



PRISOTNOST ANTIBIOTIKOV V BOLNIŠNIČNI ODPADNI VODI

SEVERINA ALEKSIČ¹, doc. dr. MITJA KOLAR², prof. dr. SONJA ŠOSTAR TURK³

Povzetek

Antibiotiki so kemijske spojine, ki jih proizvajajo različni organizmi, predvsem glive ter nekatere bakterije, zato, da zavirajo rast ali povzročijo propad bakterij. S široko uporabo antibiotikov se širi tudi odpornost bakterij, ki je v sodobnem svetu postala velik medicinski problem. Problematika antibiotikov pa ni samo v medicinskem pogledu, ampak tudi v okoljevarstvenem. V okolje, zlasti v podtalnico in površinske vode, antibiotiki preidejo z odpadnimi vodami iz bolnišnic, farmacevtske industrije, kmetijskih obratov in ribogojnic. Več različnih antibiotikov so odkrili v odpadnih in naravnih vodah, kjer so vsebnosti v območjih od $\mu\text{g/L}$ do ng/L . V vodnem okolju so lahko prisotni kot mikroonesnaževala in se tako pojavijo v zalogah pitne vode. Zaradi tega je sledenje prisotnosti antibiotikov in istočasno zanje odpornih bakterij v okolju izrednega pomena. Kot najboljčutljivejši ter najzanesljivejši način za določanje ostankov antibiotikov v odpadnih vodah se je pokazala uporaba tekočinske kromatografije v povezavi z masno spektrometrijo (LC/MS).

Ključne besede: analitika, antibiotiki, bolnišnična odpadna voda, humana medicina, LC/MS, membranski bioreaktor

Abstract

Antibiotics are chemical compounds produced by various organisms, mostly fungi and bacteria to inhibit growth or cause the collapse of bacteria. With the widespread use of antibiotics, the resistance of bacteria in the modern world is spreading. This has become a major medical problem, not just in the medical view, but also in the environmental protection. In the environment, especially groundwater and surface water, antibiotics enter various ways: wastewaters from hospitals, pharmaceutical industries, farms and fish farms. Several different antibiotics were found in the waste and natural waters and their quantities are measured from a few $\mu\text{g/L}$ to ng/L . In the aquatic environment they may be present as micro pollutants and may affect the drinking water supply. For this reasons, tracking of antibiotics and at the same time the resistant bacteria in the environment is extremely important. As the most sensitive and reliable method for a determination of antibiotic residues in waste-

¹ Severina Aleksič, univ. dipl. inž. kem. tehnol., Fakulteta za zdravstvene vede, Univerza v Mariboru

² Doc. dr. Mitja Kolar, dipl. inž. kem. (un), Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo

³ Prof. dr. Sonja Šostar Turk, univ. dipl. inž. tekst., Univerza v Mariboru, Fakulteta za zdravstvene vede



water has been proven to be the use of liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC/MS).

1. UVOD

Bolnišnične odpadne vode so med večjimi onesnaževali (kot so antibiotiki, sintetični hormoni, vključno s kortikosteroidi, citostatiki ter druga zdravila), ki lahko vstopijo v vodotoke. V zadnjih letih so številne študije pokazale prisotnost velikega števila različnih spojin v surovi vodi, odpadni vodi ter tudi v končni pitni vodi, v koncentracijskem območju od $\mu\text{g/L}$ do ng/L . Kot posledica tega vstopajo zdravila v prehranjevalne verige ter povzročajo škodo okolju in ljudem. Razvijejo se mikroorganizmi, odporni proti antibiotikom. Nižje razviti organizmi v okolju začnejo propradati, zato se kot posledica poveča število alergij pri prebivalstvu, pojavijo se ekonomske izgube v živilski industriji itd. [6, 17].

Mnogi antibiotiki so majhne molekule z molekulsko maso, manjšo od 1000 Da. Ker so večino ma slabo topni v vodi, imajo visoke biokoncentracijske faktorje (500–1000) ter za akumulacijo ugoden faktor ($K_{ow} > 3$) in se po vstopu v okolje pogosto akumulirajo v organizmih. Antibiotiki se velikokrat le delno presnovijo v organizmu in se izločajo v urinu in fekalijah v odpadne vode. Sestavine, ki se ne odstranijo v komunalnih čistilnih napravah, lahko nato dosežejo površinske vode in preidejo v pitno vodo, kar je potencialna grožnja v ravnovesju ekosistema. Da bi preprečili pojav bakterij odpornih proti antibiotikom, moramo nadzorovati koncentracijski nivo, vpliv ter odstranjanje le-teh v vzorcih iz okolja [11, 13, 16, 19, 34].

Prvi podatki o vsebnosti ciprofloksacina segajo že v leto 1999, ko je Hartmann poročal o njegovi koncentraciji (0,7–124,5 $\mu\text{g/L}$) v bolnišnični odpadni vodi [7, 12].

Nakata in sod. so leta 2005 določali vsebnost fluorokinolonskih antibiotikov v odpadni vodi (tabela 1). Odkrili so, da se koncentracije ofloksacina gibljejo med 204 ng/L v sekundarnem ter 100 ng/L v končnem iztoku odpadne vode iz čistilne naprave. Visoke koncentracije ofloksacina pa so bile najdene v odplakah iz čistilnih naprav v evropskih državah, kot so Francija (330–510 ng/L), Italija (290–580 ng/L), Grčija (460 ng/L) in Švedska (120 ng/L) [25].

Tabela 1: **Primerjava koncentracij fluorokinolonov (ng/L) v odpadni vodi v ZDA, posameznih članicah EU in Švici [25]**

Spojina	ZDA	Francija ^a	Italija ^a	Švedska ^a	Grčija ^a	Švica ^b	
						Surove odplake	Končne odplake
Ofloksacin	100-204	330-510	290-580	120	460	< 5	< 5
Norfloksacin	< 45	50-70	60-70	30	70	255-553	36-73
Ciprofloksacin	< 19	60	40-70	30	70	313-368	62-106

Vir: a [1], b [9].

Leta 2001 so Henninger in sod. poročali o koncentraciji amoksicilina iz družine β -laktamskih antibiotikov. Najden je bil v bolnišnični odpadni vodi v Nemčiji, njegova koncentracija pa se

je gibala med 25 in 82,7 $\mu\text{g/L}$ [14, 7]. Dve leti kasneje so Christian in sod. poročali o koncentracijah β -laktamskih antibiotikov v površinskih vodah, ki se povzpnejo vse do 45 ng/L [3]. Kümmerer je poročal o koncentraciji ampicilina, ki se je v bolnišnični odpadni vodi v Nemčiji gibala med 20 in 80 $\mu\text{g/L}$ [21].

Za ugotavljanje prisotnosti antibiotikov v vodi se uporabljajo različne metode ekstrakcije, kromatografije, masne spektrometrije, s katerimi lahko določimo vrsto in koncentracijo spojin v analiziranem vzorcu. Številne študije so pokazale nepopolno odstranitev med postopki čiščenja odpadnih vod [11, 13, 15, 19, 34]. V prihodnosti bi se lahko ta izpostavljenost ljudi in živih organizmov preprečila z odstranitvijo teh spojin pri oz. na izvoru. Vendar je obdelava farmacevtske odpadne vode običajno precej zapletena zaradi prisotnosti topil ali organskih spojin, ki pogosto niso biorazgradljive in/ali so strupene za mikroorganizme v biološki obdelavi. Poleg tega sta njihova spremenljiva sestava ter nihanje koncentracije onesnaževal pogosto neučinkovito obdelana s konvencionalnim procesom aktivnega blata. Membranski bioreaktor, ki je prečiščevalna tehnologija za čiščenje komunalnih odpadnih voda, ima vse večji potencial. Potekale so številne študije, ki so primerjale konvencionalni proces s tehnologijo membranskega bioreaktorja. Izkazalo se je, da ima slednji pri odstranitvi neželenih snovi boljšo učinkovitost, ki je povezana z boljšim zadrževanjem blata in višjo adsorpcijo farmacevtskih izdelkov. Prav tako pa tudi uporaba membran zagotavlja boljše dezinfekcijske zmogljivosti, kompaktnost ter ponuja večjo fleksibilnost procesa. Membranski bioreaktor zadrži neraztopljene trdne snovi, tako da se kovine, vezane na blato, dejansko obdržijo. Vse te prednosti odpirajo tehnologiji membranskega bioreaktorja nove trge obdelave farmacevtske odpadne vode.

2. POJAVNOST ANTIBIOTIKOV

2.1. Uporaba antibiotikov v svetu

Proizvodnja antibiotikov je v svetu zelo velika, saj se na veliko in široko uporabljajo v humani in veterinarski medicini kot tudi v ribogojstvu za preprečevanje ali zdravljenje mikrobnih infekcij. Mednarodno primerljivih podatkov o porabi antibiotikov je zelo malo, in še ti, ki so razpoložljivi, se med seboj zelo razlikujejo. Prav tako se med državami razlikujejo tudi sami predpisi uporabe. Ocenjena poraba antibiotikov po vsem svetu se giblje med 100.000 in 200.000 ton na leto [17, 37].

Po uporabi se antibiotiki z uporabo v humani medicini ali njihovi metaboliti izločajo v odplake ter tako dosežejo čistilne naprave. Če pogledamo vse spojine, se približno 70 % porabljene količine antibiotikov izloči nespremenjenih. Prav tako se tudi v čistilnih napravah le delno izločijo. Če se ne izločijo med postopkom prečiščevanja, potujejo skozi kanalizacijsko omrežje in lahko končajo v okolju, predvsem v predelu vode. Raziskave so dokaj obširno proučile prisotnost le-teh v okolju. Koncentracije v višjem območju $\mu\text{g/L}$ so bile najdene v bolnišničnih odpadnih vodah, v spodnjem območju $\mu\text{g/L}$ so bile koncentracije v komunalnih odpadnih vodah [21].



2.1.1. Emisije iz bolnišnic

Poraba za ljudi kot celota ter na prebivalca in posamični delež vsake spojine se razlikuje med državami, saj se merila antibiotikov, katera se dobijo na recept in katera brez recepta, močno razlikujejo. Neenakomerna raba posameznih snovi je precej pogosta. Vzemimo na primer vankomicin, ki se v Združenih državah Amerike redno uporablja, medtem ko je v Nemčiji uporabljen le v skrajnih primerih, kadar se vse druge možne spojine izkažejo kot neučinkovite zaradi odpornosti bakterij. Porabo skupin antibiotikov v humani medicini je za posamezne države mogoče najti na spletnih straneh Evropskega programa za spremljanje porabe antimikrobnih zdravil (ESAC).

V Združenih državah Amerike se po ocenah čez 80 % antibiotikov porabi v kmetijstvu, v Evropi pa je razmerje humane medicine in kmetijstva nekje 50 : 50. Letna poraba antibiotikov v Evropi znaša 10.000 ton. V skladu s tem se približno polovica uporablja v humani medicini, druga polovica pa se uporabi v veterinarske namene, za zdravljenje ali kot pospeševalce rasti. Od antibiotikov, ki se uporabljajo v humani medicini, se jih 26 % porabi v bolnišnicah. Do danes so v bolnišnični odpadni vodi zaznali fluorokinolone, makrolide, sulfonamide ter trimetopim. Vedno populranjši pa postajajo tudi β -laktami. Ugotovljeno je bilo, da β -laktamski antibiotiki, vključno s podskupinami penicilinov, cefalosporinov in drugih, predstavljajo največji delež uporabljenih antibiotikov v humani medicini v večini držav. Predstavljajo približno 50–70 % celotne porabe. Koncentracije, izmerjene za β -laktame, se v bolnišničnih odpadnih vodah gibljejo med 20 in 80 $\mu\text{g/L}$ dnevno. Fluorokinoloni, izmed katerih je najbolj analiziran ciprofloksacin, pa so v nizkem koncentracijskem območju $\mu\text{g/L}$ zaznani v odpadni vodi, natančneje se vsebnosti gibljejo med 3 in 10 $\mu\text{g/L}$. Antibiotiki pa se prav tako izpuščajo tudi v komunalne odpadne vode, kjer se vse količine gibljejo okrog 50 $\mu\text{g/L}$. V tej koncentraciji so upoštevana tudi zastarela zdravila ter ostanki zdravil, ki se odstranjujejo v gospodinjsko kanalizacijo. Le-ti predstavljajo od 20 do 40 % vseh uporabljenih antibiotikov.

2.2. Uporaba antibiotikov v Sloveniji

V tabeli 2 je prikazana poraba protibakterijskih zdravil oz. antibiotikov za sistemsko zdravljenje (skupina J01 ATC) v bolnišničnem sektorju od leta 2010 do 2013. Rezultati so izraženi v DDD (definirana dnevna doza) na 1000 prebivalcev [5].

Tabela 2: Poraba protibakterijskih zdravil v bolnišničnem sektorju

ATC skupina J01	2010	2011	2012	2013
β -laktamski antibiotiki, penicilini (J01C)	0,66	0,67	0,67	0,70
Ostali β -laktamski antibiotiki (J01D)	0,36	0,36	0,33	0,31
Tetraciklini (J01A)	0,06	0,02	0,01	0,01
Makrolidi, linkozamini in streptogramini (J01F)	0,15	0,14	0,12	0,12
Kinoloni (J01M)	0,27	0,26	0,23	0,23
Sulfonamidi in trimetoprim (J01E)	0,06	0,05	0,05	0,05
Ostale J01 substance	0,18	0,17	0,15	0,14
Skupaj	1,73	1,67	1,57	1,55

Kot je razvidno, se v Sloveniji najpogosteje uporabljata β -laktamska in fluorokinolonska skupina antibiotikov. Kar 80–90 % se jih predpisuje ambulantno, le 10–20 % pa se jih uporabi v bolnišnicah. Vidimo lahko tudi, da je poraba antibiotikov v slovenskih bolnišnicah v letih od 2010–2013 rahlo upadla, medtem ko se je poraba β -laktamskih antibiotikov povečala za približno 6 %.

2.2.1. β -laktamski antibiotiki

β -laktamski antibiotiki so velika skupina antibiotikov, ki so sestavljeni iz različnih polsintetskih penicilinov, cefalosporinov, monobaktamov in karbapenemov. V svoji kemijski strukturi vsebujejo β -laktamski obroč, ki je bistven za protimikrobno delovanje teh antibiotikov. Veljajo kot najpogosteje uporabljena skupina v humani in veterinarski medicini. Pogosto se uporabljajo za preprečitev in zdravljenje bolezni. Učinkoviti so proti grampozitivnim in gramnegativnim bakterijam [2].

Amoksicilin

Amoksicilin je eden najširše uporabljenih antibiotikov. Proizvaja se polsintetično in se uvršča med t. i. antibiotike širokega spektra. Zaradi svoje kemijske sestave, stopnje porabe, topnosti, farmakoloških značilnosti in okoljske toksičnosti velja za enega od glavnih onesnaževalcev, ki naj bi prav tako obstajal tudi v vodnem okolju. Nekatere fizikalno-kemijske lastnosti amoksicilina vključujejo molekulsko maso (365,40 g/mol), disociacijsko konstanto pKa (9,41) ter porazdelitveni oktanol/voda koeficient Log K_{ow} (od 0,87) [7, 32]. Zanimivo dejstvo je, da ima amoksicilin v primerjavi z drugimi farmacevtskimi izdelki zelo nizko stopnjo metabolizma pri ljudeh, saj se 80–90 % amoksicilina izloči in zato izpusti v okolje v nespremenjeni obliki. V povezavi z ostanki v odpadnih vodah se amoksicilin redno ne zaznava, vendar če upoštevamo njegovo veliko porabo, postane njegovo sistemsko spremljanje pomembno [28]. Najden je bil v čistilnih napravah iz bolnišničnih, površinskih ter rečnih voda. Kljub temu pa je le malo podatkov o usodi in obnašanju amoksicilina v vodnem okolju. Leta 2010 so Gozlan, Lamm in sod. [22] prvič poročali o prisotnosti transformacijskih produktov amoksicilina v okolju: amoksicilin sulfoksid, ki je fotoprodukt amoksicilina, ter amoksicilin 2>5>-diketopiperazin. Na osnovi te raziskave se pričakuje, da so transformacijski produkti v vodnem okolju povezani z degeneracijo hidrolize, ki vključuje odpiranje β -laktamskega obroča.

2.2.2. Fluorokinolonski antibiotiki

Med najpomembnejša protibakterijska zdravila pa prav tako spadajo tudi fluorokinoloni. So zelo močne protimikrobne snovi, ki se po vnosu dobro razporedijo po telesu in so aktivne proti širokemu spektru mikroorganizmov. Imajo edinstven mehanizem delovanja in delujejo predvsem proti gramnegativnim bakterijam [8]. Trenutno so na trgu že antibiotiki 3. in 4. generacije, ki sta jih Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) in Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (ECDC) označila za kritično pomembne antibiotike. Predpisovali naj bi se le izjemoma, saj so zadnja izbira za zdravljenje hudih okužb.

Ciprofloksacin

Ciprofloksacin je sintetični kemoterapevtski antibiotik. Ima karboksilno skupino z vrednostjo pKa1 6,1 ter amsko skupino v piperazinskem delu z vrednostjo pKa2 8,7. Njegova molekul-

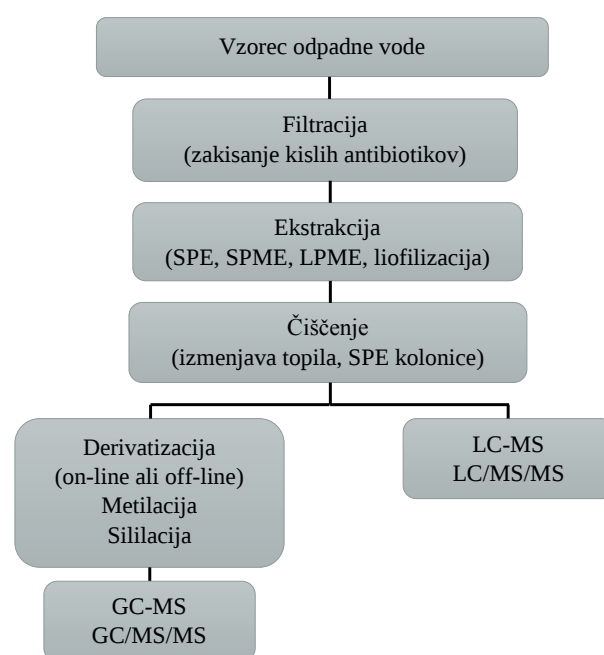


ska masa znaša 331,4 g/mol. Razgradnja ciprofloksacina je zelo počasna. V tleh lahko v svoji prvotni obliki ostane tudi od 30 do 80 dni [7, 10, 26].

3. ANALITIKA IN ČIŠČENJE ANTIBIOTIKOV

3.1. Določanje vsebnosti antibiotikov v odpadnih vodah

Za določanje vsebnosti antibiotikov v bolnišničnih odpadnih vodah se uporabljata dva glavna pristopa: (i) teoretični pristop, sestavljen iz že ocenjenih količin antibiotikov, ki bi bili lahko prisotni v bolnišnični odpadni vodi, upoštevajoč različne parametre, kot so poraba ter izločanje. Prednost te metode je, da se upoštevajo prav vse spojine, ki se uporabljajo v bolnišnici, vendar pa obstaja precejšnja negotovost za tiste parametre, ki jih želimo obravnavati [4, 24, 27]. Drugi pristop (ii) je eksperimentalen (slika 1) in obsega merjenje vsebnosti neposredno iz odpadne vode. Takšno merjenje, kjer se meri vsak potencialno prisoten antibiotik v odpadni vodi, je lahko zelo kompleksno, zahtevno in ekonomsko nevzdržno. Poleg tega pa so tudi meje zaznavnosti pogostokrat previsoke za ocenitev celotne ekotoksične nevarnosti [27, 29, 35].



Slika 1: Shema analiznega postopka pri določanju antibiotikov v odpadnih vodah [6]

3.2. Analitski postopki

Filtracija

Zelo pomemben dejavnik v procesu vzorčenja in analizi je filtracija. Na splošno se izvede takrat, ko vzorec prispe v laboratorij in se običajno izvaja na 0,45 ali 0,2 µm filtru s steklenimi vlakni. Ta korak je potreben, da se iz vzorca vode odstranijo vse moteče zvrsti, ki bi se lahko

priključile na ekstrakcijski injektor v trdi fazi in s tem upočasnile pripravo vzorca.

Ekstrakcija

Najpogostejše uporabljene analizne metode za določitev antibiotikov v odpadni vodi vključujejo uporabo oktaedril silicijevega oksida, polimer ali hidrofilno-lipofilno ravnotežje (HLB), ki se uporablja za on-line ekstrakcijo na trdni fazi (SPE) vzorcev vode, bodisi z diski, najpogostejše pa s kolonicami pri nizkem pH-ju (običajno pri pH = 2). Izbira ustrezne trdne faze je težka naloga, saj so lahko dobljeni izkoristki pri nekaterih spojinah zelo nizki. Ta problem največkrat nastane, ko hkrati določamo več različnih antibiotikov. V tem primeru je treba najti nekakšen kompromis med trdnimi fazami, da se zagotovijo najboljši izkoristki za vsak razred spojin posebej [6, 31].

Weigel in sod. so leta 2004 spremljali kislja, nevtralna in bazična zdravila ter estrogene v vodah in pri tem uporabili sedem polimernih SPE sorbentov. Izkoristek, ki so ga dobili s stiren-meta-krilatom in stiren-N-vinilpirolidon kopolimerom, se je gibal v območju 70–100 % [6, 31, 36].

Kot alternativne tehnike SPE se vse pogostejše uporabljajo mikroekstrakcije na trdni fazi (SPME) in mikroekstrakcije na tekočinski fazi (LPME). So hitrejšje, enostavnejše za ravnanje z vzorcem in zmanjšajo uporabo topil. Slabost teh tehnik je sama natančnost, ki je nižja kot pri SPE. Kot alternativa pa se je pokazala tudi liofilizacija, ki ima nekoliko višje izkoristke (54–108 %), kot jih dobimo z uporabo SPE (15–120 %) [6, 15, 20, 33].

Kromatografija

Tekočinska kromatografija s tandemsko masno spektrometrijo (LC/MS/MS) je vse pogostejša metoda pri analizi antibiotikov zaradi visoke občutljivosti ter sposobnosti potrditve spojin (v primerjavi s konvencionalnimi LC-metodami z ultravijolično (UV) ali fluorimetrično detekcijo). Prav tako omogoča ločevanje in detekcijo spojin, ki imajo enako molekulsko maso, vendar različne produktne ione. Zaradi zgoraj naštetih lastnosti je MS/MS detekcija prednostna za povečavo analitične občutljivosti in selektivnosti v kompleksnih matrikah, kot je na primer odpadna voda [6, 30].

Pri sami analizi pa se lahko uporabi tudi plinska kromatografija z masno spektrometrijo (GC-MS), vendar je pred samo izvedbo potrebna derivatizacija polarnih farmacevtskih izdelkov.

To se izvede s pomočjo zelo strupenega in rakotvornega diazometana ali v redkih primerih z anhidridnimi kisljinami. Ta korak lahko vpliva na samo natančnost metode. Prav tako pa je treba upoštevati tudi dejstvo, da so nekatere spojine termolabilne in lahko med samo GC-analizo razpadejo [6, 30].

3.3. Čiščenje

Proizvodni procesi za čiščenje odpadnih vod z antibiotiki pogosto ustvarjajo tokove odpadkov z onesnaženostjo, ki doseže vrednost KPK 10.000–40.000 mg/L, zato so v študiji, ki so jo izvedli leta 2004 [23], predlagali nov pristop predhodne obdelave, in sicer z uporabo reverzne



osmotske membrane (RO) in ultrafiltracije (UF). Kot delovni medij za eksperimentalno študijo so uporabili odpadno lužnico tetraciklina. Naloga procesa reverzne osmoze je bila zmanjšati organske snovi v reverznem osmotskem permeatu in koncentrirati oksitetraciklin v ostanku. Ultrafiltracija pa je bila uporabljena za odstranjevanje večjih biopolimerov ter s tem izboljšanje kristalizacije oksitetraciklina. Med procesom reverzne osmoze so uporabili hladilno napravo, s katero so vzdrževali temperaturo med 21 in 23 °C. Rezultati so pokazali izredno znižanje organskih snovi in oksitetraciklina v permeatu reverzne osmoze. KPK iztočnega permeata se je zmanjšala z 10.000 na 200 mg/L, vsebnost oksitetraciklina pa z 1.000 na 80 mg/L. Sedaj, ko sta se permeatu znatno zmanjšala tako organska koncentracija kot toksičnost antibiotika, ga lahko zlahka obdelamo z običajnimi biološkimi procesi [23].

Trenutno najpogostejše uporabljena tehnika za odstranjevanje organskih onesnaževal iz vodnega industrijskega blata, površinske vode in pitne vode je tehnologija membranskega bioreaktorja z adsorpcijo na aktivnem oglju. Ta odstranjuje organske snovi, ki imajo visoko molekularno maso in so nepolarne. Za ločevanje aktivnega blata od očiščene izcedne vode se uporablja ultrafiltracija. S pomočjo adsorpcije na aktivnem oglju pa se po predhodno biološko izcedni vodi odstranijo še biološko nerazgradljive organske snovi. Adsorpcija poteka z zrnastim aktivnim ogljem, in sicer v zaprtih tlačnih posodah s strnjenim slojem aktivnega oglja.

Vse večji potencial pri čiščenju antibiotikov iz odpadnih voda pa imajo membranski bioreaktorji, saj lahko z njimi dosežemo boljšo učinkovitost pri odstranjevanju neželenih snovi. Gre za tehnologijo, ki združuje biološko razgradnjo organskih in anorganskih komponent in stopnjo filtracije z uporabo mikro- ali ultrafiltracije, ki nadomešča stopnjo usedanja pri klasičnih čistilnih napravah. Prednost te metode pred navadno filtracijo je prav biološko čiščenje, ki se izvede pred filtracijo. Biološko čiščenje zagotavlja zmanjšanje snovi v odpadni vodi ter s tem izboljša delovanje filtracije, zmanjšuje količino odpadnega blata ter s tem zmanjšuje obratovalne stroške in izboljšuje varnost operaterjev ter učinkovitost [18].

4. ZAKLJUČEK

Prisotnost in usoda antibiotikov v okoljskih matrikah se v zadnjih letih drastično povečuje. Te spojine so obstojne in odporne proti biorazgradnji ter se tako akumulirajo v okolju. Tudi pri nizkih ravneh koncentracije, katere so bile zaznane v dosedanjih študijah, lahko povzročijo škodljive učinke v vodnem ali kopenskem ekosistemu. Na podlagi tega so bili razviti različni procesi razgradnje ter odstranitve antibiotikov. Med najpomembnejšimi so metode ekstrakcije, kromatografije in masne spektrometrije, s katerimi lahko določimo vrsto in koncentracijo substance v preiskovanem vzorcu. Vendar pa obstaja tudi slabost teh metod, saj so zelo kompleksne, zahtevne, dolgotrajne, za njihovo izvajanje pa so potrebni ustrezno opremljeni laboratoriji ter izobraženi analitiki.

LITERATURA IN VIRI

1. Andreozzi, R., Marotta, R., Paxéus, N.: Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment, *Chemosphere*, 2003, vol. 50, str. 1319–1330.
2. Cha, J. M., Yang, S., Carlson, K. H.: Trace determination of β -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 2006, vol. 1115, str. 46–57.
3. Christian, T., Schneider, R., Färber, H. A., Skutlarek, D., Meyer, M. T., Goldbach, H. E.: Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters, *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 2003, vol. 31, str. 36–44.
4. Escher, B. I., Baumgartner, R., Koller, M., Treyer, K., Lienert, J., McArdel, C. S.: Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater, *Water research*, 2011, vol. 45, str. 75–92.
5. European Centre for Disease Prevention and Control: Antimicrobial consumption in Slovenia. Dostopno na spletni strani: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/esac-net-database/Pages/overview-country-consumption.aspx.
6. Fatta, D., Nikolaou, A., Achilleos, A., Meric, S.: Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater, *Trends in Analytical Chemistry*, 2007, vol. 26, no. 6, str. 515–533.
7. Githinji, L. J. M., Musey, M. K., Ankumah, R. O.: Evaluation of the Fate of Ciprofloxacin and Amoxicillin in Domestic Wastewater, *Water Air Soil Pollut*, 2011, vol. 219, str. 191–201.
8. Golet, E. M., Alder, A. C., Hartmann, A., Ternes, T. A., Giger W.: Trace Determination of Fluoroquinolone Antibacterial Agents in Urban Wastewater by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection, *Analytical Chemistry*, 2001, vol. 73, str. 3632–3638.
9. Golet, E. M., Alder, A. C., Giger, W.: Environmental exposure and risk assessment of fluoroquinolone antibacterial agents in wastewater and river water of the Glatt Valley watershed, Switzerland, *Environmental Science & Technology*, 2002, vol. 36, no. 17, str. 3645–3651.
10. Gu, C., Karthikeyan, K. G.: Sorption of the antimicrobial ciprofloxacin to aluminum and iron hydrous oxides, *Environmental Science and Technology*, 2005, vol. 39, no. 23, str. 9166–9173.
11. Hartmann, A., Alder, A. C., Koller, T., Widmer, R. M.: Identifications of antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital wastewater, *Environmental Toxicology Chemistry*, 1998, vol. 17, str. 377–382.
12. Hartmann, A., Golet, E. M., Gartscher, M., Alder, A. C., Koller, T., Widmer, R. M.: Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospital wastewaters, *Department of Health and Human Services*, 1999, vol. 36, no. 2, str. 115.
13. Heath, E. in Kosjek, T.: Ostanki zdravilnih učinkovin v okolju, V: Raspor P., Kuščer E. (Ur.), *Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost, Voda*, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, 2007, str. 158–168.
14. Henninger, E., Herrel, M., Strehl, E., Kummer, K.: Emission of pharmaceuticals, contrast media, disinfectants, and AOX from hospitals, in *pharmaceuticals in the environment., Sources, fate, effects and risks*, Berlin, Springer, 2001, str. 29–41.
15. Hirsch, R., Ternes, T. A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F., Kratz, K. L.: Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1998, vol. 815, str. 213–223.
16. Hirsch, R., Ternes, T. A., Haberer, K., Kratz, K. L.: Occurrence of antibiotics in the aquatic environment, *Science Total Environment* 225 (1-2), 1999, str. 109–118.
17. Homem, V., Santos, L.: Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review, *Journal of Environmental Management*, 2011, vol. 92, str. 2304–2347.
18. Judd, S.: *MBR Book: Principles and Applications of Membrane Bioreactors in Water and Wastewater Treatment*, Elsevier Ltd., 2006.
19. Kemper, N.: Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment, *Ecological Indicators*, 2007, vol. 8, no. 1, str. 1–13.

20. Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, E. M., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., Buxton, H. T.: Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance, *Environmental Science & Technology*, 2002, vol. 36, no. 6, str. 1202–1211.
21. Kümmerer, K.: Significance of antibiotics in the environment, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003, vol. 52, str. 5–7.
22. Lamm, A., Gozlan, I., Rotstein, A., Avisar, D.: Detection of amoxicillin-diketopiperazine-2',5' in wastewater samples, *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 2009, vol. 44, str. 1512–1517.
23. Li, S., Li, X., Wang, D.: Membrane (RO-UF) filtration for antibiotic wastewater treatment and recovery of antibiotics, *Separation and Purification Technology*, 2004, vol. 34, str. 109–114.
24. Mullot, J. U., Karolak, S., Fontana, A., Levi, Y.: Modeling of hospital wastewater pollution by pharmaceuticals: first results of Mediflux study carried out in three French hospitals, *Water Science and Technology*, 2010, vol. 62, str. 2912–2919.
25. Nakata, H., Kannan, K., Jones, P. D., Giesy, J. P.: Determination of fluoroquinolone antibiotics in wastewater effluents by liquid chromatography-mass spectrometry and fluorescence detection, *Chemosphere*, 2005, vol. 58, str. 759–766.
26. Nelson, J. M., Chiller, T. M., Powers, J. H., Angulo, F. J.: Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: A public health success story, *Clinical Infectious Diseases*, 2007, vol. 44, no. 7, Str. 977–980.
27. Orias, F. in Perrodin, Y.: Pharmaceuticals in hospital wastewater: Their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent, *Chemosphere*, 2014, vol. 115, str. 31–39.
28. Pérez-Parada, A., Agüera, A., Gómez-Ramos, M., García-Reyes, J. F., Heinzen, H., Fernández-Albe, A. R.: Behaviour of amoxicillin in wastewater and river water: identification of its main transformation products by liquid chromatography/electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2011, vol. 25, str. 731–742.
29. Perrodin, Y., Bazin, C., Bony, S., Devaux, A., Bertrand-Krajewski, J. L., Cren-Olivé, C., Roch, A., Brelot, E.: A priori assessment of ecotoxicological risks linked to building a hospital, *Chemosphere*, 2013, vol. 90, str. 1037–1046.
30. Petrović, M., Eljarrat, E., Lopez de Alda, M., Barcelo, D.: Recent advances in the mass spectrometric analysis related to endocrine disrupting compounds in aquatic environmental samples, *Journal of Chromatography A*, 2002, vol. 974, str. 23–51.
31. Petrović, M., Gonzalez, S., Barceló, D.: Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water, *Trends in Analytical Chemistry*, 2003, vol. 22, no. 10, str. 685–696.
32. Riviere, J. E., Craigmill, A. L., Sundlof, S. F.: Handbook of comparative pharmacokinetics and residues of veterinary antimicrobials, Boca Raton, CRC, 1991.
33. Ternes, T. A.: Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples, *Trends in Analytical Chemistry*, 2001, vol. 20, no. 8, str. 419–434.
34. Torkar, K. G.: Vrednotenje metod ugotavljanja prisotnosti kemoterapevtikov v pitni in površinskih vodah, Raziskovalni dan Zdravstvene fakultete, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, 2009.
35. Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Galletti, A., Petrovic, M., Barceló, D.: Hospital effluent: investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment, *Science of the Total Environment*, 2012, vol. 430, str. 109–118.
36. Weigel, S., Kallenborn, R., Hühnerfuss, H.: Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 2004, vol. 1023, str. 183–195.
37. Xu, W. H., Zhang, G., Zou, S. C., Li, X. D., Liu, Y. C.: Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Environmental Pollution*, 2007, vol. 145, str. 672–679.