration wurde bei jeder Probe auch die Konzentration der Ausgangssubstanz bestimmt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in den Abbildungen 19 und 20 im Vergleich zu den gemessenen DOC-Konzentrationen gezeigt.

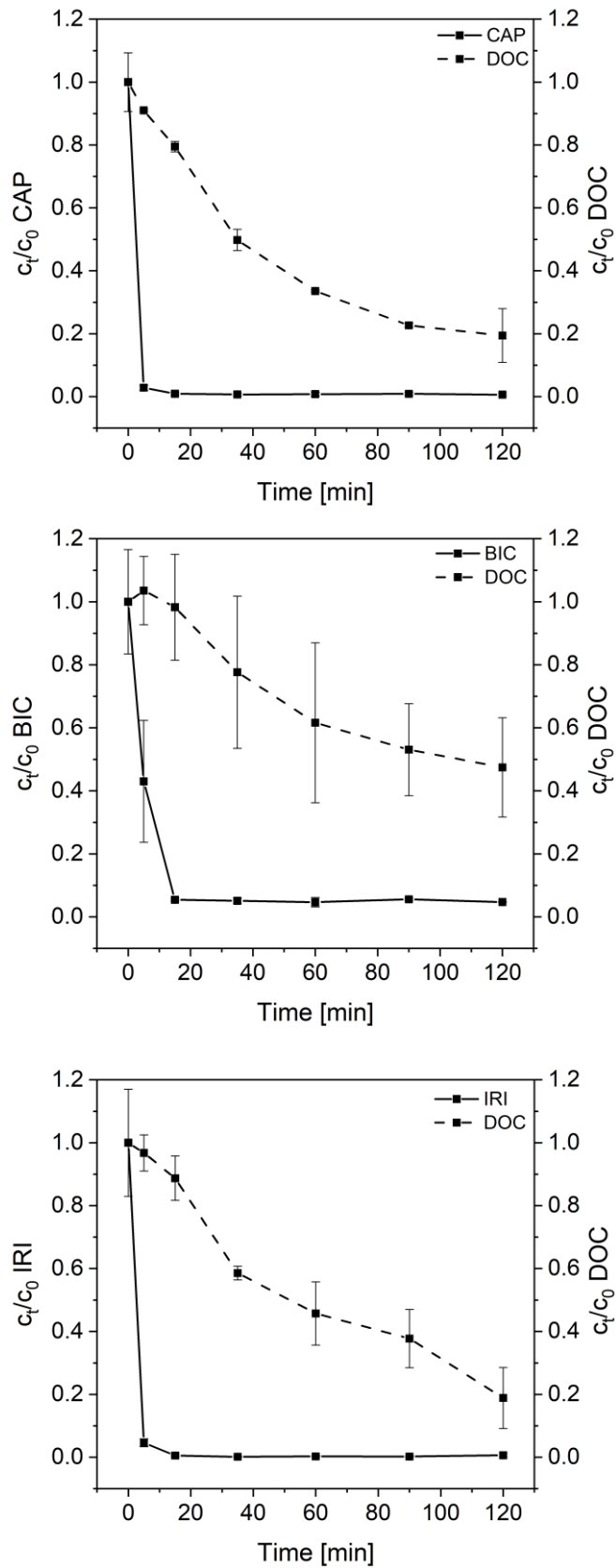


Abbildung 19: Vergleich der Konzentrationen von DOC und den drei Substanzen während UV-II. Startkonzentration = 5 mg L^{-1} .

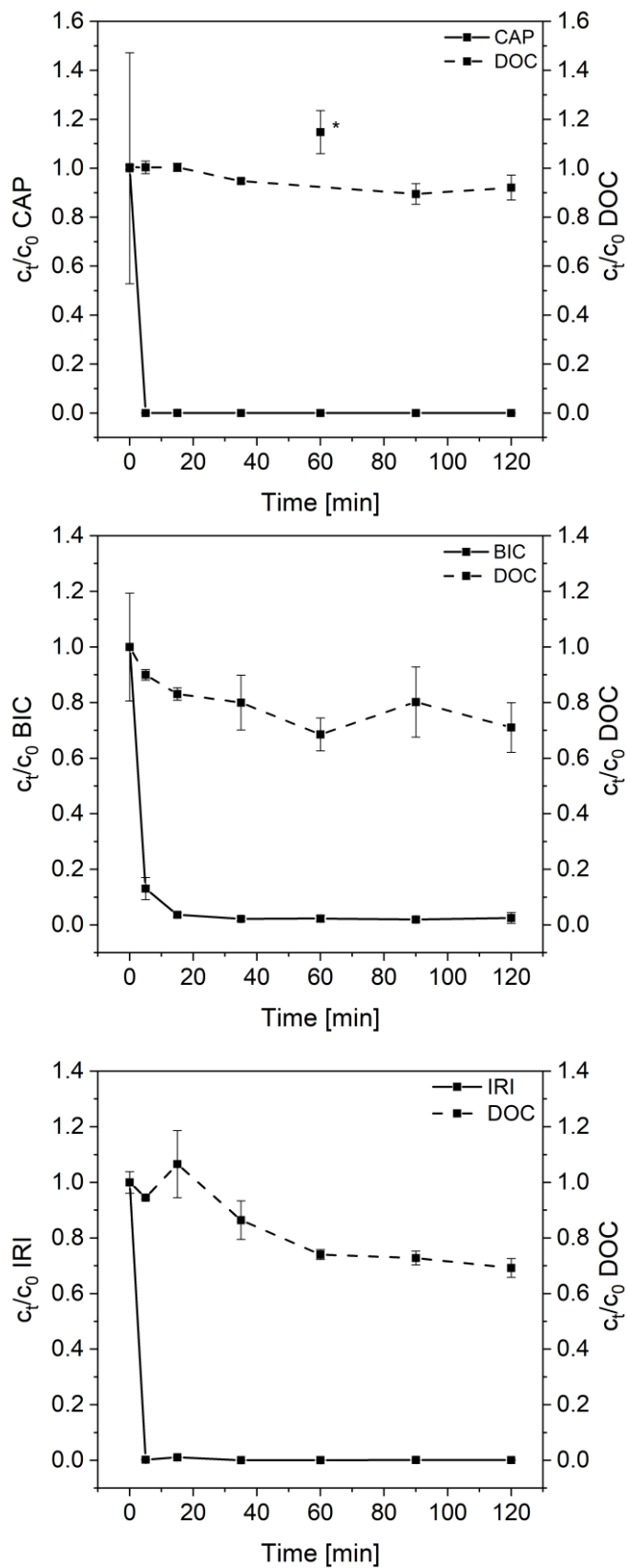


Abbildung 20: Vergleich der Konzentrationen von DOC und den drei Substanzen während Oz-IV. Startkonzentration = 5 mg L⁻¹. (*) Dieser Wert wird als Außreißer angesehen und deshalb nicht berücksichtigt.

Es ist erkennbar, dass in beiden Experimenten die Konzentration der Medikamente schnell abnimmt, nach 15 min ist jeweils ein vollständiger Abbau erreicht. Aufgrund der höheren Ozonkonzentration ist das bei den Oz-IV-Experimenten für CAP und IRI erwartbar, der schnellere BIC-Abbau kann aber nicht ausschließlich mit der höheren O_3 -Konzentration erklärt werden. Ein möglicher Grund für den schnelleren Abbau ist, dass aufgrund der höheren Konzentration organischer Substanzen in der Reaktionslösung vermehrt Radikale, z.B. $\cdot OH$ gebildet werden^[129]. Wie in Kapitel 3.2 gezeigt, reagieren diese Radikale schnell mit BIC und könnten so den zusätzlichen Rückgang der Konzentration erklären. Die gebildeten $\cdot OH$ könnten auch für die beobachteten Mineralisierungsraten verantwortlich sein.

3.6. UV-Abw und Oz-Abw – Ergebnisse der Transformationsversuche in biologisch gereinigtem Abwasser

Die Experimente UV-I, UV-II und Oz-I bis Oz-IV wurden in Reinstwasser durchgeführt. Reinstwasser eignet sich für die Durchführung von kinetischen Experimenten, da in der Lösung keine Substanzen vorliegen, die die Transformationsgeschwindigkeit beeinflussen. So können die kinetischen Parameter der Transformationsreaktionen präzise berechnet werden. Bei Transformationsversuchen mit UV wird die Photolyserate von der Trübung des Wassers und sogenannten Photosensitivierern (engl. *photosensitizer*) beeinflusst. Lee *et al.* haben gezeigt, dass NOM die Transformationsgeschwindigkeiten von MPs sowohl positiv als auch negativ beeinflussen können, abhängig von der chemischen Struktur bzw. der Herkunft der NOM^[130]. Liegen in einer ozonierten Lösung organische Wasserbestandteile vor, können diese mit Ozon reagieren und so einen schnelleren Rückgang der Ozonkonzentration bewirken. Bei dieser Reaktion entstehen außerdem $\cdot\text{OH}$, welche weiter mit MPs reagieren können. Diese beiden Effekte haben einen Einfluss auf die Geschwindigkeit, mit der Ozon mit MPs reagiert.

Um zu untersuchen, wie sich eine realistische Matrix auf die Transformationsgeschwindigkeiten auswirkt, wurden die UV-Abw und Oz-Abw-Versuche durchgeführt. Das verwendete Abwasser wurde aus dem Abfluss der Kläranlage in Karlsruhe-Neureut entnommen. Diese Anlage reinigt Abwasser von 875000 Einwohnerwerten (EW) und hat ein Einzugsgebiet von ca. 4600 ha. Anders als bei den Experimenten in Reinstwasser wurden in den Abw-Experimenten die drei Substanzen gleichzeitig abgebaut. Aufgrund der hohen DOC-Konzentration und niedrigen Substanzkonzentration bei der Transformation wurden keine Wechselwirkungen zwischen den Krebsmedikamenten erwartet. Neben der Konzentration der Krebsmedikamente wurde der Einfluss der Prozesse auf die anderen Wasserbestandteile mit SEC-OCD bestimmt. Dazu wurden drei Proben genommen, jeweils zu Beginn des Experiments, nach einem Drittel der Versuchszeit und am Ende des Experiments.

Vor der Durchführung der Transformationsexperimente wurden Messungen durchgeführt, um die SPE-Methode zu charakterisieren. Dabei wurden der Matrixeffekt (ME) sowie die Wiederfindungsrate (WR) der Methode bestimmt. Die Berechnung der beiden Werte erfolgte mit den Formeln 3-4 und 3-5^[131].

$$ME [\%] = 100 \cdot \left(\frac{\text{Signal (Nach Extraktion gespikte Probe)}}{\text{Signal (Standardprobe)}} - 1 \right) \quad (3-4)$$

$$WR [\%] = 100 \cdot \frac{\text{Signal (Mit Analyt extrahierte Probe)}}{\text{Signal (Nach Extraktion gespikte Probe)}} \quad (3-5)$$

Die Ergebnisse dieser Berechnungen sind in Tabelle 11 gezeigt.

Tabelle 11: Wiederfindungsraten und Matrixeffekte der SPE-Methode. Fehler der Werte entsprechen den Standardabweichungen bei sechsfacher Messung. Die Werte für IRI sind aufgrund der hohen WR kursiv gedruckt.

	ME [%]	WR [%]
CAP	-19 ± 7	99 ± 10
BIC	-57 ± 8	114 ± 20
<i>IRI</i>	<i>-75 ± 3</i>	<i>244 ± 40</i>

Die Matrixeffekte, also eine Veränderung des Messsignals durch Bestandteile der Matrix treten bei allen drei Substanzen auf und sind für alle drei Substanzen negativ. Das bedeutet, dass auch nach der Filtration und Durchführung der SPE Matrixbestandteile eine Abschwächung des Signals hervorrufen. Am wenigsten beeinflusst wird CAP, die ME von BIC und IRI sind mit – 57 bzw. – 75 % groß.

Die für CAP und BIC gemessenen Wiederfindungsraten von $\geq 99\%$ zeigen, dass die gesamte Substanz in der Probe während der Beladung auf die SPE-Kartusche adsorbiert und anschließend vollständig eluiert wird. Für IRI wurde eine WR von 244 % gemessen, was bedeuten würde, dass die Durchführung der SPE das Signal der Substanz mehr als verdoppelt. Santos *et al.* haben die WR von Krebsmedikamenten mit verschiedenen SPE-Methoden bestimmt, die meisten Werte sind $< 105\%$, die höchste bestimmte WR ist 138% ^[132]. Mit 244 % liegt die für IRI bestimmte WR deutlich oberhalb dieser Werte. Diese hohe WR wird konstant über alle sechs Experimente der Validierung an drei verschiedenen Messtagen beobachtet. Die Substanzmenge kann sich während der SPE nicht erhöht haben, die hohe WR könnte deshalb auf einen geringeren Matrixeffekt durch die Zugabe der in MeOH gelösten Substanzen vor der SPE zurückzuführen sein. Die ungewöhnlichen IRI-Methodenparameter selbst und Daten, welche mithilfe der SPE gewonnen wurden, sind markiert: In den Tabellen 11, 12 und 13 sind diese jeweils in kursiver Schrift dargestellt.

Im Anschluss an die Durchführung der SPE wurden die extrahierten Proben mit der in Kapitel 2.2. gezeigten UHPLC-MS/MS-Methode gemessen. In Abbildung 21 ist die Änderung der Konzentrationen der drei Substanzen in Abwasser während der Bestrahlung mit UV-Licht in linearisierter Form gezeigt.

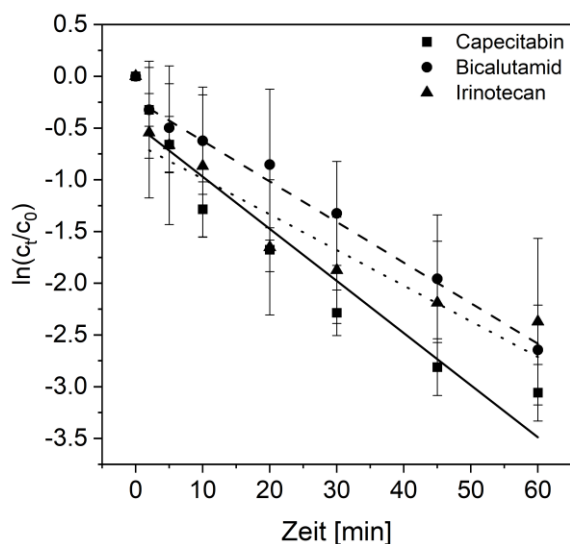


Abbildung 21: Relative Transformation der Krebsmedikamente während UV-Abw. Startkonzentration = 200 ng L⁻¹.

Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Transformationsreaktionen während UV-Abw (k'_{UV} UV-Abw) sind in Tabelle 12 zusammen mit den Ergebnissen aus UV-I und der relativen Veränderung der Reaktionsgeschwindigkeit aufgelistet.

Tabelle 12: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Photolysereaktionen in Reinstwasser und Abwasser, sowie die relativen Unterschiede zwischen den beiden Werten.

	k'_{UV} UV-I [min ⁻¹]	k'_{UV} UV-Abw [min ⁻¹]	Relativer Unterschied
CAP	0,078 ± 0.014	0,051 ± 0,005	- 35 %
BIC	0,058 ± 0.017	0,041 ± 0,004	- 29 %
IRI	0,103 ± 0.012	0,047 ± 0,025	- 54 %

Es fällt auf, dass Transformationsgeschwindigkeiten der drei Krebsmedikamente niedriger sind als während der Transformation in Reinstwasser, obwohl ein identischer Versuchsaufbau verwendet wurde. Ein Grund dafür ist die stärkere Abschwächung der Strahlungsintensität in der Lösung durch organische und anorganische Matrixbestandteile. Die SEC-ODC-Messungen zeigen, dass das biologisch gereinigte Abwasser Substanzen enthält, die bei $\lambda = 254$ nm absorbieren. Selbst wenn einige der von der Matrix absorbierten Photonen durch Photosensibilisierung zur Transformation der drei Krebsmedikamente beitragen, dürfte der Großteil nicht mehr für die Transformation von CAP, BIC und IRI zur Verfügung stehen. Die Änderungen der Transformationsgeschwindigkeiten sind für CAP und BIC mit - 35 % bzw. - 29 % ähnlich. IRI wird 54 % langsamer transformiert, die Standardabweichung der in UV-Abw bestimmten Geschwindigkeitskonstante ist jedoch groß. Außerdem wurde dieser Wert mit

der auffälligen SPE-Methode bestimmt. Neben der Abschwächung der Strahlungsintensität durch Matrixbestandteile könnte einen Teil der bei CAP und IRI beobachteten Veränderungen mit den unterschiedlichen pH-Werten erklärt werden. Diese beiden Substanzen haben pK_a -Werte von 8,8 (CAP)^[133] bzw. 9,2 (IRI)^[134]. Bei einer Veränderung des pH-Wertes von 5,6 in Reinstwasser zu 8,25 in biologisch gereinigtem Abwasser steigt bei beiden Verbindungen der Anteil der deprotonierten Spezies, wodurch die Absorptionskoeffizienten beeinflusst werden können^[135]. Auch die Quantenausbeute von Photolysereaktionen kann von dem pH-Wert-abhängig sein^[136]. Für BIC wurde ein pK_a -Wert von 11,5 bestimmt^[137], die Veränderung des pH-Wertes sollte deshalb keinen messbaren Einfluss auf die photochemische Transformation haben. Chatzimpaloglou *et al.* haben die Quantenausbeute der Transformation von IRI mit einer HP-UV-Lampe bei verschiedene pH-Werten zwischen vier und neun bestimmt. Die von den Autoren berechneten Quantenausbeuten im genannten pH-Wert-Bereich liegen zwischen $2,2 \cdot 10^{-4}$ und $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol Einstein⁻¹, verändern sich also um mehr als eine Größenordnung^[107]. Zwischen den pH-Werten fünf und sechs erfolgt eine große Änderung der Quantenausbeute, die sich mit der Deprotonierung des aromatischen Stickstoffs deckt. Laut Belay *et al.* hat diese Reaktion einen pK_a -Wert von 4,2^[134]. Chatzimpaloglou *et al.* haben bei pH-Werten von acht und neun ähnliche Quantenausbeuten gemessen, die Deprotonierung dieses Amins scheint für die Transformation mit MP-UV-Lampen nur einen geringen Einfluss auf die Transformationsreaktion zu haben. Da UV-I und UV-III bei pH-Werten von 5,6 bzw. 8,25 durchgeführt wurden, lag bei beiden Experimenten IRI hauptsächlich in derselben Spezies vor. Diese Spezies ist in Abbildung 22 gezeigt. Die beobachtete Änderung der Transformationsreaktion könnte jedoch auf Unterschiede zwischen den anteilig vorliegenden, protonierten (Reinstwasser) bzw. deprotonierten (Abwasser) Spezies zurückgeführt werden. Die farbigen Gruppen markieren die Stellen, an denen eine Deprotonierung stattfinden kann, die Zahlen zeigen die pK_a -Werte dieser Reaktionen.

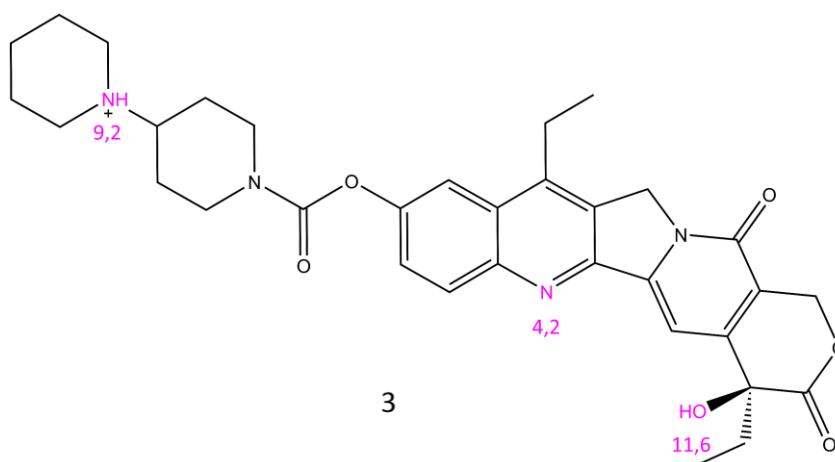


Abbildung 22: Saure Gruppen des IRI-Moleküls und dazugehörige pK_a -Werte. Darstellungweise adaptiert von Belay *et al.*^[134].

In den Ozon-Transformationsversuchen mit biologisch gereinigtem Abwasser wurde der in Abbildung 11 gezeigte Semi-Batch Versuchsaufbau verwendet. Die hohe Konzentration organischer Bestandteile im Wasser und der pH-Wert von 8,25 verringerten die Halbwertszeit von Ozon, welches über einen Diffusor in den Reaktor eingebracht wurde. Ozon reagierte so schnell mit den Matrixbestandteilen, dass eine Messung der Ozonkonzentration mit der Indigo-Methode während des Versuchs nicht möglich war. Stattdessen erfolgte die Messung der Ozonkonzentration in dem Gasstrom vor und nach dem Reaktor. So wurde ein konstanter Ozoneintrag sichergestellt und die in den Reaktor eingebrachte Ozonmenge berechnet. In Abbildung 23 ist der relative Rückgang der Substanzkonzentrationen gegen die Versuchszeit aufgetragen.

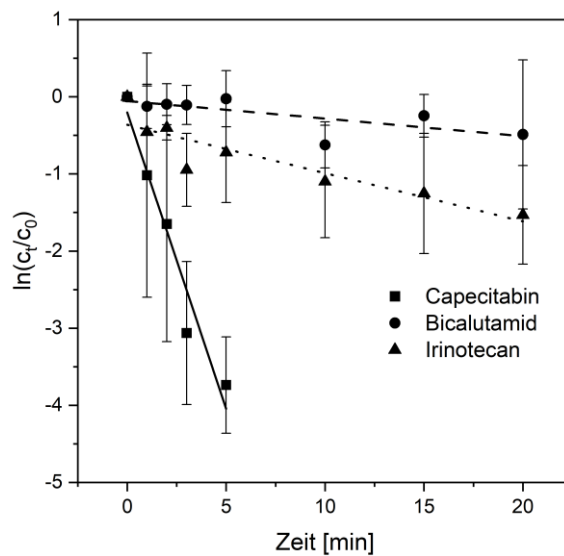


Abbildung 23: Relative Transformation der Krebsmedikamente durch Ozon in biologisch gereinigtem Abwasser. Startkonzentration = 200 ng L⁻¹.

CAP wird am schnellsten abgebaut, gefolgt von IRI und BIC. Diese Reihenfolge der Transformationsgeschwindigkeiten entspricht denen in Reinstwasser. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten erster Ordnung in Reinstwasser und Abwasser sowie die relativen Unterschiede zwischen diesen Werten sind in Tabelle 13 aufgetragen.

Tabelle 13: Geschwindigkeitskonstanten der Transformationsreaktion für die Krebsmedikamente in Oz-I und Oz-Abw, sowie die relativen Unterschiede zwischen den beiden Werten.

	$k'_{O_3,app}$ Oz-I [min ⁻¹]	$k'_{O_3,app}$ Oz-Abw [min ⁻¹]	Relativer Unterschied
CAP	0,570 ± 0,075	0,435 ± 0,286	-24 %
BIC	(0,844 ± 0,176) · 10 ⁻³	0,016 ± 0,016	+ 1895 %
IRI	0,153 ± 0,030	0,025 ± 0,006	- 84 %

In Oz-Abw konnten keine Ozonkonzentrationen gemessen werden und eine Berechnung von $k''_{O_3,app}$ aus der Transformationsgeschwindigkeit ist nicht möglich. Die Vergleichbarkeit der drei Substanzen in Oz-Abw ist jedoch gegeben, da die Krebsmedikamente in den Versuchen gemeinsam untersucht wurden und identischen Ozonkonzentrationen ausgesetzt waren. Für CAP und IRI ist jeweils ein Rückgang der Reaktionsgeschwindigkeit gemessen worden. Dieser Rückgang ist für CAP mit – 24 % gering. IRI wird 84 % langsamer abgebaut und die Reaktionsgeschwindigkeit ist vergleichbar mit der von BIC, welches im Vergleich zu den Versuchen Oz-I 19-mal schneller abgebaut wird. Die $k'_{O_3,app}$ in den Oz-I-Versuchen wurden bei unterschiedlichen Ozonkonzentrationen gemessen. Der in Tabelle 13 gezeigte Vergleich ist also nur qualitativ. Zusätzlich ist bei diesen Werten zu berücksichtigen, dass die in den Reaktor eingebrachte Ozonmenge in Oz-Abw deutlich größer war. Die in den Reaktor gegebenen Ozonmengen in den Oz-I CAP-Versuchen liegen zwischen 50 μg und 64 μg Ozon und damit deutlich niedriger als die bis zu 92 mg Ozon in Oz-Abw. Dies verdeutlicht, dass Ozon in einer realistischen Matrix hauptsächlich mit anderen Wasserbestandteilen wie NOM reagiert und nur zu einem geringen Teil mit den MPs. Auch hier ist zu beachten, dass die Werte für IRI mithilfe der SPE-Methode gemessen wurden, was zu Fehlern geführt haben könnte. Das biologisch gereinigte Abwasser enthält ca. 8 mg L^{-1} organischen Kohlenstoffs, es wurden jedoch nur jeweils 200 ng L^{-1} der Krebsmedikamente zugegeben. Die Reaktion von Ozon mit Matrixbestandteilen hat einen negativen Einfluss auf Transformationsrate von Substanzen wie CAP und IRI, welche schnell mit Ozon reagieren.

Elovitz *et al.* haben gezeigt, dass die Bildung von $\cdot\text{OH}$ durch Faktoren wie den DOC-Gehalt und den pH-Wert beeinflusst wird und abhängig davon um bis zu zwei Größenordnungen schwankt. Eine höhere DOC-Konzentration und Karbonathärte haben dabei einen positiven Effekt auf die $\cdot\text{OH}$ -Bildung^[103]. Die andere Matrix in Oz-Abw führt also vermutlich zu einer erhöhten Bildung von $\cdot\text{OH}$. Substanzen, welche langsam mit Ozon aber schnell mit $\cdot\text{OH}$ reagieren, wie beispielsweise BIC, werden deshalb in einer realistischen Matrix aufgrund der vielfach höheren $\cdot\text{OH}$ -Konzentration deutlich schneller abgebaut. Dies könnte die fast 19-fach schnellere Transformation von BIC in Oz-Abw erklären.

Neben den veränderten Konzentrationen von Ozon und $\cdot\text{OH}$ könnten die Transformationsraten der Substanzen von dem höheren pH-Wert beeinflusst worden sein. Wie bereits in dem Abschnitt für UV-Abw erklärt, liegen bei einem pH-Wert von 8,25 signifikante Anteile von CAP und IRI deprotoniert vor. Die deprotonierten Spezies weisen höhere Elektronendichten auf und reagieren schneller mit dem Elektrophil Ozon. Wie stark dieser Effekt ausfällt, ist abhängig von den Transformationsreaktionen. Die pK_a -Werte von CAP und IRI beschreiben jeweils die Dissoziation von Aminen, welche in ihrer deprotonierten Form mehrere Größenordnungen höhere Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten mit Ozon zeigen^[43]. Sowohl CAP als auch IRI sollten bei höheren pH-Werten deshalb schneller mit Ozon reagieren. Dies könnte zu den in Tabelle 16 gezeigten Unterschieden beitragen. Bei einem höheren

pH-Wert wird zusätzlich mehr $\cdot\text{OH}$ durch Reaktion mit OH^- gebildet. Bei $\text{pH} = 8,25$ überwiegt jedoch immer noch die Bildung aus der Reaktion mit organischen Wasserbestandteilen, der Einfluss der so gebildeten $\cdot\text{OH}$ auf die Transformationsgeschwindigkeit dürfte deshalb gering sein^[43].

3.6.1 SEC-OCD-Messungen der UV-Abw und Oz-Abw-Experimente

Während der Experimente UV-Abw und Oz-Abw wurden zusätzlich zu den Proben, mit denen die Konzentrationen der Krebsmedikamente bestimmt wurden, SEC-OCD-Proben genommen. Mit dieser Analysenmethode, in welcher eine Größenausschlusschromatographie mit der zeitlich aufgelösten Bestimmung des organischen Kohlenstoffs kombiniert wird, können die Bestandteile einer Wasserprobe bestimmt werden. Anders als bei z.B. der UHPLC-MS/MS-Methode, werden mit SEC-OCD keine einzelnen Substanzen gemessen. Stattdessen erfolgt eine Einteilung von Bestandteilen in Fraktionen anhand ihrer Retentionszeit (RT). In Proben von Oberflächengewässern werden diese Fraktionen Wasserbestandteilen wie Biopolymeren, Huminsäuren und niedermolekularen Verbindungen zugeordnet^[138]. Diese Zuordnung kann jedoch nicht ohne weiteres auf Wässer aus anderen Quellen übertragen werden^[139]. Stattdessen wird eine Kalibrierung mit Polyethylenglykolen verschiedener Kettenlängen durchgeführt, um Molmassenbereiche zu definieren, in denen die gemessenen Peaks liegen. Die chemischen Eigenschaften der Probenbestandteile unterscheiden sich jedoch von denen der Kalibriersubstanzen. Besonders bei Substanzen mit Molmassen $< 300 \text{ g mol}^{-1}$ wird die Retentionszeit außerdem nicht mehr von der Molmasse, sondern von anderen chemischen Eigenschaften der Moleküle bestimmt^[140]. Eine exakte Zuordnung von Molmassen zu den Retentionszeiten ist deshalb nicht möglich. Trotzdem ermöglicht die Kalibrierung eine Abschätzung der Molekülgrößen und zeigt, dass die Molmasse der eluierenden Moleküle, wie erwartet, mit steigender RT abnimmt. Für eine einfachere Beschreibung der Chromatogramme und der Veränderungen im Verlauf des Versuchs werden vier Fraktionen definiert. Diese Fraktionen sind in Abbildung 24 gezeigt.

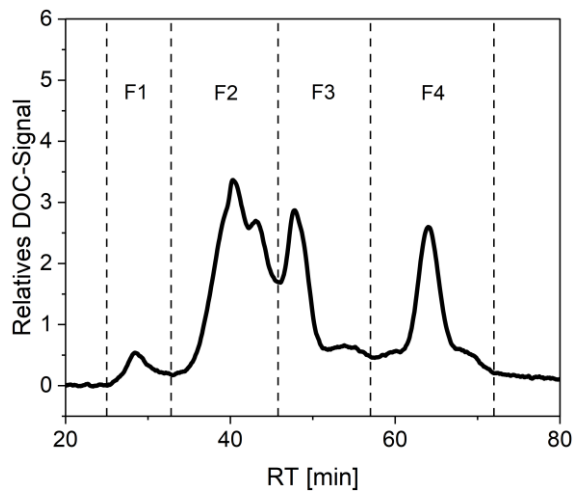


Abbildung 24: Einteilung der LC-DOC Chromatogramme in vier Fraktionen am Beispiel der Messung von UV-Abw vor Beginn des Experiments.

Fraktion 1 (F1) ist definiert als das Signal zwischen RT = 25,0 min und RT = 32,8 min. In diesem Bereich zeigt das Chromatogramm von nicht behandelten Abwässern einen Peak bei RT = 28,3 min. Dieser Peak liegt vor dem Exklusionsvolumen. Hierbei handelt es sich also um Substanzen mit Molmassen, welche mit der von Dextranblau ($M = 2 \cdot 10^7 \text{ g mol}^{-1}$) vergleichbar sind.

Fraktion 2 (F2) ist das Signal zwischen RT = 32,9 min und RT = 45,8 min zugeordnet. In diesem Bereich findet sich ein Doppelpeak bei RT = 40,2 min und 43,3 min. Anhand der Kalibrierung kann dieser Fraktion ein Molmassenbereich von 40000 g mol^{-1} bis 1600 g mol^{-1} zugeordnet werden.

Der Bereich zwischen RT = 45,9 und RT = 57,0 min ist Fraktion 3 (F3) und zeigt einen Peak bei RT = 47,9 min. In dieser Fraktion eluieren laut der Kalibrierung Moleküle mit Molmassen zwischen 1500 g mol^{-1} und 400 g mol^{-1} .

Die letzte Fraktion (F4) wird als der Bereich zwischen RT = 57,1 min und RT = 71,9 min definiert. In Abbildung 24 ist in diesem Bereich ein Peak bei RT = 64,1 min zu sehen, im Verlauf des UV-Experiments kann ein weiterer Peak bei RT = 59,4 min beobachtet werden. In den Kalibriermessungen eluieren in diesem Bereich Moleküle mit Molmassen $< 400 \text{ g mol}^{-1}$. In F4 liegt auch das Permeationsvolumen, welches mit MeOH bestimmt wurde.

Für UV-Abw und für Oz-Abw wurden jeweils drei Experimente durchgeführt, in denen Proben für die LC-OCD genommen wurden. In Abbildung 25 sind die Chromatogramme von drei Proben gezeigt, welche zu Beginn, nach 25 min und nach 60 min des UV-Abw-Experiments genommen wurden. Die DOC-Chromatogramme jeder Probe wurden auf die vorher mit dem Shimadzu TOC-L_{CPH} gemessene DOC-Konzentration normalisiert. Aufgrund dieser Normalisierung sind sowohl die DOC- als auch die UV-Signale in beliebigen Einheiten (engl. *arbitrary units*, AU) angegeben.

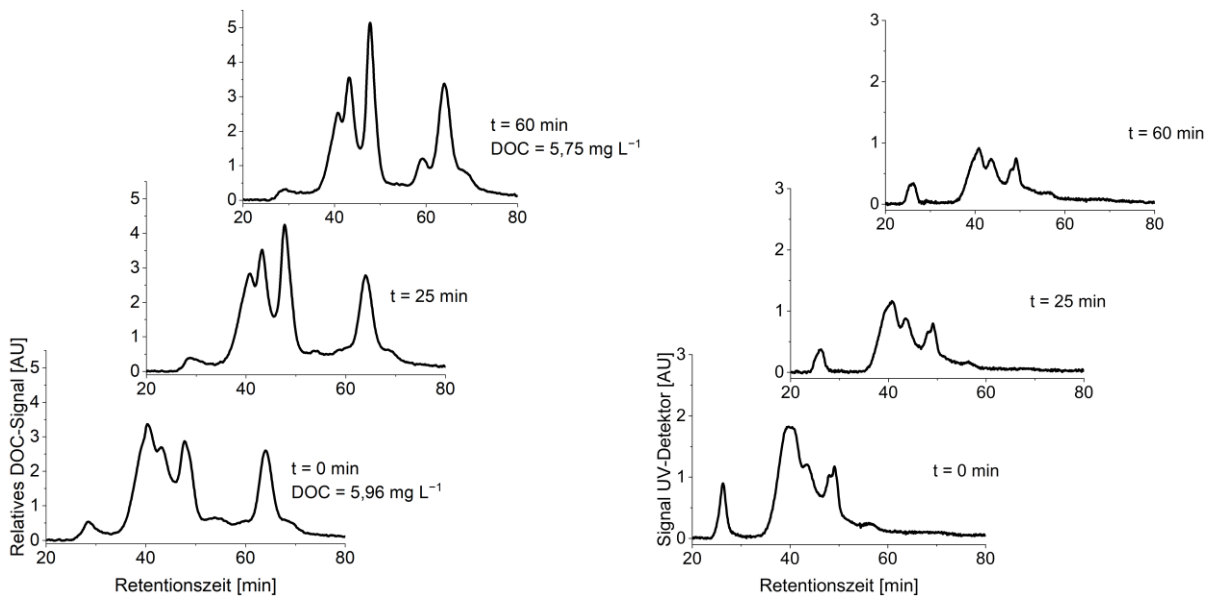


Abbildung 25: Änderung der DOC- (links) und UV-Chromatogramme (rechts) während UV-Abw. Die Probenahmezeiten sind neben den Chromatogrammen vermerkt. Die Darstellungsweise wurde aus der Dissertation von A. Alvarado übernommen^[141].

Im Verlauf des Experiments nimmt F1 ab, F3 und F4 nehmen zu. Die Behandlung von Abwasser mit UV-Strahlung führt zu einer Transformation von Molekülen mit höheren Molmassen, was man an dem Rückgang der Fläche von F1, vor allem in den UV-Chromatogrammen, sehen kann. Diese Moleküle werden jedoch nicht komplett mineralisiert, sondern in kleinere Moleküle transformiert. Deshalb nehmen F3 und F4 zu. In F2 können beide Phänomene beobachtet werden. Der erste Peak des Doppelpeaks nimmt von 0 min nach 25 min ab, der zweite Peak bei RT = 43,3 min nimmt zu. Zwischen Minute 25 und Minute 60 nimmt der erste Peak weiter ab, der zweite Peak hingegen verändert sich nicht. Dies kann mit einem Gleichgewicht aus Bildung und Abbau der Substanzen unter dem zweiten Peak erklärt werden. Zu Beginn des Experiments stehen viele Moleküle mit großen Molmassen zur Verfügung, sodass die Bildung der Substanzen unter dem zweiten Peak überwiegt. Im Verlauf des Experiments nimmt die Konzentration dieser großen Moleküle ab und zwischen der Entstehung und dem Abbau der Substanzen in dem zweiten Peak bildet sich ein Gleichgewicht aus. In F3 nimmt die Fläche des Peaks bei RT = 47,9 min im Verlauf des Experiments stetig zu. Dies kann durch den photochemischen Abbau von Molekülen mit großen Molmassen erklärt werden, bei dem die kleineren Moleküle in F3 gebildet werden. In F4 ist neben dem Wachstum des Peaks bei 64,1 min durch die bereits beschriebenen Effekte die Bildung eines neuen Peaks bei RT = 59,4 min zu beobachten. Dieser Peak ist der einzige, welcher nicht in der Probe vor dem Abbau zu sehen ist. Die Substanzen, die bei dieser RT eluieren, liegen in der unbestrahlten Probe nur in geringen Konzentrationen vor und werden hauptsächlich während der Bestrahlung gebildet.

In den UV-Chromatogrammen ist nur in den Fraktionen 1-3 eine Absorption erkennbar. Der DOC-Peak bei $RT = 64,1$ min ist im UV-Detektor nicht sichtbar, die zu dieser RT eluierenden Moleküle sind stark oxidiert und besitzen nur wenige UV-absorbierenden Strukturen wie Doppelbindungen oder aromatische Gruppen. Die gemessene Absorption geht im Verlauf des Experiments gleichmäßig zurück, anders als in den DOC-Chromatogrammen ist kein Anstieg einzelner Fraktionen erkennbar. Dies ist auf die photochemische Transformation von UV-absorbierenden Funktionalitäten wie z.B. Doppelbindungen zurückzuführen. Eine niedrigere UV-Absorption der Wasserbestandteile könnte zu einer verringerten Effektivität der weiteren Bestrahlung mit UV führen. Davon ausgenommen sind Photonen mit einer Wellenlänge von 185 nm, welche in der Lage sind Wasser zu spalten und so $\cdot OH$ zu erzeugen. Die beobachtete Umwandlung von Molekülen mit hohen Molmassen in kleinere Moleküle durch die Bestrahlung mit UV ist auch in der Literatur beschrieben^[142].

Zu Beginn und nach dem Experiment wurde die DOC-Konzentration gemessen. Diese beträgt in der ersten Probe bei $t = 0$ min $5,96 \text{ mg L}^{-1}$ und nach 60 min Bestrahlung $5,75 \text{ mg L}^{-1}$. Die beobachtete Mineralisierung ist damit deutlich geringer als in den Experimenten, welche mit Krebsmedikamenten in Reinstwasser durchgeführt wurden: In den UV-II-Experimenten sind nach 60 min Mineralisierungsraten zwischen 67 % und 34 % erreicht worden. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass die Substanzen in Abwasserproben zu Beginn des Experiments wesentlich höhere Molmassen aufweisen und erst in leichter oxidierbare Substanzen überführt werden müssen, bevor eine Mineralisierung auftritt.

Die UV-Chromatogramme der während Oz-Abw. genommenen Proben sind in Abbildung 26 gezeigt.

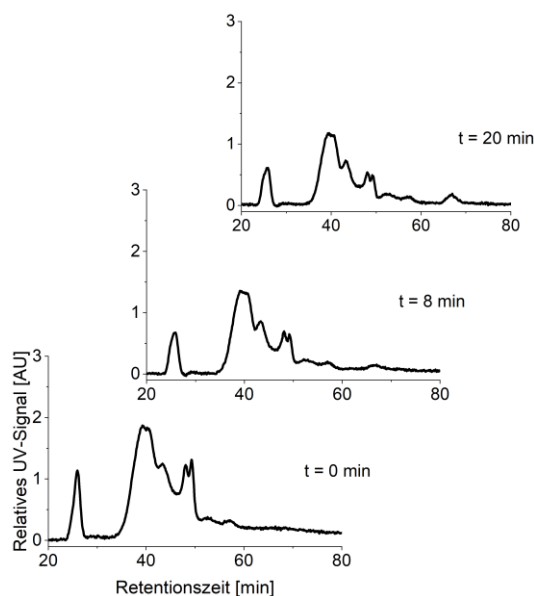


Abbildung 26: Änderung der UV-Chromatogramme während Oz-Abw. Die Probenahmezeiten sind neben den Chromatogrammen vermerkt.

Während des gezeigten Experiments nahm die DOC-Konzentration von 7 mg L^{-1} auf 134 mg L^{-1} zu, vermutlich durch die Kontamination mit einer organischen Substanz. Da das Signal der Kontamination das Signal des Abwassers in F4 komplett überlagert, können keine Aussagen über den Einfluss der Ozonung auf diese Fraktion getroffen werden. In F4 ist im UV-Chromatogramm kein Peak erkennbar ist, die Verunreinigung kann also vermutlich auf ein oder mehrere nicht UV-aktive Substanzen mit geringem Molgewicht zurückzuführen sein. Die Kontamination könnte deshalb durch MeOH verursacht worden sein, das zur Reinigung des Reaktors zwischen Versuchen verwendet wurde. Bei unzureichender Trocknung nach der Reinigung könnte das nicht UV-aktive MeOH in dem Reaktor verblieben und so in die Reaktionslösung gelangt sein. Aufgrund der Kontamination sind die DOC-Chromatogramme in Abbildung 26 nicht gezeigt. Im Anschluss werden jedoch F1 bis F3 der DOC-Chromatogramme diskutiert.

In F1 ist während der Ozonung nur eine geringfügige Veränderung der Fläche des DOC-Chromatogramms zu beobachten. Durch Übereinanderlegen der DOC-Chromatogramme wird jedoch eine Abnahme der Peakhöhe sichtbar. Von dem Doppelpeak in F2 ist bei $t = 0 \text{ min}$ nur der erste Peak klar zu erkennen. Die Peakhöhe des ersten Peaks bleibt in den beiden anderen Proben unverändert, die Höhe des zweiten Peaks bei $RT = 43,1 \text{ min}$ nimmt während der Ozonung zu. Auch die Fläche der Fraktion F3 wird im Verlauf des Experiments größer, der Zuwachs hier ist ausgeprägter als bei F2. Der Anstieg in F2 und F3 kann, anders als bei UV-Abw, nicht ausschließlich mit der Umwandlung von Substanzen aus F1 erklärt werden, da die Fläche dieser Fraktion nicht signifikant kleiner wird. In der Literatur wird die Oxidation der sogenannten hydrophoben Fraktion des Abwassers als Grund für die beobachtete Zunahme genannt. Diese Fraktion wird von der Säule zurückgehalten und kann nicht mit SEC-OCD detektiert werden, ist aber in der Lage, mit Ozon zu reagieren. Als Produkt der Reaktion der hydrophoben Fraktion mit Ozon entstehen besser wasserlösliche Substanzen. Diese Substanzen adsorbieren nicht mehr an der Säule, ein Teil der hydrophoben Fraktion wird so für das SEC-OCD in F2 oder F3 sichtbar^[43].

In den Chromatogrammen des UV-Detektors ist eine kontinuierliche Abnahme der UV-Absorption während des Experiments erkennbar. Ozon oxidiert Olefine und aromatische Funktionalitäten und verringert so die Extinktion der Wasserbestandteile im UV-Bereich. In den DOC-Chromatogrammen kann im Bereich der UV-Peaks (bis 55 min) keine signifikante Abnahme des DOC-Signals beobachtet werden. Daraus kann geschlossen werden, dass die UV-aktiven Gruppen nicht mineralisiert werden, sondern zu TPs mit einem ähnlichem Kohlenstoffgehalt reagieren. Keine Fraktion reagiert dabei bevorzugt mit Ozon, der Rückgang der UV-Peakfläche in dem durchgeführten Experiment ist in allen Fraktionen ähnlich. In F4 ist kein Signal erkennbar, es eluieren keine UV-aktiven Substanzen.

Die Flächen unter den Kurven wurden für die Fraktionen in beiden Experimenten berechnet. In Abbildung 27 sind die Entwicklungen dieser Flächen quantitativ aufgetragen.

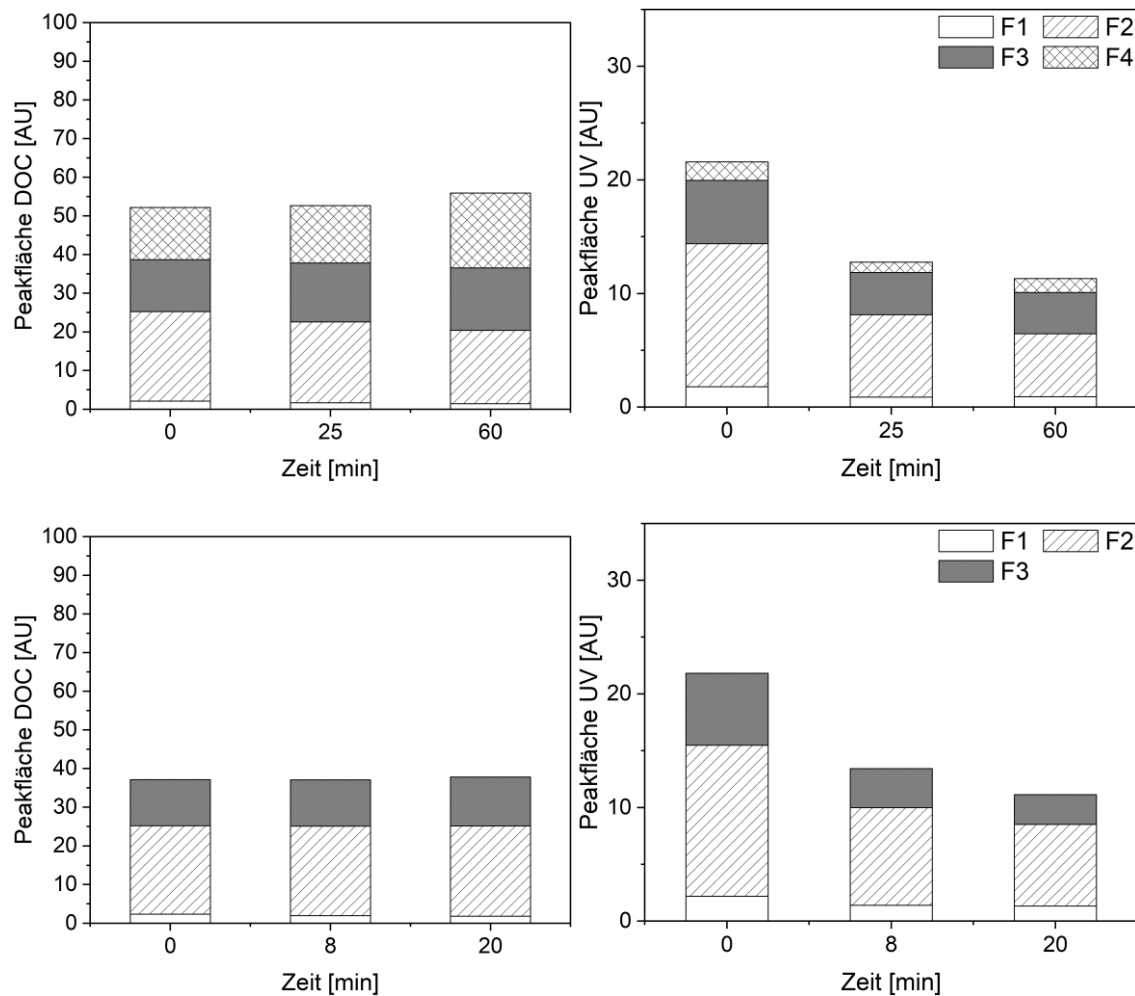


Abbildung 27: Veränderungen der SEC-OCD-Peakflächen für F1 – F4 während UV-Abw (oben) und für F1 – F3 während Oz-Abw (unten).

Trotz unterschiedlicher Reaktionszeiten ähnelt sich der Rückgang der UV-Flächen an den drei Messpunkten bei den Prozessen mit Ozon und UV: Im Vergleich zu UV-Abw erfolgt der Abbau der mit SEC-OCD bestimmten Wasserbestandteile, aber auch der drei Krebsmedikamente, in Oz-Abw also deutlich schneller. Es muss dabei beachtet werden, dass die in den Reaktor eingebrachte Ozonmenge in dem gezeigten Versuch 25,2 mg beträgt, was einem Ozon/DOC-Verhältnis von ca. 10:1 entspricht. Diese Ozonmenge liegt weit über konventionell verwendeten Dosen, welche im Bereich von 0,5 – 1,5 g Ozon/g DOC liegen^[102]. Die Bestimmung der Ozonmenge erfolgte durch Messung der Ozonkonzentrationen vor dem Gaseinlass und nach dem Reaktor.

Im Bereich der Retentionszeiten von 47 min bis 63 min ist in allen SEC-OCD-Proben ein Peak des Detektors für organischen Stickstoff (engl. *organic nitrogen*, ON) zu erkennen. Da in diesem Bereich

der DOC-Wert gering ist, wird angenommen, dass dieser Peak durch im Wasser gelöstes Nitrat hervorgerufen wird. In den Proben $t = 8$ min und $t = 20$ min von Oz-Abw tritt zusätzlich ein Peak bei $RT = 69$ min auf. Die Chromatogramme sind in Abbildung 28 gezeigt.

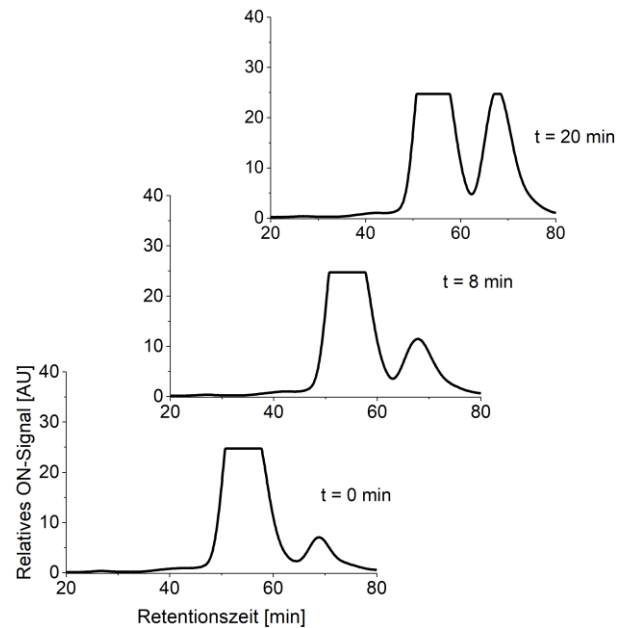


Abbildung 28: Änderung der ON-Chromatogramme während Oz-Abw. Die Probennahmezeiten sind neben den Chromatogrammen vermerkt.

In der Veröffentlichung von Huber *et al.* ist in dem ON-Chromatogramm einer SEC-OCD-Messung nach dem Nitratpeak ein weiterer Peak zu erkennen, welcher Ammonium zugeordnet wird^[143]. Der in Abbildung 28 gefundene Peak könnte also mit neu gebildetem NH_4^+ erklärt werden. NH_4^+ kann durch Ozonung aus organisch gebundenem Stickstoff entstehen^[144]. Es ist kein Rückgang des ON-Peaks bei $RT = 43$ min erkennbar. Aufgrund des Überschreitens des maximal messbaren Signals während des Nitrat-Peaks ist es nicht möglich, eine Bilanz des gemessenen Stickstoffs aufzustellen. Die starke Zunahme des NH_4^+ -Peaks macht es allerdings wahrscheinlich, dass der insgesamt gemessene ON im Verlauf der Messung zunimmt. Der Ozongenerator wurde mit reinem Sauerstoff betrieben, die Zunahme von ON kann deshalb nicht mit der Bildung von Stickoxiden während der Ozonproduktion erklärt werden. Eine mögliche Quelle ist die hydrophobe Fraktion, der hier gebundene Stickstoff könnte mit Ozon reagieren und so die Zunahme des ON-Peaks bei $RT = 69$ min bewirken.

3.7 Ergebnisse der Ökotoxizitätsexperimente

3.7.1 Immobilisierungstest mit *D. magna*

Um die Toxizität der drei Krebsmedikamente und eventuell entstehender TP's zu bestimmen, wurden drei Experimente durchgeführt. Die Konzentrationen der Lösungen vor der Behandlung mit Ozon oder UV von $1 \mu\text{g L}^{-1}$ wurden gewählt, um die Versuche möglichst nahe an Umweltbedingungen durchzuführen. Die Bestimmung des LC_{50} -Wertes in den *D. magna*-Immobilisierungsassays diente der Feststellung der allgemeinen Toxizität der Substanzen für Wasserorganismen. Bei *D. magna* handelt es sich um Wasserflöhe, welche in stehenden Oberflächengewässern wie Seen und Tümpeln vorkommen. Sie ernähren sich von organischen Wasserbestandteilen, beispielsweise Algen und Bakterien, die sie aus dem Wasser herausfiltern. Als Filtrierer kommen sie, verglichen mit ihrem Körpergewicht, mit großen Wassermengen in Berührung und die Auswirkungen von Giftstoffen im Wasser auf *D. magna* sind dadurch stärker ausgeprägt. *D. magna* verfügen über einen transparenten Körper, welcher die Beobachtung verschiedener Toxizitätseindpunkte erlaubt und werden seit den 1940er Jahren für Toxizitätstests eingesetzt^[145]. Die Ergebnisse der Experimente mit *D. magna* sind in Tabelle 14 dargestellt.

Tabelle 14: In den *D. magna*-Experimenten bestimmte LC_{50} -Werte für CAP, BIC und IRI.

Oxidationsprozess	Transformationsgrad	CAP $\text{LC}_{50} [\mu\text{g L}^{-1}]$	BIC $\text{LC}_{50} [\mu\text{g L}^{-1}]$	IRI $\text{LC}_{50} [\mu\text{g L}^{-1}]$
-	0 %	>1	>1	>1
	50 %	>1	>1	>1
	75 %	>1	>1	>1
	100 %	>1	>1	>1
O_3	50 %	0,3	>1	>1
	75 %	>1	>1	>1
	100 %	>1	>1	>1

Wie in Tabelle 14 erkennbar ist, kann nur für die zu 50 % mit Ozon abgebaute CAP-Probe ein LC_{50} -Wert berechnet werden. Alle anderen Experimente zeigen keine Toxizität der behandelten Lösungen. Dies ist vermutlich auf die niedrigen Ausgangskonzentrationen der Krebsmedikamente zurückzuführen. Der LC_{50} von 300 ng L^{-1} für die zu 50 % abgebaute CAP-Probe deutet auf giftige TP's hin, welche bei der Transformation von CAP durch Ozon zeitweise entstehen und schnell weiterreagieren, da für die zu 75 % abgebaute Probe kein LC_{50} -Wert bestimmt werden kann.

Zusätzlich zu den Experimenten mit behandelten Lösungen wurden die LC₅₀ der Reinsubstanzen in *D. magna*-Assays bestimmt, dabei wurde keine Toxizität beobachtet. In der Literatur finden sich mit dem *D. magna*-Immobilisierungsassay bestimmte LC₅₀-Werte für CAP und BIC. Parella *et al.* haben für CAP einen LC₅₀ von 0,224 mg L⁻¹ bestimmt, Straub nennt einen Wert von 850 mg L⁻¹[146][147]. Dies würde bedeuten, dass die während der Ozonung von CAP gebildeten, giftigen TPs in der zu 50 % abgebauten Probe mindestens 1000-fach giftiger sind als CAP selbst. Deswegen sollte auch die Möglichkeit, dass es sich bei dem für CAP bestimmten LC₅₀ trotz dreifacher Durchführung des Experiments um einen Ausreißer handelt, in Betracht gezogen werden. Ein in der Literatur mit *D. magna* bestimmter LC₅₀ von BIC ist > 5,3 mg L⁻¹[148]. Dieser Wert deckt sich mit den Ergebnissen der durchgeführten Experimente, in welchen bei deutlich niedrigeren Konzentrationen keine Toxizität gemessen werden konnte.

Auch wenn für die meisten Proben kein LC₅₀-Wert bestimmt werden konnte, kann ein adverser Effekt der getesteten Lösungen auf Wasserorganismen nicht vollständig ausgeschlossen werden. Mit dem *D. magna*-Immobilisierungsassay wird eine akute Toxizität festgestellt, Chemikalien können jedoch auch subakute oder chronische Effekte auf die Umwelt haben^[149]. Trotz nicht bestimmbarer LC₅₀-Werten könnten die getesteten Lösungen eine chronische Toxizität gegenüber Wasserorganismen zeigen.

3.7.2 Überprüfung der Genotoxizität mit dem Comet-Assay an den Muscheln *Mytilus edulis*
CAP kann Krebs erzeugen und IRI steht im Verdacht, reproduktionstoxisch wirksam zu sein^{[150][151]}. Beide Substanzen greifen in den Replikationszyklus der Zelle ein: CAP verhindert die Zellteilung und die Synthese von DNA, IRI ist ein Topoisomerase I-Inhibitor, welcher Brüche des DNA-Doppelstrangs verursacht. Auch BIC steht im Verdacht, Krebs zu verursachen^[148].

Um die genotoxische Wirkung der drei Substanzen und ihrer Transformationsprodukte zu bestimmen, wurde das Comet-Assay an Muscheln durchgeführt. Wie *D. magna* sind auch *M. edulis* Filtrierer, die sich von kleinen organischen Partikeln im Meerwasser ernähren. Während des Comet-Assays werden einzelne Zellen aus den Kiemen der Muscheln in Agarose eingebettet, die Zellmembranen durch Tenside aufgelöst und einem elektrischen Feld ausgesetzt. Dieser Prozess ist auch als Gelelektrophorese bekannt. Wurde die DNA der Zellen z.B. durch Brüche des DNA-Strangs geschädigt, liegen im Zellkern einzelne, negativ geladene DNA-Fragmente vor. Diese Fragmente wandern im elektrischen Feld aus dem porösen Zellkern heraus. Je stärker die Schädigung ist, desto mehr DNA befindet sich nach der Elektrophorese außerhalb des Zellkerns. Durch Färbung der DNA mit SYBRGREEN wird die gesamte DNA im Fluoreszenzmikroskop sichtbar. Die DNA außerhalb des Kerns sieht dabei aus wie der Schweif eines Kometen und ist der Grund für den Namen dieses Assays. Die Menge der DNA, welche sich im Schweif befindet, wird quantifiziert und ihr Anteil an der insgesamt sichtbaren DNA berechnet. Je größer dieser Wert ist, desto stärker wurde die DNA geschädigt. In

Abbildung 29 sind die Ergebnisse des Comet-Assays für alle drei Substanzen dargestellt. Bei einigen Experimenten waren die hergestellten Gele nicht mit dem Fluoreszenzmikroskop auslesbar, diese Daten fehlen deshalb in den Abbildungen.

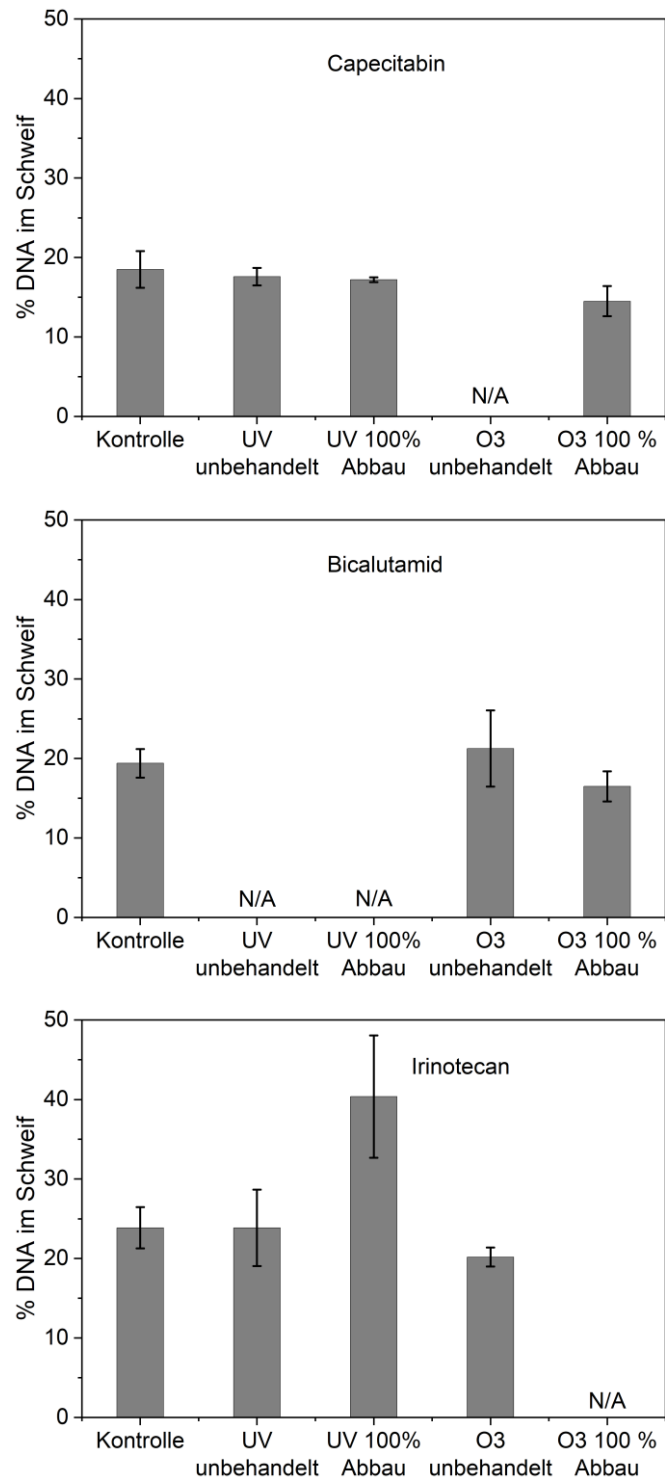


Abbildung 29: Ergebnisse des Comet-Assays für die drei Krebsmedikamente. Startkonzentration = $1 \mu\text{g L}^{-1}$.

Für jede Substanz wurden eigene Kontroll-Messungen durchgeführt. In diesen schwankt der Anteil der DNA im Schweif zwischen $18,5 \pm 2,3$ % mit CAP und $23,9 \pm 2,6$ % für IRI und in allen ausgewerteten CAP- und BIC-Proben wurden Werte gemessen, die sich in einem Bereich von ± 4 % um die Kontrolle befinden. Anhand dieser Daten lässt sich für diese beiden Substanzen kein Effekt der jeweiligen Prozesse auf die Genotoxizität der Lösungen feststellen. In der vollständig mit UV abgebauten IRI-Lösung beträgt der Anteil der Schweif-DNA $40,4 \pm 7,7$ %. Diese Probe ist die einzige, welche eine klar erhöhte Genotoxizität in diesem Assay zeigt. Die Abweichung gegenüber der Kontrolle ist jedoch nicht statistisch signifikant. Kontek *et al.* haben Versuche zur Bestimmung der durch IRI verursachten DNA-Schäden an Lymphozyten aus menschlichem Blut nach 1 h Inkubationszeit durchgeführt und erst ab einer IRI-Konzentration von $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ eine statistisch signifikante Veränderung der Genotoxizität gegenüber der Kontrolle beobachtet^[152]. Diese Konzentration entspricht dem 8800-fachen der in diesem Experiment verwendeten, es kann also keine signifikante Abweichung bei der Reinsubstanz erwartet werden. Wenn während der Prozesse TPs entstehen, welche eine höhere Genotoxizität aufweisen, so muss diese Erhöhung gegenüber IRI sehr stark sein, damit sie mit dem Comet-Assay gemessen werden kann.

Die durchgeführten Experimente zeigen im gewählten Konzentrationsbereich weder für Lösungen der Reinsubstanzen noch für solche, in denen eine teilweise oder vollständige Transformation stattfand, eine signifikante Genotoxizität. Dies könnte mit der niedrigen Konzentration der Substanzen und der geringen Sensitivität des Comet-Assays erklärt werden. Da die Konzentrationen der Lösungen ähnlich den Umweltkonzentrationen sind, ist die Gefährdung von Wasserorganismen durch die Genotoxizität der Substanzen als gering einzuschätzen.

3.7.3 Test der Zytotoxizität mit dem MTT-Assay an menschlichen Caco-2 Zellen

Mit dem MTT-Assay wird die Viabilität von Zellen durch die photometrische Bestimmung der Konzentration des aus MTT gebildeten Farbstoffs Formazan gemessen. Formazan entsteht durch Reduktion während der Zellatmung, die Umsetzung kann von Oxidoreduktasen und Dehydrogenasen zusammen mit Elektronendonatoren katalysiert werden^[153]. Für diesen Test wird angenommen, dass eine höhere Konzentration von Formazan einer höheren Anzahl überlebender Zellen entspricht und so die Zytotoxizität der behandelten Lösungen gemessen werden kann. Der Kruskal-Wallis-Test wird auf die gemessenen Daten angewendet um zu überprüfen, ob die getesteten Lösungen sich in diesem Assay statistisch signifikant unterschiedlich verhalten. Ist der Test negativ, ist die Abweichung der Messwerte im Vergleich zu der Kontrolle durch Bestandteile der Probe hervorgerufen worden und kein Zufallsprodukt. Die Zellviabilitäten aller getesteten Lösungen sind in Abbildung 30 dargestellt. Die Viabilität der Ozon 75 % und UV 50 %-Proben konnte für IRI nicht gemessen werden.

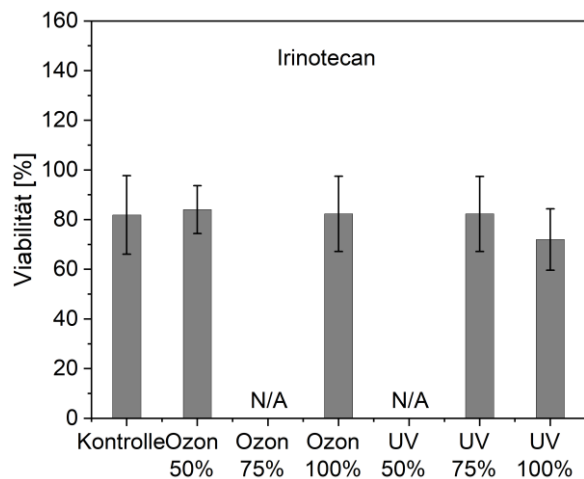
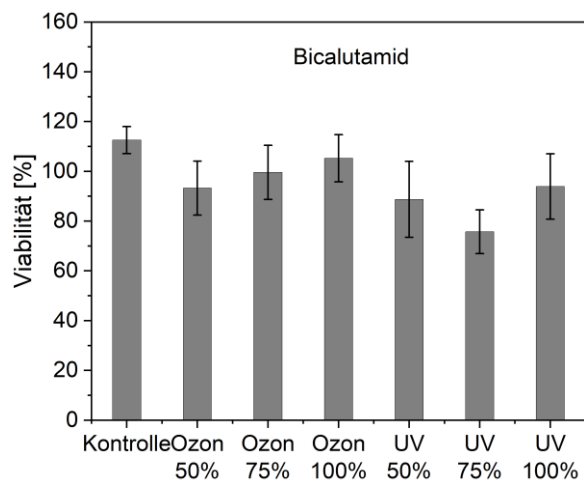
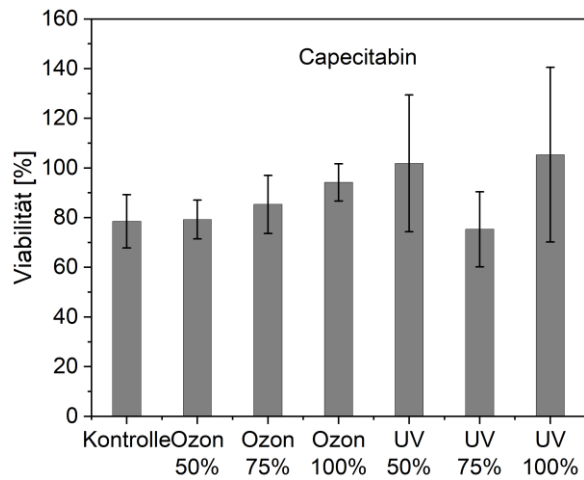


Abbildung 30: Zellviabilitäten nach Behandlung mit Lösungen der Krebsmedikamente. 100 % Viabilität entspricht der Viabilität von Zellen in reinem Kulturmedium. Für die Kontrolle wurden Zellen mit einer Lösung der nicht behandelten Substanz inkubiert.

Die nicht abgebaute CAP-Lösung zeigt eine Viabilität von 76 % der Kontrolle, was eine signifikante Reduktion darstellt. Eine vollständige Transformation der Substanz mit Ozon oder UV-Strahlung führt in diesem Test zu einem signifikanten Anstieg der Zellviabilität auf 94 % bzw. 105 % der Kontrolle. Die

Viabilität von zu 50 % und 75 % mit diesen beiden Prozessen transformierten Lösungen unterscheidet sich nicht von der Probe der Reinsubstanz. CAP wirkt laut diesen Ergebnissen als Reinsubstanz bereits bei Konzentrationen von $1 \mu\text{g L}^{-1}$ zytotoxisch. Auch Lösungen mit teilweise transformiertem CAP zeigen in dem MTT-Test eine zytotoxische Wirkung. Diese Ergebnisse könnten durch die Bildung von zytotoxischen TPs während der Prozesse erklärt werden, welche im weiteren Verlauf zu ungiftigen oder weniger giftigen Verbindungen reagieren.

Bicalutamid verringert, verglichen mit der Kontrolllösung, die Viabilität in den durchgeführten Experimenten nicht, teilweise mit Ozon bzw. UV abgebaute Lösungen von BIC hingegen schon: In den zu 50 % und 75 % abgebauten Lösungen beträgt die Viabilität zwischen 76 % und 100 %, verglichen mit 113 % in der nicht abgebauten Lösung. Vollständig mit UV oder Ozon abgebaute Lösungen verursachen keine signifikante Reduktion der Viabilität. Einer Erklärung für diese Ergebnisse ist die Bildung von TPs während der Prozesse, welche die Zellviabilität herabsetzen. Vollständig abgebaute Lösungen zeigen keine verringerte Viabilität, was darauf hindeutet, dass die zytotoxischen TPs, die während des Prozesses gebildet wurden, im Verlauf der Behandlung weiterreagieren und am Ende nicht mehr vorliegen. Dieses Verhalten der Bildung und der anschließenden Transformation von giftigen TPs während der Behandlung ist in der Literatur beschrieben^{[107][73]}. IRI hat in den durchgeführten MTT-Assays weder als Reinsubstanz noch teilweise oder vollständig transformiert einen messbaren Effekt auf die Viabilität der Zellen gezeigt. Diese bewegte sich immer auf dem Niveau der Kontrolle. Allerdings wurden keine Experimente mit zu 50 % durch Ozon oder UV abgebauten IRI-Lösungen durchgeführt. In der Literatur finden sich Studien, welche die Zytotoxizität von CAP mit dem MTT-Assay untersuchen. Sim *et al.* haben darin ab einer Konzentration von $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ eine signifikant verringerte Zellviabilität gemessen^[154].

Im Gegensatz zu den beiden anderen Assay ergaben die MTT-Tests bei mehreren Lösungen eine signifikante Zytotoxizität. Die *D. magna*-Überlebensassays zeigen bei den getesteten Konzentrationen in einem Experiment (CAP O₃ 50 % Transformation), die Comet-Assays in keinem der durchgeführten Experimente eine signifikante Toxizität. Mit den durchgeführten Toxizitätstests sollten verschiedene Aspekte der Toxizität von CAP, BIC und IRI untersucht werden. Die *D. magna*-Überlebensassay untersuchen die akute Toxizität gegenüber Wasserorganismen und das Comet-Assay die Genotoxizität. Bei diesen beiden Assays handelt es sich um *in vivo*-Tests, welche in lebendigen Organismen durchgeführt werden. Das MTT-Assay, in welchem für sechs Proben eine zytotoxische Wirkung beobachtet wurde, ist ein *in vitro*-Assay in einer Zellkultur. *In vivo*-Tests sind häufig besser geeignet, die Wirkung von Substanzen in der Umwelt vorherzusagen, weil sie die komplexen Prozesse in Lebewesen besser abbilden^[155]. Auch wenn die Ergebnisse des MTT-Tests nicht durch die *in vivo*-Assays bestätigt werden konnten, zeigen diese, dass bei einer unvollständigen Transformation der Substanzen

potentiell TPs gebildet werden, von welchen eine größere Gefährdung ausgeht als von den Ursprungssubstanzen. Die während der Prozesse entstehenden TPs wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht identifiziert. Eine Aufklärung der Transformationspfade wäre aufgrund der in Abbildung 29 erkennbaren, höheren Toxizität der TPs besonders für CAP und BIC interessant. Bicalutamid besitzt als Antiandrogen eine endokrine Wirkung, diese wurde in den durchgeführten Experimenten nicht explizit untersucht. Green *et al.* haben die endokrine Wirkung geringer Konzentrationen von Bicalutamid auf Fische der Arten *Pimephales promelas* und *Oryzias latipes* untersucht und konnten dabei keine Wirkung feststellen. Die getesteten BIC-Konzentrationen lagen mit 157 ng L^{-1} allerdings unterhalb von bereits in Oberflächengewässern gemessenen Konzentrationen^[156].

Eine akute Toxizität der Reinsubstanzen kann anhand der Ergebnisse des *D. magna*-Assays als unwahrscheinlich angesehen werden, es besteht aber die Möglichkeit einer subakuten Toxizität der drei Krebsmedikamente und ihrer TPs. Da die Konzentration der untersuchten Lösungen mit $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ für alle drei Substanzen oberhalb der höchsten in der Umwelt gemessenen Konzentrationen liegt, ist die Gefährdung von Gewässern anhand der durchgeführten Assays als niedrig einzustufen. Die untersuchten Substanzen liegen in der Umwelt jedoch häufig nebeneinander vor, in diesen Tests wurde aber nur die Wirkung einzelner Substanzen untersucht. Die kombinierte Toxizität verschiedener Krebsmedikamente kann unter Umständen höher sein als die ihrer Einzelsubstanzen. Einige Veröffentlichungen versuchen das Risiko, welches Krebsmedikamente für die aquatische Umwelt darstellen, zu quantifizieren (z.B. Santos *et al.*^[36], Olalla *et al.*^[40] und Mišik *et al.*^[157]). Dies erfolgt häufig durch die Berechnung des RQ dieser Substanzen. Die drei genannten Veröffentlichungen identifizieren zwar einige Substanzen als im Vergleich gefährlicher, das Risiko, welches von diesen Substanzen ausgeht, bewegt sich dennoch auf einem niedrigen Niveau. Deshalb kommen die genannten Veröffentlichungen, ähnlich wie diese Arbeit, zu dem Ergebnis, dass die akute Gefährdung von Lebewesen in der aquatischen Umwelt durch die drei untersuchten Krebsmedikamente vermutlich gering ist. Aufgrund möglicher Kombinationseffekte und einer zunehmenden Verwendung dieser Substanzen können adverse Effekte aber nicht ausgeschlossen werden.

4. Zusammenfassung

Eine Vielzahl von Krebsmedikamenten konnte bereits in Oberflächengewässern nachgewiesen werden und aufgrund der in Zukunft zunehmenden Zahl an Krebspatienten ist es wahrscheinlich, dass ihre Konzentration in der Umwelt weiter zunehmen wird. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob die Behandlung mit UV-Strahlung bzw. Ozon geeignete Prozesse darstellen, um drei Krebsmedikamente in Wasser abzubauen. Dazu wurde ein Reaktor konzipiert und die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, die Quantenausbeuten und die Mineralisierungseffizienz der photochemischen Oxidation und der Reaktion mit Ozon von CAP, BIC und IRI in diesem Reaktor bestimmt. Zusätzlich wurde die Transformation in biologisch gereinigtem Abwasser quantifiziert und die Toxizität der unbehandelten und behandelten Lösungen mit drei Toxizitätstests untersucht.

Alle drei Substanzen wurden durch die Strahlung einer LP-UV-Lampe transformiert und zeigten Quantenausbeuten zwischen 0,0006 (IRI) und 0,0016 (CAP) mol Einstein⁻¹. Die Effizienz der photochemischen Transformationen reicht jedoch nicht aus, um die Konzentrationen der Medikamente während der Bestrahlung mit einer realistischen UV-Dosis um > 80 % zu reduzieren. Stattdessen führt die Bestrahlung mit 1000 mJ cm⁻² UV-Licht theoretisch selbst unter idealen Bedingungen in Reinstwasser zu Konzentrationsreduktionen zwischen 20 % und 32 %. In biologisch gereinigtem Abwasser sind die Transformationsraten noch niedriger, vermutlich aufgrund der Absorption von UV-Strahlung durch Matrixbestandteile. Die bestimmten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten von CAP und IRI mit Ozon in Reinstwasser deuten darauf hin, dass die Behandlung von Wasser mit Ozon ein geeigneter Prozess ist, um die Konzentration dieser Substanzen in Wasser zu reduzieren. Die Reaktivität von BIC mit elementarem Ozon ist sehr gering: Während der Ozonung wird BIC praktisch ausschließlich durch die Reaktion mit ·OH abgebaut. In biologisch gereinigtem Abwasser zeigte sich ein ähnliches Bild, CAP wurde am schnellsten transformiert, gefolgt von IRI und BIC. Da die Bildung von ·OH durch die höhere Konzentration an DOC in biologisch gereinigtem Abwasser stark erhöht war, wurde BIC in dieser Matrix deutlich besser transformiert. Für die beiden anderen Substanzen wurde ein Rückgang der Reaktionsgeschwindigkeit erster Ordnung beobachtet, trotz einer hohen Ozondosis von 10 mg Ozon pro mg DOC. Die Substanzen und NOM konkurrieren um das verfügbare Ozon und aufgrund der viel höheren Konzentration anderer Wasserbestandteile sinkt die Transformationsrate für CAP und IRI in einer realistischen Matrix. SEC-OCD-Messungen während der Transformationsexperimente in biologisch gereinigtem Abwasser zeigen diese Effekte der Prozesse auf die Matrix. Sowohl während der Ozonung als auch bei der Bestrahlung mit UV können in den Chromatogrammen die Aufspaltung von höhermolekularen

Matrixbestandteilen in kleinere Moleküle beobachtet werden. Zusätzlich nimmt die Absorption der Lösungen im UV-Bereich bei beiden Prozessen ab. In den UV-Experimenten wird dies vermutlich durch die Transformation von Substanzen, die UV-Strahlung absorbieren und deshalb bevorzugt transformiert werden, hervorgerufen. Ozon reagiert schnell mit elektronenreichen Funktionalitäten wie Doppelbindungen und aromatischen Gruppen, welche auch UV-Strahlung absorbieren, und verringert so die UV-Absorption.

In Mineralisierungsexperimenten konnte gezeigt werden, dass UV-Strahlung in Reinstwasser in der Lage ist, bis zu 70 % der Substanzen in CO₂, H₂O und anorganische Ionen umzuwandeln. Die Mineralisierung während der Experimente mit Ozon war mit 10 % bis 30 % geringer. Daraus kann gefolgert werden, dass nach beiden Prozessen teilweise abgebaute Substanzen in der Lösung verbleiben.

Um zu überprüfen, ob diese TPs weniger toxisch sind als die ursprünglichen Substanzen, wurden drei Toxizitätstests mit nicht, teilweise und vollständig abgebauten Lösungen bei realistischen Konzentrationen von 1 µg L⁻¹ durchgeführt. Bei diesen Tests handelt es sich um das Überlebensassay mit *D. magna*, das Comet-Assay mit *M. edulis* und den MTT-Test mit einer Zellkultur. Mit dem *D. magna*-Assay wurde der LC₅₀ der Substanzen bestimmt, das Comet-Assay misst Genotoxizität und der MTT-Test die toxische Wirkung der Lösungen auf einzelne Zellen. Keine Lösung zeigte in allen drei Assays eine toxische Wirkung. Dies ist vermutlich auf die niedrigen Konzentrationen der Medikamente zurückzuführen. Während des MTT-Tests verringerten Lösungen von CAP und fünf teilweise abgebaute Lösung von CAP und BIC die Zellviabilität. Dies macht deutlich, dass die während der Prozesse gebildeten TPs nicht notwendigerweise weniger toxisch sind. Trotzdem kann gesagt werden, dass eine Gefährdung der Umwelt durch die drei Krebsmedikamente unwahrscheinlich ist. Die Ergebnisse der drei durchgeführten Experimente reichen aber nicht aus, um eine Gefährdung durch diese Substanzen und ihre TPs auszuschließen. Auch wenn einzelne Substanzen keinen adversen Effekt haben, könnten mehrere Substanzen durch Mischungseffekte toxisch wirksam sein.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Behandlung von Abwasserströmen mit UV-Strahlung alleine kein geeignetes Verfahren zur Reduktion des Eintrags der drei Krebsmedikamente in die Umwelt darstellt. Ozonung könnte für CAP und IRI geeignet sein, für BIC erreicht dieser Prozess keine ausreichende Transformation.

Die Verringerung des Eintrags aller drei Substanzen in Abwasser stellt eine Alternative zur Behandlung des Abwasserstroms dar. Da die Anzahl der Krebspatienten begrenzt ist, könnte die getrennte Behandlung des Urins dieser Patienten eine geeignete Maßnahme darstellen, die Konzentration der drei Substanzen in Abwasser und schließlich auch der Umwelt zu reduzieren.

5. Quellenverzeichnis

- [1] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, A. Jemal, *Ca-Cancer J. Clin.* **2018**, *68*, 394.
- [2] Robert Koch Institut, "Krebs in Deutschland", **2023** abrufbar unter: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Kurzbeitraege/Archiv2023/2023_6_krebs_in_deutschland.html, (abgerufen am 15.12.2023).
- [3] IARC, "Cancer Tomorrow", **2023** abrufbar unter: <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype>, (abgerufen am 15.12.2023).
- [4] A. R. Omram, *Milbank Meml. Fund Q.*, **1971**, *49*, 509.
- [5] D. Hanahan, *Cancer discovery* **2022**, *12*, 31.
- [6] W. A. Schulz, *Molecular Biology of Human Cancers*, Springer, Cham, **2023**.
- [7] W. Link, *Principles of Cancer Treatment and Anticancer Drug Development*, Springer, Cham, **2019**.
- [8] A. D. Waldman, J. M. Fritz, M. J. Lenardo, *Nat. Rev. Immunol.* **2020**, *20*, 651.
- [9] K. Esfahani, L. Roudaia, N. Buhlaiga, S. V. Del Rincon, N. Papneja, W. H. Miller, *Curr. Oncol.* **2020**, *27*, S87-S97.
- [10] M. Z. Junqueira, R. Chammas, *Rev. Med. (São Paulo)* **2018**, *97*, 141.
- [11] T. Priestman, *Cancer Chemotherapy in Clinical Practice*, Springer London, **2008**.
- [12] M. W. Saif, N. A. Katirtzoglou, K. N. Syrigos, *Anti-Cancer Drugs* **2008**, *19*, 447.
- [13] J. L. Grem, *Invest. New Drugs* **2000**, *18*, 299.
- [14] S. E. Mikhail, J. F. Sun, J. L. Marshall, *Expert Opin. Drug Saf.* **2010**, *9*, 831.
- [15] European Medicines Agency, "Xeloda", **2022** abrufbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/xeloda>, (abgerufen am 18.12.2023).
- [16] D. J. Osguthorpe, A. T. Hagler, *Biochemistry* **2011**, *50*, 4105.
- [17] European Medicines Agency, "Bicalutamide 150 mg - referral | European Medicines Agency", **2007** abrufbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/referrals/bicalutamide-150-mg>, (abgerufen am 21.12.2023).

- [18] G. J. Kolvenbag, G. R. Blackledge, K. Gotting-Smith, *Prostate* **1998**, *34*, 61.
- [19] M. E. Wall, M. C. Wani, *Cancer Res.* **1995**, *55*, 753.
- [20] Y. Pommier, *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 789.
- [21] C. Bailly, *Pharmacol. Res.* **2019**, *148*, 104398.
- [22] T. aus der Beek, F.-A. Weber, A. Bergmann, S. Hickmann, I. Ebert, A. Hein, A. Küster, *Environ. Toxicol. Chem.* **2016**, *35*, 823.
- [23] R. P. Schwarzenbach, B. I. Escher, K. Fenner, T. B. Hofstetter, C. A. Johnson, U. von Gunten, B. Wehrli, *Science* **2006**, *313*, 1072.
- [24] D. Li, H. Chen, H. Liu, D. Schlenk, J. Mu, S. Lacorte, G.-G. Ying, L. Xie, *Environ. Int.* **2021**, *153*, 106543.
- [25] K. Kümmerer, E. Helmers, *Sci. Total Environ.* **1997**, *193*, 179.
- [26] M. B. Cristóvão, R. Janssens, A. Yadav, S. Pandey, P. Luis, B. van der Bruggen, K. K. Dubey, M. K. Mandal, J. G. Crespo, V. J. Pereira, *J. Hazard. Mater.* **2020**, *392*, 122330.
- [27] H. Franquet-Griell, A. Medina, C. Sans, S. Lacorte, *J. Hazard. Mater.* **2017**, *323*, 319.
- [28] J.-P. Besse, J. Garric, *Toxicol. Lett.* **2008**, *176*, 104.
- [29] V. Booker, C. Halsall, N. Llewellyn, A. Johnson, R. Williams, *Sci. Total Environ.* **2014**, *473-474*, 159.
- [30] F. Moriarty, *Hum. Toxicol.* **1988**, *7*, 437.
- [31] J. H. Olker, C. M. Elonen, A. Pilli, A. Anderson, B. Kinziger, S. Erickson, M. Skopinski, A. Pomplun, C. A. LaLone, C. L. Russom et al., *Environ. Toxicol. Chem.* **2022**, *41*, 1520.
- [32] P. M. Chapman, *Mar. Pollut. Bull.* **1995**, *31*, 167.
- [33] L. M. Skjolding, S. N. Sørensen, N. B. Hartmann, R. Hjorth, S. F. Hansen, A. Baun, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2016**, *55*, 15224.
- [34] F. Melnikov, J. Kostal, A. Voutchkova-Kostal, J. B. Zimmerman, P. T. Anastas, *Green Chem.* **2016**, *18*, 4432.
- [35] A. Lillicrap, S. Belanger, N. Burden, D. Du Pasquier, M. R. Embry, M. Halder, M. A. Lampi, L. Lee, T. Norberg-King, B. A. Rattner et al., *Environ. Toxicol. Chem.* **2016**, *35*, 2637.
- [36] M. S. F. Santos, H. Franquet-Griell, S. Lacorte, L. M. Madeira, A. Alves, *Chemosphere* **2017**, *184*, 1250.

- [37] European Commission, *Technical guidance document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation ...*, **1996**.
- [38] T. Azuma, H. Ishiuchi, T. Inoyama, Y. Teranishi, M. Yamaoka, T. Sato, Y. Mino, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*, 18676.
- [39] T. I. A. Gouveia, A. M. T. Silva, A. R. Ribeiro, A. Alves, M. S. F. Santos, *Sci. Total Environ.* **2020**, *740*, 139995.
- [40] A. Olalla, N. Negreira, M. López de Alda, D. Barceló, Y. Valcárcel, *Chemosphere* **2018**, *190*, 417.
- [41] Y. Luo, W. Guo, H. H. Ngo, L. D. Nghiem, F. I. Hai, J. Zhang, S. Liang, X. C. Wang, *Sci. Total Environ.* **2014**, *473-474*, 619.
- [42] T. Batakliiev, V. Georgiev, M. Anachkov, S. Rakovsky, G. E. Zaikov, *Interdisciplinary Toxicology* **2014**, *7*, 47.
- [43] C. von Sonntag, U. von Gunten, *Chemistry of ozone in water and wastewater treatment. From basic principles to applications*, IWA Publishing, **2012**.
- [44] J. C. van der Leun, *Photodermatol., Photoimmunol. Photomed.* **2004**, *20*, 159.
- [45] J. Li, Z. Wang, H. Akimoto, K. Yamaji, M. Takigawa, P. Pochanart, Y. Liu, H. Tanimoto, Y. Kanaya, *Atmos. Chem. Phys.* **2008**, *8*, 7335.
- [46] Y. Tao, W. Huang, X. Huang, L. Zhong, S.-E. Lu, Y. Li, L. Dai, Y. Zhang, T. Zhu, *Environ. Health Perspect.* **2012**, *120*, 393.
- [47] S. C. Anenberg, L. W. Horowitz, D. Q. Tong, J. J. West, *Environ. Health Perspect.* **2010**, *118*, 1189.
- [48] G. W. Miller, *An Assessment of Ozone and Chlorine Dioxide Technologies for Treatment of Municipal Water Supplies*, Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Municipal Environmental Research Laboratory, **1978**.
- [49] P. Paraskeva, N. J. D. Graham, *Water Environ. Res.* **2002**, *74*, 569.
- [50] G. R. Finch, D. W. Smith, M. E. Stiles, *Water Res.* **1988**, *22*, 1563.
- [51] L. Blaney, D. F. Lawler, L. E. Katz, *J. Hazard. Mater.* **2019**, *364*, 752.
- [52] Y. Lee, L. Kovalova, C. S. McArdell, U. von Gunten, *Water Res.* **2014**, *64*, 134.

- [53] S. Dogruel, Z. Cetinkaya Atesci, E. Aydin, E. Pehlivanoglu-Mantas, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2020**, *27*, 45460.
- [54] Der Bundesrat, "100 Kläranlagen müssen aufrüsten – Eawag Infotag 2015", **2015** abrufbar unter:
<https://www.admin.ch/gov/de/start/dokumentation/medienmitteilungen.msg-id-58567.html>, (abgerufen am 06.01.2024).
- [55] R. G. Rice, C. M. Robson, G. W. Miller, A. G. Hill, *J. - Am. Water Works Assoc.* **1981**, *73*, 44.
- [56] U. Kogelschatz, *Plasma Chem. Plasma Process.* **2003**, *23*, 1.
- [57] M. Bourgin, E. Borowska, J. Helbing, J. Hollender, H.-P. Kaiser, C. Kienle, C. S. McArdell, E. Simon, U. von Gunten, *Water Res.* **2017**, *122*, 234.
- [58] S. Lim, C. S. McArdell, U. von Gunten, *Water Res.* **2019**, *157*, 514.
- [59] R. Criegee, *Angw. Chem.* **1975**, *87*, 765.
- [60] P. Dowideit, C. von Sonntag, *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 1112.
- [61] T. Nöthe, H. Fahlenkamp, C. von Sonntag, *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 5990.
- [62] G. Merényi, J. Lind, S. Naumov, C. von Sonntag, *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 3505.
- [63] J. Völker, M. Stapf, U. Miehe, M. Wagner, *Environ. Sci. Technol.* **2019**, *53*, 7215.
- [64] D. Stalter, A. Magdeburg, M. Weil, T. Knacker, J. Oehlmann, *Water Res.* **2010**, *44*, 439.
- [65] T. Brinkmann, *Dissertation*, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2003**.
- [66] L. Paredes, F. Omil, J. M. Lema, M. Carballa, *J. Hazard. Mater.* **2018**, *342*, 670.
- [67] C. Jungfer, *Dissertation*, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2007**.
- [68] T. Schwartz, S. Hoffmann, U. Obst, *J. Appl. Microbiol.* **2003**, *95*, 591.
- [69] A. M. Braun, M.-T. Maurette, E. Oliveros, *Photochemical technology*, Wiley, Chichester, **1991**.
- [70] H. D. Burrows, M. Canle L, J. A. Santaballa, S. Steenken, *J. Photochem. Photobiol. B* **2002**, *67*, 71.
- [71] Y. Ji, C. Zeng, C. Ferronato, J.-M. Chovelon, X. Yang, *Chemosphere* **2012**, *88*, 644.
- [72] J. J. Guerard, P. L. Miller, T. D. Trouts, Y.-P. Chin, *Aquat. Sci.* **2009**, *71*, 160.

- [73] A. Timm, E. Borowska, M. Majewsky, S. Merel, C. Zwiener, S. Bräse, H. Horn, *Sci. Total Environ.* **2019**, *651*, 1605.
- [74] H. Schöpp, S. Franke in *Handbook of Advanced Lighting Technology* (Eds.: R. Karlicek, C.-C. Sun, G. Zissis, R. Ma), Springer, Cham, **2020**.
- [75] J. R. Bolton, K. G. Linden, *J. Environ. Eng.* **2003**, *129*, 209.
- [76] C. von Sonntag, H.-P. Schuchmann, *J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA* **1992**, *41*, 67.
- [77] S. Franke, H. Lange, H. Schoepp, H.-D. Witzke, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2006**, *39*, 3042.
- [78] S. Schalk, V. Adam, E. Arnold, K. Brieden, A. Voronov, H. D. Witzke, *UV-lamps for disinfection and advanced oxidation-lamp types, technologies and applications*, IUVA News, **2006**.
- [79] E. Borowska, E. Felis, J. Kalka, *Chem. Eng. J.* **2016**, *304*, 852.
- [80] Y. Zhang, J. Zhang, Y. Xiao, V. W. C. Chang, T.-T. Lim, *J. Hazard. Mater.* **2017**, *324*, 481.
- [81] M. S. F. Santos, H. Franquet-Griell, A. Alves, S. Lacorte, *Sci. Total Environ.* **2018**, *645*, 1264.
- [82] J.-Y. Zhang, I. W. Boyd, H. Esrom, *Appl. Surf. Sci.* **1997**, *109-110*, 482.
- [83] S. Jin, A. A. Mofidi, K. G. Linden, *J. Environ. Eng.* **2006**, *132*, 831.
- [84] S. A. Huber, A. Balz, M. Abert, W. Pronk, *Water Res.* **2011**, *45*, 879.
- [85] H. Bader, *Ozone: Sci. Eng.* **1982**, *4*, 169.
- [86] B. Ervens, S. Gligorovski, H. Herrmann, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 1811.
- [87] A. L. Garcia-Costa, T. I. A. Gouveia, M. F. R. Pereira, A. M. T. Silva, L. M. Madeira, A. Alves, M. S. F. Santos, *J. Hazard. Mater.* **2022**, *440*, 129743.
- [88] M. S. Elovitz, U. von Gunten, *Ozone: Sci. Eng.* **1999**, *21*, 239.
- [89] *Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test*, OECD Publishing, Paris, **2004**.
- [90] N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice, E. L. Schneider, *Exp. Cell Res.* **1988**, *175*, 184.
- [91] H. J. Kuhn, S. E. Braslavsky, R. Schmidt, *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 2105.
- [92] R. O. Rahn, *Photochem. Photobiol.* **1997**, *66*, 450.
- [93] R. P. Schwarzenbach, P. M. Gschwend, D. M. Imboden, *Environmental organic chemistry*, Wiley-Interscience, **2003**.
- [94] C. M. Sharpless, K. G. Linden, *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 1933.

- [95] A. A. Ksenofontov, M. M. Lukanov, P. S. Bocharov, *Spectrochim. Acta, Part A* **2022**, 279, 121442.
- [96] J. Chen, W. J. Peijnenburg, X. Quan, F. Yang, *Sci. Total Environ.* **2000**, 246, 11.
- [97] U. von Gunten, *Environ. Sci. Technol.* **2018**, 52, 5062.
- [98] D. B. Miklos, C. Remy, M. Jekel, K. G. Linden, J. E. Drewes, U. Hübner, *Water Res.* **2018**, 139, 118.
- [99] B. Cédât, C. de Brauer, H. Métivier, N. Dumont, R. Tutundjan, *Water Res.* **2016**, 100, 357.
- [100] J. Margot, C. Kienle, A. Magnet, M. Weil, L. Rossi, L. F. de Alencastro, C. Abegglen, D. Thonney, N. Chèvre, M. Schärer et al., *Sci. Total Environ.* **2013**, 461-462, 480.
- [101] M. C. Dodd, M.-O. Buffle, U. von Gunten, *Environ. Sci. Technol.* **2006**, 40, 1969.
- [102] Y. Lee, D. Gerrity, M. Lee, A. E. Bogeat, E. Salhi, S. Gamage, R. A. Trenholm, E. C. Wert, S. A. Snyder, U. von Gunten, *Environ. Sci. Technol.* **2013**, 47, 5872.
- [103] M. S. Elovitz, U. von Gunten, H.-P. Kaiser, *Ozone: Sci. Eng.* **2000**, 22, 123.
- [104] A. Garcia-Ac, R. Broséus, S. Vincent, B. Barbeau, M. Prévost, S. Sauvé, *Chemosphere* **2010**, 79, 1056.
- [105] S. Sudhakaran, G. L. Amy, *Water Res.* **2013**, 47, 1111.
- [106] S. Chen, L. Blaney, P. Chen, S. Deng, M. Hopanna, Y. Bao, G. Yu, *Front. Environ. Sci. Eng.* **2019**, 13, 1.
- [107] A. Chatzimpaloglou, C. Christophoridis, I. Fountoulakis, M. Antonopoulou, D. Vlastos, A. Bais, K. Fytianos, *Chem. Eng. J.* **2021**, 405, 126866.
- [108] Zhuo Chen, Gunyoung Park, Pierre Herckes, Paul Westerhoff, *J. Adv. Oxid. Technol.* **2008**, 254.
- [109] V. J. Pereira, H. S. Weinberg, K. G. Linden, P. C. Singer, *Environ. Sci. Technol.* **2007**, 41, 1682.
- [110] D. C. McDowell, M. M. Huber, M. Wagner, U. von Gunten, T. A. Ternes, *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39, 8014.
- [111] S. Allard, J. Criquet, A. Prunier, C. Falantin, A. Le Person, J. Yat-Man Tang, J.-P. Croué, *Water Res.* **2016**, 103, 453.
- [112] B. Ning, N. J. Graham, *J. Environ. Eng.* **2008**, 134, 944.

- [113] O. S. Keen, E. M. Thurman, I. Ferrer, A. D. Dotson, K. G. Linden, *Chemosphere* **2013**, *93*, 1948.
- [114] D. Vogna, R. Marotta, A. Napolitano, R. Andreozzi, M. d'Ischia, *Water Res.* **2004**, *38*, 414.
- [115] S. Luo, Z. Wei, R. Spinney, Z. Zhang, D. D. Dionysiou, L. Gao, L. Chai, D. Wang, R. Xiao, *J. Hazard. Mater.* **2018**, *343*, 132.
- [116] M. M. Huber, S. Canonica, G.-Y. Park, U. von Gunten, *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 1016.
- [117] J. Benner, E. Salhi, T. Ternes, U. von Gunten, *Water Res.* **2008**, *42*, 3003.
- [118] M. Hopanna, K. Mangalgi, T. Ibitoye, D. Ocasio, S. Snowberger, L. Blaney *Contaminants of Emerging Concern in Water and Wastewater. Advanced Treatment Processes* (Ed.: A. Hernandez-Maldonado), Elsevier Science & Technology, **2020**.
- [119] R. F. Dantas, S. Contreras, C. Sans, S. Esplugas, *J. Hazard. Mater.* **2008**, *150*, 790.
- [120] T. Azuma, K. Otomo, M. Kunitou, M. Shimizu, K. Hosomaru, S. Mikata, Y. Mino, T. Hayashi, *Sep. Purif. Technol.* **2019**, *212*, 483.
- [121] A. L. Garcia-Costa, T. I. A. Gouveia, M. F. R. Pereira, A. M. T. Silva, A. Alves, L. M. Madeira, M. S. F. Santos, *Sci. Total Environ.* **2021**, *795*, 148855.
- [122] N. Collado, S. Rodriguez-Mozaz, M. Gros, A. Rubirola, D. Barceló, J. Comas, I. Rodriguez-Roda, G. Buttiglieri, *Environ. Pollut.* **2014**, *185*, 202.
- [123] M. V. Ngouyap Mouamfon, W. Li, S. Lu, N. Chen, Z. Qiu, K. Lin, *Water Air Soil Pollut.* **2011**, *218*, 265.
- [124] G. Iskender, A. Sezer, I. Arslan-Alaton, F. Germirli Babuna, O. S. Okay, *Water Sci. Technol.* **2007**, *55*, 217.
- [125] K. Kümmerer, *Chemosphere* **2009**, *75*, 417.
- [126] H. Chen, J. Wang, *Chemosphere* **2021**, *269*, 128775.
- [127] T. Kosjek, S. Perko, D. Žigon, E. Heath, *J. Chromatogr. A* **2013**, *1290*, 62.
- [128] K. Zoschke, H. Börnick, E. Worch, *Water Res.* **2014**, *52*, 131.
- [129] J. Hoigné, H. Bader, *Science* **1975**, *190*, 782.
- [130] E. Lee, H. K. Shon, J. Cho, *J. Hazard. Mater.* **2014**, *276*, 1.
- [131] B. K. Matuszewski, M. L. Constanzer, C. M. Chavez-Eng, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3019.

- [132] M. S. F. Santos, H. Franquet-Griell, A. Alves, S. Lacorte, *Sci. Total Environ.* **2018**, *645*, 1264.
- [133] B. Reigner, K. Blesch, E. Weidekamm, *Clin. Pharmacokinet.* **2001**, *40*, 85.
- [134] M. H. Belay, F. Dal Bello, E. Marengo, D. Fabbri, C. Medana, E. Robotti, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2023**, *22*, 761.
- [135] D. Malyshev, R. Öberg, L. Landström, P. O. Andersson, T. Dahlberg, M. Andersson, *Spectrochim. Acta, Part A* **2022**, *271*, 120869.
- [136] C. M. Sharpless, K. G. Linden, *Environ. Sci. Technol.* **2001**, *35*, 2949.
- [137] M. Danquah, F. Li, C. B. Duke, D. D. Miller, R. I. Mahato, *Pharm. Res.* **2009**, *26*, 2081.
- [138] S. A. Huber, A. Balz, M. Abert, W. Pronk, *Water Res.* **2011**, *45*, 879.
- [139] K. Aghasadeghi, M. Csordas, S. Peldszus, D. R. Latulippe, *Can. J. Chem. Eng.* **2017**, *95*, 1943.
- [140] A. S. Ruhl, M. Jekel, *J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA* **2012**, *61*, 32.
- [141] A. P. Alvarado Munguía, *Dissertation*, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2022**.
- [142] S. Hesse, F. H. Frimmel, *Acta hydrochim. hydrobiol.* **1999**, *27*, 94.
- [143] S. A. Huber, A. Balz, M. Abert, *J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA* **2011**, *60*, 159.
- [144] G. A. de Vera, W. Gernjak, H. Weinberg, M. J. Farré, J. Keller, U. von Gunten, *Water Res.* **2017**, *108*, 451.
- [145] A. Tkaczyk, A. Bownik, J. Dudka, K. Kowal, B. Ślaska, *Sci. Total Environ.* **2021**, *763*, 143038.
- [146] J. O. Straub, *Integr. Environ. Assess. Manage.* **2010**, *6 Suppl*, 540.
- [147] A. Parrella, M. Lavorgna, E. Criscuolo, C. Russo, V. Fiumano, M. Isidori, *Chemosphere* **2014**, *115*, 59.
- [148] AstraZeneca, *Casodex Tablets Safety Data Sheet*, **2016**, abrufbar unter: <https://www.astrazeneca.com.au/content/dam/az-au/Material%20Safety%20Data/Cosudexltsupgt174ltsupgt.pdf>, (abgerufen am 22.01.2024).
- [149] R. Rocha, F. Gonçalves, C. Marques, B. Nunes, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *21*, 4418.

- [150] PubChem, "Irinotecan", abrufbar unter:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60838#section=Safety-and-Hazards>,
(abgerufen am 31.10.2023).
- [151] Pfizer Inc, *Irinotecan Material Safety Data Sheet*, **2012**, abrufbar unter:
https://cdn.pfizer.com/pfizercom/products/material_safety_data/IRINOTECAN%20HYDROCHLORIDE%20INJECTION.pdf, (abgerufen am 22.01.2024).
- [152] R. Kontek, R. Drozda, M. Sliwiński, K. Grzegorzczak, *Toxicol. In Vitro* **2010**, *24*, 417.
- [153] M. Ghasemi, T. Turnbull, S. Sebastian, I. Kempson, *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 23.
- [154] J. J. Sim, M. H. Park, J.-H. BAEK, H. LEE, K.-Y. JEONG, H. M. KIM, *Anticancer Res.* **2018**, *38*, 4667.
- [155] N. Durán, S. S. Guterres, *Nanotoxicology. Materials, Methodologies, and Assessments*, Springer New York, **2014**.
- [156] C. Green, J. Brian, R. Kanda, M. Scholze, R. Williams, S. Jobling, *Aquat. Toxicol.* **2015**, *160*, 117.
- [157] M. Mišík, M. Filipic, A. Nersesyan, M. Kundi, M. Isidori, S. Knasmueller, *Water Res.* **2019**, *164*, 114953.

Anhang

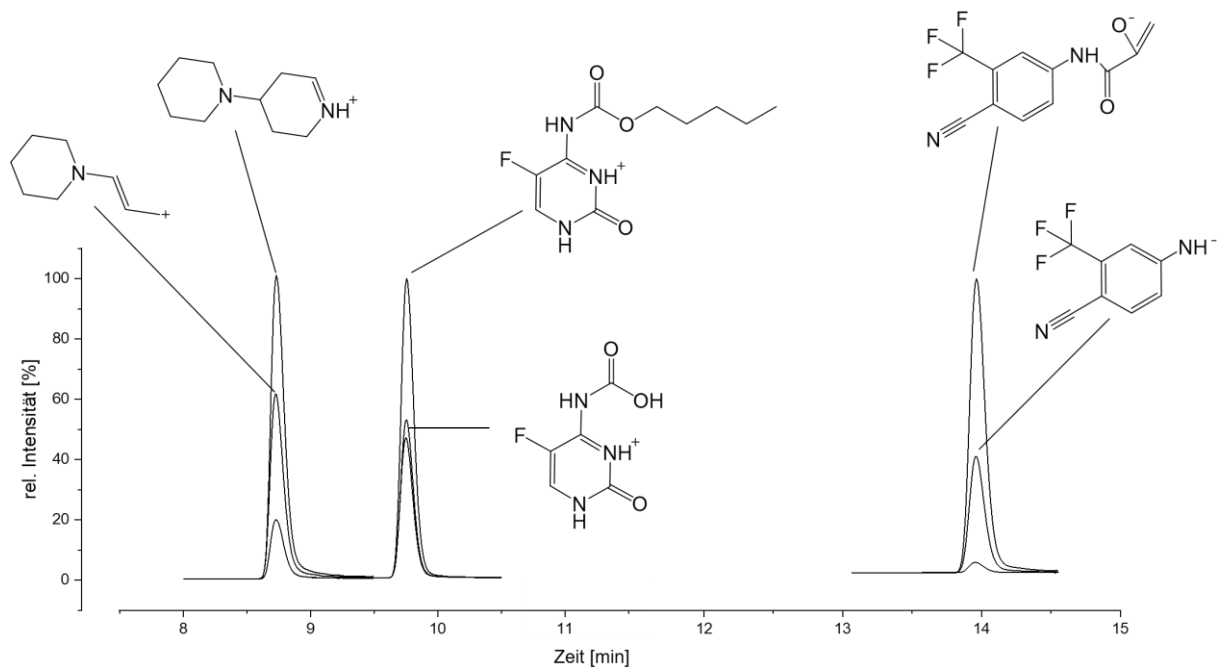
Anhang A: Verwendete Chemikalien, deren Hersteller, Reinheit und CAS-Nummer. Die für das MTT-Assay verwendeten Chemikalien sind hier nicht beinhaltet.

Chemikalie	Hersteller	Reinheit	CAS-Nummer
4NQO	Sigma-Aldrich	≥ 98 %	56-57-5
Acetonitril	VWR International	≥ 99,0 %	75-05-8
Agarose LMP	Sigma-Aldrich	-	9012-36-6
Agarose NMP	Sigma-Aldrich	-	9012-36-6
Ammoniumvanadat	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7803-55-6
Bicalutamid pharmazeutischer Sekundärstandard	Sigma-Aldrich	-	90357-06-5
Bicalutamid-d4	LGC	-	1185035-71-5
Biotin	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	58-85-5
Borsäure	Sigma-Aldrich	≥ 99,5%	10043-35-3
Calciumchlorid Dihydrat	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	10035-04-8
Capecitabin pharmazeutischer Sekundärstandard	Sigma-Aldrich	-	154361-50-9
Capecitabin-d11	LGC	-	1132662-08-8
Cobaltchlorid * 6 H ₂ O	Sigma-Aldrich	-	7791-13-1
Dikaliumhydrogenphosphat	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%	7758-11-4
Dimethylsulfoxid	Sigma-Aldrich	reagent grade	67-68-5
Dinatriumhydrogenphosphat Dispase	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7558-79-4 42613-33-2
Eisensulfat * 7 H ₂ O	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7782-63-0
Irinotecan	BLD Pharmatech	98 %	136572-09-3
Irinotecan-d10 HCl	LGC	-	718612-62-5
Kaliumchlorid	Sigma-Aldrich	99,0- 100,5%	7447-40-7
Kaliumdichromat	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7778-50-9
Kaliumdihydrogenphosphat	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7778-77-0
Kaliumiodid	Sigma-Aldrich	99 %	7681-11-0
Kupferchlorid * 2 H ₂ O	Sigma-Aldrich	reagent grade	10125-13-0

Lithiumchlorid	Sigma-Aldrich	99 %	7447-41-8
Magnesiumsulfat * 7 H ₂ O	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	10034-99-8
Manganchlorid * 4 H ₂ O	Sigma-Aldrich	p.a.	13446-34-9
Methanol	AppliChem	≥ 99,9 %	67-56-1
Na ₂ EDTA 2 H ₂ O	Sigma-Aldrich	-	6381-92-6
Natriummolybdat * 2 H ₂ O	Merck	p.a.	10102-40-6
Natriumbromid	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7647-15-6
Natriumchlorid	Sigma-Aldrich		7647-14-5
Natriumhydrogencarbonat	Sigma-Aldrich	≥ 99,7 %	144-55-8
Natriumhydroxid	Sigma-Aldrich	≥ 97 %	1310-73-2
Natriummetasilicat * 9 H ₂ O	Sigma-Aldrich	≥ 98 %	13517-24-3
Natriumnitrat	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7631-99-4
Natriumselenit	Sigma-Aldrich	99 %	10102-18-8
Natriumsulfit	VWR International	95-100,5 %	7757-83-7
ONPG	Sigma-Aldrich	≥ 98 %	369-07-3
Parachlorbenzoesäure	VWR International	≥ 98,5 %	74-11-3
Rubidiumchlorid	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	7791-11-9
Strontiumchlorid * 6 H ₂ O	Sigma-Aldrich	≥ 99,0 %	10025-70-4
Tert-Butanol	Merck	99 %	75-65-0
Thiaminhydrochlorid	Sigma-Aldrich	p.a.	67-03-8
Tris Base	Sigma-Aldrich	-	77-86-1
Triton X-100	Sigma-Aldrich	10 % in H ₂ O	9036-19-5
Trypanblau	Sigma-Aldrich	0,4 %	72-57-1
Uridin	Sigma-Aldrich	≥ 99 %	58-96-8
Vitamin B12	Sigma-Aldrich	p.a.	68-19-9
Wasser	VWR International	≥ 99 %	7732-18-5
Zinkchlorid	Sigma-Aldrich	≥ 98 %	7646-85-7

Anhang B: Interne Standards und Methodvalidierungsparameter der UHPLC-MS/MS-Methode, mit welcher die drei Krebsmedikamente gemessen wurden.

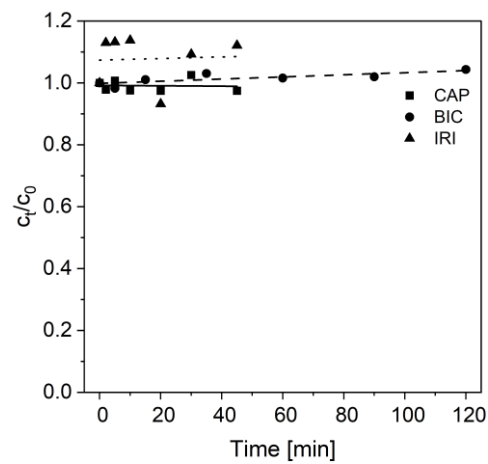
Parameter	Capecitabin	Bicalutamid	Irinotecan
Interner Standard	CAP-d11	BIC-d4	IRI-d10
Wiederfindungsrate [%]	67 ± 9	94 ± 13	167 ± 40
Variationskoeffizient an einem Tag [%]	1,95	2,91	6,72
Variationskoeffizient zwischen Tagen [%]	6,74	4,16	4,34
Bestimmungsgrenze [ng L ⁻¹]	4,8	12,1	1,6
Bestimmtheitsmaß (R ²) im Bereich 5 ng L ⁻¹ bis 1200 ng L ⁻¹ [%]	0,9992	0,9995	0,9992



Anhang C: Beispielspektren der Quantifier und Qualifier von IRI (RT = 8,9 min), CAP (RT = 9,9 min) und BIC (RT = 14,0 min).

Anhang D: Details der MS-Methode für die drei Krebsmedikamente und deren interne Standards.

	Precursor Ion [m z ⁻¹]	Quantifier [m z ⁻¹]	Qualifier [m z ⁻¹]	Fragmentor [V]	Kollisionsenergie [V]	Polarität
CAP	360,4	244,0	173,9	95	8/20	positiv
CAP-d11	371,4	255,1	173,9	95	8/20	positiv
BIC	429,4	255,0	185,0	145	12/48	negativ
BIC-d4	433,4	255,0	185,0	145	12/48	negativ
IRI	587,3	167,0	124,0	230	44/40	positiv
IRI-d10	597,3	177,0	134,0	230	44/40	positiv



Anhang E: Entwicklung der Konzentrationen von CAP, BIC und IRI während der Dunkelexperimente.

c₀ = 1 µg L⁻¹.