



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΙΓΑΙΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



ΠΡΟΤΑΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

ΤΙΤΛΟΣ

« Διερεύνηση της απομάκρυνσης αντιβιοτικών μέσω δευτεροβάθμιας και τριτοβάθμιας επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και μελέτη της τύχης τους κατά την εισαγωγή τους στο υδάτινο περιβάλλον »

ΙΑΤΡΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΛΟΓΟΣ, MSc

ΜΥΤΙΛΗΝΗ, ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2012

Τριμελής Επιτροπή Διδακτορικής Διατριβής

Στασινάκης Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής (επιβλέπων)

Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου

Θωμαΐδης Νικόλαος, Επίκουρος Καθηγητής

Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας Εθνικό Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μαμάης Δανιήλ, Επίκουρος Καθηγητής

Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας, Σχολή Πολιτικών Μηχανικών, Εθνικό
Μετσόβιο Πολυτεχνείο (Ε.Μ.Π.)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	σελ.7
---------------	-------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων - Μέθοδος Ενεργού Ιλύος και μέθοδοι τριτοβάθμιας επεξεργασίας.....	σελ.9
--	-------

1. Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων - Μέθοδος Ενεργού Ιλύος και μέθοδοι τριτοβάθμιας επεξεργασίας.....	σελ.10
1.1 Ενεργός Ιλύς.....	σελ.10
1.2 Παράμετροι για την ομαλή λειτουργία μιας μονάδας ενεργού ιλύος.....	σελ.11
1.2.1 Υδραυλικός Χρόνος Παραμονής των λυμάτων στη δεξαμενή αερισμού (θ).....	σελ.11
1.2.2 Μέση ηλικία ιλύος (θ_c).....	σελ.11
1.2.3 Ογκομετρικό Φορτίο (q).....	σελ.12
1.2.4 Λόγος τροφής προς μικροοργανισμούς (F/M).....	σελ.12
1.2.5 Υδραυλικό Φορτίο Δεξαμενής Καθίζησης.....	σελ.13
1.2.6 Φορτίο Στερεών Δεξαμενής Καθίζησης.....	σελ.14
1.2.7 Συγκέντρωση Βιομάζας (X).....	σελ.14
1.3 Φυσικοχημικές παράμετροι για την ομαλή λειτουργία μιας μονάδας ενεργού ιλύος	14
1.3.1 Απαιτήσεις σε οξυγόνο.....	σελ.14
1.3.2 Θερμοκρασία ($^{\circ}\text{C}$).....	σελ.15
1.3.3 pH.....	σελ.16
1.3.4 Θρεπτικά συστατικά.....	σελ.16
1.3.5 Φύση των Υγρών Αποβλήτων.....	σελ.16
1.4 Μικροβιολογία Ενεργού Ιλύος.....	σελ.17
1.5 Βιοκροκίδωση.....	σελ.17
1.6 Βιολογική Απομάκρυνση Θρεπτικών.....	σελ.18
1.6.1 Βιολογική απομάκρυνση ενώσεων αζώτου.....	σελ.19

1.6.2	Βιολογική απομάκρυνση ενώσεων φωσφόρου	σελ.19
1.7	Συνθετικές Οργανικές Ενώσεις	σελ.20
1.7.1	Παρουσία τους σε μονάδες ενεργού ιλύος.....	σελ.20
1.7.2	Συμπεριφορά Συνθετικών οργανικών ενώσεων στην ενεργό ιλύ.....	σελ.20
1.7.2.1	Προσρόφηση	σελ.21
1.7.2.2	Πτητικοποίηση.....	σελ.23
1.7.2.3	Βιοαποδόμηση.....	σελ.23
1.8	Μέθοδοι τριτοβάθμιας επεξεργασίας	σελ.25
1.8.1	Οζόνωση.....	σελ.25
1.8.2	Διεργασίες διαχωρισμού με μεμβράνες στον καθαρισμό και την επαναχρησιμοποίηση του νερού και των υγρών αποβλήτων	σελ.26
1.8.3	Χρήση οξειδωτικών μέσων	σελ.27
1.8.4	Χρήση ενεργού άνθρακα και νανοσωλήνων άνθρακα	σελ.27

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 29

Αναδύμενοι ρύποι – Η περίπτωση των αντιβιοτικών.....	σελ.29
---	---------------

2.	Αναδύμενοι ρύποι – Η περίπτωση των αντιβιοτικών.....	σελ.30
2.1	Χρήσεις – Πηγές αντιβιοτικών στο περιβάλλον	σελ.31
2.2	Κατηγοριοποίηση των αντιβιοτικών.....	σελ.32
2.2.1	β-λακτάμες –Υποκατηγορία Κεφαλοσπορίνες (Cephalosporins)	σελ.34
2.2.2	Σουλφοναμίδες (Sulfonamides).....	σελ.35
2.2.3	Κινολόνες – Υποκατηγορία Φλουοροκινολόνες(Fluoroquinolones) ...	σελ.36
2.2.4	Μακρολίδες (Macrolides)	σελ.37
2.2.5	Τετρακυκλίνες (semi-synthetic Tetracyclines).....	σελ.39
2.2.6	Άλλα αντιβιοτικά (Other antibiotics).....	σελ.40
2.3	Φυσικοχημικές ιδιότητες των αντιβιοτικών.....	σελ.41

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Βιβλιογραφική Ανασκόπηση – Παρουσία και Απομάκρυνση των αντιβιοτικών στα ΥΑ.....	σελ.43
---	---------------

3.	Βιβλιογραφική ανασκόπηση - παρουσία και απομάκρυνση των αντιβιοτικών στα ΥΑ.....	σελ.44
----	--	--------

3.1	Παρουσία των αντιβιοτικών στα Υγρά απόβλητα.....	σελ.44
3.1.1	Παρουσία β-λακτάμων –Υποκατηγορία Κεφαλοσπορίνες.....	σελ.45
3.1.2	Παρουσία Σουλφοναμίδων.....	σελ.45
3.1.3	Παρουσία Κινολόνων – Υποκατηγορία Φλουοροκινιλόνες.....	σελ.46
3.1.4	Παρουσία Μακρολίδων.....	σελ.46
3.1.5	Παρουσία Τετρακυκλίνων.....	σελ.47
3.1.6	Παρουσία Trimethoprim.....	σελ.47
3.2	Υπάρχουσες μέθοδοι απομάκρυνσης των αντιβιοτικών.....	σελ.47
3.2.1	Απομάκρυνση μέσω συμβατικών μεθόδων επεξεργασίας.....	σελ.48
3.2.2	Απομάκρυνση μέσω ενεργού άνθρακα και μέσω νανοσωλήνων άνθρακα (carbon nanotubes).....	σελ.53
3.2.3	Απομάκρυνση μέσω μεμβρανών.....	σελ.57
3.2.4	Απομάκρυνση μέσω οζόνωσης / H ₂ O ₂	σελ.59
3.2.5	Απομάκρυνση με χρήση οξειδωτικών μέσων.....	σελ.61

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Τοξικότητα των αντιβιοτικών στους οργανισμούς του υδάτινου περιβάλλοντος	σελ.63
---	--------

4.Τοξικότητα των αντιβιοτικών στους οργανισμούς του υδάτινου περιβάλλοντος.....	σελ.64
4.1 Τοξικότητα στα ψάρια (Fish).....	σελ.65
4.2 Τοξικότητα στον οστρακόδερμο οργανισμό (Daphnia magna).....	σελ.65
4.3 Τοξικότητα στα άλγη (Algae).....	σελ.65
4.4 Τοξικότητα στον φωτοσυνθετικό οργανισμό (Lemna minor).....	σελ.66
4.5 Τοξικότητα στο θαλάσσιο βακτήριο (Vibrio fisheri).....	σελ.66
4.6 Εκτίμηση επιπτώσεων στο υδατικό περιβάλλον από τη χρήση των αντιβιοτικών.....	σελ.67

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Αντικείμενο και Στόχοι διδακτορικής Διατριβής	σελ.69
5. Αντικείμενο και Στόχοι Διδακτορικής Διατριβής.....	σελ.70

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

Πειραματική Μεθοδολογία Διδακτορικής Διατριβής..... σελ.72

6. Πειραματική Μεθοδολογία Διδακτορικής Διατριβής σελ.73

6.1 Συλλογή και επεξεργασία Δεδομένων Κατανάλωσης Αντιβιοτικών –
Εκτίμηση περιβαλλοντικού ρίσκου επικινδυνότητας σελ.73

6.3 Μελέτη της προσρόφησης και της βιοαποδόμησης των αντιβιοτικών..... σελ.75

6.4 Πειράματα τριτοβάθμιας επεξεργασίας σελ.78

6.5 Πειράματα τοξικότητας σε υδρόβιους οργανισμούς σελ.80

6.6 ΧΡΟΝΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ
ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ..... σελ.81

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... σελ.82

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρουσία δραστικών φαρμακευτικών ουσιών στα υγρά απόβλητα και η τύχη τους στο περιβάλλον αποτελεί αντικείμενο μελέτης σε παγκόσμιο επίπεδο. Η παρούσα διδακτορική διατριβή θα ασχοληθεί με ουσίες από τις κύριες κατηγορίες των αντιμικροβιακών ουσιών (Cefadroxil, Trimethoprim, Sulfamethoxazole, Ciprofloxacin, Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Doxycycline) όπου και εστιάζονται τα περισσότερα κενά στη βιβλιογραφία. Η χρήση τους είναι ευρεία για τόσο για ανθρώπινη όσο και για κτηνιατρική φύση. Μεταξύ των οδών μεταφοράς των αντιμικροβιακών ενώσεων στο περιβάλλον, είναι τα υγρά και στερεά απόβλητα όπου και θεωρούνται μια από τις σημαντικότερες οδούς καθώς εισάγονται απευθείας μέσω των ούρων και των κοπράνων.

Οι συγκεντρώσεις όπου ανιχνεύονται στο υδάτινο περιβάλλον, κυμαίνονται μεταξύ μερικών δεκάδων $\mu\text{g/l}$ έως μερικών εκατοντάδων ng/l και δύναται να προκαλέσουν ανεπιθύμητες επιπτώσεις στους υδρόβιους οργανισμούς καθώς δεν απομακρύνονται πλήρως κατά την βιολογική επεξεργασία. Παρά τη γνώση που υπάρχει για την εισαγωγή των ουσιών στο υδάτινο περιβάλλον από την μη αποτελεσματική απομάκρυνση τους, έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά λίγες μελέτες ανίχνευσης / αντιμετώπισης τους στο εξωτερικό και καμία στην Ελλάδα.

Ως προς την τύχη τους κατά την επεξεργασία των αποβλήτων, έχουν γίνει ελάχιστες έρευνες για ορισμένες από τις υπό μελέτη ουσίες. Σύμφωνα με αυτές, τα αντιβιοτικά απομακρύνονται μερικώς κατά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία των λυμάτων, ενώ ένα μεγαλύτερο μέρος τους απομακρύνεται κατά την τριτοβάθμια επεξεργασία. Τέλος, σε ότι αφορά στην τοξικότητα των συγκεκριμένων δραστικών ουσιών, μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί μερικά πειράματα τοξικότητας σε υδρόβιους οργανισμούς αλλά και σε μικροοργανισμούς που υπάρχουν μέσα στην ενεργό ιλύ.

Στόχος της παρούσας διδακτορικής πρότασης είναι να δώσει απαντήσεις στα υφιστάμενα κενά της βιβλιογραφίας και να προάγει την έρευνα ως προς την συμπεριφορά των αντιβιοτικών στα υγρά απόβλητα αλλά και ως προς την αποτελεσματική τους απομάκρυνση κατά την επεξεργασία τους στις μονάδες βιολογικής επεξεργασίας.

Η προτεινόμενη διδακτορική διατριβή θα περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Ανάλυση και επεξεργασία δεδομένων κατανάλωσης των υπό μελέτη αντιμικροβιακών ουσιών σε πανελλαδικό επίπεδο
2. Βελτιστοποίηση αναλυτικής μεθοδολογίας LC-MS/MS για τον προσδιορισμό των αντιμικροβιακών ουσιών που επιλέχθηκαν, σε δείγματα υγρών αποβλήτων και λασπών
3. Μελέτη των μηχανισμών απομάκρυνσης των επιλεγμένων αντιμικροβιακών ουσιών κατά τη δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια επεξεργασία των υγρών αποβλήτων (εργαστηριακά πειράματα ενεργού ιλύος, οζόνωση, χρήση οξειδωτικών μέσων)
4. Διερεύνηση της τοξικότητάς των αντιμικροβιακών ουσιών στο υδάτινο περιβάλλον, εκτίμηση του ρίσκου επικινδυνότητας από τη διάθεση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων στον τελικό υδάτινο αποδέκτη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

*Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων - Μέθοδος Ενεργού Ιλύος και μέθοδοι
τριτοβάθμιας επεξεργασίας*

1. Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων - Μέθοδος Ενεργού Ιλύος και μέθοδοι τριτοβάθμιας επεξεργασίας

1.1 Ενεργός Ιλύς

Γενικός στόχος ενός συστήματος επεξεργασίας υγρών αποβλήτων αποτελεί η επίτευξη της τελικής ποιότητας εκροών, η οποία θα είναι σύμφωνη με τη νομοθεσία για τα όρια ποιότητας των φυσικών αποδεκτών. Για την επίτευξη των στόχων αυτών, χρησιμοποιούνται συνήθως συνδυασμοί μεθόδων, που επιλέγονται ανά περίπτωση (ποσότητα προς επεξεργασία, χρήση και στόχος ποιότητας επεξεργασμένων αποβλήτων, δυναμικό ανακύκλωσης κ.λπ.). Οι διαθέσιμες μέθοδοι επεξεργασίας χωρίζονται σε φυσικοχημικές και βιολογικές μεθόδους οι οποίες βασίζονται σε φυσικές δυνάμεις ή σε χημικές και βιολογικές αντιδράσεις, και ονομάζονται φυσικές διεργασίες (unit operations) και χημικές βιολογικές διεργασίες (unit processes), αντίστοιχα (Metcalf & Eddy, 2006).

Οι βιολογικές μέθοδοι χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς, που μεταβολίζουν (και συνεπώς καταστρέφουν) οργανικές ενώσεις. Διακρίνονται δύο βασικοί τύποι μικροοργανισμών: αναερόβιοι και αερόβιοι, ενώ υπάρχουν και αναερόβιοι οργανισμοί με δυνατότητα ανάπτυξης και σε συνθήκες οξυγόνου (facultative). Στις αερόβιες βιολογικές επεξεργασίες εντάσσεται και το σύστημα της *ενεργού ιλύος*.

Ο σκοπός του συστήματος της Ενεργού Ιλύος είναι η απομάκρυνση των διαλυμένων και αιωρούμενων οργανικών ουσιών των αποβλήτων μέσω βιοχημικών διεργασιών, που μετατρέπουν τα πολύ μικρά και τα διαλυμένα οργανικά στερεά σε μεγάλα σωματίδια (βιοκροκίδες) που μπορούν να διαχωριστούν από το υγρό με καθίζηση.

Η διαδικασία της Ενεργού Ιλύος συνίσταται από δύο βασικές διεργασίες: τον αερισμό και την καθίζηση. Έτσι ένα τυπικό σύστημα αποτελείται από τη δεξαμενή αερισμού (βιολογικός αντιδραστήρας) και από τη δεξαμενή καθίζησης (Metcalf & Eddy, 2006):

A) Η δεξαμενή αερισμού προσφέρει το περιβάλλον όπου αιωρούμενη, βιολογικά ενεργός μάζα, αυξάνει συνεχώς. Οι συνθήκες που επικρατούν σε αυτήν είναι αερόβιες και πραγματοποιείται πλήρης ανάμιξη των αποβλήτων. Τα απόβλητα έρχονται σε επαφή με συσσωματώματα μικροοργανισμών και ένα μέρος των οργανικών ενώσεων οξειδώνεται σε CO₂ και H₂O, ενώ ένα άλλο μετατρέπεται σε νέο κυτταρικό υλικό.

B) Στη δεξαμενή καθίζησης γίνεται ο διαχωρισμός των βιοκροκκίδων λόγω καθίζησης και ένα μέρος της ιλύος επιστρέφει στην δεξαμενή αερισμού για να επιτευχθεί συγκέντρωση μικροοργανισμών ικανή για την προσρόφιση και την αποδόμηση του εισερχόμενου οργανικού φορτίου, ενώ ένα άλλο αποβάλλεται.

1.2 Παράμετροι για την ομαλή λειτουργία μιας μονάδας ενεργού ιλύος

Η απόδοση των συστημάτων εξαρτάται από μια σειρά παραμέτρων / ρυθμίσεων κατά τον σχεδιασμό και τη λειτουργία ώστε να διατηρούνται οι περιβαλλοντικές συνθήκες για την ικανοποιητική δράση των μικροοργανισμών στη δεξαμενή αερισμού.

1.2.1 Υδραυλικός Χρόνος Παραμονής των λυμάτων στη δεξαμενή αερισμού (θ)

Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής στην δεξαμενή αερισμού είναι ο λόγος του όγκου της δεξαμενής προς την παροχή των αποβλήτων και εκφράζει το μέσο χρόνο αερισμού των λυμάτων. Δίνεται από τη σχέση:

$$\theta = \frac{V}{Q} \quad (1.1)$$

όπου, θ : υδραυλικός χρόνος παραμονής, d

V : όγκος δεξαμενής αερισμού m^3

Q : παροχή εισροής m^3/d

Συνήθως παίρνει τιμές από 3.5 έως 36 ώρες, αναλόγως την οργανική φόρτιση των λυμάτων που εισέρχονται στη δεξαμενή αερισμού. Ο χρόνος αερισμού είναι μικρός για λύματα με χαμηλή συγκέντρωση BOD και μεγάλος όταν ισχύει το αντίθετο.

1.2.2 Μέση ηλικία ιλύος (θ_c)

Η μέση ηλικία ιλύος (μέσος χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών) ορίζεται ως η μάζα των μικροοργανισμών στον αντιδραστήρα διαιρεμένη με τη μάζα των μικροοργανισμών που αφαιρούνται από το σύστημα κάθε μέρα και δίνεται από τη σχέση:

$$\theta_c = \frac{V \times X}{(Q_w \times X_w) + (Q_e \times X_e)} \quad (1.2)$$

όπου θ_c = ο μέσος χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών (d)

Q_w = η παροχή της απομακρυνόμενης λάσπης (m^3/d)

Q_e = η παροχή της επεξεργασμένης εκροής (m^3/d)

X_w = η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών στην απομακρυνόμενη λάσπη (mg/l)

X_e = η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών στην επεξεργασμένη εκροή (mg/l)

Παίρνει τιμές 3-15 days και θεωρείται μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους σχεδιασμού και ελέγχου της βιολογικής επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων.

1.2.3 Ογκομετρικό Φορτίο (q)

Η ογκομετρική φόρτιση του οργανικού φορτίου στη δεξαμενή αερισμού είναι ο λόγος της οργανικής ύλης του ρεύματος εισόδου ανά μονάδα όγκου στη δεξαμενή στη μονάδα του χρόνου. Δίνεται από τη σχέση:

$$q = (Q)(S_i) / (V)(10^3 \text{ g/kg}) \quad (1.3)$$

όπου, q : ογκομετρική φόρτιση οργανικών, kg BOD / $m^3 d$

Q : παροχή εισερχόμενων αποβλήτων, m^3 / d

S_i : συγκέντρωση BOD στην εισροή, g / m^3

V : όγκος δεξαμενής αερισμού m^3

Συνήθως παίρνει τιμές 0,3 – 0,6 kg BOD / $m^3 d$.

1.2.4 Λόγος τροφής προς μικροοργανισμούς (F/M)

Το οργανικό φορτίο ορίζεται ως την αναλογία τροφής προς βιομάζα ή κιλά BOD5 εφαρμοζόμενα ημερήσια στο σύστημα, ανά κιλό αναμειγμένων αιωρούμενων στερεών -MLSS . Δίνεται από τη σχέση :

$$F / M = \frac{S_i}{\theta \times X} \quad (1.4)$$

όπου, F/M : ο λόγος τροφής προς μικροοργανισμούς (1/d)

S_i : η συγκέντρωση BOD και COD των αποβλήτων στην εισροή (g/ m³)

θ : ο χρόνος παραμονής στη δεξαμενή αερισμού (d)

X : συγκέντρωση βιομάζας του ανάμικτου υγρού στη δεξαμενή αερισμού, g/m³

Η αναλογία F/M συσχετίζεται με τον ειδικό ρυθμό κατανάλωσης υποστρώματος (U), ο οποίος ορίζεται μέσω της εξίσωσης που εκφράζει την απόδοση (E) της διεργασίας της ενεργού ύλης. Οι λόγοι αυτοί δίνονται στις παρακάτω σχέσεις:

$$E = \frac{100 \times (S_i - S_e)}{X \times \theta} \quad (1.5)$$

όπου, S_e : η συγκέντρωση BOD του οργανικού φορτίου στην εκροή (g/ m³)

$$U = \frac{(F / M) \times E}{100} = \frac{S_i - S_e}{X \times \theta} \quad (1.6)$$

Η σχέση μεταξύ των δύο βασικών παραμέτρων θ_c και F/M είναι αντιστρόφως ανάλογη δηλαδή, όσο αυξάνεται το θ_c μειώνεται το F/M και αντίστροφα. Για συστήματα που έχουν σχεδιαστεί για την επεξεργασία αστικών λυμάτων με τιμές του υδραυλικού χρόνου παραμονής της ενεργού ύλης να κυμαίνονται από 20 έως 30 ημέρες, η τιμή του F/M μπορεί να κυμαίνεται από 0.10 έως 0.05 g BOD/ g VSS day , αντίστοιχα. Σε τιμές υδραυλικού χρόνου παραμονής στην περιοχή μεταξύ 5 και 7 ημερών, η τιμή F/M μπορεί να ποικίλει από 0.3 έως 0.5 g BOD/ g VSS day, αντίστοιχα (Metcalf & Eddy, 2006).

1.2.5 Υδραυλικό Φορτίο Δεξαμενής Καθίζησης

Εκφράζει τον όγκο λυμάτων που εφαρμόζονται ανά ημέρα στη δεξαμενή καθίζησης και λαμβάνει τιμές από 12-41 m³/d.

1.2.6 Φορτίο Στερεών Δεξαμενής Καθίζησης

Εκφράζει τα κιλά των στερεών που επεξεργάζονται στη δεξαμενή καθίζησης ημερησίως και παίρνει τιμές από 100 – 150 Kg / m² day .

1.2.7 Συγκέντρωση Βιομάζας (X)

Από την παρακάτω σχέση προκύπτει ότι η συγκέντρωση της βιομάζας είναι αντιστρόφως ανάλογη με το θ και εξαρτάται από τα θc . Η βιομάζα (X) παίρνει τιμές περίπου μέχρι τα 3000 mg/l.

$$X = \frac{\theta c(Y(S_i - S_e))}{\theta(1 + \theta ckd)} \quad (1.7)$$

όπου, Y: συντελεστής απόδοσης σύνθεσης, g VSS/ g bsCOD και

K_d: συντελεστής ενδογενούς αποσύνθεσης, g VSS / g VSS day

1.3 Φυσικοχημικές παράμετροι για την ομαλή λειτουργία μιας μονάδας ενεργού ιλύος

1.3.1 Απαιτήσεις σε οξυγόνο

Η θεωρητική απαίτηση σε οξυγόνο υπολογίζεται από το BOD₅ των αποβλήτων και από την ποσότητα της βιομάζας που απομακρύνεται κάθε ημέρα από τις εγκαταστάσεις της Ενεργού Ιλύος. Όταν εισέρχεται οργανικό υλικό σε ένα βιολογικό αντιδραστήρα, όπου υπάρχουν μικροοργανισμοί, τότε πραγματοποιούνται οι παρακάτω οι αντιδράσεις της οξείδωσης, της σύνθεσης και της ενδογενούς αναπνοής.

Το διαλυμένο οξυγόνο στη δεξαμενή αερισμού έχει μεγάλη σημασία διότι:

- επιτυγχάνεται η οξείδωση της οργανικής ύλης από τα βακτήρια
- διατηρείται το μικτό υγρό σε συνεχή αιώρηση και επικρατεί πλήρης ανάμιξη ώστε να μην δημιουργούνται σημεία με αναερόβιες συνθήκες

- απομακρύνεται το CO₂, που παράγεται κατά τη διάρκεια οξείδωσης της οργανικής ύλης, από το διάλυμα

Όταν η απόδοση του συστήματος αερισμού είναι γνωστή, τότε είναι δυνατόν ο υπολογισμός της απαιτούμενης παροχής αέρα. Η παροχή του αέρα θα πρέπει να πληρεί τις εξής προϋποθέσεις:

- 1) Να ικανοποιεί το BOD των αποβλήτων
- 2) Να ικανοποιεί την ενδογενή αναπνοή των μικροοργανισμών
- 3) Να προκαλεί ικανοποιητική ανάμιξη
- 4) Η συγκέντρωση του οξυγόνου στη δεξαμενή αερισμού δεν θα πρέπει να πέφτει κάτω από τα 0.5 mg/ l και δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 2 mg/ l. Αυτό συμβαίνει διότι, στη πρώτη περίπτωση μειώνεται ο μεταβολισμός για την ανθρακογενή οξείδωση ενώ στη δεύτερη περίπτωση δεν διευκολύνονται οι βιολογικές διεργασίες αλλά αντιθέτως δημιουργούνται προβλήματα αποκροκίδωσης εξ' αιτίας της έντονης ανάμιξης.

1.3.2 Θερμοκρασία (°C)

Η θερμοκρασία παίζει σημαντικό ρόλο στο ρυθμό βιολογικής δραστηριότητας καθώς σύμφωνα με το Νόμο του Vant Hoff διπλασιάζεται για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10 °C (για εύρος 5 – 35 °C).

Το σύνηθες εύρος τιμών των θερμοκρασιών στη δεξαμενή αερισμού είναι 12 – 25 °C. Ενώ οι βέλτιστες τιμές είναι μεταξύ 25 – 35 °C. Με την αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνεται ο ρυθμός κατανάλωσης του υποστρώματος από τους μικροοργανισμούς αλλά από την άλλη αυτό μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα ανεπάρκειας οξυγόνου. Η εξίσωση του Arrhenihs εκφράζει τη μεταβολή του ρυθμού αντίδρασης με τη θερμοκρασία.

$$K_T = K_{20} * \Theta^{T-20} \quad (1.8)$$

όπου, T : θερμοκρασία

K_T : σταθερά ρυθμού αντίδρασης σε θερμοκρασία Tα

K_{20} : σταθερά ρυθμού αντίδρασης σε θερμοκρασία 20 °C

Θ : συντελεστής θερμοκρασίας

Η αερόβια χώνευση, καθώς και η νιτροποίηση σταματούν όταν η θερμοκρασία φτάσει στους 50 °C . Όταν η θερμοκρασία πέσει στους 15 °C, τα βακτήρια που παράγουν μεθάνιο γίνονται ανενεργά και στους 5 °C περίπου τα αυτότροφα βακτήρια στην ουσία αναστέλλουν τη λειτουργία τους (Metcalf & Eddy, 2006). Αν η θερμοκρασία αυξηθεί σε τιμές μεγαλύτερες των 35 °C ο ρυθμός ανάπτυξης μειώνεται έως ότου να μηδενιστεί για θερμοκρασίες κοντά στους 45 °C.

1.3.3 pH

Το pH είναι η συγκέντρωση των ιόντων του υδρογόνου (H). Είναι σημαντική παράμετρος αφού είναι ικανό να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό τις διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων.

Το βέλτιστο εύρος του pH για την ανθρακογενή οξείδωση κυμαίνεται μεταξύ 6.5 και 8.5. για τιμές έξω από αυτό το εύρος δημιουργούνται προβλήματα τόσο στον μηχανολογικό εξοπλισμό όσο και στις διαδικασίες επεξεργασίας. Αφού σε pH μεγαλύτερο του 9 αναστέλλεται η μικροβιακή δραστηριότητα, ενώ σε pH μικρότερο του 6 οι μύκητες επικρατούν των βακτηρίων κατά τον ανταγωνισμό για το υπόστρωμα.

1.3.4 Θρεπτικά συστατικά

Η ύπαρξη θρεπτικών συστατικών στις σωστές αναλογίες για την επιβίωση των μικροοργανισμών είναι απαραίτητη για να λειτουργεί σωστά μια μονάδα. Οι κυριότερες τροφές είναι το άζωτο και ο φώσφορος καθώς και μερικά ιχνοστοιχεία όπως Fe, S, K κλπ.. Η απαιτούμενη αναλογία BOD:N:P είναι 100:5:1, αντίστοιχα.

Η έλλειψη θρεπτικών εμποδίζει τους μικροοργανισμούς να παράγουν βασικά συστατικά που είναι απαραίτητα για το κύτταρό τους. Αυτό έχει σαν συνέπεια τη μειωμένη ικανότητα μεταβολισμού της οργανικής ύλης. Τέλος η ανεπάρκεια αζώτου και φωσφόρου είναι μια από τις αιτίες διόγκωσης της ιλύος (bulking).

1.3.5 Φύση των Υγρών Αποβλήτων

Η λειτουργία της ενεργού ιλύος επηρεάζεται από την φύση των υγρών αποβλήτων. Η παρουσία τοξικών ουσιών και ενώσεων επηρεάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα

μέσα στη μονάδα και επίσης, οι έντονες διακυμάνσεις του οργανικού φορτίου των αποβλήτων έχουν σαν αποτέλεσμα τα προβλήματα καθαρισιμότητας.

1.4 Μικροβιολογία Ενεργού Ιλύος

Η απομάκρυνση του BOD από τα υγρά απόβλητα που καταλήγουν στη μονάδα επιτυγχάνεται βιολογικά χρησιμοποιώντας μια ποικιλία μικροοργανισμών και πιο συγκεκριμένα βακτηρίων. Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται στο σύστημα της ενεργού ιλύος, οξειδώνουν την ανθρακική οργανική ύλη σε απλά προϊόντα και νέα κύτταρα.

Μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται για την αφαίρεση του αζώτου και του φωσφόρου. Πιο συγκεκριμένα, ειδικά βακτήρια οξειδώνουν την αμμωνία σε νιτρώδη και νιτρικά και στη συνέχεια κάποια άλλα ανάγουν το οξειδωμένο άζωτο σε αέριο άζωτο. Όσον αφορά την απομάκρυνση του φωσφόρου υπάρχουν βακτήρια τα οποία απορροφούν και αποθηκεύουν μεγάλες ποσότητες ανόργανου φωσφόρου.

Το σύστημα της ενεργού ιλύος είναι ένα σύνθετο σύστημα από πλευράς μικροοργανισμών και αποτελείται από : τα βακτήρια (*floc-formers*, *free swimming*, *filamentous*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*), τους μύκητες, τα πρωτόζωα (*flagellates*, *amoebae*, *ciliates*), τα τροχόζωα, οι νηματώδεις (Gray, 1990; Bitton, 1999).

1.5 Βιοκροκίδωση

Η βασική λειτουργική Μονάδα της Ενεργού Ιλύος είναι οι βιοκροκίδες. Κάθε βιοκροκίδα είναι ένα συσσωμάτωμα μικροοργανισμών, κολλοειδών και οργανικών πολυμερών. Χαρακτηρίζονται από μεγάλο πορώδες το οποίο βοηθά στην απομάκρυνση οργανικού φορτίου στην δεξαμενή αερισμού. Ως αποτέλεσμα, συχνά στον πυρήνα των μεγάλων βιοκροκίδων επικρατούν ανοξικές ή ακόμη και αναερόβιες συνθήκες και παρατηρείται η ανάπτυξη αυστηρά αναερόβιων βακτηρίων (Bitton, 1999). Συνήθως οι βιοκροκίδες που συναντώνται σε συστήματα Ενεργού Ιλύος έχουν μέγεθος που κυμαίνεται μεταξύ 50-350 μm σε διάμετρο (Gray, 1990).

Τα τελευταία χρόνια επικρατεί η άποψη ότι υπάρχουν δύο τύποι βιοκροκίδων , η μικροδομή και η μακροδομή. Η **μικροδομή** αποτελεί σύνδεση βακτηρίων που παρουσιάζουν την τάση να σχηματίζουν βιοκροκίδες με τη βοήθεια εξωκυτταρικών πολυμερών (*floc-formers*). Το μέγεθος της βιοκροκίδας στην συγκεκριμένη δομή

είναι μικρότερη των 75 μm και το σχήμα της είναι σφαιρικό και συμπαγές. Στη **μακροδομή** τα νηματοειδή βακτήρια σχηματίζουν ένα πλέγμα, στο οποίο προσκολλώνται τα υπόλοιπα βακτήρια (*filamentous bacteria*). Για να λειτουργεί σωστά μια μονάδα ενεργού ιλύος θα πρέπει να συνυπάρχουν η μικροδομή με τη μακροδομή για την ικανοποιητικά καθίζηση και πύκνωση της ιλύος. Σε αντίθετη περίπτωση, αν υπάρχει δηλαδή μόνο μικροδομή τότε είναι πιθανό να τα επεξεργασμένα απόβλητα να είναι θολά. Αν πάλι υπερισχύει η μακροδομή παρατηρείται φαινόμενο αφρισμού και διόγκωσης της ιλύος αφού υπάρχουν πολλοί νηματοειδής στη μονάδα. Η κροκιδωμένη ιλύς βρίσκεται σε ένα επίπεδο δυναμικής ισορροπίας μεταξύ των δημιουργουμένων μεγάλων κροκίδων και αυτών που διασπώνται σε μικρότερες κροκίδες από το σύστημα αερισμού.

Οι συνθήκες λειτουργίας της μονάδας επεξεργασίας υγρών αποβλήτων αποτελούν παράγοντες που επηρεάζουν τόσο την μορφολογία όσο και το μέγεθος των βιοκροκίδων. Συμπαγείς βιοκροκίδες παρατηρούνται σε συστήματα χαμηλής φόρτισης ή με υψηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου και μεγάλες ηλικίες ιλύος, ενώ χαμηλής και χαλαρής δομής κροκίδες εμφανίζονται σε μικρές ηλικίες ιλύος κάτω των 8 ημερών.

1.6 Βιολογική Απομάκρυνση Θρεπτικών

Τα κύρια θρεπτικά στοιχεία που χρειάζονται οι μικροοργανισμοί για να αναπτυχθούν (εκτός από τις οργανικές ουσίες) είναι το άζωτο, ο φώσφορος καθώς και διάφορα ιχνοστοιχεία, τα οποία είναι απαραίτητο να βρίσκονται στις κατάλληλες ποσότητες τις οποίες χρειάζονται οι μικροοργανισμοί. Η άνοδος όμως της συγκέντρωσης των νιτρικών και των φωσφορικών στα επιφανειακά και τα υπόγεια ύδατα δημιουργεί ρύπανση στους αποδέκτες.

Η παρουσία ενώσεων αζώτου και φωσφόρου σε αυξημένες συγκεντρώσεις στα υγρά απόβλητα, προκαλεί ρύπανση στους αποδέκτες (επιφανειακά και υπόγεια ύδατα) και επομένως, είναι αναγκαία η λήψη μέτρων για την απομάκρυνση τους από τις μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Το άζωτο και ο φώσφορος προκαλούν ευτροφισμό. Οι οξειδωμένες μορφές του αζώτου, νιτρώδη και νιτρικά, είναι επικίνδυνα για την υγεία, ενώ η αμμωνία έχει υψηλή απαίτηση σε οξυγόνο, παρεμποδίζει τη χλωρίωση και είναι τοξική για τους υδρόβιους οργανισμούς.

1.6.1 Βιολογική απομάκρυνση ενώσεων αζώτου

Το άζωτο απαντάται σε ανόργανη και οργανική μορφή αλλά και ως στοιχειακό (η πιο συνηθισμένη μορφή του). Το ανόργανο άζωτο βρίσκεται στα λύματα με τη μορφή αμμωνίας (NH_4^+) και νιτρικών (NO_3^-) και το οργανικό άζωτο με τη μορφή αμινών και άλλων αζωτούχων ενώσεων. Η βιολογική νιτροποίηση και απονιτροποίηση των ενώσεων του αζώτου, είναι από τις πιο ευρέως διαδεδομένες μεθόδους απομάκρυνσης τους από τις μονάδες Ενεργού Ιλύος, όπου επιτυγχάνεται με την εναλλαγή και αερόβιων και ανοξικών συνθηκών.

Η διαδικασία της νιτροποίησης επηρεάζεται από μια σειρά παραγόντων, όπως, την συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου (DO), την οργανική φόρτιση, την ηλικία ιλύος (θ_c), την τιμή του pH, την αλκαλικότητα, την Επίδραση της θερμοκρασίας, την ποσότητα νιτροποιών βακτηρίων, την παρουσία τοξικών ουσιών. Αντίθετα με την νιτροποίηση στην απονιτροποίηση υπάρχει πληθώρα βακτηρίων που μπορεί να επιτύχει αυτή την διαδικασία. Ένας αριθμός βακτηρίων, όπου συντηρούνται στη διεργασία της ενεργού ιλύος είναι επίσης ικανά για απονιτροποίηση. Οι βιοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την απονιτροποίηση είναι παρόμοιες με αυτές που συμβαίνουν στην αναερόβια αναπνοή με μοναδική εξαίρεση το τελικό δέκτη ηλεκτρονίων (e^-) (Metcalf and Eddy, 2006; Gray, 1990).

1.6.2 Βιολογική απομάκρυνση ενώσεων φωσφόρου

Οι ενώσεις φωσφόρου στα απόβλητα προέρχονται από μια ομάδα πηγών που περιλαμβάνουν ανθρώπινα απόβλητα και ζώων. Επίσης μπορεί να προέρχονται από οικιακά και βιομηχανικά απορρυπαντικά καθώς και από απόβλητα βιομηχανιών επεξεργασίας βιολογικών υλικών όπως τα τρόφιμα. Ο φωσφόρος στα υγρά απόβλητα παρουσιάζεται με τρεις διαφορετικές μορφές: ορθοφωσφορικά, πολυφωσφορικά και οργανικός φώσφορος. Περίπου το 25% του ολικού φωσφόρου στα απόβλητα εμφανίζεται με τη μορφή ορθοφωσφορικών, όπως PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- και H_3PO_4 (Gray, 1990).

Η απομάκρυνση του φωσφόρου επιτυγχάνεται είτε χημικά, είτε βιολογικά. Η χημική απομάκρυνση γίνεται με τη χρήση χημικών ενώσεων του αργιλίου, του ασβεστίου και του σιδήρου. Η βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου επιτυγχάνεται με τη χρήση αναερόβιων αντιδραστήρων στην αρχή της βιολογικής επεξεργασίας. Η ακολουθία

αναερόβιων- αερόβιων συνθηκών υποβοηθά την ανάπτυξη αερόβιων βακτηρίων (πολυφωσφορικά βακτήρια) που αποθηκεύουν ενδοκυτταρικά φώσφορο σε ποσοστό υψηλότερο από αυτό που είναι απαραίτητο για ανάπτυξη (2-5 φορές περισσότερο) (Gray, 1990).

1.7 Συνθετικές Οργανικές Ενώσεις

1.7.1 Παρουσία τους σε μονάδες ενεργού ιλύος

Οι περισσότερες από τις οργανικές ενώσεις στα αστικά και σε μερικά βιομηχανικά απόβλητα έχουν φυσική προέλευση και μπορούν να αποδομηθούν από συνηθισμένα βακτήρια σε αερόβιες ή αναερόβιες διεργασίες. Ωστόσο, σήμερα υπάρχουν πάνω από 70.000 συνθετικά οργανικά χημικά που ονομάζονται ξενοβιοτικές ενώσεις (Schwarzenbach et al., 1993). Στις ξενοβιοτικές ενώσεις ανήκουν ενώσεις όπως φαινόλες, αλειφατικοί, πολυκυκλικοί και χλωριωμένοι αρωματικοί υδρογονάνθρακες με προέλευση από φαρμακευτικές και χημικές βιομηχανίες, από διυλιστήρια, καθώς και από προϊόντα καθημερινής χρήσης (π.χ. καλλυντικά).

Στα συστήματα βιολογικής επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, το βασικό μέρος των τοξικών ουσιών που ανιχνεύονται συνήθως είναι οι συνθετικές οργανικές ενώσεις (SOCs) και τα βαρέα μέταλλα. Μερικές από τις συνθετικές οργανικές ενώσεις δημιουργούν πιθανή τοξικότητα στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία (Metcalf and Eddy, 2006). Όπως είναι προφανές χρειάζεται η άμεση απομάκρυνση τους και οι κύριοι μηχανισμοί απομάκρυνσης των SOCs από το σύστημα Ενεργού Ιλύος είναι η πτητικοποίηση, η προσρόφηση στη βιομάζα και η βιοαποδόμηση (Grady and Magbanua, 1998).

1.7.2 Συμπεριφορά Συνθετικών οργανικών ενώσεων στην ενεργό ιλύ

Οι κύριοι μηχανισμοί απομάκρυνσης των οργανικών ενώσεων στο σύστημα της ενεργού ιλύος αφορούν την προσρόφηση, την πτητικοποίηση, τη φωτοδιάσπαση και τη βιοαποδόμηση. Οι περισσότερες τοξικές ουσίες που εισέρχονται σε μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων απομακρύνονται κυρίως με αβιοτικό τρόπο και ειδικότερα μέσω προσρόφησης ή πτητικοποίησης.

1.7.2.1 Προσρόφηση

Η προσρόφηση είναι μια διαδικασία συσσώρευσης ουσιών. Η προσρόφηση στα ανόργανα στερεά είναι ένας σημαντικός μηχανισμός αφαίρεσης των συνθετικών οργανικών ενώσεων, καθώς αντίστοιχα η προσρόφηση στο κυτταρικό υλικό αποτελεί συνήθως το πρώτο στάδιο της βιολογικής αποδόμησης αυτών των ουσιών. Η απορρόφηση μιας συνθετικής οργανικής ένωσης στη βιομάζα είναι μια σύνθετη διαδικασία, που περιλαμβάνει την προσρόφησης της στην επιφάνεια από τα στερεά και την απορρόφησης της σε κυτταρικά συστατικά και συγκεκριμένα στα λιπίδια. Επειδή ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι ιδιαίτερα γνωστός, χρησιμοποιείται συνήθως η έννοια της προσρόφησης για να περιγραφεί το φαινόμενο αυτό (Grady and Magbanua, 1998).

Κατά τη διάρκεια της πρωτοβάθμιας επεξεργασίας οι οργανικές ενώσεις προσροφώνται στα στερεά των ανεπεξέργαστων υγρών αποβλήτων, ενώ κατά τη διάρκεια της δευτερογενούς επεξεργασίας στην ενεργό ιλύ (Birkett and Lester, 2003).

Η διαδικασία της προσρόφησης γίνεται σε τέσσερα στάδια: 1) μεταφορά στη μάζα του υγρού, 2) μεταφορά με διάχυση στο επιφανειακό στρώμα, 3) μεταφορά στους πόρους 4) προσρόφηση. Η προσρόφηση λοιπόν, αφορά την επαφή του υλικού που πρόκειται να προσροφηθεί με το προσροφητικό υλικό. Μπορεί να γίνει στην εξωτερική επιφάνεια του προσροφητικού υλικού και στην εσωτερική επιφάνεια των πόρων, στους μακροπόρους, στους μεσοπόρους, στους μικροπόρους και στους υπομικροπόρους. Οι προσροφητικές δυνάμεις είναι: φορτία ανόμοιων ηλεκτροστατικών δυνάμεων, σημειακά φορτία, αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου, σημειακά φορτία ουδέτερων ειδών, δυνάμεις London ή Van der Waals, ομοιοπολικοί δεσμοί και δεσμοί υδρογόνου (Metcalf and Eddy, 2006).

Οι παράμετροι του συστήματος της ενεργού ιλύος που επιδρούν στην προσρόφηση είναι οι εξής :

- η ηλικία ιλύος (Η υψηλή ηλικία ιλύος αυξάνει την προσρόφηση λόγω της υψηλής συγκέντρωσης των αιωρούμενων στερεών στο μικτό υγρό και μείωση της απώλειας ιλύος από το σύστημα (Birket and Lester, 2003))
- ο τύπος επεξεργασίας
- οι συγκεντρώσεις στην είσοδο της μονάδας
- οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών και,

- ο υδραυλικός χρόνος παραμονής
- το pH (Τα περισσότερα συστήματα ενεργού υλός λειτουργούν σε ουδέτερο pH, αν και κάποιοι αερόβιοι οργανισμοί είναι πιο αποδοτικοί σε όξινο ή αλκαλικό περιβάλλον)

Η εξίσωση Freundlich αποτελεί μία εμπειρική εξίσωση που περιγράφει την προσρόφηση σε μία ετερογενή επιφάνεια, θεωρώντας ότι οι θέσεις προσρόφησης δεν είναι ισοδύναμες και / ή ανεξάρτητες :

$$q_e = K_F * C_e^{1/n} \quad (1.9)$$

Όπου, q_e = η ποσότητα της ουσίας που προσροφήθηκε ανά μονάδα βάρους του προσροφητικού μέσου στην κατάσταση ισορροπίας (mg / g)
 C_e = η υπολειμματική συγκέντρωση της ουσίας στο διάλυμα στην κατάσταση ισορροπίας (mg / l)
 K_F = σταθερά που συνδέεται με την ικανότητα προσρόφησης της ουσίας στο προσροφητικό μέσο ($(\text{mg g}^{-1} (\text{mg/L})^n)$)
 $1/n$ = σταθερά που συνδέεται με την τάση προσρόφησης της ουσίας στο προσροφητικό μέσο (Metcalf and Eddy, 2006).

Εκτός από τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν παραπάνω, υπάρχουν και κάποιες άλλες παράμετροι που επηρεάζουν την διαδικασία της προσρόφησης. Όπως, η ύπαρξη του συντελεστή K_{ow} και του συντελεστή K_{oc} . Ο συντελεστής K_{ow} είναι η αναλογία της συγκέντρωσης μιας οργανικής ουσίας μεταξύ του οργανικού διαλύτη και του νερού και πρόκειται για μια φυσική ιδιότητα που σχετίζεται πολύ καλά με τη βιολογική δραστηριότητα. Πρόκειται για δείκτη που μας δείχνει καλύτερα την προσρόφηση από τους μικροοργανισμούς σε αντίθεση με την διαλυτότητα. Οι τιμές του λογαρίθμου K_{ow} αυξάνονται με την αύξηση της λιποφιλικότητας, ενώ αντίστροφα μειώνονται με την αύξηση της διαλυτότητας. Μεγάλες τιμές του λογαρίθμου είναι χαρακτηριστικές για τις υδρόφοβες ενώσεις που συνήθως ενώνονται με το στερεό οργανικό υλικό. Ο συντελεστής K_{oc} καθορίζει και αυτός την προσρόφηση. Πρόκειται για την αναλογία της συγκέντρωσης μιας οργανικής ουσίας μεταξύ του οργανικού άνθρακα (mg/g) και του νερού (mg/l) και μπορεί να εκτιμηθεί από τις τιμές του K_{ow}

ή τη διαλυτότητα (ενώσεις με υψηλή τιμή του λογαρίθμου K_{oc} , προσροφώνται στην Ενεργό Ιλύ, ενώ ενώσεις με χαμηλή τιμή τείνουν να παραμένουν στην υγρή φάση) (Grady and Magbanua, 1998).

1.7.2.2 Πτητικοποίηση

Η απελευθέρωση στην ατμόσφαιρα των πτητικών οργανικών ενώσεων από την επιφάνεια των λυμάτων γίνεται με την πτητικοποίηση. Οι πτητικές οργανικές ενώσεις μεταφέρονται από την υγρή φάση στην αέρια έως ότου επιτευχθεί συγκέντρωση ισορροπίας (Metcalf & Eddy, 2006). Το ποσοστό απομάκρυνσης των οργανικών ενώσεων από την μια φάση στην άλλη περιγράφεται από την παρακάτω εξίσωση :

$$.r_{sv} = -K_L * \alpha_s * (S) \quad (1.10)$$

Όπου, r_{sv} = απώλεια λόγω της πτητικοποίησης, mg/l·d

$K_L \alpha_s$ = $K_L \alpha$ της οργανικής ένωσης, d⁻¹

S = η συγκέντρωση της οργανικής ένωσης στην υγρή φάση, mg/l

Οι ενώσεις οι οποίες έχουν μικρά μοριακά βάρη, μη πολικές ενώσεις με χαμηλές τιμές διαλυτότητας στο νερό και ενώσεις με χαμηλές θερμοκρασίες εξάτμισης, είναι οι ενώσεις οι οποίες είναι ευάλωτες στην πτητικοποίηση κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με τη μέθοδο της ενεργού ιλύος.

Ο μέγιστος ρυθμός πτητικοποίησης παρουσιάζεται σε ουσίες όπου η τιμή του $\log K_{ow}$ είναι περίπου ίσο με 2. Σε τιμές μικρότερες από 2 αυξάνεται η διαλυτότητα στο νερό με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η πτητικότητα των ουσιών. Επίσης, ενώσεις που η τιμή της σταθεράς του Henry (H_c) είναι μεγαλύτερη από 10^{-3} m³/mol εξατμίζονται εύκολα. Τέλος, όταν η αναλογία H_c/K_{ow} είναι μεγαλύτερη από 1×10^{-9} υπάρχει μεγάλη πιθανότητα για εξάτμιση των ουσιών ενώ όταν είναι μικρότερη από 1×10^{-9} η πιθανότητα είναι μικρή (Birkett and Lester, 2003).

1.7.2.3 Βιοαποδόμηση

Υπάρχουν τρεις κύριοι τύποι αποδόμησης που έχουν παρατηρηθεί είναι: 1) η ένωση χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα αύξησης, 2) η οργανική ένωση παρέχει έναν αποδέκτη ηλεκτρονίων και 3) η οργανική ένωση αποδομείται μέσω της συν-μεταβολικής αποδόμησης (Metcalf and Eddy, 2006).

Η βιοαποδόμηση εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως οι περιβαλλοντικές συνθήκες και οι δομές των ενώσεων. Όσον αφορά στις δομές, το μοριακό βάρος και το μέγεθος μπορούν να περιορίσουν την ενεργό μεταφορά. Από την άλλη όσον αφορά στις περιβαλλοντικές συνθήκες το διαλυτό οξυγόνο επηρεάζει τα ένζυμα που απαιτούν, η θερμοκρασία επηρεάζει τα επίπεδα που δρουν οι μικροοργανισμοί, τα στενά εύρη pH ευνοούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, το φως αποτελεί σημαντικό παράγοντα των φωτοχημικών αντιδράσεων, ενώ τα θρεπτικά και τα ιχνοστοιχεία στις σωστές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητα για τους μικροοργανισμούς.

Αυτό που ισχύει γενικά στη βιοαποδόμηση είναι ότι τα μόρια με πολλές διακλαδισμένες αλυσίδες υδρογονανθράκων βιοαποδομούνται σε μικρότερο ποσοστό σε αντίθεση με μόρια που δεν έχουν διακλαδώσεις. Επίσης, ενώσεις με μικρές αλυσίδες δεν αποδομούνται τόσο γρήγορα όσο αυτές με μεγαλύτερες. Επιπλέον υπάρχουν υποκαταστάτες (ομάδες αλογόνων, σουλφόνες, ομάδες μεθοξειδίων, νιτροομάδες) σε κάποιες ενώσεις που τις κάνουν να αντιστέκονται στην αποδόμηση.

Όπως ισχύει και στη προσρόφηση, οι μεγάλοι υδραυλικοί χρόνοι παραμονής (HRT) βοηθούν ώστε να γίνεται μεγαλύτερη αποδόμηση των ουσιών. Όσον αφορά στον χρόνο παρακράτησης ύψος εάν είναι μεγάλος, μπορεί να επηρεάσει τους μικροοργανισμούς και κατά συνέπεια τη φύση των συσσωματωμάτων που σχηματίζουν, επηρεάζοντας την ικανότητα τους να προσροφούν. Εάν είναι μικρός, οι μικροοργανισμοί που έχουν χαμηλούς ρυθμούς αύξησης κινδυνεύουν να αποβληθούν από το σύστημα προτού ξεκινήσει η διαδικασία της αποδόμησης (Birkett and Lester, 2003).

Μερικές φορές μια ένωση μπορεί να ανοργανοποιηθεί σε ένα περιβάλλον αλλά μόνο σ' έναν διαφορετικό τόπο ή ακόμα και αγνοώντας τα αποτελέσματα θερμοκρασίας, στη μια εποχή αλλά όχι στην άλλη εποχή του χρόνου. Τις περισσότερες φορές, οι λόγοι για το σποραδικό ή μη καθολικό περιστατικό μιας ακολουθίας βιοδιάσπασης, είναι άγνωστοι.

Κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες είναι οι παρακάτω :

- Αβιοτικοί παράγοντες (θερμοκρασία, pH κλπ.)

- Προσφορά θρεπτικών (άζωτο, φώσφορος, κάλιο, μαγνήσιο κλπ.)
- Πολλαπλά υποστρώματα
- Συνεργισμός (η ταυτόχρονη δράση δύο ή και περισσότερων διαφορετικών συντελεστών, που εργάζονται μαζί για να φέρουν το μεγαλύτερο δυνατό ομαδικό αποτέλεσμα της ατομικής τους προσπάθειας)
- Παρασιτικοί οργανισμοί (βακτήρια-μύκητες)
- Αναερόβια βιοδιάσπαση

1.8 Μέθοδοι τριτοβάθμιας επεξεργασίας

Οι κλασικές φυσικοχημικές μέθοδοι αντιμετώπισης της ρύπανσης του νερού και του αέρα, όπως η καθίζηση, η διήθηση, η προσρόφηση κ.τ.λ. από μόνες τους δεν κρίνονται ικανοποιητικές, διότι κατά μεγάλο μέρος κάνουν απλά μεταφορά του προβλήματος από την μία φάση στην άλλη. Για αυτό το λόγο στην αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων από τις ήδη υπάρχουσες και πιο φιλικών προς το περιβάλλον (καθαρές τεχνολογίες), όπου είναι τεχνολογίες οι οποίες στηρίζονται στην χρήση μεθόδων ή μέσων. Η ραγδαία ανάπτυξή τους την τελευταία δεκαετία οφείλεται, αφενός στην ικανότητά τους να αδρανοποιούν τις πλέον βλαβερές/τοξικές και μη βιοαποικοδομήσιμες οργανικές ουσίες που συναντώνται στην υγρή και αέρια φάση, και αφετέρου στους ολοένα και πιο αυστηρούς περιβαλλοντικούς νόμους που θέτονται σε εφαρμογή.

Κάποιες από τις εφαρμογές τις τριτοβάθμιας επεξεργασίας των αποβλήτων παρουσιάζονται παρακάτω:

1.8.1 Οζόνωση

Η χρησιμοποίηση του όζοντος στην επεξεργασία του πόσιμου νερού χρονολογείται από το 1906 (Νίκαια, Γαλλία). Εξαιτίας της ισχυρής οξειδωτικής του ικανότητας, το όζον χρησιμοποιείται τόσο για την επεξεργασία του πόσιμου νερού, όσο και για την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Ειδικότερα, βρίσκει εφαρμογή ως απολυμαντικό, στην απομάκρυνση ιόντων μαγνησίου και σιδήρου, στον αποχρωματισμό καθώς και στη βελτίωση της γεύσης και της οσμής του πόσιμου

νερού. Τελευταία, διαπιστώθηκε ότι με την οζονόλυση αυξάνεται η κροκίδωση των σωματιδίων που βρίσκονται σε διασπορά στα επιφανειακά νερά και στα υγρά απόβλητα.

Η παραγωγή του όζοντος αποτελεί μια διεργασία ιδιαίτερα απαιτητική σε ενέργεια, σε σημείο που να αποτελεί το 50% και πλέον του συνολικού κόστους επεξεργασίας των λυμάτων ή του πόσιμου νερού. Το γεγονός αυτό οδήγησε, τα τελευταία χρόνια, στην υιοθέτηση νέων μεθόδων, που εκμεταλλεύονται τη συνεργιστική δράση του όζοντος με την υπεριώδη (O_3/UV) ακτινοβολία, το υπεροξείδιο του υδρογόνου (O_3/H_2O_2), και διάφορους καταλύτες (καταλυτική οζόνωση), καθώς και την οζόνωση παρουσία δέσμης ηλεκτρονίων.

1.8.2 Διεργασίες διαχωρισμού με μεμβράνες στον καθαρισμό και την επαναχρησιμοποίηση του νερού και των υγρών αποβλήτων

Ο διαχωρισμός των στερεών σωματιδίων ή των διαλυτών ουσιών από το μέσο στο οποίο βρίσκονται (διαλύτης), επιτυγχάνεται με την χρήση πίεσης και ειδικά κατασκευασμένων ημιδιαπερατών μεμβρανών, οι οποίες, ανάλογα με το μέγεθος των πόρων που διαθέτουν, επιτρέπουν επιλεκτικά σε ορισμένες κατηγορίες μορίων να διέλθουν μέσα από αυτές. Όσο μικραίνει το μέγεθος των πόρων των μεμβρανών τόσο αυξάνεται η απαιτούμενη πίεση για να διέλθουν τα μόρια. Υπάρχουν 4 κύριες διεργασίες διαχωρισμού με μεμβράνες:

- η μικροδιήθηση (microfiltration),
- η υπερδιήθηση (ultrafiltration),
- η νανοδιήθηση (nanofiltration) και
- η αντίστροφη όσμωση (reverse osmosis).

Η χρήση μεμβρανών σε μεθόδους διαχωρισμού αυξάνει καθημερινά αφού η εξέλιξη της τεχνολογίας επιτρέπει την κατασκευή μεμβρανών με μικρότερα μεγέθη και δίνει την δυνατότητα στην αξιοποίηση παραπροϊόντων. Υπάρχει λοιπόν η ευκαιρία το υψηλό οργανικό φορτίο των υγρών αποβλήτων να μειωθεί και χρήσιμα συστατικά να απομονωθούν.

1.8.3 Χρήση οξειδωτικών μέσων

Από πρόσφατες μελέτες έχει διαπιστωθεί πως η αντιμετώπιση διαφόρων οργανικών ουσιών με χρήση οξειδωτικών εφαρμογών είναι σχετικά αποτελεσματικές. Συμπεριλαμβανομένων των αντιδράσεων με χλώριο, διοξείδιο του χλωρίου, του όζοντος, σιδήρου, και UV-TiO₂ είναι σχετικά καλές μέθοδοι ως προς την απομάκρυνση των οργανικών ουσιών αλλά υπάρχει το πρόβλημα της δημιουργίας διαφόρων παραπροϊόντων και πολλές φορές περισσότερο τοξικών από τις μητρικές ενώσεις. Όμως, μέχρι σήμερα υπάρχει περιορισμένη γνώση σχετικά με την αντιμετώπιση των αντιβιοτικών με υπερμαγγανικό, [MnO⁴⁻, Mn(VII)], έναν οξειδωτικό παράγοντα που χρησιμοποιείται συνήθως για να αποβάλλει τη γεύση και τα προβλήματα οσμών από το νερό. Ο διαλυμένος σίδηρος και το μαγγάνιο αποτελούν υποσχόμενες τεχνολογίες αντιρύπανσης. Το Mn(VII) είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό που αντιδρά εκλεκτικά με οργανικές χημικές ουσίες που είναι πλούσιες σε ηλεκτρόνια, συμπεριλαμβανομένων των φαινολικών, ολεφινών, αμινοξέα, θειόλης, αιθέρα, αλδεΐδες, κετόνες και άλλες ομάδες. Επιπλέον, σε αντίθεση με το χλώριο, αντιδράσεις με Mn(VII), δεν παράγουν υποπροϊόντα αλογονωμένα.

Ωστόσο, μέχρι σήμερα λίγες πληροφορίες είναι διαθέσιμες σχετικά με τις αντιδράσεις Mn(VII), με σημαντικές κατηγορίες των αντιβιοτικών. Από ολιγάριθμες πρόσφατες μελέτες διαπιστώθηκε πως είναι αποτελεσματική μέθοδος και στην αντιμετώπιση των αντιβιοτικών, αν και θα πρέπει να επαληθευτούν και να πραγματοποιηθούν για μια μεγάλη γκάμα αντιβιοτικών ενώσεων.

1.8.4 Χρήση ενεργού άνθρακα και νανοσωλήνων άνθρακα

Τα σπουδαιότερα προσροφητικά μέσα είναι ο ενεργός άνθρακας, τα συνθετικά πολυμερή και κάποια προσροφητικά μέσα που βασίζονται στο πυρίτιο. Τα δύο τελευταία είναι ακριβά υλικά και σπάνια χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Ο ενεργός άνθρακας απομακρύνει αποτελεσματικά τα διαλυμένα οργανικά συστατικά ακόμα και όταν αυτά βρίσκονται στα απόβλητα σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η απομάκρυνση αυτή γίνεται με το μηχανισμό της προσρόφησης. Οι οργανικές ουσίες προσροφώνται στη μεγάλη ειδική επιφάνεια του άνθρακα ενώ,

παράλληλα η βιολογική αποδόμηση ανοίγει ξανά τους πόρους και τις διόδους μεταξύ των κόκκων.

Ο ενεργός άνθρακας παράγεται από ποικίλες οργανικές πρώτες ύλες (ύλες με υψηλή περιεκτικότητα σε άνθρακα), όπως ξύλο, λιγνίτη κ.ά. Η πρώτη ύλη απανθρακώνεται απουσία αέρα στους 650 °C περίπου ή οξειδώνεται με κατάλληλους ατμούς και αέρια, όπως ο υδρατμός και το διοξείδιο του άνθρακα, στους 850 οC περίπου. Με τη θερμική επεξεργασία ο άνθρακας αποκτά πόρους με πολύ μεγάλη ειδική επιφάνεια (800-1200 m²/g). Στην επιφάνεια αυτή μπορεί να γίνει προσρόφηση των διαλυμένων οργανικών ουσιών οι οποίες υπάρχουν στα υγρά απόβλητα. Υπάρχουν δύο είδη ενεργού άνθρακα, ο κοκκοποιημένος (Granular Activated Carbon GAC) και ο κονιορτοποιημένος (Powdered Activated Carbon PAC).

Οι ερευνητές προτείνουν ότι οι νανοσωλήνες άνθρακα θα μπορούσαν να παρέχουν ένα σημαντικό πλεονέκτημα σε σχέση με τις τρέχουσες τεχνολογίες καθώς οι μοναδικές ιδιότητες των νανοσωλήνων άνθρακα επιτρέπουν στα μόρια του νερού να περάσουν στο εσωτερικό των κυλίνδρων (οι νανοσωλήνες) και να δεσμευθούν. Επιπλέον, πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι οι νανοσωλήνες άνθρακα έχουν μια ισχυρή ικανότητα να απορροφούν πολλά είδη των χημικών ενώσεων και μικροβιακών προσμείξεων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Αναδυόμενοι ρύποι – Η περίπτωση των αντιβιοτικών

2. Αναδυόμενοι ρύποι – Η περίπτωση των αντιβιοτικών

Τις τελευταίες δεκαετίες, το επίκεντρο των περιβαλλοντικών ερευνών έχει επεκταθεί πέρα από τους κλασσικούς ρύπους (φυτοφάρμακα, διοξίνες, PCBs κλπ.), σε μικρορυπαντές επονομαζόμενους ως *αναδυόμενοι ρύποι (Priority Pollutants)* (Homem and Santos, 2011). Τον Φεβρουάριο του 2006 θεσμοθετήθηκε η Οδηγία 2006/11/EC η οποία αναφέρεται στη ρύπανση που προκαλείται από ορισμένες επικίνδυνες ουσίες που απορρίπτονται στο υδάτινο περιβάλλον της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τα κράτη μέλη έχουν υποχρέωση να προστατεύουν το υδάτινο περιβάλλον από ορισμένες έμμονες, τοξικές και βιοσυσσωρεύσιμες ουσίες. Μεταξύ αυτών των ουσιών μια μεγάλη κατηγορία ενώσεων είναι τα *φαρμακευτικά προϊόντα* τα οποία ελέγχουν και καταπολεμούν ασθένειες του ανθρώπου και των ζώων, όμως δεν περιλαμβάνονται μέχρι σήμερα μέσα στην Οδηγία. Αν και οι δράσεις τους έχουν μελετηθεί και διερευνούνται συνεχώς για την ασφάλειά τους με τοξικολογικές έρευνες, οι πιθανές περιβαλλοντικές τους επιπτώσεις τόσο κατά τη βιομηχανική τους παραγωγή όσο και μετά τη χρήση τους δεν είναι απόλυτα σαφείς και διευκρινισμένες. Αρκετές κατηγορίες φαρμάκων έχουν μελετηθεί και η αιτία του μεγάλου ερευνητικού ενδιαφέροντος είναι οι δυσμενείς επιπτώσεις που προκαλούν σε ποικίλους οργανισμούς του ευρύτερου περιβάλλοντος και ιδιαίτερα στο υδάτινο περιβάλλον. Κάποιες φαρμακευτικές ουσίες μπορούν να προκαλέσουν δυσμενείς επιπτώσεις σε όλα ή σε περισσότερα επίπεδα των υδάτινων οργανισμών, σε συγκεντρώσεις κατά πολύ χαμηλότερες από εκείνες που συνήθως χρησιμοποιούνται στις πειραματικές δοκιμές ασφάλειας και αποτελεσματικότητας. Ακόμα, τα προϊόντα μέσω του μεταβολισμού, αλλά και ο συνδυασμός τους με άλλες βιολογικά δραστικές ουσίες ενδέχεται να προκαλέσουν απρόβλεπτες περιβαλλοντικές διαταραχές (Le-Minh et al., 2010; Oulton et al., 2010; Homem and Santos, 2011; Zhang and Li, 2011).

Τα *αντιβιοτικά* ή *αντιμικροβιακές ενώσεις* ανήκουν σε μια από τις πιο σημαντικές κατηγορίες των φαρμακευτικών προϊόντων. Είναι ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούνται εξίσου στην ανθρώπινη και κτηνιατρική ιατρική, με αποτέλεσμα την συνεχή εισροή και παραμονή τους στο περιβάλλον. Ο όρος «αντιβιοτικό» που έχει επικρατήσει μέχρι σήμερα, αφορά σε φυσικά παράγωγα διαφόρων μικροοργανισμών (βακτηριδίων, μυκήτων), τα οποία έχουν τη δυνατότητα να αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών και να τους καταστρέφουν. Με την παραγωγή ημισυνθετικών παραγώγων ο όρος αντιβιοτικό έχει αντικατασταθεί από τον περιεκτικότερο όρο

«αντιμικροβιακά» που περιλαμβάνει φυσικές, ημισυνθετικές ή συνθετικές ουσίες ικανές να αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των μικροβίων και να τα καταστρέφουν. Η παρουσία των αντιβιοτικών ευρύτερα στα οικοσυστήματα είναι γνωστή περίπου εδώ και 30 χρόνια. Η χρήση τους όμως αυξήθηκε ραγδαία περί τα μέσα της δεκαετίας του 1990. Η ανάπτυξη νέων αναλυτικών τεχνολογιών μέτρησης αυτών των ουσιών σε συνδυασμό με την αυξημένη χρήση τους και την παραμονή τους στο περιβάλλον, κατέστησε τα αντιβιοτικά αναδυόμενους ρύπους (Segura et al., 2009; Homem and Santos, 2011; Zhang and Li, 2011).

Χρήση των αντιβιοτικών γίνεται από τους ανθρώπους, τα ζώα, σε καλλιεργούμενες εδαφικές εκτάσεις καθώς και σε υδατοκαλλιέργειες. Οι συγκεκριμένες ενώσεις παρουσιάζουν σημαντικό ερευνητικό ενδιαφέρον τόσο εξαιτίας των φυσικοχημικών όσο και των τοξικολογικών ιδιοτήτων. Μεταξύ των οδών μεταφοράς των αντιμικροβιακών ενώσεων στο περιβάλλον, τα υγρά και στερεά απόβλητα θεωρούνται ως ένας από τους σημαντικότερους καθώς εισάγονται απευθείας μέσω των ούρων και των κοπράνων. Σημαντική είναι επίσης η απευθείας εισαγωγή τους στο χερσαίο και υδάτινο περιβάλλον, από τις εκκενώσεις των ζώων, τις γεωργικές καλλιέργειες και τις υδατοκαλλιέργειες (Klaus, 2009a; Segura et al., 2009).

Κατάλοιπα ανθρώπινων και κτηνιατρικών αντιμικροβιακών ουσιών εντοπίζονται σε πολλά και διαφορετικά υποστρώματα του περιβάλλοντος, το οποίο τα καθιστά ικανά να προκαλέσουν κάποιο περιβαλλοντικό ρίσκο σε υδρόβιους και εδάφιους οργανισμούς. Επίσης, παρά το γεγονός των σχετικά χαμηλών επιπέδων συγκέντρωσης όπου ανιχνεύονται, δεν παύει να τις κάνει ανθεκτικές σε αρκετούς μικροβιακούς πληθυσμούς. Η ανθεκτικότητα των μικροβίων στα αντιβιοτικά, θα έχει ως αποτέλεσμα στο μέλλον οι αντιμικροβιακές ενώσεις να μην είναι αποτελεσματικές σε οποιαδήποτε κοινή ασθένεια (Klaus, 2009a, 2009b, 2009c).

2.1 Χρήσεις – Πηγές αντιβιοτικών στο περιβάλλον

Οι αντιμικροβιακές ουσίες χρησιμοποιούνται για ιατρικούς σκοπούς αλλά και στην κτηνιατρική. Τα τελευταία χρόνια η χρήση τους έχει γίνει ανεξέλεγκτη με αποτέλεσμα να εισέρχονται στο περιβάλλον μέσω διαφόρων οδών και να το μολύνουν με την παραμονή τους σε αυτό. Οι σημαντικότερες πηγές των αντιβιοτικών για το υδάτινο περιβάλλον είναι τα σπίτια, νοσοκομεία, γηροκομεία, τα πουλερικά και κτηνοτροφικές επιχειρήσεις για τη διατροφή των ζώων, η απόρριψη των

αποβλητων από τις φαρμακοβιομηχανίες καθώς και η παράνομη απόρριψη των αχρησιμοποίητων φαρμάκων. Ανάλογα με τις φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές παραμέτρους στον οργανισμό, τα αντιβιοτικά ή οι μεταβολίτες τους αποβάλλονται και την εξάπλωση στο περιβάλλον, μέσω διαφορετικών οδών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα αντιβιοτικά δεν μεταβολίζονται πλήρως στο ανθρώπινο σώμα, με αποτέλεσμα να εισρέουν στα αστικά λύματα σε αμετάβλητη μορφή (Cruz et al., 2003; Klaus, 2009a; Homem and Santos, 2011). Όσον αφορά την Ελλάδα, μέχρι στιγμής, υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία για την εμφάνιση και τις συνέπειες των αντιβιοτικών στο υδάτινο περιβάλλον. Επιπλέον, ακόμη δεν υπάρχει εκτεταμένη ρύθμιση και / ή τις απαιτήσεις που εφαρμόζονται για την εκτίμηση περιβαλλοντικών επιπτώσεων των αντιβιοτικών.

Μετά την ιατρική χρήση τους, μεγάλες ποσότητες αντιβιοτικών εισέρχονται στο υδάτινο σύστημα μέσω των διαδικασιών επεξεργασίας των λυμάτων. Τα αντιβιοτικά ανθρώπινης χρήσης καταλήγουν στο περιβάλλον κατά κύριο λόγο μέσω της απέκκρισης από τους ασθενείς μέσω των ούρων και κοπράνων. Τα αντιβιοτικά μεταβολίζονται στο ανθρώπινο σώμα, σε ποσοστό που κυμαίνονται από 10% έως 90% μέσω του ήπατος (πιο συχνά). Επειδή η πλειοψηφία των αντιβιοτικών δεν μεταβολίζονται πλήρως έχει ως αποτέλεσμα να καταλήγουν σε υψηλά ποσοστά και με αμετάβλητη μορφή στα αστικά λύματα. Τα αντιβιοτικά εισέρχονται στο περιβάλλον είτε με την αρχική τους μορφή είτε ως μεταβολίτες ή προϊόντα βιοαποδόμησης και αποτελούν μια από τις σημαντικότερες πηγές μόλυνσης των υδάτων (Bound and Voulvoulis, 2004; Kim and Aga, 2007; Klaus, 2009a; Escher et al., 2011).

2.2 Κατηγοριοποίηση των αντιβιοτικών

Υπάρχουν πολλές κατηγορίες αντιβιοτικών. Ένας γενικός διαχωρισμός είναι αυτός που τα χωρίζει σε ευρέος φάσματος, που είναι δραστικά σε περισσότερα μικρόβια και στενού φάσματος, που είναι δραστικά σε συγκεκριμένα μικρόβια. Τα αντιβιοτικά νέας γενιάς έχουν ευρύτερο φάσμα δράσεως, έχουν καλύτερη κατανομή στον οργανισμό, δεν είναι τόσο ευάλωτα στις άμυνες των μικροβίων και δεν έχουν «γνωριστεί» μαζί τους αρκετά έτσι ώστε τα μικρόβια να τα παρακάμπτουν (ΕΟΦ, 2007).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι αντιμικροβιακές ενώσεις ανήκουν σε μια από τις μεγαλύτερες κατηγορίες των φαρμακευτικών προϊόντων. Μετά από την ανακάλυψη της πενικιλίνης το 1928 από τον Φλέμινγκ, ο όρος «αντιβιοτικό» χρησιμοποιήθηκε αρχικά για να αναφερθεί μόνο στις ουσίες που εξήχθησαν από έναν μύκητα ή άλλο μικροοργανισμό, αλλά σήμερα περιλαμβάνει επίσης τα πολλά συνθετικά και ημισυνθετικά φάρμακα που έχουν αντιβακτηριακά αποτελέσματα.

Τα αντιβιοτικά ορίζονται ως ενώσεις που εξαλείφουν ή αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών. Ωστόσο, ο όρος «αντιβιοτικό» επεκτάθηκε και για την αντιβακτηριακή, αντιική, αντιμυκητιακή και αντινεοπλασματική δράση του. Οι περισσότερες από αυτές τις ουσίες είναι μικροβιακής προέλευσης, αλλά μπορεί να είναι επίσης ημι-συνθετικές ή πλήρως συνθετικές ενώσεις. Παρακάτω αναφέρονται όλες οι αντιμικροβιακές κατηγορίες ενώσεων που υπάρχουν σύμφωνα με τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ, 2007):

1. Πενικιλίνη G και οξεάντοχες πενικ.
2. Αμπικιλίνη και συναφείς β-λακτάμες
3. Αναστολείς των β-λακταμασών
4. Κεφαλοσπορίνες α' γενιάς
5. Κεφαλοσπορίνες β' γενιάς
6. Κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς
7. Κεφαλοσπορίνες δ' γενιάς
8. Καρμπασεφέμες
9. Μονομπακτάμες
10. Καρπαπενέμες
11. Αμινογλυκοσίδες
12. Μακρολίδια
13. Λινκοζαμίδες
14. Διάφορα άλλα αντιβιοτικά
15. Γλυκοπεπτίδια
16. Τετρακυκλίνες
17. Σουλφοναμίδες
18. Κινολόνες – φλουοροκινολόνες
19. Αντιβιοτικά ουροποιητικού συστήματος
20. Αντιφυματικά φάρμακα

21. Ιμιδαζόλια

Τα αντιβιοτικά όπως αναφέρθηκε μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε αρκετές ομάδες σύμφωνα με διάφορα κριτήρια όπως, το φάσμα δράσης, τον μηχανισμό δράσης ή της χημικής δομής. Οι σημαντικότερες κατηγορίες αντιβιοτικών σύμφωνα με τη χημική τους δομή παρουσιάζονται παρακάτω. Σε κάθε κατηγορία αναφέρεται και το/τα υπό μελέτη αντιβιοτικό/αντιβιοτικά της καθεμιάς, με τα οποία ασχολείται η παρούσα διδακτορική διατριβή.

2.2.1 β-λακτάμες –Υποκατηγορία Κεφαλοσπορίνες (Cephalosporins)

Όλες οι β-λακτάμες έχουν ένα δακτύλιο β-λακτάμης ως βασική τους δομή, ο οποίος είναι υπεύθυνος για την αντιβακτηριακή δράση τους, ενώ οι διαφορετικές πλευρικές τους αλυσίδες είναι το αποτέλεσμα των διαφορετικών φαρμακολογικών ιδιοτήτων μεταξύ των ουσιών της κατηγορίας. Οι β-λακτάμες χωρίζονται σε δυο κατηγορίες τις πενικιλίνες και τις κεφαλοσπορίνες (Cha et al., 2006; Zhang and Li, 2011). Στην υποκατηγορία των κεφαλοσπορινών ανήκει η αντιμικροβιακή ουσία Cefadroxil η οποία και θα διερευνηθεί.

Υπό μελέτη Αντιβιοτικό: Cefadroxil

Cas Number: 66592-87-8

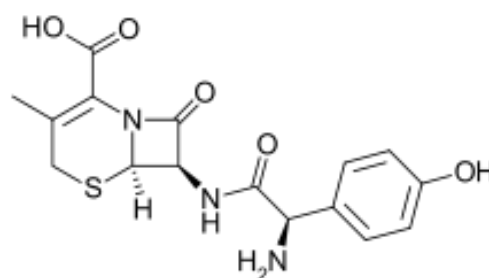
Μοριακός τύπος: C₁₆H₁₇N₃O₅S

Μοριακό βάρος: 363.389

Κατά IUPAC ονομασία:

(6R,7R)-7-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid

Συντακτικός τύπος:



Πηγή: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 88% (Morris Pfeffer et al., 1977)

2.2.2 Σουλφοναμίδες (Sulfonamides)

Οι σουλφοναμίδες ανήκουν σε μια μεγάλη κατηγορία αντιβιοτικών ευρέος φάσματος, οι οποίες χρησιμοποιούνται πολύ συχνά από τις αρχές τις δεκαετίας του 1940. Κατέχουν το 6% της κατανάλωσης αντιβιοτικών στην Ελβετία και το 12% αντίστοιχα στη Κίνα (Zhang and Li, 2011). Τα παράγωγα των σουλφοναμιδίων εφαρμόζονται τόσο στην ιατρική όσο και στην κτηνιατρική ως αντιβακτηρικά φάρμακα. Η δομή τους αντιστοιχεί στις συνθετικά αντιμικροβιακές ουσίες που περιέχουν την ομάδα των σουλφοναμιδίων. Μια τέτοια ουσία πρέπει να έχει ελεύθερη μια αμινομάδα από την μια πλευρά. Διάφορα συμπλέγματα σουλφοναμιδίων με άργυρο (Ag) ή ψευδάργυρο (Zn) χρησιμοποιούνται και ως αντιμυκητιακά. Είναι ουσίες ευρείας χρήσης και συνήθως χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό και με άλλες πιο συνθετικές ουσίες όπως το Trimethoprim. Από την κατηγορία των σουλφοναμιδίων, θα διερευνηθεί η ουσία Sulfamethoxazole, η οποία είναι από της πλέον χρησιμοποιούμενες και κατέχει τις υψηλότερες καταναλώσεις στην κατηγορία της (Zhou and Moore, 1997; Baran et al., 2011).

Υπό μελέτη Αντιβιοτικό: Sulfamethoxazole

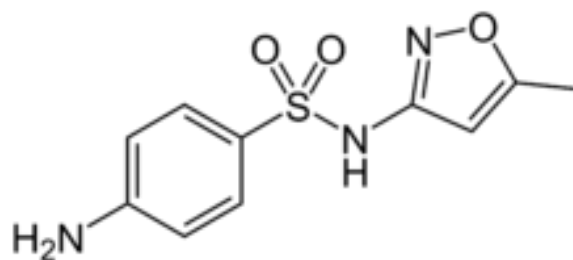
Cas Number: 723-46-6

Μοριακός τύπος: C₁₀H₁₁N₃O₃S

Μοριακό βάρος: 253.279

Κατά IUPAC ονομασία: 4-amino-N-(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)benzenesulfonamide

Συντακτικός τύπος:



Πηγή: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 35 % (T.B. Vree et al., 1978)

2.2.3 Κινολόνες – Υποκατηγορία Φλουοροκινολόνες (Fluoroquinolones)

Οι κινολόνες ανήκουν σε μια κατηγορία αντιβιοτικών ευρέος φάσματος όπου η βασική τους ομάδα είναι η κινολόνη. Οι φλουοροκινολόνες είναι μια υποκατηγορία των κινολόνων που περιέχουν φθόριο και αντικαταστούν τον κεντρικό δακτύλιο. Από τη δεκαετία του 1960, όπου και ανακαλύφθηκε το ναλιδιξικό οξύ, έχουν αναπτυχθεί τέσσερις γενιές αντιβιοτικών που ανήκουν στην ίδια οικογένεια. Αυτή η κατηγορία αντιβιοτικών κατέχει την τέταρτη θέση σε ποσοστό κατανάλωσης και χρήσης για ανθρώπινη φαρμακευτική χρήση αν και δεν θεωρείται ασήμαντη και η συμβολή της λόγω κτηνιατρικής χρήσης (Park et al., 2002; Xiao et al., 2008; Zhang and Li, 2011). Από την κατηγορία των φλουοροκινολόνων θα διερευνηθεί η ουσία Ciprofloxacin όπου είναι και αυτή ουσία εξαιρετικά αυξημένης κατανάλωσης.

Υπό μελέτη Αντιβιοτικό: Ciprofloxacin

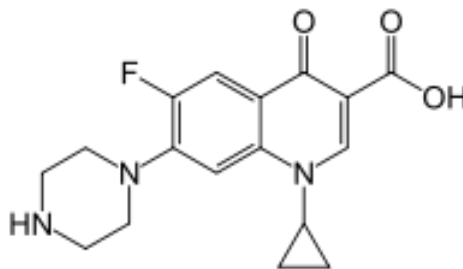
Cas Number: 085721-33-1

Μοριακός τύπος: C₁₇H₁₈FN₃O₃

Μοριακό βάρος: 331.346

Κατά IUPAC ονομασία: 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ylquinoline-3-carboxylic acid

Συντακτικός τύπος:



Πηγή: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 53,1 (Pramod M. Shah, 1991)

2.2.4 Μακρολίδες (Macrolides)

Τα μακρολίδια έχουν ένα δακτύλιο λακτόνης που αντικαθίσταται με υδροξύλια, αλκύλια και ομάδες κετονών, αναστέλλουν την βακτηριακή σύνθεση των πρωτεϊνών και συνήθως χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα της πενικιλίνης. Τα μακρολίδια γνωστά και ως βακτηριοστατικά αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται και ως αντιφλεγμονώδη. Αυτή η κατηγορία ενώσεων είναι ασθενής βάσεις και χαρακτηρίζονται από τις υψηλές μοριακές τους μάζες. Τα μακρολίδια είναι μια από τις σημαντικότερες κατηγορίες των αντιβιοτικών καθώς ανήκουν στις ουσίες με την μεγαλύτερες καταναλώσεις. Από αυτή τη κατηγορία, θα μελετηθούν τρεις μακρολίδες, η Azithromycin, Clarithromycin και η Erythromycin.

Υπό μελέτη Αντιβιοτικό 1: Azithromycin

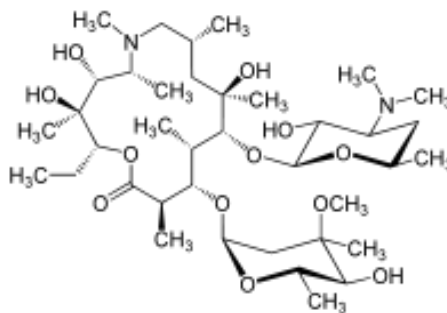
Cas Number: 83905-01-5

Μοριακός τύπος: C₃₈H₇₂N₂O₁₂

Μοριακό βάρος: 748.984

Κατά IUPAC ονομασία: (2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-11-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-2-ethyl-3,4,10-trihydroxy-13-[(2R,4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy-3,5,6,8,10,12,14-heptamethyl-1-oxa-6-azacyclopentadecan-15-one

Συντακτικός τύπος:



Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 49,3 % (D. Davila et al., 1991)

Υπό μελέτη Αντιβιοτικό 2: Clarithromycin

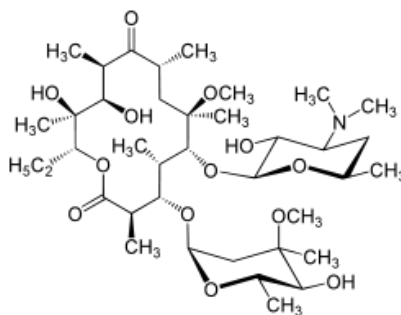
Cas Number: 81103-11-9

Μοριακός τύπος: C₃₈H₆₉NO₁₃

Μοριακό βάρος: 747.953

Κατά IUPAC ονομασία: (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-6-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-14-ethyl-12,13 dihydroxy-4-[(2R,4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy-7-methoxy-3,5,7,9,11, 13-hexamethyl-oxacyclotetradecane-2,10-dione

Συντακτικός τύπος:



Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 35% (A. K. Lee et al., 2004)

Υπό μελέτη Αντιβιοτικό 3: Erythromycin

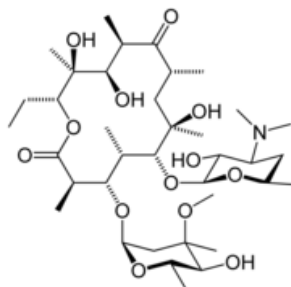
Cas Number: 114-07-8

Μοριακός τύπος: C₃₇H₆₇NO₁₃

Μοριακό βάρος: 733.93

Κατά IUPAC ονομασία: (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-6-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-14-ethyl-7,12, 13-trihydroxy-4-[(2R,4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-methoxy-4, 6-dimethyloxan-2-yl]oxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-oxacyclotetradecane-2, 10-dione

Συντακτικός τύπος:



Πηγή: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 30,2 % (D. Davila et al., 1991)

2.2.5 Τετρακυκλίνες (semi-synthetic Tetracyclines)

Οι τετρακυκλίνες ανήκουν σε μια ομάδα φυσικών και ημι-συνθετικών αντιβιοτικών τα οποία έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την βακτηριακή πρωτεϊνική σύνθεση. Η βασική τους δομή περιέχει τέσσερις συντεταγμένους δακτυλίους και διάφορους υποκαταστάτες στην 5^η, 6^η και 7^η θέση της αλυσίδας τους, σχηματίζοντας έτσι μια σειρά από ανάλογες ουσίες. Συνολικά έχουν αναπτυχθεί οχτώ αντιβιοτικά για ανθρώπινη χρήση αλλά και στην κτηνοτροφία και πτηνοτροφία. Χρησιμοποιούνται για την θεραπεία μικροβιακών λοιμώξεων, λόγω της βακτηριοστατικής τους δραστηριότητας έναντι ενός ευρέος φάσματος παθογόνων οργανισμών. Αρκετές είναι οι μελέτες που έχουν αναφερθεί για ετήσιες καταναλώσεις σε επίπεδα χιλιάδων τόνων σε χώρες της Ευρώπης. Μια από τις πλέον καταναλισκόμενη και υπό μελέτη ένωση αυτής της ομάδας είναι η Doxycycline (Nelson and Ismail, 2007; Zhang and Li, 2011).

Υπό μελέτη Αντιβιοτικό: Doxycycline

Cas Number: 564-25-0

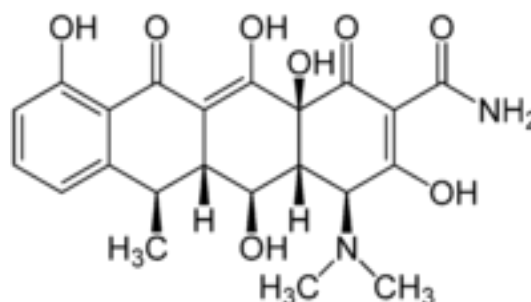
Μοριακός τύπος: C₂₂H₂₄N₂O₈

Μοριακό βάρος: 444.435

Κατά IUPAC ονομασία:

(2Z,4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-2[amino(hydroxy)methylidene]-4-(dimethylamino)-5,10,11,12a-tetrahydroxy-6-methyl-4a,5,5a,6-tetrahydro-4H-tetracene-1,3,12-trione

Συντακτικός τύπος:



Πηγή: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 70 % (Patrick K. Jjemba, 2006)

2.2.6 Άλλα αντιβιοτικά (Other antibiotics)

Αυτή η κατηγορία περιέχει διαφορετικού τύπου αντιβιοτικά τα οποία στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με κάποια αντιμικροβιακή ένωση από τις παραπάνω κατηγορίες. Ένα αντιβιοτικό αυτής της κατηγορίας είναι και το Trimethoprim το οποίο ανήκει και στις υπό μελέτη ουσίες της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Το Trimethoprim είναι από τα πιο χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά και η χρήση του γίνεται σχεδόν αποκλειστικά με το Sulfamethoxazole σε σταθερή αναλογία 1:5. Ο συνδυασμός αυτών των αντιβιοτικών χρησιμοποιείται συνήθως στην βρογχίτιδα, στην πνευμονία αλλά και σε λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος (Zhou and Moore, 1997; Zhang and Li, 2011).

Αντιβιοτικό: Trimethoprim

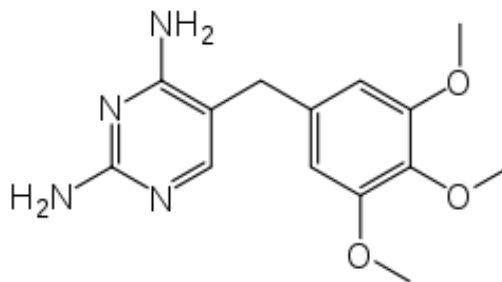
Cas Number: 738-70-5

Μοριακός τύπος: C₁₄H₁₈N₄O₃

Μοριακό βάρος: 290.32

Κατά IUPAC ονομασία: 5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methyl]pyrimidine-2,4-diamine

Συντακτικός τύπος:



Πηγή: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ρυθμός Απέκκρισης μέσω των ούρων ως αμετάβλητη μορφή της ένωσης: 60 % (T.B. Vree et al., 1978)

2.3 Φυσικοχημικές ιδιότητες των αντιβιοτικών

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των οργανικών ουσιών που εισρέουν στο περιβάλλον, όπως ο συντελεστής οκτανόλης νερού ($\text{Log } K_{ow}$), ο συντελεστής κατανομής (K_d), η σταθερά διάστασης (pK_a), η σταθερά του νόμου Henry κλπ., μπορούν να καθορίσουν σε ποιο περιβαλλοντικό διαμέρισμα (αέρας, ύδατα, έδαφος) θα επικεντρωθεί η κάθε ένωση. Ενώσεις με υψηλό K_d υποδηλώνουν ουσίες με τάση να απορροφούνται σε υλικά του εδάφους μέσω της διεργασίας της προσρόφησης. Ο λόγος $\text{Log } K_{ow}$ και το K_d , συμβάλλουν στη μείωση των οργανικών ενώσεων από την υδατική φάση. Επίσης, το pH του μέσου και οι τιμή pK_a μιας ένωσης μπορεί να καθορίσει την ιονισμένη ή μη χημική μορφή της.

Όσον αφορά στις αντιμικροβιακές ουσίες, οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες ποικίλουν ακόμα και αν ανήκουν στην ίδια κατηγορία. Ποικίλουν σε μεγάλο βαθμό ως προς την μοριακή τους δομή και το μοριακό τους βάρος (150 – 1000 g/mol). Οι διαφορετικές λειτουργικές ομάδες που είναι συνδεδεμένες με κάθε ένωση είναι υπεύθυνες για την αντιμικροβιακή τους δράση. Ως προς την ανθεκτικότητα των αντιβιοτικών, κάποιες από τις κύριες ιδιότητες τους είναι, η προσρόφηση σε στερεά συστατικά, η βιοαποδόμηση και η διαλυτότητα τους στο νερό. Ο μηχανισμός της βιοαποδόμησης των ουσιών εξαρτάται από την θερμοκρασία, σε χαμηλές τιμές μειώνεται ο ρυθμός βιοαποδόμησης. Το γεγονός αυτό μπορεί να προκαλέσει συνθήκες έντονης

παραμονής των αντιβιοτικών σε χώρες ψυχρού κλίματος με συνέπεια να απελευθερώνονται συνεχώς στο περιβάλλον.

Η αντιμικροβιακή ομάδα των τετρακυκλίνων περιέχει ουσίες που είναι σταθερές σε όξινο περιβάλλον. Η κατηγορία των σουλφοναμίδων είναι παράγωγα των σουλφανιλαμιδίων οι οποίες έχουν επαμφοτερίζοντες ιδιότητες, ωστόσο συμπεριφέρονται κυρίως σαν ασθενή οξέα, εξαιτίας του δεσμού N-H που έχει η ομάδα των σουλφοναμίδων, έχουν επίσης την τάση να σχηματίζουν άλατα σε ισχυρά όξινα ή βασικά μέσα. Οι μακρολίδες έχουν συνδεδεμένα στο μόριο τους ένα με δυο σάκχαρα, οι οποίες είναι ασθενής βάσεις και χαρακτηρίζονται από τα υψηλά μοριακά τους βάρη. Οι β-λακτάμες είναι θερμικά ασταθείς ενώσεις, με περιορισμένη γενικά σταθερότητα εξαιτίας του δακτυλίου λακτάμης στη δομή τους, Είναι ουσίες ασταθείς στις αλκόολες και ισομερίζονται σε όξινο περιβάλλον. Τέλος, οι κινολόνες είναι λιποδιαλυτές ενώσεις και επιρρεπείς στη αποδόμηση παρουσία υπεριώδους φωτισμού. Είναι ανθεκτικές κατά την όξινη και βασική υδρόλυση αλλά παρουσιάζουν χαμηλή διαλυτότητα στο νερά σε τιμές pH 6-8 (Stepanić et al.; Kümmerer et al., 2000; Park et al., 2002; Thiele - Bruhn, 2003; Cha et al., 2006). Κάποιες από τις φυσικοχημικές ιδιότητες, των υπό μελέτη ουσιών παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Φυσικοχημικές ιδιότητες των αντιμικροβιακών ουσιών

Αντιβιοτικό	LogK _{ow} (25 °C)	Διαλυτότητα στο νερό mg/L (25 °C)	Σημείο τήξης (°C)	Χρόνος ημίσειας ζωής στο νερό (μέρες)
Azithromycin	4,02	0,062	110	180
Cefadroxil	0	1100	330	38
Ciprofloxacin	0,28	30000	320	60
Clarithromycin	3,16	0,34	220	180
Erythromycin	3,06	0,52	190	180
Sulfamethoxazole	0,89	610	170	38
Trimethoprim	0,91	400	201	60
Doxycycline	-0,02	312,9	331,01	60

Πηγή : On-Line EPI Suite™ User's Guide (v 4.0)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

*Βιβλιογραφική Ανασκόπηση – Παρουσία και Απομάκρυνση των
αντιβιοτικών στα ΥΑ*

3. Βιβλιογραφική ανασκόπηση - παρουσία και απομάκρυνση των αντιβιοτικών στα ΥΑ

3.1 Παρουσία των αντιβιοτικών στα Υγρά απόβλητα

Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί η παρουσία των αντιβιοτικών σχεδόν σε όλα τα υποστρώματα του περιβάλλοντος. Η πρώτη αναφορά για την παρουσία των αντιβιοτικών έγινε στην Αγγλία το 1982, όπου εντόπισαν μακρολίδες, τετρακυκλινές και σουλφοναμίδες σε δείγματα νερού από ποτάμι (Sarmah et al., 2006). Έπειτα, έχουν ακολουθήσει πολλές αναφορές για την παρουσία των αντιβιοτικών σε πολλά υδατικά υποστρώματα, όπως τα επιφανειακά νερά, υπόγεια ύδατα, θαλάσσια ύδατα, πόσιμο νερό, επεξεργασμένα υγρά απόβλητα και σε νοσοκομειακά υγρά απόβλητα (Homem and Santos, 2011). Συνήθως, οι αντιμικροβιακές ουσίες ανιχνεύονται σε συγκεντρώσεις στο υδάτινο περιβάλλον που κυμαίνονται μεταξύ μερικών εκατοντάδων ng/l έως μερικών δεκάδων µg/l. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις εντοπίζονται στα νοσοκομειακά υγρά απόβλητα όπως είναι αναμενόμενο (Klaus, 2009c; Le-Minh et al., 2010; Oulton et al., 2010; Escher et al., 2011; Homem and Santos, 2011).

Η συσσώρευση και παραμονή των αντιβιοτικών σε όλα τα υποστρώματα του περιβάλλοντος μπορεί να προκαλέσουν επιβλαβής επιπτώσεις και στα υδατικά και στα χερσαία οικοσυστήματα. Η συνεχόμενη και ανεξέλεγκτη χρήση αυτών των ουσιών προκαλεί την συνεχόμενη εισροή τους στα περιβαλλοντικά υποστρώματα όπου και εξηγεί την βιοσυσσώρευση τους και την ψευδο-παραμονή τους. Η πλειοψηφία των αντιβιοτικών είναι πολύ πολικές και μη πτητικές ουσίες, γεγονός που τις εμποδίζει να «αποδράσουν» από τα διάφορα περιβαλλοντικά υποστρώματα. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες ορίζουν την κατανομή των αντιβιοτικών στα διαφόρα υποστρώματα (στερεά ή υγρά). Κάποιες από αυτές τις ιδιότητες είναι, η μοριακή τους δομή, μέγεθος, σχήμα, διαλυτότητα και υδροφοβικότητα (Hernando et al., 2006; Klaus, 2009b, 2009c). Όλα αυτά έχουν ως αποτέλεσμα την ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά, προκαλώντας σοβαρά προβλήματα στη δημόσια υγεία.

Κατά την βιολογική επεξεργασία των υγρών αποβλήτων οι αντιμικροβιακές ενώσεις εξαιτίας των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους καταλήγουν κατά κύριο λόγο στα υδατικά διαμερίσματα παρά στη λάσπη. Οι αντιμικροβιακές ουσίες που έχουν

μελετηθεί μέχρι σήμερα ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες αντιβιοτικών. Κάποιες από αυτές εντοπίζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις άλλες σε χαμηλότερες (Klaus, 2009a).

Οι περισσότερες μελέτες για την ανίχνευση των αντιβιοτικών, έχουν πραγματοποιηθεί στις αναπτυγμένες χώρες, όπως στην Ευρώπη, την Νότιο Αμερική, την Ανατολική Ασία και την Αυστραλία. Σύμφωνα με αυτές τις μελέτες της τελευταίας δεκαετίας, έξι μεγάλες κατηγορίες αντιβιοτικών (β-λακτάμες, κινολόνες, μακρολίδες, τετρακυκλίνες, σουλφοναμίδες και άλλα αντιβιοτικά) ανιχνεύονται στην είσοδο και την έξοδο από μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων (Watkinson et al., 2007; Klaus, 2009c; Zhang and Li, 2011).

3.1.1 Παρουσία β-λακτάμων –Υποκατηγορία Κεφαλοσπορίνες

Οι β-λακτάμες αν και βρίσκονται σε βαθμό κατανάλωσης στην πρώτη θέση, η παρουσία τους στα υγρά απόβλητα δεν είναι πολύ συχνή εξαιτίας της ασταθής τους δομής. Μια κοινά αποδεκτή ερμηνεία είναι το γεγονός ότι ο δακτύλιος β-λακτάμης είναι πολύ ασταθής και είτε μπορεί να διασπαστεί από β-λακταμάσες, μια ομάδα ενζύμων ευρέως διαδεδομένη στα βακτήρια, είτε να υποστεί χημική υδρόλυση. Για αυτό το λόγο, τα επίπεδα των συγκεντρώσεων από μέρος σε μέρος διαφέρουν πολλές φορές και μια με δυο τάξεις μεγέθους (Watkinson et al., 2007; Klaus, 2009c; Li and Zhang, 2010). Ως προς την υπό μελέτη ουσία Cefadroxil, δεν υπάρχει μέχρι σήμερα καμία μελέτη που να την έχει προσδιορίσει έτσι ώστε να αναφέρει την παρουσία του στα υγρά απόβλητα. Έχουν μελετηθεί όμως άλλες κεφαλοσπορίνες οι οποίες έχουν ανιχνευτεί σε σχετικά χαμηλά επίπεδα (ng/L) (Zhang and Li, 2011).

3.1.2 Παρουσία Σουλφοναμίδων

Τα αντιβιοτικά αυτής της κατηγορίας χρησιμοποιούνται πολλά χρόνια και εξαιτίας της ευρείας χρήσης τους όπως έχει ήδη αναφερθεί, η παρουσία τους στα υγρά απόβλητα είναι αναμενόμενη. Μεταξύ των σουλφοναμίδων το Sulfamethoxale είναι η πιο συχνά ανιχνεύσιμη καθώς και ο μεταβολίτης της N-acetylsulfamethoxazole. Έχουν εντοπιστεί σε μονάδες επεξεργασίας της Ευρώπης, της Βόρεια Αμερικής, της Ανατολικής Ασίας και της Αυστραλίας, μεταξύ των οποίων οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ανιχνευτήκαν στην Ελβετία (1100 ng/L) και στην Βρετανία (2200

ng/L). Σύμφωνα με αρκετές μελέτες αναφέρεται πως ο μεταβολίτης του Sulfamethoxale θεωρείται πιο επικίνδυνος καθώς δύναται να μπορεί να μετατρέπεται ξανά στη αρχική μητρική ένωση (Göbel et al., 2005; Li and Zhang, 2010).

3.1.3 Παρουσία Κινολόνων – Υποκατηγορία Φλουοροκινιλόνης

Η παρουσία των κινολόνων σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων εντοπίζεται σε παγκόσμιο επίπεδο. Για την ακρίβεια έχουν ανιχνευτεί 12 κινολόνες σε σύνολο, εκ των οποίων η Ciprofloxacin ανιχνεύεται με την μεγαλύτερη συγκέντρωση αλλά και σε μεγαλύτερη συχνότητα. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν στην Αυστραλία (4600 ng/L) και στο Χον –Κονγκ (7870 ng/L). Έχει αναφερθεί επίσης από διάφορους ερευνητές ότι και οι κινολόνες είναι ασταθείς σχετικά σαν ενώσεις και παρουσιάζουν τα ίδια περίπου προβλήματα με τις β-λακτάμες, όπως αναφέρθηκε παραπάνω (Watkinson et al., 2007; Xiao et al., 2008; Li and Zhang, 2010).

3.1.4 Παρουσία Μακρολίδων

Σε όλο τον κόσμο έχουν ανιχνευθεί συνολικά 6 αντιβιοτικά από αυτή την κατηγορία και ένας μεταβολίτης. Η Erythromycin είναι εξαιρετικά ασταθής σε ισχυρά όξινες συνθήκες, καθώς μετατρέπεται σε μια μη δραστική μορφή χάνοντας ένα μόριο νερού (H₂O). Αυτό το χαρακτηριστικό της Erythromycin είναι και η βασική της διαφορά με τις άλλες ουσίες της κατηγορίας της. Η μη δραστική μορφή της Erythromycin είναι η κύρια ουσία προς μελέτη στις περισσότερες μελέτες μέχρι σήμερα. Η συχνότητα εμφάνισης της Erythromycin-H₂O είναι περίπου 4 φορές μεγαλύτερη. Αυτά τα χαρακτηριστικά της αστάθειας σε όξινο περιβάλλον δεν το έχουν οι άλλες ενώσεις της κατηγορίας. Συνήθως σε pH μεταξύ 6,5-8, η Erythromycin μπορεί να βρίσκεται τόσο στην αρχική δραστική της μορφή όσο και στη μη δραστική μορφή της τόσο στα εισερχόμενα όσο και στα εξερχόμενα απόβλητα μια μονάδας βιολογικής επεξεργασίας (Le-Minh et al., 2010; Zhang and Li, 2011). Όσο αφορά τις άλλες δυο υπό μελέτη μακρολίδες (Clarithromycin, Azithromycin), η εμφάνιση τους στα υγρά απόβλητα είναι εξίσου πολύ συχνή και με σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις στην είσοδο και στην έξοδο. Η Clarithromycin ειδικότερα, είναι από τις πιο συχνά ανιχνεύσιμες μακρολίδες στις μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων (Le-Minh et al., 2010). Τις υψηλότερες συγκεντρώσεις τις παρουσίασαν στην Κροατία, η

Azithromycin 1149 ng/L και η Clarithromycin 996 ng/L (Göbel et al., 2005; Watkinson et al., 2007; Zhang and Li, 2011).

3.1.5 Παρουσία Τετρακυκλίνων

Σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων σε όλο τον κόσμο έχουν ανιχνευτεί συνολικά 5 τετρακυκλίνες, όπου για την Doxycycline εντοπίστηκε η υψηλότερη συγκέντρωση (2210 ng/L) σε μονάδα της Σουηδίας. Οι τετρακυκλίνες γενικά έχουν συνήθως χαμηλές συγκεντρώσεις στα αστικά λύματα καθώς δεν είναι τόσο ευρεία η χρήση τους στους ανθρώπους (Zhang and Li, 2011).

3.1.6 Παρουσία Trimethoprim

Το Trimethoprim είναι το πιο χρησιμοποιούμενο στην κατηγορία του καθώς και αυτό που ανιχνεύεται κατά κύριο λόγο στα υγρά απόβλητα. Η χρήση του βέβαια σχετίζεται και με την συνδυασμένη του κατανάλωση μαζί με το Sulfamethoxazole. Η παρουσία του στα υγρά απόβλητα κυμαίνεται περίπου μεταξύ των 3000 – 8000 ng/L και έχει ανιχνευθεί σε χώρες της Ευρώπης, στην Αμερική, στο Ηνωμένο Βασίλειο, στην Κίνα, στην Αυστραλία και στο Χον-Κόνγκ (Le-Minh et al., 2010; Zhang and Li, 2011).

3.2 Υπάρχουσες μέθοδοι απομάκρυνσης των αντιβιοτικών

Οι περισσότερες συμβατικές μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων δεν είναι σχεδιασμένες κατάλληλα ώστε να απομακρύνουν τις φαρμακευτικές ουσίες και ειδικότερα τις αντιμικροβιακές που είναι ουσίες υψηλής πολικότητας. Παρόλα αυτά, έχουν βρεθεί κάποιες πρακτικές και σχετικά οικονομικές λύσεις που καταφέρνουν τουλάχιστον να μειώνουν την καθημερινή απόρριψη τους στο περιβάλλον. Εφαρμόζοντας διάφορες φυσικοχημικές μεθόδους ειδικές για οργανικές ενώσεις μπορεί να επιτευχθεί η απομάκρυνση τους. Κάποιες από αυτές είναι η χημική οξειδωση και η βιοαποδόμηση που είναι καταστρεπτικές μέθοδοι, η απορρόφηση/προσρόφηση, η χρήση μεμβρανών, ενεργού άνθρακα και οργανικών νανοσωματιδίων, οι οποίες είναι μη καταστρεπτικές μέθοδοι. Γενικότερα, ανάλογα το κόστος και τις συγκεντρώσεις των ουσιών που στοχεύετε να απομακρυνθούν,

επιλέγεται η κατάλληλη μέθοδος (Le-Minh et al., 2010; Homem and Santos, 2011; Zhang and Li, 2011).

Για την τύχη/συμπεριφορά των αντιμικροβιακών ουσιών κατά την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων, έχουν γίνει έρευνες για αρκετές ουσίες από αυτή την κατηγορία των φαρμακευτικών αλλά ακόμα περισσότερες για την ευρύτερη ομάδα των φαρμακευτικών ουσιών. Σύμφωνα με τις υπάρχουσες έρευνες, η πλειοψηφία των αντιβιοτικών απομακρύνονται μερικώς κατά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία των λυμάτων, ενώ ένα μεγαλύτερο μέρος τους απομακρύνεται κατά την τριτοβάθμια επεξεργασία. Πρέπει να τονιστεί όμως ότι υπάρχουν πολλά κενά ως προς την συμβατική επεξεργασία των αποβλήτων για την απομάκρυνση των αντιβιοτικών. Δεν είναι απόλυτα γνωστή η συμπεριφορά τους στα απόβλητα καθώς δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς οι μηχανισμοί προσρόφησης και βιοαποδόμησης των αντιβιοτικών. Επίσης, ως προς την παραγωγή μεταβολιτών υπάρχουν πολλά κενά στη βιβλιογραφία για την παρουσία/συμπεριφορά τους στα ΥΑ. Όπως συμβαίνει με τις περισσότερες οργανικές ενώσεις οι μεταβολίτες μπορεί να είναι περισσότερο τοξικοί από τις μητρικές ενώσεις και γιαυτό είναι αναγκαίο να καλυφθεί αυτό κενό. Τα αντιβιοτικά επηρεάζονται και από την θερμοκρασία του περιβάλλοντος ως προς την ικανότητα απομάκρυνσης τους. Γι' αυτό το λόγω και στις πιο ψυχρές χώρες η ανίχνευση και η διακύμανση των συγκεντρώσεων είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις πιο ζεστές χώρες. Η θερμοκρασία είναι μια παράμετρος που συμβάλλει στα διαφορετικά ποσοστά απομάκρυνσης που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για καθεμία ουσία χωριστά. Τέλος, η απομάκρυνση τους μέσω των μεθόδων τριτοβάθμιας επεξεργασίας επιτυγχάνεται είτε με εφαρμογή μιας μεθόδου είτε με συνδυασμό δυο ή και περισσότερων μεθόδων μαζί (Watkinson et al., 2007; Le-Minh et al., 2010; Oulton et al., 2010; Homem and Santos, 2011).

Οι μέθοδοι απομάκρυνσης των υπό μελέτη αντιβιοτικών από τα υγρά απόβλητα, παρουσιάζονται παρακάτω:

3.2.1 Απομάκρυνση μέσω συμβατικών μεθόδων επεξεργασίας

β-λακτάμες και κεφαλοσπορίνες

Η απομάκρυνση των β-λακτάμων και των κεφαλοσπορίνων μέσω της βιολογικής επεξεργασίας μιας μονάδας λυμάτων, δεν είναι ξεκάθαρη απόλυτα αν και δεν ανιχνεύονται συχνά στην έξοδο μιας μονάδας λυμάτων. Αυτό βέβαια οφείλεται στην

αστάθεια της μοριακής τους δομής εξαιτίας των τεσσάρων δακτυλίων λακτάμης που περιέχουν. Οι β-λακτάμες θεωρούνται οι πιο ασταθής αντιβιοτικές ουσίες οι οποίες ίσως να υδρολύονται, αν και δεν τις ευνοεί ο μικρός υδραυλικός χρόνος παραμονής (8-20 ώρες) των μονάδων. Δεν είναι γνωστό εάν παράγουν κάποια προϊόντα μέσω της βιολογικής επεξεργασίας και κατά πόσο είναι τοξικά ή μη (Watkinson et al., 2007; Le-Minh et al., 2010; Zhang and Li, 2011). Όσο αφορά το Cefadroxil που ανήκει στις κεφαλοσπορίνες, δεν υπάρχει καμία αναφορά για την συμπεριφορά του και κατά πόσο απομακρύνεται μέσω των συμβατικών μεθόδων επεξεργασίας.

Έχουν πραγματοποιηθεί μερικά πειράματα ως προς την απομάκρυνση των κεφαλοσπορινών, όπως με εφαρμογή ενός πειραματικού πρωτοκόλλου του OECD (301D) για την βιοδιασπασιμότητα (*biodegradability*) των ουσιών. Αυτό το πρωτόκολλο το εφάρμοσε πρώτη φορά ο Al-Ahmad et al. το 1999, κατά το οποίο δεν παρατήρησε καμία μεταβολή στη συγκέντρωση των κεφαλοσπορινών (Zhang and Li, 2011). Υπάρχουν όμως και άλλα αντίστοιχα πειραματικά πρωτόκολλα του OECD για την βιοδιασπασιμότητα με τα οποία δεν έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα τα αντιβιοτικά.

Αντίστοιχα, έχουν πραγματοποιηθεί εργαστηριακά πειράματα για την μελέτη των κεφαλοσπορινών μέσω της ενεργού ιλύος (*activated sludge*), όπου και σε αυτή την περίπτωση οι υπό μελέτη κεφαλοσπορίνες δεν είχαν την παραμικρή μεταβολή όπως αναφέρετε σε μελέτη του 2006 (Zhang and Li, 2011).

Σουλφοναμίδες

Η κατηγορία των σουλφοναμίδων φαίνεται να έχουν πολύ χαμηλή προσρόφηση στη λάσπη. Βάσει μελετών η βιοδιασπασιμότητα (*biodegradability*) και η ικανότητα απομάκρυνσης τους μέσω των συμβατικών μονάδων επεξεργασίας λυμάτων είναι σχετικά χαμηλή, μικρότερη από 25% (Le-Minh et al., 2010; Li and Zhang, 2010). Κάποιοι ερευνητές βρήκαν ότι το Sulfamethoxazole μέσω βιολογικής επεξεργασίας, απομακρύνεται σε πολύ χαμηλό ποσοστό της τάξης του 20%, ενώ κάποιοι άλλοι αναφέρουν υψηλές απομακρύνσεις της τάξης του 55 – 74% (Le-Minh et al., 2010; Li and Zhang, 2010). Αυτές οι διαφοροποιήσεις υφίστανται εξαιτίας των διαφορετικών λειτουργικών και κατασκευαστικών παραμέτρων της εκάστοτε μονάδας (μέγεθος δεξαμενής, υδραυλικός χρόνος παραμονής, θερμοκρασία κλπ.). Πρέπει να σημειωθεί πως μέσω αυτών των διεργασιών παράγεται ένας μεταβολίτης του Sulfamethoxazole, N⁴- acetylsulfamethoxazole ο οποίος αναφέρεται πως έχει την δυνατότητα να

ξαναμετατρέπεται στην αρχική του μορφή. Ο μεταβολίτης του Sulfamethoxazole δεν ανιχνεύεται μόνο κατά την επεξεργασία των αποβλήτων και στη έξοδο μιας ΜΕΥΑ, ανιχνεύεται και στην είσοδο των μονάδων. Γι' αυτό το λόγο πιθανολογούν πολλοί ερευνητές ότι μπορεί να είναι και προϊόν του ανθρώπινου μεταβολισμού εκτός από την παραγωγή του κατά την βιολογική επεξεργασία. Αυτό το γεγονός ίσως να εξηγεί και το χαμηλό ποσοστό απομάκρυνσης κατά τη βιολογική επεξεργασία. (Göbel et al., 2005; Watkinson et al., 2007; Le-Minh et al., 2010; Li and Zhang, 2010).

Έχουν πραγματοποιηθεί εργαστηριακά πειράματα σε ελεγχόμενους αντιδραστήρες ενεργού ιλύος (activated sludge reactors) από το 2000 μέχρι σήμερα και τα αποτελέσματα έδειξαν πως μετά την 3^η ημέρα οι σουλφοναμίδες, εκ των οποίων και το Sulfamethoxazole αρχίζουν να βιοαποδομούνται και μέχρι την 10^η ημέρα φτάνουν σχεδόν το 96% της απομάκρυνσης τους (Zhang and Li, 2011). Παρόλο όμως που φαίνεται το Sulfamethoxazole να μπορεί να βιοαποδομηθεί μέσω της ενεργού ιλύος, εξαιτίας του μεγάλου χρόνου παραμονής, είναι αδύνατον να εκτιμηθεί η συνολική απομάκρυνση του. Γι' αυτό το λόγω θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω μελέτες για την αντιμετώπιση του. Όσον αφορά στον μεταβολίτη της ουσίας μέσω της ενεργού ιλύος βιοδιασπάται κατά 90% μετά από τη πάροδο μιας ημέρας (biodegradability OECD protocol 301 D) (Göbel et al., 2005; Lindberg et al., 2006; Zhang and Li, 2011). Αντίστοιχα αποτελέσματα σε πρόσφατη μελέτη με εργαστηριακά πειράματα ενεργού ιλύος έδειξαν ότι ο ρυθμός απομάκρυνσης του Sulfamethoxazole εξαιτίας της βιοαποδόμησης είναι 39,1 % μέσα σε 48 ώρες (Li and Zhang, 2010).

Κινολόνες

Σύμφωνα με πολλές μελέτες η απομάκρυνση των κινολόνων πραγματοποιείται κυρίως μέσω του μηχανισμού της προσρόφησης παρά της βιοαποδόμησης (Kümmerer et al., 2000; Le-Minh et al., 2010; Zhang and Li, 2011). Οι Batt et al. (2007) υπολόγισαν ότι η απομάκρυνση του Ciprofloxacin είναι 85% μέσω της προσρόφησης ενώ απομάκρυνση μέσω του μηχανισμού της βιοαποδόμησης δεν παρατηρήθηκε καθόλου (Zhang and Li, 2011). Ο Lindberg et al. υπολόγισε την απομάκρυνση του Ciprofloxacin σε ποσοστό 44% στην ενεργό ιλύ εξαιτίας της προσρόφησης (Lindberg et al., 2006). Σε πιο πρόσφατη μελέτη σε πείραμα ενεργού ιλύος, παρατηρήθηκε ότι οι φλουοροκινολόνες απομακρύνονται μέσα στα πρώτα 15 λεπτά, εξαιτίας της προσρόφησης, συγκεκριμένα το Ciprofloxacin απομακρύνθηκε

κατά 52,8%. Μέσω της αποδόμησης επί της ουσίας δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί κάποια απομάκρυνση εξαιτίας των μικρών υδραυλικών χρόνων παραμονής (HRT) (Li and Zhang, 2010).

Ως προς τους μεταβολίτες του Ciprofloxacin σε πρόσφατη μελέτη των Terzic et al. (2011) προσδιορίστηκαν δυο μεταβολίτες σε σύστημα βιολογικού αντιδραστήρα με μεμβράνες (MBR). Ο πρώτος μεταβολίτης σχηματίζεται με την απώλεια δυο μορίων νερού (succinyl ciprofloxacin) και όσο για τον δεύτερο μεταβολίτη, είναι γνήσιο προϊόν βιοαποδόμησης και δημιουργείται από την οξειδωτική διάσπαση του δακτυλίου της πιπεραζίνης (7-[(carboxymethyl)amino]-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid) (Terzic et al., 2011).

Μακρολίδες

Οι μακρολίδες δεν απομακρύνονται σε ικανοποιητικό βαθμό από τις μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων. Αυτή η κατηγορία των ουσιών έχει μικρή πιθανότητα προσρόφησης εξαιτίας των πολύ χαμηλών συντελεστών K_d που έχουν υπολογιστεί. Γενικά η απομάκρυνση τους από τις συμβατικές μονάδες επεξεργασίας κυμαίνεται από μηδενική απομάκρυνση έως και 44%. Η Erythromycin-H₂O σε μελέτη του 2010 δεν παρατηρήθηκε η παραμικρή απομάκρυνση μέσω αερόβιας βιολογικής επεξεργασίας. Στην ίδια όμως μελέτη άλλη μια ουσία από την ίδια κατηγορία (Roxithromycin) απομακρύνθηκε σε ποσοστό περίπου 35% μέσω της προσρόφησης (Li and Zhang, 2010). Δεδομένου ότι οι μακρολίδες, κατά κύριο λόγο αποβάλλονται μέσω της χολής και τα κόπρανα, κατά πάσα πιθανότητα οι ουσίες να βρίσκονται μέσα σε περιττώματα και τα σωματίδια που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια της βιολογικής επεξεργασίας. Με αποτέλεσμα το φορτίο που εισέρχεται για βιολογική επεξεργασία να έχει υποεκτιμηθεί και να λαμβάνεται υπόψη μόνο το διαλυμένο μέρος και η προσρόφηση στα αιωρούμενα στερεά. Αυτό μαζί με τις ενδεχόμενες διαφορές στη σύνθεση της ιλύος της πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας λάσπης, πιθανότατα να οφείλεται στις διακυμάνσεις ως προς την απομάκρυνση των μακρολιδίων (Göbel et al., 2007). Οι μηχανισμοί βιοαποδόμησης και προσρόφησης σε εργαστηριακή κλίμακα δεν έχουν μελετηθεί για την Clarithromycin και Azithromycin όπως έχει γίνει αντίστοιχα για την Erythromycin. Σε μια μόνο μελέτη του Göbel et al., μελετήθηκε η απομάκρυνση των μακρολιδών (εκ των οποίων και οι τρεις υπό μελέτη ουσίες), σε σύστημα βιολογικής επεξεργασίας στην Ελβετία, μέσω ενεργούς ιλύος

και με βιολογικούς αντιδραστήρες μεμβράνης (MBR) αλλά η αντιμετώπιση τους δεν επετεύχθη. Η απομάκρυνση τους ήταν γενικά περίπου 20% (Göbel et al., 2007).

Σε άλλη μια πρόσφατη μελέτη, πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός των μεταβολιτών κάποιων μακρολιδών, σε σύστημα με βιολογικούς αντιδραστήρες μεμβράνης (MBR). Όσο αφορά την Azithromycin έγινε ανίχνευση ενός μεταβολίτη ο οποίος παράγεται από φωσφορυλίωση της μητρικής ουσίας με μετατόπιση της μάζας του 80 Da (phosphorylated Azithromycin) (Terzic et al., 2011)

Ένα μεγάλο κενό στην βιβλιογραφία αφορά την Clarithromycin η οποία δεν έχει μελετηθεί ως προς την συμπεριφορά της κατά την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων ενώ είναι μια από τις πιο ανιχνεύσιμες αντιμικροβιακές ουσίες στα υγρά απόβλητα καθώς χρησιμοποιείται σε πολύ μεγάλο ποσοστό όχι μόνο στην Ελλάδα και στην Ευρώπη αλλά παγκοσμίως (Zhang and Li, 2011).

Τετρακυκλίνες

Οι τετρακυκλίνες απομακρύνονται κατά κύριο λόγο μέσω της προσρόφησης και οι συντελεστές K_d που έχουν υπολογιστεί είναι πολύ υψηλές. Πιθανολογείται η προσρόφιση των τετρακυκλίνων στη βιομάζα, αλλά δεν είναι απόλυτα αυτός ο μηχανισμός απομάκρυνσης για όλες τις ουσίες αυτής της κατηγορίας (Le-Minh et al., 2010). Έχει αναφερθεί ότι η θερμοκρασία και η τιμή του pH παίζουν σημαντικό ρόλο στην υδρόλυση των τετρακυκλίνων και είναι πιθανών να συμβάλει και στον μηχανισμό της βιοαποδόμησης. Επίσης, σύμφωνα με μελέτες οι τετρακυκλίνες δεν φαίνεται να επηρεάζονται από τον υδραυλικό χρόνο παρακράτησης στα συστήματα ενεργού ιλύος. Σε σχετικά πρόσφατη μελέτη υπολογίστηκε σχεδόν 95% απομάκρυνση εξαιτίας της προσρόφησης για την Tetracycline κατά την πάροδο 6 ωρών (Le-Minh et al., 2010; Zhang and Li, 2011). Σε μια ακόμα πιο πρόσφατη μελέτη επιβεβαιώνεται ξανά ότι σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90% απομακρύνεται η Tetracycline μέσω της προσρόφησης σε σύστημα ενεργού ιλύος. Για την Doxycycline δεν έχουν πραγματοποιηθεί αντίστοιχα πειράματα κατά τη βιολογική επεξεργασία. Είναι πολύ πιθανών και η Doxycycline να συμπεριφέρεται κατά τον ίδιο τρόπο καθώς με την Tetracycline έχουν ακριβώς την ίδια μοριακή μάζα και δομή.

Μεταβολίτες και συναφή προϊόντα εξαιτίας της επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων, δεν έχουν παρατηρηθεί για την Doxycycline καθώς δεν έχουν πραγματοποιηθεί αντίστοιχα πειράματα για την ανίχνευση και των προσδιορισμό τους.

Άλλα αντιβιοτικά - Trimethoprim

Η απομάκρυνση του Trimethoprim είναι επίσης πολύ χαμηλή όπως και στο Sulfamethoxazole. Σύμφωνα με μελέτες έχει αποδειχθεί ότι ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης του είναι μέσω της προσρόφησης και δεν παρατηρείται καθόλου βιοαποδόμηση στα συμβατικά συστήματα βιολογικής επεξεργασίας. Η βιοαποδόμηση του έχει μελετηθεί εδώ και μια δεκαετία, όπου και είχε αποδειχθεί η έντονη παραμονή του στους αντιδραστήρες ενεργούς ιλύος. Οι Zhang and Li (2011) υπολόγισαν ότι 19% με 26.4% απομακρύνεται μέσω της προσρόφησης σε σύστημα ενεργού ιλύος καθώς και δεν παρατηρήθηκε καθόλου βιοαποδόμηση. Παρόλα αυτά, κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι μέσω νιτροποιημένης ενεργού ιλύος και με σχετικά μεγάλους υδραυλικούς χρόνους, το Trimethoprim μπορεί να βιοαποδομηθεί μέσα σε τρεις μέρες. Σε αντίστοιχη μελέτη που πραγματοποιήθηκε απεδείχθη ότι η απομάκρυνση του ήταν περίπου 50% σε νιτροποιημένη ενεργό ιλύ ενώ αντίστοιχα στη συμβατική ενεργό ιλύ μόνο 1% (Le-Minh et al., 2010; Li and Zhang, 2010; Zhang and Li, 2011).

Για το Trimethoprim έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες μελέτες για τον προσδιορισμό μεταβολιτών, αλλά δεν έχει παρατηρηθεί κανένας μεταβολίτης κατά την βιολογική επεξεργασία των αποβλήτων (Khunjar et al., 2011).

3.2.2 Απομάκρυνση μέσω ενεργού άνθρακα και μέσω νανοσωλήνων άνθρακα (carbon nanotubes)

β-λακτάμες και κεφαλοσπορίνες

Η απομάκρυνση των β-λακτάμων μέσω του μηχανισμού της προσρόφησης σε ενεργό άνθρακα, μέχρι σήμερα δεν έχει μελετηθεί. Ειδικότερα για την υποκατηγορία των κεφαλοσπορινών δεν έχει πραγματοποιηθεί καμία μελέτη ως προς την απομάκρυνση τους μέσω οποιαδήποτε μορφής ενεργοποιημένου άνθρακα καθώς και δεν υπάρχει κάποια μελέτη που να το έχει διερευνήσει τους μηχανισμούς απομάκρυνσης της ένωσης με τη χρήση carbon nanotubes.

Σουλφοναμίδες

Συγκριτικά με όλες τις υπό μελέτη ουσίες της παρούσας διπλωματικής, το Sulfamethoxazole είναι μια ουσία η χρήση της και η κατανάλωση της είναι πολύ διαδεδομένη καθώς και ως προς την ανάλυση της συμπεριφοράς της στα υγρά

απόβλητα υπάρχουν περισσότερες μελέτες. Συγκεκριμένα, σε δυο πρόσφατες μελέτες διερευνήθηκε η απομάκρυνση του μέσω ενεργού άνθρακα σε συνδυασμό με την εφαρμογή όζοντος, όπου τα αποτελέσματα εξαρτώνται από διάφορες παραμέτρους και χαρακτηριστικά του προσροφητικού υλικού, τη δόση του προσροφητικού υλικού, την τιμή του pH, τον χρόνο αντίδρασης της ουσίας με το O₃ κλπ. Οι Akhtar et al., συνέκριναν ενεργό άνθρακα (PAC) με ενεργοποιημένο άνθρακα εμποτισμένο με Fe₂O₃/CeO₂ όπου απέδειξαν ότι σε όξινο pH ευνοείται η απομάκρυνση του και πως ο συνδυασμός του ενεργού άνθρακα με την χρήση οξειδίων του μετάλλου ως καταλύτη αποτελεί ένα βελτιωμένο προσροφητικό υλικό για την απομάκρυνση του Sulfamethoxazole (Akhtar et al., 2011).

Μόνο για το Sulfamethoxazole υπάρχουν δυο μελέτες όπου διερευνούν την συμπεριφορά του με τη χρήση carbon nanotubes. Και στις δυο μελέτες διερευνώνται οι μηχανισμοί προσρόφησης σε ειδικά διαμορφωμένα carbon nanotubes και πως αυτοί επηρεάζονται από τα κατιόντα και τα ανιόντα. Αυτή η μελέτη απέδειξε ότι τα κατιόντα και τα ανιόντα επηρεάζουν την προσρόφηση του Sulfamethoxazole από την ποσότητα και την μεταξύ τους ισορροπία και ανάλογα με το ποσοστό τους ο μηχανισμός της προσρόφησης είτε αυξάνεται είτε μειώνεται. Επίσης, από έναν άλλο παράγοντα που επηρεάζεται είναι η τιμή του pH του μέσου. Δεν είναι όμως ξεκάθαρα τα αποτελέσματα από την χρήση carbon nanotubes καθώς πρέπει να διερευνηθούν και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τον μηχανισμό της προσρόφησης (Zhang et al., 2010, 2011).

Κινολόγες

Σε πρόσφατη μελέτη όπου εφαρμόστηκαν διάφορες προηγμένες μέθοδοι απομάκρυνσης κάποιων επιλεγμένων φαρμακευτικών ουσιών εκ των οποίων και το Ciprofloxacin. Εφαρμόστηκε και η μέθοδος απομάκρυνσης μέσω ενεργοποιημένου άνθρακα όπου απεδείχθη ότι το Ciprofloxacin απομακρύνθηκε σε ποσοστό μεγαλύτερο του 80%. Βέβαια πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι πριν το στάδιο του ενεργού άνθρακα είχε ήδη απομακρυνθεί κατά ένα σημαντικό ποσοστό μέσω της ενεργού ιλύος που είχε προηγηθεί ως στάδιο επεξεργασίας (Yang et al., 2011a). Συνολικά έχει πραγματοποιηθεί άλλη μια αντίστοιχη μελέτη για μια ευρεία γκάμα φαρμακευτικών ενώσεων, όπου μελετά την απομάκρυνση τους σε νερά ποταμού σε συνδυασμό και με άλλες μεθόδους απομάκρυνσης. Σε αυτή τη μελέτη σε πιλοτικό σύστημα επεξεργασίας πόσιμου νερού κατά το στάδιο του ενεργοποιημένου άνθρακα (CAC) οι

περισσότερες φαρμακευτικές μετά από αυτό το στάδιο είχαν απομακρυνθεί πλήρως, το Ciprofloxacin όμως μαζί με άλλες δυο ουσίες δεν απομακρύνθηκε πλήρως και αυτό ίσως να οφείλεται εξαιτίας της υδρόφιλης φύσης του (Vieno et al., 2007).

Και σε αυτή την περίπτωση υπάρχει ανάγκη για κάλυψη κενών ως προς την απομάκρυνση του Ciprofloxacin μέσω του ενεργού άνθρακα καθώς υπάρχει μόνο μια μελέτη η οποία μελετά 3 διαφορετικούς τύπους άνθρακα και απ' ότι φαίνεται συγκριτικά με τους άλλους δυο τύπους μέσω του ενεργοποιημένου άνθρακα επιτυγχάνεται η προσρόφηση σε μεγαλύτερο βαθμό. Θα αναλυθεί παρακάτω συνολικά για όλους τους τύπους άνθρακα της εν λόγω μελέτης (Carabineiro et al., 2011).

Σε πρόσφατη μελέτη των Carabineiro et al., σύγκριναν την ικανότητα προσρόφησης σε τρεις διαφορετικούς τύπους άνθρακα του ενεργού άνθρακα (AC), σε νανοσωλήνες άνθρακα (carbon nanotubes) και σε οξειδωμένα/αφυδατωμένα σωματίδια άνθρακα (carbon xerogel). Διαπιστώθηκε ότι η ποσότητα του άνθρακα παίζει σημαντικό ρόλο καθώς όταν αύξαναν την ποσότητα, το Ciprofloxacin απομακρυνόταν τόσο γρήγορα που δεν ήταν εφικτό να μελετηθεί η συμπεριφορά του. Πραγματοποιήθηκαν αρκετές δοκιμές ως προς την δόση του άνθρακα, την θερμοκρασία, την τιμή του pH κλπ. και συνολικά από όλα τα πειράματα φάνηκε ότι η ικανότητα προσρόφησης αυξάνεται με τη σειρά Carbon xerogel < Carbon nanotubes < Activated carbon (Carabineiro et al., 2011).

Μακρολίδες

Για κάποιες μακρολίδες έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες ως προς την απομάκρυνση τους μέσω ενεργοποιημένου άνθρακα. Πιο συγκεκριμένα, για την περίπτωση της Erythromycin, σε μια μελέτη με χρήση ενεργοποιημένου άνθρακα σε σκόνη (PAC) σε αντιδραστήρα μεμβράνης (MBR), παρατηρήθηκε πως έχει μια μέση απομάκρυνση (42%-64%) σε περίοδο περίπου δυο μηνών, αλλά σε χρονική περίοδο μεγαλύτερη των δυο μηνών επιτυγχάνεται πλήρης απομάκρυνση της ουσίας. Αυτό συμβαίνει πιθανών, εξαιτίας του κορεσμού των ενεργών πόρων του ενεργοποιημένου άνθρακα (PAC) από την οργανική ύλη η οποία ανταγωνίζεται με τις αντιβιοτικές ουσίες και τα βακτήρια που αναπτύσσονται πάνω στον ενεργοποιημένο άνθρακα (PAC). Όπως είναι φανερό ο ρυθμός κορεσμού σε ενεργοποιημένο άνθρακα είναι μια πολύ αργή διαδικασία για να επιτευχτεί πλήρης απομάκρυνση της Erythromycin (Serrano et al., 2011).

Όσο αφορά τις άλλες δυο υπό μελέτη ουσίες (Azithromycin και Clarithromycin) δεν υπάρχει μέχρι σήμερα καμία μελέτη που να διερευνά την συμπεριφορά τους σε εφαρμογές οποιαδήποτε μορφής ενεργοποιημένου άνθρακα.

Γενικά για την κατηγορία των μακρολίδων μέχρι σήμερα δεν έχει πραγματοποιηθεί καμία μελέτη που να διερευνά την συμπεριφορά τους σε συστήματα με χρήση carbon nanotubes ούτε σε ΥΑ ούτε και σε οποιοδήποτε άλλο υδατικό μέσο.

Τετρακυκλίνες

Ως προς την απομάκρυνση της Doxycycline υπάρχει μια πρόσφατη μελέτη στην οποία προσδιορίστηκε η απομάκρυνση 7 διαφορετικών τετρακυκλίνων με χρήση ενεργοποιημένου άνθρακα σε μορφή σκόνης (PAC) σε υπόστρωμα συνθετικού ακατέργαστου νερού (raw waters). Οι περισσότερες τετρακυκλίνες παρουσίασαν μια απομάκρυνση μεγαλύτερη από 90%. Κάποιες όμως παρουσίασαν μια μέση απομάκρυνση μεγαλύτερη του 68% όπου μέσα σε αυτές βρίσκεται και η υπό μελέτη Doxycycline (Choi et al., 2008).

Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει κάποια μελέτη που να προσδιορίζει την απομάκρυνση της Doxycycline με χρήση carbon nanotubes σε υγρά απόβλητα αλλά ούτε και σε οποιοδήποτε άλλο υδατικό μέσο.

Άλλα αντιβιοτικά - Trimethoprim

Δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες που να προσδιορίζουν την απομάκρυνση του Trimethoprim με χρήση ενεργού άνθρακα, συγκεκριμένα σε πρόσφατη μελέτη των Serano et al., φαίνεται ότι το Trimethoprim απομακρύνεται πλήρως σε διάστημα μεγαλύτερο από δυο μήνες μέσω ενεργοποιημένου άνθρακα σε σκόνη (PAC) σε σύστημα αντιδραστήρα μεμβράνης (MBR). Ο λόγος είναι ο ίδιος όπως και στην Erythromycin, ο ρυθμός κορεσμού στον ενεργοποιημένο άνθρακα είναι μια ακόμα πιο αργή διαδικασία για το Trimethoprim (Serrano et al., 2011).

Σε άλλη μια πρόσφατη μελέτη του 2010 οι Kim et al., έκαναν σύγκριση της αποτελεσματικότητας δυο ειδών ενεργοποιημένου άνθρακα (PAC και GAC) ως προς την απομάκρυνση του Trimethoprim. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με χρήση απιονισμένου νερού και για τα δυο είδη ενεργοποιημένου άνθρακα. Αν και οι διαφορές που υπήρχαν ανάμεσα στα δυο είδη ήταν μικρή, μεγαλύτερα ποσοστά απομάκρυνσης επιτεύχθηκαν μέσω του ενεργοποιημένου άνθρακα σε μορφή σκόνης (PAC). Βέβαια σε αυτή τη μελέτη, παρουσιάζονται οι παράμετροι που επηρεάζουν

την αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης του Trimethoprim και για τα δυο είδη του ενεργοποιημένου άνθρακα, όπως η ποσότητα του προσροφητικού υλικού, η τιμή του pH, ο ρυθμός της παροχής και το ύψος της πειραματικής κατασκευής (Kim et al., 2010).

Όσο αφορά τους μηχανισμούς απομάκρυνσης του Trimethoprim με χρήση carbon nanotubes, μέχρι σήμερα δεν υπάρχει κάποια μελέτη που να το έχει διερευνήσει.

3.2.3 Απομάκρυνση μέσω μεμβρανών

Οι τεχνικές απομάκρυνσης με τη χρήση μεμβρανών υπάγονται σε συγκεκριμένες κατηγορίες ανάλογα το μέγεθος της μοριακής τους μάζας. Οι κατηγορίες αυτές είναι, η αντίστροφη ώσμωση (RO), η nanofiltration (NF), η microfiltration (MF) και η ultrafiltration (UF) (Oulton et al., 2010). Συγκεκριμένα για τις υπό εξέταση αντιμικροβιακές ενώσεις έχουν πραγματοποιηθεί οι παρακάτω μελέτες.

β-λακτάμες και κεφαλοσπορίνες

Σε αυτή την κατηγορία των αντιβιοτικών δεν έχει πραγματοποιηθεί κάποια αντίστοιχη μελέτη με καμία από τις προαναφερόμενες τεχνικές με τη χρήση μεμβρανών για την απομάκρυνση της από τα ΥΑ αλλά ούτε και σε οποιοδήποτε άλλο υδατικό μέσο.

Σουλφοναμίδες

Σε μελέτη που διερευνήθηκε το Sulfamethoxazole με ταυτόχρονο συνδυασμό και άλλων τεχνικών απομάκρυνσης μετά το στάδιο της ενεργού ιλύος ακολουθούσε σύστημα μεμβράνης **microfiltration**. Όπως απεδείχθη ήταν αρκετά αποτελεσματικό σύστημα καθώς επιτύγχανε μια συνολική απομάκρυνση γύρω στο 90% (Yang et al., 2011b). Σε δυο πρόσφατες μελέτες οι Sarah et al. (2011), μετά από την επεξεργασία συμβατικού συστήματος ενεργού ιλύος ακολουθούσε σύστημα μεμβράνης **ultrafiltration** / **RO** όπου μέχρι το στάδιο της ultrafiltration (CAS/UF) η απομάκρυνση κυμαίνεται μεταξύ 60-74%, ενώ μετά το στάδιο της αντίστροφης όσμωσης (CAS/UF/RO) επιτυγχάνει σχεδόν πλήρης απομάκρυνση 97% (Sahar et al., 2011a, 2011b).

Τέλος, υπάρχει μελέτη που διερευνά το Sulfamethoxazole και με χρήση μεμβρανών **nanofiltration** / **RO** κατά την οποία γίνεται σύγκριση διαφορετικών νανο-μεμβρανών

(ως προς το μέγεθος των πόρων) επιτυγχάνονται απομακρύνσεις σχεδόν 100% σε όλους τους τύπους των υπό μελέτη μεμβρανών (Simon et al., 2009).

Κινολόνες

Στη μελέτη των Yang et al. (2011), μετά το στάδιο της ενεργού ιλύος ακολουθούσε σύστημα μεμβράνης *microfiltration* όπου και για το Ciprofolxacin ήταν σχετικά αποτελεσματικό σύστημα καθώς επιτύγχανε μια συνολική απομάκρυνση γύρω στο 80% (Yang et al., 2011b). Κατά τη μελέτη με τη χρήση μεμβρανών *nanofiltration* / **RO** που αναφέρθηκε και παραπάνω, το Ciprofolxacin επιτυγχάνει απομακρύνση σχεδόν 100% για όλους τους τύπους των νανο-μεμβρανών (Simon et al., 2009).

Μακρολίδες

Στις μελέτες που αναφέρθηκαν και παραπάνω, διερευνήθηκε η απομάκρυνση για την Clarithromycin και την Erythromycin όπου μετά την επεξεργασία του συμβατικού συστήματος ενεργού ιλύος ακολουθούσε σύστημα μεμβράνης *ultrafiltration* / **RO** όπου μέχρι το στάδιο της ultrafiltration (CAS/UF) η απομάκρυνση κυμαίνεται μεταξύ 72-93% ενώ μετά το στάδιο και της αντίστροφης όσμωσης (CAS/UF/RO) επιτυγχάνεται πλήρης απομάκρυνση και για τις δυο μακρολίδες (Sahar et al., 2011a, 2011b).

Από αυτή την κατηγορία των αντιμικροβιακών ουσιών μόνο η Azithromycin δεν έχει διερευνηθεί με καμία από τις υπάρχουσες τεχνικές με τη χρήση μεμβρανών.

Τετρακυκλίνες

Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει κάποια μελέτη που να προσδιορίζει την απομάκρυνση της Doxycycline με χρήση μεμβρανών σε υγρά απόβλητα και ούτε σε οποιοδήποτε άλλο υδατικό μέσο.

Άλλα αντιβιοτικά - Trimethoprim

Για το Trimethoprim υπάρχουν κάποιες μελέτες απομάκρυνσης του με τη χρήση μεμβρανών καθώς συνήθως μελετώνται μαζί με το Sulfamethoxazole. Συγκεκριμένα, σε μια από τις μελέτες διερευνήθηκε σε συνδυασμό και με άλλες τεχνικές απομάκρυνσης, όπου μετά το στάδιο της ενεργού ιλύος ακολουθούσε σύστημα μεμβράνης *microfiltration*. Όπως απεδείχθη όμως δεν ήταν και πολύ αποτελεσματικό σύστημα καθώς επιτύγχανε μια συνολική απομάκρυνση γύρω στο 60% (Yang et al.,

2011b). Σε άλλη μια αντίστοιχη μελέτη μετά από την επεξεργασία συμβατικού συστήματος ενεργού ιλύος ακολουθούσε σύστημα μεμβράνης *ultrafiltration / RO*. Με αυτό το σύστημα το Trimethoprim, μετά το στάδιο της αντίστροφης όσμωσης επιτυγχάνει απομάκρυνση σχεδόν 97% ενώ μέχρι το στάδιο της ultrafiltration είναι περίπου 80%. Τα αποτελέσματα επαληθεύονται και από μια άλλη μελέτη των ίδιων ερευνητών που είναι όμως μέχρι το στάδιο της απομάκρυνσης μέσω ultrafiltration (CAS/UF) (Sahar et al., 2011a, 2011b). Τέλος, στη μελέτη των Simon et al. (2009) το Trimethoprim και με τη χρήση μεμβρανών *nanofiltration / RO* κατά την οποία γίνεται σύγκριση διαφορετικών νανο-μεμβρανών επιτυγχάνονται απομακρύνσεις από 75% και πάνω ανάλογα τον τύπο της μεμβράνης (Simon et al., 2009).

3.2.4 Απομάκρυνση μέσω οζόνωσης / H_2O_2

Η μέθοδος της οζόνωσης και η χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου είναι από τις πιο μελετημένες εργαστηριακά μεθόδους τριτοβάθμιας επεξεργασίας για όλες τις κατηγορίες και τάξεις των αντιμικροβιακών ουσιών που υπάρχουν. Γενικά θεωρούνται πολύ αποτελεσματικές μέθοδοι ως προς την απομάκρυνση των μητρικών ενώσεων, αλλά δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς η δημιουργία παραπροϊόντων και η ενδεχόμενη αυξημένη τοξικότητα τους καθώς παραμένουν βιολογικά δραστήρια και συνήθως αντιστέκονται σε περαιτέρω οζόνωση (Le-Minh et al., 2010; Zhang and Li, 2011). Συγκεκριμένα για τις υπό μελέτη ουσίες υπάρχουν δεδομένα μόνο για τις 6 από τις 8 ουσίες.

β-λακτάμες και κεφαλοσπορίνες

Η κατηγορία των β-λακτάμων έχει μελετηθεί με τη χρήση του όζοντος αλλά για την περίπτωση των κεφαλοσπορινών υπάρχουν μόνο δυο αναφορές όπου έχει διερευνηθεί μόνο μια κεφαλοσπορίνη 1^{ης} γενιάς (Cephalexin) η οποία απομακρύνθηκε σχεδόν 100% και κυρίως οξειδώθηκε με OH παρά με τη χρήση O_3 (Dodd et al., 2006). Ειδικότερα για το Cefadroxil δεν υπάρχει μέχρι σήμερα καμία μελέτη που να μελετά τον μηχανισμό δράσης και απομάκρυνσης της σε συστήματα με χρήση όζοντος (O_3) ή με υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2).

Σουλφοναμίδες

Σε μια πρόσφατη μελέτη με χρήση οζόνωσης πριν το στάδιο του ενεργοποιημένου άνθρακα σε μορφή σκόνης (PAC), απεδείχθη πως όταν οξειδωθεί το Sulfamethoxazole έχει χαμηλή ικανότητα να προσροφηθεί στα σωματίδια του ενεργού άνθρακα. Το κυριότερο πλεονέκτημα όμως της χρήσης PAC είναι το γεγονός ότι αυξάνονται οι πιθανότητες μεταφοράς μάζας μέσω του μηχανισμού της διάχυσης στο προσροφητικό υλικό. Κατά την οζόνωση το Sulfamethoxazole απομακρύνεται σχεδόν 100% αλλά τα παραπροϊόντα που δημιουργούνται έχουν περιορισμένη ικανότητα να προσροφηθούν στα σωματίδια του ενεργού άνθρακα (Pocostales et al., 2010).

Για το Sulfamethoxazole υπάρχουν και άλλες μελέτες που να το διερευνούν κατά την οζόνωση. Οι Dodd et al.(2006), σε μελέτη με χρήση O_3 και H_2O_2 αποδείχθηκε ότι ο μεταβολίτης της αρχικής ένωσης N^4 - acetylsulfamethoxazole αντιδρά καλύτερα με H_2O_2 και οξειδώνεται πλήρως, ενώ η μητρική ένωση Sulfamethoxazole κυρίως με τη άμεση αντίδραση με το όζον (Dodd et al., 2006). Σε πιο πρόσφατη μελέτη του 2009 απεδείχθη ότι με χρόνο αντίδρασης 10 min με το O_3 επιτυγχάνεται 100% απομάκρυνση του Sulfamethoxazole, αλλά με σε συνδυασμό με μια μέση δόση H_2O_2 και σε όξινο περιβάλλον (pH=3) απομακρύνεται πλήρως στον μισό χρόνο (5 min) (Lin et al., 2009).

Κινολόνες

Η φλουροκινολόνη Ciprofloxacin διερευνήθηκε σε μια μελέτη του 2006, και αποδείχθηκε ότι είναι πλήρως εξαρτώμενη από την τιμή του pH (κυρίως 7 με 8) αλλά επιτυγχάνεται απομάκρυνση του σε χαμηλές δόσεις O_3 (3mg/L) καθώς αντιδρά άμεσα με τον δακτύλιο της πιπεραζίνης (Dodd et al., 2006).

Μακρολίδες

Σε πρόσφατη μελέτη του 2009 χρήση O_3 και H_2O_2 διαπιστώθηκε ότι επιτυγχάνεται απομάκρυνση της Erythromycin σε βασικό pH (8-11) και με χρήση O_3 μετά από 20 min ενώ με τη χρήση μιας μέσης δόσης H_2O_2 και σε βασικό pH πάλι σχεδόν στο μισό χρόνο, περίπου 15 min (Lin et al., 2009). Όσο αφορά την Azithromycin οι Dodd et al.(2006), αναφέρουν πως δεν αντιδρά αρκετά γρήγορα με το O_3 συγκριτικά με τις άλλες υπό μελέτη μακρολίδες της εν λόγω έρευνας καθώς και εξαρτάται και από την τιμή του pH (ευνοϊκότερες τιμές pH 7-8) (Dodd et al., 2006). Τέλος, για την Clarithromycin υπάρχει μια μελέτη του 2006, όπου αναφέρει ότι ακόμα και σε

χαμηλές δόσεις όζοντος η Clarithromycin απομακρύνεται πολύ γρήγορα. Εκτός όμως από την μελέτη της απομάκρυνσης της μέσω της οζώνωσης, αναγνωρίστηκαν και 3 μεταβολίτες οι οποίοι θεωρούνται τοξικοί διότι μειώνουν την βιολογική δραστηριότητα των μικροοργανισμών (Lange et al., 2006).

Τετρακυκλίνες

Για τις τετρακυκλίνες υπάρχουν δυο με τρεις μελέτες που έχουν μελετήσει την απομάκρυνση τους με χρήση όζοντος. Συγκεκριμένα οι περισσότερες μελέτες είναι για την Tetracycline η οποία έχει την ίδια μοριακή μάζα με την υπό μελέτη ουσία Doxycycline. Στη μελέτη των Dodd et al.(2006), με χρήση O_3 αποδείχθηκε ότι αντιδρά άμεσα η Tetracycline σε ότι pH και να βρίσκεται (Dodd et al., 2006).

Άλλα αντιβιοτικά - Trimethoprim

Σε πρόσφατη μελέτη των Dodd et al.(2006), απεδείχθη ότι Trimethoprim απομακρύνεται πλήρως όταν αντιδρά με το O_3 μετά από 18 min όταν βρίσκεται σε ουδέτερο προς βασικό pH (7-8), το οποίο επιβεβαιώνεται και από άλλες δυο προγενέστερες μελέτες (Dodd et al., 2006; Le-Minh et al., 2010).

3.2.5 Απομάκρυνση με χρήση οξειδωτικών μέσων

Την τελευταία πενταετία η απομάκρυνση κάποιων φαρμακευτικών ουσιών έχει πραγματοποιηθεί και με τη χρήση κάποιων οξειδίων μετάλλων. Καθώς όμως σαν τεχνική είναι ακόμα πολύ πρόσφατη υπάρχουν πολλά κενά που πρέπει να καλυφθούν ακόμα και για τις ενώσεις που έχουν ήδη μελετηθεί με αυτή την τεχνική. Αποτελεί όμως μια τεχνική οξείδωσης πολλά υποσχόμενη καθώς σε όσες μελέτες έχει γίνει και αναγνώριση των μεταβολιτών των αρχικών ουσιών διαπιστώνεται ότι είναι μη τοξικοί και βιολογικά χαμηλής δραστηριότητας. Από τις 8 υπό μελέτη ουσίες της παρούσας διδακτορικής διατριβής υπάρχουν δεδομένα μόνο για 3 από αυτές, για το Trimethoprim, Ciprofloxacin και την Clarithromycin.

Trimethoprim

Σε πρόσφατη μελέτη διερευνήθηκαν οι κινητικές οξείδωσης κάποιων αντιμικροβιακών ουσιών με χρήση υπερμαγγανικού καλίου, εκ των οποίων ήταν και

το Trimethoprim. Ο ρυθμός οξειδωσης της ουσίας εξαρτάται απόλυτα από την τιμή του pH του μέσου αλλά και από την θερμοκρασία και την δόση του KMnO_4 . Συγκριτικά όμως με την οζόνωση και τη χλωρίωση όπως αναφέρεται και σε προγενέστερες μελέτες η χρήση KMnO_4 δεν είναι και τόσο αποτελεσματική μέθοδος (Hu et al., 2010). Σε μια επόμενη μελέτη οι ίδιοι ερευνητές έκαναν αναγνώριση 7 διαφορετικών προϊόντων οξειδωσης από την αντίδραση του Trimethoprim με το επτασθενές μαγγάνιο “Mn(VII)” στον δακτύλιο της πυριμιδίνης. Παράλληλα έγινε έλεγχος κατά πόσο τα προϊόντα αυτά είναι βιολογικά δραστήρια συγκριτικά με τη μητρική ένωση. Απεδείχθη με την χρήση του βακτηρίου *Escherichia coli* ότι και τα 7 προϊόντα της οξειδωσης έχουν αμελητέα επίδραση βιολογική δραστηριότητα του βακτηρίου συγκριτικά με την μητρική ένωση που είναι πολύ πιο τοξική και μειώνει την ανάπτυξη του βακτηριακού πληθυσμού (Hu et al., 2011).

Ciprofloxacin

Αντίστοιχα, στις ίδιες πειραματικές μελέτες βρισκόταν και η ουσία Ciprofloxacin, με τη μόνη διαφορά ότι η τιμή του pH για αυτή την ένωση έχει πού μικρή σημασία στους ρυθμούς οξειδωσης της. Για το Ciprofloxacin πραγματοποιήθηκε αναγνώριση 12 προϊόντων οξειδωσης τα οποία έχουν αμελητέα βιολογική δραστηριότητα συγκριτικά με την μητρική ένωση. Σε αυτή την περίπτωση το επτασθενές μαγγάνιο “Mn(VII)” αντιδρά με το δακτύλιο της πιπεραζίνης της υπό μελέτη φλουροκινολόνης (Hu et al., 2010, 2011).

Clarithromycin

Για τη συγκεκριμένη ένωση που ανήκει στις μακρολίδες έχει πραγματοποιηθεί μόνο μια μελέτη, όπου διερευνήθηκαν οι μηχανισμοί της προσρόφησης και του μετασχηματισμού της με τη χρήση τρισθενούς σιδήρου “Fe(III)” και τετρασθενές μαγγάνιο “Mn(IV)”. Τα οξειδία αυτά των μετάλλων φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στη φυσική μείωση / απομάκρυνση της εν λόγω ένωσης από το υδατικό περιβάλλον. Με τη χρήση αυτών οξειδίων, απεδείχθη ότι προσροφούνται περισσότερο από 90% σύμφωνα με το μοντέλο του Freundlich. Παράλληλα με την προσρόφηση πραγματοποιείται και αποδόμηση της ουσίας όπου αναγνωρίστηκαν και 3 κύρια προϊόντα μετατροπής εξαιτίας της υδρόλυσης και της οξειδωσης. Πρέπει να διερευνηθεί όμως η ενδεχόμενη τοξικότητα τους και κατά πόσο παραμένουν βιολογικά ενεργά αυτά τα προϊόντα (Feitosa-Felizzola et al., 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

*Τοξικότητα των αντιβιοτικών στους οργανισμούς του υδάτινου
περιβάλλοντος*

4. Τοξικότητα των αντιβιοτικών στους οργανισμούς του υδάτινου περιβάλλοντος

Σε ότι αφορά στην τοξικότητα των συγκεκριμένων δραστικών ουσιών, μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί διάφορα πειράματα τοξικότητας σε υδρόβιους οργανισμούς αλλά και σε μικροοργανισμούς που υπάρχουν μέσα στην ενεργό ιλύ. Έχει διερευνηθεί η πιθανή διαφοροποίηση της τοξικότητας αποβλήτων που περιέχουν τις συγκεκριμένες ουσίες κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και έχει εκτιμηθεί ότι ο κίνδυνος από τη διάθεση επεξεργασμένων αποβλήτων στο περιβάλλον θα ήταν ιδιαίτερα αυξημένος. Ως προς την τοξικότητα τους σε υδρόβιους οργανισμούς, οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί είναι μόνο για οξεία τοξικότητα και όχι για χρόνια τοξικότητα, προφανώς εξαιτίας του ότι τα πειράματα χρόνιας τοξικότητας είναι περισσότερο χρονοβόρα και μεγαλύτερου κόστους. Είναι γνωστό πως η τοξικότητα των οργανικών ουσιών γενικά συνήθως είναι προσθετική όταν βρίσκονται σε μίγματα. Αυτό θα αποτελέσει και ένα αντικείμενο της διατριβής καθώς θα διερευνηθεί η τοξικότητα των ουσιών σε διάφορα μίγματα καθώς μέχρι σήμερα υπάρχουν μια με δυο μελέτες που εξετάζουν πειραματικά την τοξικότητα διαφόρων γενικά φαρμακευτικών ουσιών σε μίγματα..

Βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων είναι γνωστό πως κάθε οργανισμός λειτουργεί διαφορετικά. Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που τον επηρεάζουν όπως ο συντελεστής οκτανόλης - νερού (LogK_{ow}) της κάθε ουσίας, η συγκέντρωση και διαλυτότητά της, η λιποφιλία που παρουσιάζει απέναντι στον υπό μελέτη οργανισμό κλπ. Εξαρτάται φυσικά και από την κατάσταση του οργανισμού, όπως και σε τι περιβάλλον βρίσκεται και εάν τα άτομα που προσβάλλονται είναι νέα γενιά ή γερασμένα (Crum et al, 1999). Παρακάτω παρουσιάζεται η οξεία τοξικότητα σε διάφορα επίπεδα οργανισμών και οι επιπτώσεις που δύναται να προκαλέσουν οι υπό μελέτη ουσίες της διδακτορικής διατριβής σε διάφορα επίπεδα υδρόβιων οργανισμών. Πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχει έλλειψη δεδομένων ως προς την χρόνια τοξικότητα τους στα διάφορα επίπεδα των οργανισμών. Επειδή, η διάθεση επεξεργασμένων αποβλήτων στο περιβάλλον γίνεται καθημερινά έτσι και οι εισερχόμενες συγκεντρώσεις αρκετών αντιβιοτικών πιθανόν να έχουν συσσωρευτική δράση και ίσως να προκαλούν μεγαλύτερη τοξικότητα μακροπρόθεσμα. Είναι ένα σημαντικό κενό που πρέπει να καλυφθεί ειδικά για ενώσεις που οι μέχρι σήμερα μελέτες αποδεικνύουν υψηλές τοξικότητες για κάποια επίπεδα υδρόβιων οργανισμών

4.1 Τοξικότητα στα ψάρια (*Fish*)

Αυτή η κατηγορία των υδρόβιων οργανισμών είναι η λιγότερο μελετημένη καθώς το κόστος και χρόνος διεξαγωγής τέτοιων πειραμάτων είναι σχετικά υψηλός συγκριτικά με τα υπόλοιπα επίπεδα των υδρόβιων οργανισμών. Παρόλα αυτά έχουν πραγματοποιηθεί κάποιες μελέτες γενικά για φαρμακευτικές ενώσεις και συγκεκριμένα από τις 8 εξεταζόμενες αντιμικροβιακές ουσίες υπάρχουν δεδομένα μόνο για το Trimethoprim και το Sulfamethoxazole όπου δεν εμφάνισαν σε κανένα χρονικό επίπεδο υψηλή τοξικότητα. Το είδος του ψαριού που χρησιμοποιήθηκε σε αυτές τις μελέτες είναι ο "*Oryzias latipes*" (Kim et al., 2007; Park and Choi, 2008). Η τοξικότητα συνήθως είναι από μηδαμινή έως απειροελάχιστη για όλες τις υπό μελέτη ουσίες και για όλα τα διαφορετικά είδη ψαριών που έχουν μελετηθεί.

4.2 Τοξικότητα στον οστρακόδερμο οργανισμό (*Daphnia magna*)

Όσον αφορά τον οστρακόδερμο υδρόβιο οργανισμό *Daphnia magna* καθώς και άλλους οργανισμούς που ανήκουν στις δάφνες, μέχρι σήμερα έχουν μελετηθεί για την τοξικότητα που μπορεί να τους προκαλέσουν διάφορες φαρμακευτικές ενώσεις. Αν και είναι ευκολότερα σαν πειράματα συγκριτικά με τα άλγη (είναι μεγαλύτεροι σε μέγεθος οργανισμοί) είναι περισσότερο δαπανηρά και γι' αυτό υπάρχουν και σχετικά περιορισμένες μελέτες. Για τις υπό μελέτη ουσίες της παρούσης διατριβής έχει διερευνηθεί μελέτη της οξείας τοξικότητας τους για το Trimethoprim (EC₅₀: 98,9 mg/L – 196,3 mg/L) και το Sulfamethoxazole (EC₅₀: 145,6 mg/L – 229,5 mg/L) όπου προκαλούν μια τοξικότητα μεσαίου επιπέδου στην *Daphnia magna* (Kim et al., 2007; Park and Choi, 2008). Μια άλλη μελέτη για την φλουροκινολόνη Ciprofloxacin παρουσίασε αμελητέα οξεία τοξικότητα στον οστρακόδερμο οργανισμό αν και αναφέρεται πως οι φλουροκινολόνες προκαλούν οξεία φυτοτοξικότητα στην *Daphnia magna* (Kim et al., 2009).

4.3 Τοξικότητα στα άλγη (*Algae*)

Συνήθως στα πράσινα και μπλε άλγη παρατηρούνται οξείες τοξικότητες καθώς είναι ευαίσθητοι σαν οργανισμοί και άμεσα εκτεθειμένοι στην προσβολή από διάφορες επιβλαβής οργανικές ενώσεις και στην προκειμένη περίπτωση τα αντιβιοτικά.

Οι μακρολίδες στα άλγη στις περισσότερες περιπτώσεις είναι επικίνδυνα τοξικές. Δεδομένα τοξικότητας στα άλγη υπάρχουν μόνο για την Erythromycin (EC₅₀: 13,69 mg/L – 40,78 mg/L) και την Clarithromycin (EC₅₀: 26,43 mg/L – 46,63 mg/L). Μια μέσης τάξης τοξικότητα προκαλεί και το Sulfamethoxazole (EC₅₀: 16,32 mg/L – 48,86 mg/L) ενώ αμελητέα το Trimethoprim στα πράσινα και μπλε άλγη (Isidori et al., 2005; Kim et al., 2007; van der Grinten et al., 2010). Το Ciprofloxacin παρουσιάζει υψηλή τοξικότητα, ειδικά στα κυανοβακτήρια σε σχέση με τα πράσινα άλγη (Robinson et al., 2005; Ebert et al., 2011).

Μελέτες σε διάφορα μίγματα των υπό μελέτη ουσιών μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν, υπάρχουν μόνο ελάχιστες μελέτες για διάφορες γενικά φαρμακευτικές ενώσεις.

4.4 Τοξικότητα στον φωτοσυνθετικό οργανισμό (*Lemna minor*)

Η *Lemna minor* είναι ένα οργανισμός, όπου χρησιμοποιείται για την εύρεση της τοξικότητας διάφορων «επικίνδυνων – τοξικών» ουσιών. Χρησιμοποιείται συνήθως ως δοκιμαστικός οργανισμός των υδρόβιων φυτών. Για τις υπό μελέτη ουσίες υπάρχουν μόνο 3 μελέτες που διερευνούν την τοξικότητα τους με την *Lemna minor*. Συγκεκριμένα έχουν γίνει μελέτες για το Ciprofloxacin και την Erythromycin μόνο. Το Ciprofloxacin παρουσιάζει υψηλή τοξικότητα στη *Lemna minor* καθώς παρουσιάζεται χλώρωση των φύλλων της (η χαμηλότερη EC₅₀ που έχει υπολογιστεί είναι 107 µg/L) (Robinson et al., 2005; Ebert et al., 2011). Όσο αφορά την Erythromycin προκαλεί και αυτή η ουσία τοξικότητα στην *Lemna minor* της τάξης των 5,6 mg/L) (Pomati et al., 2004).

Μέχρι σήμερα δεν έχει διερευνηθεί η τοξικότητα γενικά των αντιμικροβιακών ουσιών σε μίγματα κάτι το οποίο αποτελεί μεγάλη έλλειψη καθώς καμία ουσία δεν βρίσκεται ποτέ μόνη της στο περιβάλλον.

4.5 Τοξικότητα στο θαλάσσιο βακτήριο (*Vibrio fisheri*)

Η μέτρηση της τοξικότητας με την χρήση του θαλάσσιου βακτηρίου *Vibrio fisheri* αποτελεί έναν ακόμα πιο γρήγορο και εύκολο τρόπο μέτρησης της τοξικότητας μιας ή πολλών οργανικών ενώσεων. Για τις υπό μελέτη ουσίες υπάρχουν και εδώ μόνο 3 μελέτες που διερευνούν την τοξικότητα που προκαλούν το Sulfamethoxazole, το Ciprofloxacin και η Erythromycin στο θαλάσσιο βακτήριο. Το Ciprofloxacin και η Erythromycin παρουσιάζουν μια σχετική τοξικότητα στο βακτήριο σε μια μελέτη διερεύνησης της τοξικότητας διαφόρων οργανισμών (Hernando et al., 2007). Αντίθετα σε μια πιο πρόσφατη μελέτη που αφορά μόνο το Ciprofloxacin διαπιστώθηκε πως σε βασικό pH το Ciprofloxacin δεν προκαλεί καμία τοξική επίπτωση στο *Vibrio fisheri* (Vasconcelos et al., 2009). Επομένως, ως προς το Ciprofloxacin δεν είναι ξεκάθαρο εάν είναι τοξική η δράση του στο *Vibrio fisheri* και απαιτείται διερεύνηση της τοξικότητας του. του Sulfamethoxazole καθώς μπορεί τα προϊόντα οξειδωσης που πιθανών να δημιουργηθούν να είναι περισσότερο τοξικά. Σε πρόσφατη μελέτη είχε εφαρμοστεί η προηγμένη μέθοδος οξειδωσης Photo-Fenton όπου απεδείχθη ότι το Sulfamethoxazole δεν είναι τοξικό στο βακτήριο *Vibrio fisheri*. Όμως τα προϊόντα οξειδωσης που πιθανών να δημιουργηθούν από την εφαρμοσμένη μέθοδο επεξεργασίας μπορεί να είναι περισσότερο τοξικά και ίσως να προκαλέσουν τοξικότητα και δυσμενείς επιπτώσεις στο βακτήριο (Klamerth et al., 2010). Για μελέτη σε μίγματα των υπό μελέτη ουσιών αλλά και γενικά για φαρμακευτικές ουσίες δεν έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα μελέτες κάτι το οποίο αποτελεί και ένα βασικό κενό της υπάρχουσας βιβλιογραφίας.

4.6 Εκτίμηση επιπτώσεων στο υδατικό περιβάλλον από τη χρήση των αντιβιοτικών

Η εκτίμηση των περιβαλλοντικών κινδύνων στο περιβάλλον και ειδικά στο υδατικό περιβάλλον είναι αναγκαία καθώς η διάθεση τους μέσω της βιολογικής επεξεργασίας των λυμάτων είναι άμεση. Στην περίπτωση που οι διάφορες οργανικές ενώσεις, στην προκειμένη περίπτωση τα αντιβιοτικά, δεν απομακρύνονται πλήρως μέσω των ΜΕΥΑ διοχετεύονται άμεσα στο περιβάλλον με την πιθανότητα να προκαλέσουν δυσμενείς επιπτώσεις στους υδατικούς οργανισμούς. Η πιθανότητα εκδήλωσης διαταραχών μιας ουσίας στο περιβάλλον όταν έρθει σε επαφή με αυτό, προσδιορίζεται μέσω της εκτίμησης του περιβαλλοντικού κινδύνου ή αλλιώς Environmental Risk Assessment. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών

αποδεικνύουν συνήθως δυσμενείς διαταραχές σε οργανισμούς μη – στόχους ειδικά όταν είναι σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από τις αναμενόμενες συγκεντρώσεις στο περιβάλλον. Μέχρι σήμερα, γενικότερα για τις φαρμακευτικές ενώσεις δεν υπάρχουν αρκετές οικοτοξικολογικές μελέτες και αυτό αποτελεί ένα μεγάλο κενό στη γνώση των επιπτώσεων τους εν γένει στο περιβάλλον. Η ανάλυση του κινδύνου καθορίζεται από μια τιμή (RQ, risk quotient), όπου για κάθε ουσία ξεχωριστά υπολογίζεται η προβλεπόμενη συγκέντρωση (PEC) και η συγκέντρωση που δεν προκαλεί καμία επίδραση στο περιβάλλον (PNEC), το διαίρεση αυτών δίνει το πηλίκο κινδύνου. Όταν η τιμή RQ είναι μεγαλύτερη της μονάδας τότε αποδεικνύεται ύπαρξη περιβαλλοντικού κινδύνου στο υδατικό περιβάλλον. Όταν γίνεται μελέτη σε μίγματα ουσιών τότε το άθροισμα των RQ των υπό μελέτη ουσιών δίνει την συνολική τοξικότητα που προκαλούν στο υδατικό περιβάλλον. Ο λόγος που υπολογίζεται και η αθροιστική τοξικότητα, είναι για να περιοριστεί η πιθανότητα σφάλματος και υποεκτίμησης της τοξικότητας καθώς σε πολλές περιπτώσεις κάθε μια ουσία μεμονωμένα μπορεί να είναι αβλαβής αλλά σε συνδυασμό με άλλες ουσίες μπορεί να αλληλεπιδρά και να συμβάλει στην συνολική τοξικότητα (Ferrari et al., 2004; Carlsson et al., 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Αντικείμενο και Στόχοι διδακτορικής Διατριβής

5. Αντικείμενο και Στόχοι Διδακτορικής Διατριβής

Η προτεινόμενη διδακτορική διατριβή θα έχει ως αντικείμενο τη διερεύνηση της παρουσίας και της απομάκρυνσης 8 αντιμικροβιακών ουσιών (Cefadroxil, Trimethoprim, Sulfamethoxazole, Ciprofloxacin, Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Doxycycline) σε συστήματα επεξεργασίας υγρών αστικών αποβλήτων (δευτεροβάθμια επεξεργασία και τριτοβάθμια επεξεργασία). Παράλληλα θα μελετηθεί η τοξικότητα των αντιβιοτικών μετά την εισαγωγή τους στο υδάτινο περιβάλλον και οι επιπτώσεις που δύναται να προκαλέσουν στους υδρόβιους οργανισμούς.

Στόχος της πρότασης είναι να δώσει απαντήσεις στα υφιστάμενα κενά της βιβλιογραφίας και να προάγει την έρευνα ως προς την αποτελεσματική απομάκρυνση των αντιβιοτικών κατά την επεξεργασία των αποβλήτων. Η προτεινόμενη έρευνα αποτελεί πρωτότυπη και καινοτόμα έρευνα για τα Ελληνικά, Ευρωπαϊκά και εν μέρει παγκόσμια δεδομένα καθώς οι έρευνες που έχουν υλοποιηθεί πιθανολογούν για τους μηχανισμούς απομάκρυνσης των αντιβιοτικών, ενώ έχει μελετηθεί ένα μικρό εύρος ενώσεων από αυτή την κατηγορία των φαρμακευτικών προϊόντων.

Σύμφωνα με όσα προαναφέρθηκαν στα προηγούμενα κεφάλαια για τις 8 υπό μελέτη αντιμικροβιακές ενώσεις, μέχρι σήμερα η γνώση και τα κενά που υπάρχουν συνοπτικά είναι τα εξής:

1. Δεν έχουν εκτιμηθεί οι αναμενόμενες συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών στα υγρά απόβλητα και στο ελληνικό υδατικό περιβάλλον και δεν έχουν επισημανθεί τα αντιβιοτικά που δυνητικά δημιουργούν το μεγαλύτερο κίνδυνο για τους υδρόβιους οργανισμούς. Μέχρι σήμερα ορισμένες αντίστοιχες μελέτες στο εξωτερικό που βασίζόμενες στα δεδομένα κατανάλωσης φαρμακευτικών ενώσεων, υπολογίζουν με χρήση ισοζυγίων μάζας τις αναμενόμενες συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών στα απόβλητα και στο υδατικό περιβάλλον.
2. Για τα συγκεκριμένα αντιβιοτικά υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα στη βιβλιογραφία σχετικά με την ποσοστιαία απομάκρυνσή τους κατά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και σημαντικά κενά σχετικά με τους μηχανισμούς απομάκρυνσής τους (ρόλος προσρόφησης, βιοαποδόμησης) και τους παράγοντες (λειτουργικούς, περιβαλλοντικούς) που επηρεάζουν τους παραπάνω μηχανισμούς.

3. Όσον αφορά στις μεθόδους τριτοβάθμιας επεξεργασίας που περιγράφηκαν παραπάνω, για κάποιες ουσίες έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες ενώ για κάποιες άλλες όχι. Οι περισσότερες μελέτες αφορούν στους μηχανισμούς οζόνωσης και χρήσης H_2O_2 και αμέσως μετά με σειρά μικρότερης διερεύνησης ακολουθούν οι μελέτες με χρήση διαφόρων τύπων μεμβρανών, ο ενεργός άνθρακας και ειδικότερα η χρήση των carbon nanotubes και η χρήση οξειδωτικών μέσων με βάση τα μέταλλα
4. Υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα όσον αφορά τους μεταβολίτες των ουσιών που παράγονται κατά τη δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια επεξεργασία των αποβλήτων
5. Όσον αφορά στην τοξικότητα των ουσιών σε υδρόβιους οργανισμούς δεν υπάρχουν δεδομένα για όλες τις ουσίες και ούτε για όλες τις τάξεις των οργανισμών. Παρατηρείται επίσης έλλειψη μελετών για την τοξική δράση του μίγματος των συγκεκριμένων ουσιών.

Βάση των παραπάνω, οι στόχοι της παρούσας διδακτορικής πρότασης είναι:

1. Να επικυρωθεί αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού των υπό μελέτη αντιβιοτικών ουσιών σε υγρά απόβλητα και λάσπες με χρήση LC-MS
2. Να συλλεχθούν δεδομένα κατανάλωσης αντιβιοτικών στην Ελλάδα, να εκτιμηθούν οι αναμενόμενες συγκεντρώσεις τους στα αστικά υγρά απόβλητα και στο υδατικό περιβάλλον και να γίνει εκτίμηση του περιβαλλοντικού κινδύνου στο υδάτινο περιβάλλον, με χρήση είτε πειραματικών δεδομένων τοξικότητας είτε μέσω μοντέλων εκτίμησης τους (EC_{50}/LC_{50})
3. Να δοθεί μια ξεκάθαρη εικόνα για το ρόλο των μηχανισμών προσρόφησης και βιοαποδόμησης των αντιμικροβιακών ουσιών κατά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία των αποβλήτων και να μελετηθούν οι παράμετροι που επηρεάζουν την απομάκρυνσή τους
4. Να μελετηθεί η απομάκρυνση των συγκεκριμένων ουσιών κατά την τριτοβάθμια επεξεργασία των υγρών αποβλήτων με χρήση οζόνωσης ή/και νέων οξειδωτικών μέσων
5. Να διερευνηθούν οι μεταβολίτες που πιθανών παράγονται καθώς και η τοξικότητα αυτών

Να μελετηθεί η τοξικότητα των αντιβιοτικών και των μιγμάτων τους σε διάφορες κατηγορίες υδρόβιων οργανισμών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

Πειραματική Μεθοδολογία Διδακτορικής Διατριβής

6. Πειραματική Μεθοδολογία Διδακτορικής Διατριβής

Η μεθοδολογία που θα εφαρμοστεί θα περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Συλλογή δεδομένων κατανάλωσης αντιβιοτικών στην Ελλάδα και εκτίμηση των αναμενόμενων συγκεντρώσεων και του ρίσκου επικινδυνότητας σε οργανισμούς του υδάτινου περιβάλλοντος
2. Επικύρωση της μεθόδου του ταυτόχρονο προσδιορισμού των υπό μελέτη αντιβιοτικών σε υγρά απόβλητα και λάσπες με χρήση LC/MSDTrap
3. Διερεύνηση μηχανισμών προσρόφησης και βιοαποδόμησης σε πειράματα εργαστηριακής κλίμακας
4. Μελέτη απομάκρυνσης τους μέσω μεθόδων τριτοβάθμιας επεξεργασίας (με χρήση οζόνωσης και μέσω οξειδωτικών μέσων)
5. Μελέτη της τοξικότητας μεμονωμένων ουσιών και μιγμάτων σε υδρόβιους οργανισμούς

6.1 Συλλογή και επεξεργασία Δεδομένων Κατανάλωσης Αντιβιοτικών – Εκτίμηση περιβαλλοντικού ρίσκου επικινδυνότητας

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής θα πραγματοποιηθεί συλλογή δεδομένων κατανάλωσης όλως των σκευασμάτων που περιέχουν τις υπό μελέτη ουσίες καθώς και θα συλλεχθούν πανελλαδικά δεδομένα ανάλογα την μορφή τους (ενέσιμη, χάπι/ταμπλέτα, σιρόπι, αλοιφή / gel). Με αυτό τον τρόπο θα γίνει μια εκτίμηση όσο πλησιέστερη γίνεται στην πραγματικότητα, η συνολική κατανάλωση και η παραγόμενη ποσότητα του αντίστοιχου αντιβιοτικού στο υδάτινο περιβάλλον. Αυτό θα επιτευχθεί με τη χρήση διαφόρων παραμέτρων και δεδομένων ακολουθώντας ένα πρωτόκολλο που προσδιορίζει την εκτίμηση οργανικών ενώσεων στο υδατικό περιβάλλον μετά την απελευθέρωση τους από τις μονάδες βιολογικής επεξεργασίας των λυμάτων (Technical Guidance Document of the European Commission, 2003).

Πιο αναλυτικά:

1. Τα δεδομένα κατανάλωσης θα συλλεχθούν από την IMS Health Incorporation της Ελλάδας για τρία έτη (2008-2010)

2. Σύμφωνα με τον πληθυσμό της Ελλάδας, τους ρυθμούς απέκκρισης των ουσιών από τα ούρα, τους ρυθμούς απομάκρυνσης τους από τις βιολογικές μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων και τη ροή παροχής τους στις μονάδες θα υπολογιστεί η προβλεπόμενη συγκέντρωση (PEC) σύμφωνα με τον αντίστοιχο τύπο του πρωτοκόλλου.
3. Έπειτα θα συλλεχθούν δεδομένα οξείας τοξικότητας είτε βιβλιογραφικά είτε μέσω μοντέλων εκτίμησης οξείας τοξικότητας σε 3 επίπεδα υδρόβιων οργανισμών και θα υπολογιστεί και η προβλεπόμενη συγκέντρωση που δεν προκαλεί επιπτώσεις (PNEC)
4. Τέλος, θα εκτιμηθεί ο περιβαλλοντικός κίνδυνος (RQ) από το ποσοστό της προβλεπόμενης περιβαλλοντικής συγκέντρωσης (PEC) προς την προβλεπόμενη συγκέντρωση χωρίς επιπτώσεις (PNEC) στο υδάτινο περιβάλλον για κάθε ένα οργανισμό ξεχωριστά

6.2 Επικύρωση μεθόδου προσδιορισμού αντιβιοτικών σε υγρά απόβλητα και λάσπες

Η τεχνική που θα χρησιμοποιηθεί είναι υδροχρωματογραφία με φασματομετρία μαζών υψηλής απόδοσης. Θα πραγματοποιηθεί βελτιστοποίηση σε δείγματα υγρών αποβλήτων καθώς και σε λάσπες. Επίσης, θα γίνει βελτιστοποίηση των οργανολογικών παραμέτρων με στόχο τη μεγαλύτερη δυνατή ευαισθησία για κάθε μια ένωση ξεχωριστά .

Αρχικά θα γίνει προσδιορισμός των ουσιών, μελέτη της διαχωριστικότητας τους και ανίχνευση των βέλτιστων παραμέτρων ούτως ώστε να πληρούνται τα χρωματογραφικά και ποιοτικά κριτήρια. Αφού βρεθούν οι χρόνοι έκλουσης της κάθε ένωσης για να ολοκληρωθεί η διαδικασία της επικύρωσης της μεθόδου θα παρασκευαστεί στην αρχή αλλά και ενδιάμεσα κατά την επικύρωση μια καμπύλη βαθμονόμησης με χρήση μιγμάτων προτύπων διαλυμάτων αρκετών συγκεντρώσεων. Θα πραγματοποιηθεί πλήρης έλεγχος της γραμμικότητας, ακρίβειας και πιστότητας, τόσο για συνθήκες επαναληψιμότητας όσο και για ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα. Τέλος, θα προσδιοριστούν τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού του οργάνου και της μεθόδου.

Η παραπάνω διαδικασία θα εφαρμοστεί σε υπόστρωμα υγρών αποβλήτων. Αντίστοιχη διαδικασία θα ακολουθηθεί και για την επικύρωση σε υπόστρωμα λάσπης

για προσδιορισμό και του σωματιδιακού κλάσματος. Σε αυτή την διαδικασία θα περιλαμβάνεται ένα επιπλέον στάδιο, το οποίο θα είναι η επεξεργασία της λάσπης, όπως η ξήρανση, λειοτρίβιση, ομογενοποίηση, φυγοκέντρηση για να διαχωριστεί η υγρή από την στερεή φάση. Στη πορεία με χρήση κάποιων διαλυτών και σε λουτρό υπερήχων πραγματοποιείτε εκχύλιση των ουσιών και ακολουθείτε η διαδικασία της εκχύλισης όπως και στα υγρά απόβλητα. Θα διερευνηθεί στη πορεία η ακριβής διαδικασία που θα εφαρμοστεί.

6.3 Μελέτη της προσρόφησης και της βιοαποδόμησης των αντιβιοτικών

Μετά την επικύρωση της μεθόδου το πρώτο εργαστηριακό πείραμα που θα πραγματοποιηθεί στην παρούσα διδακτορική διατριβή στόχο έχει τη διερεύνηση της προσρόφησης και της βιοαποδόμησης των υπό μελέτη αντιβιοτικών. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τη μεθοδολογία που έχει εφαρμοστεί από τους Bing Li et al. (2010) θα χρησιμοποιηθούν τέσσερις Μονάδες Ενεργού Ίλως εργαστηριακής κλίμακας όπου θα διερευνηθούν οι ουσίες σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων καθώς και η τοξικότητα και η χημική συμπεριφορά τους (Βιοαποδόμηση, Προσρόφηση) στα συστήματα Ενεργού Ίλως (Li and Zhang, 2010).

Θα στηθούν συνολικά τέσσερις πιλοτικές μονάδες (SBR) δυο αερόβιες και δυο ανοξικές (μια control και μια εμβολιασμένη με το μίγμα των ουσιών αντίστοιχα και για τους δυο τύπους των μονάδων) και θα τοποθετηθούν σε μέρος με έλλειψη φωτός.. Στις αερόβιες μονάδες θα προστεθεί σύστημα συνεχούς αερισμού ενώ οι ανοξικές μονάδες θα τοποθετηθούν σε τράπεζα συνεχούς ανακίνησης.

Οι αντιδραστήρες θα δουλεύουν σε 24h βάση και θα τροφοδοτούνται καθημερινά με φρέσκα απόβλητα. Θα διερευνηθεί η επίδραση της τιμής του pH και της θερμοκρασίας. Έπειτα από μια σειρά πειραμάτων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις θα υπολογιστεί και ο συντελεστής Kd της κάθε ένωσης.

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων θα διαπιστωθεί ποιος είναι ο κύριος μηχανισμός που ευθύνεται για την απομάκρυνση της κάθε ουσίας από αυτό το σύστημα ασυνεχούς ροής ενεργού ίλως. Τέλος, θα πραγματοποιηθούν βραχυρόνια πειράματα μικρότερης διάρκειας με σκοπό την διερεύνηση των πιθανών μεταβολιτών των υπό εξέταση ουσιών, με στόχο την εξέταση της συμπεριφορά τους και κατά πόσο μπορούν και οι παραγόμενοι μεταβολίτες να βιοαποδομηθούν ή να προσροφηθούν.

Μετά το πέρας των πειραμάτων θα υπολογιστεί για κάθε ένωση ποιο μοντέλο κινητικής εξίσωσης ακολουθεί (μηδενικής, πρώτης ή δεύτερης τάξης). Χρησιμοποιώντας την εξίσωση θα υπολογιστεί η σταθερά αποδόμησης k (day^{-1}), όπου βάσει της τιμής του συντελεστή k υπολογίζεται και ο χρόνος ημίσειας ζωής της κάθε ένωσης ($t_{1/2}$) με τη βοήθεια της εξίσωσης $(\ln 2)/k$.

Τα πειράματα θα πραγματοποιηθούν στο Εργαστήριο Ποιότητας Υδάτων και Αέρα του Τμήματος Περιβάλλοντος, όπου διαθέτει τον απαραίτητο εξοπλισμό (LC-MS, εργαστηριακοί αντιδραστήρες, διατάξεις προσδιορισμού τοξικότητας) για την διεξαγωγή των αναλύσεων και των εργαστηριακών πειραμάτων.

Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας που θα χρησιμοποιηθεί είναι HP 1200 Series της Agilent, ο οποίος είναι συνδεδεμένος με ανιχνευτή υψηλής φασματομετρίας μαζών LC/MSDTrap 1100 Series και περιλαμβάνει αυτόματο δειγματολήπτη (Agilent Technologies, USA).

Εκτός από τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των ουσιών που θα πραγματοποιείται σύμφωνα με τη μέθοδο που θα γίνει βελτιστοποίηση και επικύρωση, παράλληλα ανά τακτά χρονικά διαστήματα θα γίνεται και έλεγχος λειτουργικών παραμέτρων.

Παρακάτω, θα περιγραφούν κάποιες από τις μεθόδους ανάλυσης που θα χρησιμοποιηθούν, οι οποίες θα βασίζονται στο πρότυπο κανονισμό Standard Methods. Ακολουθεί μια σύντομη περιγραφή των μεθόδων ανάλυσης των λειτουργικών παραμέτρων:

A) Προσδιορισμός T, DO και pH

Ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας και του pH πραγματοποιείται με τη βοήθεια της συσκευής Crison micropH2001 και το διαλυμένο οξυγόνο με το οξυγονόμετρο WTW Oxi96.

B) Μέτρηση ολικών και πτητικών στερεών

Η μέθοδος στηρίζεται στο διαχωρισμό των αιωρούμενων στερεών από τα διαλυμένα μέσω διήθησης. Οι μετρήσεις των ολικών αιωρούμενων στερεών και των πτητικών αιωρούμενων στερεών πραγματοποιούνται σύμφωνα με το Standard Methods. Για τον προσδιορισμό των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS), ζυγίζεται φίλτρο GF/C το οποίο προηγουμένως έχει αποξηραθεί σε φούρνο $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 30 min και μετράται το βάρος τους. Στη συνέχεια τοποθετείται στη συσκευή διήθησης όπου διηθείται ο

απαιτούμενος όγκος δείγματος και το φίλτρο ξηραίνεται στο φούρνο στους 105 °C για 1 h. Μετά από αυτό ζυγίζονται και πάλι στον αναλυτικό ζυγό υπολογίζονται τα TSS (mg/l).

Στη συνέχεια αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία μέτρησης των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS), ακολουθεί καύση των οργανικών στερεών (VSS), τοποθετώντας το φίλτρο σε φούρνο των 550 °C για 30 min. Αυτό πραγματοποιείται διότι τα οργανικά στερεά που υπάρχουν στα TSS καίγονται και έτσι μένουν μόνο τα ανόργανα. Το φίλτρο ζυγίζεται όπως και προηγουμένως και έπειτα υπολογίζεται η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών.

Γ) Μέτρηση ολικού και διαλυτού COD

Η μέθοδος βασίζεται στην οξείδωση της οργανικής ύλης από ένα μίγμα διχρωμικού καλίου 0.1 N και πυκνού θεικού οξέος που περιέχει διαλυμένο Ag_2SO_4 και θειικό υδράργυρο H_2SO_4 . Μετά τη χώνευση του δείγματος, μετριέται φασματομετρικά η υπολειμματική συγκέντρωση διχρωμικού καλίου, με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου ορατού φωτός HACH DR/2400, προκειμένου να υπολογιστεί η ποσότητα του διχρωμικού που καταναλώθηκε. Από τη διαφορά των τιμών του ολικού και διαλυτού COD προκύπτει η τιμή του σωματιδιακού COD.

Για τον προσδιορισμό του COD αφού έχουν παρθεί τα δείγματα, τοποθετείται μια ποσότητα 2.0 ml δείγματος στα φιαλίδια και ανακινούνται καλά. Τα φιαλίδια που χρησιμοποιούνται για την μέτρηση δειγμάτων εισόδου έχουν εύρος τιμών 0-1500 mg/l ενώ τα φιαλίδια για δείγματα εξόδου έχουν 0-150 mg/l. Είναι απαραίτητη η παρασκευή ενός δείγματος όπου προστίθενται 2.0 ml απιονισμένου νερού στα φιαλίδια ώστε να βαθμονομηθεί το όργανο για τις τιμές εισόδου και εξόδου. Στη συνέχεια, αυτά τοποθετούνται για χώνευση για περίπου 2 h και έπειτα αφού κρυώσουν μετράται η απορρόφηση του καθενός χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος ίσο με 620 nm.

Δ) Μέτρηση αμμωνιακού αζώτου (NH_4)

Η μέθοδος αποσκοπεί στην αφαίρεση του αμμωνιακού αζώτου από το δείγμα με απόσταξη η οποία γίνεται με τη βοήθεια συσκευής απόσταξης αμμωνίας τύπου BUCHI K-314. Η απόσταξη της αμμωνίας συντελείται με τη διοχέτευση υδρατμών στο δείγμα και γίνεται σε αλκαλικές συνθήκες (με προσθήκη διαλύματος NaOH),

ώστε η πλειονότητα του αμμωνιακού αζώτου να βρίσκεται με τη μορφή αμμωνίας που παρουσιάζει μικρή διαλυτότητα στο νερό. Οι υδρατμοί και η αέρια αμμωνία συλλέγονται σε διάλυμα βορικού οξέος που αντιδρά με την αμμωνία με αποτέλεσμα να παράγεται αμμώνιο, το οποίο είναι ιδιαίτερα διαλυτό στο νερό.

Η ποσότητα του αμμωνιακού αζώτου μετράται σύμφωνα με τη μέθοδο Nessler, όπου μίγμα ιωδιούχου καλίου και ιωδιούχου υδραργύρου (αντιδραστήριο Nessler) αντιδρούν με το αμμωνιακό άζωτο σε αλκαλικές συνθήκες και παράγουν ένα κολλοειδές διάλυμα χρώματος καφεκίτρινου. Η απόχρωση του διαλύματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης αμμωνίας με αποτέλεσμα να μπορεί να γίνει φασματομετρικά ο προσδιορισμός του αμμωνιακού αζώτου στο διάλυμα χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο HACH DR/2400. Όταν τα δείγματα περιέχουν αρκετά NH_4 τότε το χρώμα που προκύπτει είναι πιο έντονο κόκκινο σε σχέση με αυτά που έχουν λιγότερα.

E) Μέτρηση νιτρικού αζώτου (NO_3)

Για τον προσδιορισμό των νιτρικών στα δείγματα εισόδου και εξόδου χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο HACH DR/2400. Αρχικά, παίρνεται όγκος δείγματος 10 ml και τοποθετείται σε φιαλίδιο όπου προστίθεται σκόνη διαλύματος καδμίου και θειϊκού χαλκού και ανακινείται καλά για 1 min. Το δείγμα αφήνεται να ηρεμήσει για 5 min και στη συνέχεια μετράται στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 500 nm. Και σε αυτή τη περίπτωση είναι απαραίτητη η παρασκευή ενός δείγματος για τη βαθμονόμηση του οργάνου με απιονισμένο νερό για δείγμα.

6.4 Πειράματα τριτοβάθμιας επεξεργασίας

Μετά το πέρας του πειράματος για την συμπεριφορά/απομάκρυνση των υπό μελέτη ουσιών κατά την δευτεροβάθμια επεξεργασία, θα πραγματοποιηθούν και πειράματα τριτοβάθμιας επεξεργασίας όπως πειράματα οζόνωσης και πειράματα με χρήση κάποιων οξειδωτικών μέσων όπως αναφέρθηκε και παραπάνω στο κεφάλαιο της βιβλιογραφικής ανασκόπησης.

Τα πειράματα της οζόνωσης σύμφωνα με τις υπάρχουσες μελέτες θα βασιστούν στους Dodd et al. (2006); Lange et al. (2006) και Lin et al. (2009), όπου θα γίνει χρήση όζοντος (O_3) και ριζών $\cdot\text{OH}$ και θα προσδιοριστεί ποιες είναι οι

καταλληλότερες συνθήκες για την αποτελεσματική απομάκρυνση των υπό μελέτη ουσιών. Συνοπτικά, οι φιάλες που θα περιέχουν τα απόβλητα εξόδου αλλά και οι φιάλες ελέγχου (απιονισμένο νερό) θα τοποθετηθούν σε δωμάτιο θερμοκρασίας 20°C με 25°C. Θα τοποθετηθούν και φιάλες ελέγχου με σκοπό να διαπιστωθεί αν υπάρχει επίδραση της μήτρας κατά την διαδικασία της οζόνωσης. Κατά κύριο λόγο θα εφαρμοστούν πειραματικά πρωτόκολλα που αναφέρουν οι Dodd et al. (2006) με κάποιες προσθήκες, θα γίνει επιπλέον μελέτη και της επίδρασης του pH και της κατάλληλης δόσης του όζοντος. Ο κατάλληλος χρόνος αντίδρασης των ουσιών με το όζον και με τις ρίζες υδροξυλίου θα προσδιοριστεί ανάλογα με τα ποσοστά απομάκρυνσης που θα επιτευχθούν κατά την διάρκεια των πειραμάτων, οι συνήθη χρόνοι αντίδρασης σύμφωνα με την βιβλιογραφία κυμαίνονται μεταξύ 5 min έως 20 min το μέγιστο (Dodd et al., 2006; Lange et al., 2006; Lin et al., 2009).

Με την χρήση διάφορων οξειδωτικών μέσων όπως έχει ήδη αναφερθεί υπάρχουν 2-3 μελέτες. Η πειραματική διαδικασία που θα ακολουθηθεί θα βασιστεί στις υπάρχουσες μελέτες για τα αντιβιοτικά και εν γένει φαρμακευτικές ενώσεις. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τους Hu et al. (2008, 2011) και τους Feitosa-Felizzola et al. (2009), θα εφαρμοστεί κάποια ανάλογη διαδικασία με χρήση Mn(VII) και Fe (VII), το pH των ρυθμιστικών διαλυμάτων που θα χρησιμοποιηθούν θα είναι ουδέτερα, ο χρόνος αντίδρασης με τα μέταλλα θα κυμαίνεται από 1 - 30 min μέχρι να προσδιοριστεί ποιος είναι ο κατάλληλος για τις ουσίες, στη συνέχεια στα δείγματα που έχουν εμβολιαστεί με συγκεκριμένη συγκέντρωση του μίγματος των ουσιών θα φιλτράρονται και θα ακολουθεί η διαδικασία της εκχύλισης και του προσδιορισμού τους από το σύστημα με υδροχρωματογραφία και ανιχνευτή φασματομετρίας μαζών. Παράλληλα θα προσδιοριστεί ποια είναι η κατάλληλη δόση και από τα δυο οξειδωτικά μέσα. Τέλος, θα γίνει προσδιορισμός των πιθανών μεταβολιτών που θα προκύψουν από τις επιλεγμένες ενώσεις (Hu et al., 2008, 2011; Feitosa-Felizzola et al., 2009).

Παράλληλα με την μελέτη της απομάκρυνσης των υπό μελέτη ουσιών από αυτές τις δυο μεθόδους τριτοβάθμιας επεξεργασίας θα διερευνηθεί η συμπεριφορά/απομάκρυνση των ουσιών και κατά τον συνδυασμό των δυο αυτών μεθόδων, με πρώτο στάδιο επεξεργασίας την οζόνωση και έπειτα την χρήση των οξειδωτικών μέσων. Σκοπός αυτής πειραματικής διαδικασίας είναι να βρεθεί ο βέλτιστος συνδυασμός, ούτος ώστε να επιτευχθεί η βέλτιστη απομάκρυνση.

6.5 Πειράματα τοξικότητας σε υδρόβιους οργανισμούς

Η διερεύνηση της συμπεριφοράς των υπό μελέτη αντιμικροβιακών ουσιών στο υδάτινο περιβάλλον, θα υλοποιηθεί με μελέτη της τοξικότητάς τους και την εκτίμηση της επικινδυνότητας τους από τη διάθεση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων στον τελικό αποδέκτη. Γι' αυτό το λόγο, θα πραγματοποιηθούν πειράματα τοξικότητας με την χρήση ενός φωτοσυνθετικού οργανισμού τη *Lemna minor* καθώς και του θαλάσσιου βακτηρίου *Vibrio fischeri*. Για κάθε οργανισμό ξεχωριστά υπάρχει αντίστοιχο πειραματικό πρωτόκολλο το οποίο και θα εφαρμοστεί. Τα πειράματα θα διερευνούν τόσο την τοξικότητα κάθε ουσίας ξεχωριστά όσο και την συνδυαστική τους τοξικότητα σε μίγματα με όλες τις υπό μελέτη ουσίες. Ταυτόχρονα θα μελετηθεί η τοξικότητα τους και σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων που θα ανήκουν στο εύρος των συγκεντρώσεων που ανιχνεύονται και στο περιβάλλον.

6.6 ΧΡΟΝΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Χρονική Περίοδος	Προβλεπόμενο Έργο
Δεκέμβριος 2010 - Ιούνιος 2011	Βιβλιογραφική ανασκόπηση : <ol style="list-style-type: none">1. Στις αναλυτικές τεχνικές που έχουν εφαρμοστεί για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό των υπό μελέτη αντιμικροβιακών ουσιών2. Τους μηχανισμούς δράσης και την συμπεριφορά των ουσιών κατά την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων3. Μελέτη της τοξικότητας τους σε διαφορετικά επίπεδα υδρόβιων οργανισμών4. Συλλογή Πανελλαδικών δεδομένων κατανάλωσης των υπό μελέτη ουσιών και εκτίμηση επικινδυνότητας τους
Αύγουστος 2011 – Μάρτιο 2012	Επικύρωση μεθόδου ταυτόχρονου προσδιορισμού αντιμικροβιακών ενώσεων με υδροχρωματογραφία και ανιχνευτή φασματομετρίας μαζών σε υγρά απόβλητα και λάσπες
Απρίλιος 2012 – Δεκέμβριος 2012	<ol style="list-style-type: none">1. Πειράματα προσρόφησης και βιοαποδόμησης αντιμικροβιακών ουσιών και ανίχνευση πιθανών μεταβολιτών2. Πειράματα Τοξικότητας με υδρόβιους οργανισμούς
Ιανουάριος 2013 – Ιούλιο 2013	Πειράματα τριτοβάθμιας επεξεργασίας με οζόνωση και χρήσης οξειδωτικών μέσων
Αύγουστος 2013- Δεκέμβριος 2013	Συγγραφή Διδακτορικής Διατριβής

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Akhtar, J., Amin, N.S., and Aris, A. (2011). Combined adsorption and catalytic ozonation for removal of sulfamethoxazole using Fe₂O₃/CeO₂ loaded activated carbon. *Chemical Engineering Journal* 170, 136–144.

Baran, W., Adamek, E., Ziemiańska, J., and Sobczak, A. (2011). Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of Hazardous Materials* 196, 1–15.

Bound, J.P., and Voulvoulis, N. (2004). Pharmaceuticals in the aquatic environment – a comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere* 56, 1143–1155.

Birkett W. J and J. N. Lester (2003), “Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Process”, *CRC Press LLC, London*, ISBN 1-84339-031-0

Bitton G. (1999), “Wastewater Microbiology”, Wiley and Sons, New York, USA, ISBN 0-47-132047-1

Carabineiro, S.A.C., Thavorn-Amornsri, T., Pereira, M.F.R., and Figueiredo, J.L. (2011). Adsorption of ciprofloxacin on surface-modified carbon materials. *Water Research* 45, 4583–4591.

Carlsson, C., Johansson, A.-K., Alvan, G., Bergman, K., and Kühler, T. (2006). Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?: Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of The Total Environment* 364, 67–87.

Cha, J.M., Yang, S., and Carlson, K.H. (2006). 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* 1115, 46–57.

Choi, K.-J., Kim, S.-G., and Kim, S.-H. (2008). Removal of antibiotics by coagulation and granular activated carbon filtration. *Journal of Hazardous Materials* 151, 38–43.

Grady L., and Magbanua B. (1998), “ Toxic Compounds and Biodegradation in Aerobic Systems – Project – TFT – 2”, *Water Environmental Research Foundation*, ISBN 0-9662553-2-1

Gray N. F. (1990), “Activated Sludge – Theory and Practise”, *Oxford University Press*, New York, ISBN 0-19-856341-8

Crum S.J.H., Kammen-Polman A.M.M., Leistra M., (1999), *Sorption of nine pesticides to three aquatic macrophytes*, *Arch. Environmental Contamination Toxicology* 37, 310 – 316

D az-Cruz, M.S., López de Alda, M.J., and Barceló, D. (2003). Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22, 340–351.

Directive 2006/11/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community

Dodd, M.C., Buffle, M.-O., and von Gunten, U. (2006). Oxidation of Antibacterial Molecules by Aqueous Ozone: Moiety-Specific Reaction Kinetics and Application to Ozone-Based Wastewater Treatment. *Environ. Sci. Technol.* 40, 1969–1977.

Ebert, I., Bachmann, J., Kühnen, U., Küster, A., Kussatz, C., Maletzki, D., and Schlüter, C. (2011). Toxicity of the fluoroquinolone antibiotics enrofloxacin and ciprofloxacin to photoautotrophic aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30, 2786–2792.

Escher, B.I., Baumgartner, R., Koller, M., Treyer, K., Lienert, J., and McArdell, C.S. (2011). Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water Research* 45, 75–92.

European Commission, 2003. Technical Guidance Document in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing

Substances, and Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council Concerning the Placing of Biocidal Products on the Market, Part II. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg

Feitosa-Felizzola, J., Hanna, K., and Chiron, S. (2009). Adsorption and transformation of selected human-used macrolide antibacterial agents with iron(III) and manganese(IV) oxides. *Environmental Pollution* 157, 1317–1322.

Ferrari, B., Mons, R., Vولات, B., Fraysse, B., Paxēaus, N., Giudice, R.L., Pollio, A., and Garric, J. (2004). Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 1344–1354.

Göbel, A., McArdell, C.S., Joss, A., Siegrist, H., and Giger, W. (2007). Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Science of The Total Environment* 372, 361–371.

Göbel, A., Thomsen, A., McArdell, C.S., Joss, A., and Giger, W. (2005). Occurrence and Sorption Behavior of Sulfonamides, Macrolides, and Trimethoprim in Activated Sludge Treatment. *Environ. Sci. Technol.* 39, 3981–3989.

van der Grinten, E., Pikkemaat, M.G., van den Brandhof, E.-J., Stroomberg, G.J., and Kraak, M.H.S. (2010). Comparing the sensitivity of algal, cyanobacterial and bacterial bioassays to different groups of antibiotics. *Chemosphere* 80, 1–6.

Hernando, M.D., Mezcuca, M., Fernández-Alba, A.R., and Barceló, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* 69, 334–342.

Hernando, M.D., De Vettori, S., Martínez Bueno, M.J., and Fernández-Alba, A.R. (2007). Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. *Chemosphere* 68, 724–730.

- Homem, V., and Santos, L. (2011). Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review. *Journal of Environmental Management* 92, 2304–2347.
- Hu, L., Martin, H.M., Arce-Bulted, O., Sugihara, M.N., Keating, K.A., and Strathmann, T.J. (2008). Oxidation of Carbamazepine by Mn(VII) and Fe(VI): Reaction Kinetics and Mechanism. *Environ. Sci. Technol.* 43, 509–515.
- Hu, L., Martin, H.M., and Strathmann, T.J. (2010). Oxidation kinetics of antibiotics during water treatment with potassium permanganate. *Environmental Science and Technology* 44, 6416–6422.
- Hu, L., Stemig, A.M., Wammer, K.H., and Strathmann, T.J. (2011). Oxidation of antibiotics during water treatment with potassium permanganate: Reaction pathways and deactivation. *Environmental Science and Technology* 45, 3635–3642.
- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., and Parrella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of The Total Environment* 346, 87–98.
- Khunjar, W.O., Mackintosh, S.A., Skotnicka-Pitak, J., Baik, S., Aga, D.S., and Love, N.G. (2011). Elucidating the Relative Roles of Ammonia Oxidizing and Heterotrophic Bacteria during the Biotransformation of 17 α -Ethinylestradiol and Trimethoprim. *Environ. Sci. Technol.* 45, 3605–3612.
- Kim, J., Park, J., Kim, P.-G., Lee, C., Choi, K., and Choi, K. (2009). Implication of global environmental changes on chemical toxicity-effect of water temperature, pH, and ultraviolet B irradiation on acute toxicity of several pharmaceuticals in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology* 19, 662–669.
- Kim, S., and Aga, D.S. (2007). Potential Ecological and Human Health Impacts of Antibiotics and Antibiotic-Resistant Bacteria from Wastewater Treatment Plants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 10, 559–573.
- Kim, S.H., Shon, H.K., and Ngo, H.H. (2010). Adsorption characteristics of antibiotics trimethoprim on powdered and granular activated carbon. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 16, 344–349.

Kim, Y., Choi, K., Jung, J., Park, S., Kim, P.-G., and Park, J. (2007). Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environment International* 33, 370–375.

Klamerth, N., Rizzo, L., Malato, S., Maldonado, M.I., Agüera, A., and Fernández-Alba, A.R. (2010). Degradation of fifteen emerging contaminants at $\mu\text{g L}^{-1}$ initial concentrations by mild solar photo-Fenton in MWTP effluents. *Water Research* 44, 545–554.

Klaus, K. (2009a). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere* 75, 417–434.

Klaus, K. (2009b). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II. *Chemosphere* 75, 435–441.

Klaus, K. (2009c). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management* 90, 2354–2366.

Kümmerer, K., Al-Ahmad, A., and Mersch-Sundermann, V. (2000). Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere* 40, 701–710.

Lange, F., Cornelissen, S., Kubac, D., Sein, M.M., von Sonntag, J., Hannich, C.B., Golloch, A., Heipieper, H.J., Möder, M., and von Sonntag, C. (2006). Degradation of macrolide antibiotics by ozone: A mechanistic case study with clarithromycin. *Chemosphere* 65, 17–23.

Le-Minh, N., Khan, S.J., Drewes, J.E., and Stuetz, R.M. (2010). Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water Research* 44, 4295–4323.

Li, B., and Zhang, T. (2010). Biodegradation and Adsorption of Antibiotics in the Activated Sludge Process. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3468–3473.

Lin, A.Y.-C., Lin, C.-F., Chiou, J.-M., and Hong, P.K.A. (2009). O₃ and O₃/H₂O₂ treatment of sulfonamide and macrolide antibiotics in wastewater. *Journal of Hazardous Materials* 171, 452–458.

Lindberg, R.H., Olofsson, U., Rendahl, P., Johansson, M.I., Tysklind, M., and Andersson, B.A.V. (2006). Behavior of Fluoroquinolones and Trimethoprim during Mechanical, Chemical, and Active Sludge Treatment of Sewage Water and Digestion of Sludge. *Environ. Sci. Technol.* 40, 1042–1048.

Metcalf & Eddy (2006), “Wastewater Engineering – Treatment and Reuse”, *International Edition*, McGraw Hill, New York, ISBN 0-07-041878-0

Nelson, M.L., and Ismail, M.Y. (2007). 7.20 - The Antibiotic and Nonantibiotic Tetracyclines. In *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, (Oxford: Elsevier), pp. 597–628.

Oulton, R.L., Kohn, T., and Cwiertny, D.M. (2010). Pharmaceuticals and personal care products in effluent matrices: A survey of transformation and removal during wastewater treatment and implications for wastewater management. *J. Environ. Monit.* 12, 1956–1978.

OECD (1993), “Guidelines for testing of chemicals”, Organization for Economic Cooperation and Development, Method 301F Ready Biodegradability, Manometric Respirometry Test

Park, H.-R., Kim, T.H., and Bark, K.-M. (2002). Physicochemical properties of quinolone antibiotics in various environments. *European Journal of Medicinal Chemistry* 37, 443–460.

Park, S., and Choi, K. (2008). Hazard assessment of commonly used agricultural antibiotics on aquatic ecosystems. *Ecotoxicology* 17, 526–538.

Pocostales, J.P., Alvarez, P.M., and Beltrán, F.J. (2010). Kinetic modeling of powdered activated carbon ozonation of sulfamethoxazole in water. *Chemical Engineering Journal* 164, 70–76.

Pomati, F., Netting, A.G., Calamari, D., and Neilan, B.A. (2004). Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. *Aquatic Toxicology* 67, 387–396.

Robinson, A.A., Belden, J.B., and Lydy, M.J. (2005). Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 423–430.

Sahar, E., David, I., Gelman, Y., Chikurel, H., Aharoni, A., Messalem, R., and Brenner, A. (2011a). The use of RO to remove emerging micropollutants following CAS/UF or MBR treatment of municipal wastewater. *Desalination* 273, 142–147.

Sahar, E., Messalem, R., Chikurel, H., Aharoni, A., Brenner, A., Godehardt, M., Jekel, M., and Ernst, M. (2011b). Fate of antibiotics in activated sludge followed by ultrafiltration (CAS-UF) and in a membrane bioreactor (MBR). *Water Research* 45, 4827–4836.

Sarmah, A.K., Meyer, M.T., and Boxall, A.B.A. (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 65, 725–759.

Segura, P.A., François, M., Gagnon, C., and Sauvé, S. (2009). Review of the Occurrence of Anti-infectives in Contaminated Wastewaters and Natural and Drinking Waters. *Environmental Health Perspectives* 117, 675–684.

Serrano, D., Suárez, S., Lema, J.M., and Omil, F. (2011). Removal of persistent pharmaceutical micropollutants from sewage by addition of PAC in a sequential membrane bioreactor. *Water Research* 45, 5323–5333.

Simon, A., Nghiem, L.D., Le-Clech, P., Khan, S.J., and Drewes, J.E. (2009). Effects of membrane degradation on the removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) by NF/RO filtration processes. *Journal of Membrane Science* 340, 16–25.

Stepanić, V., Žiher, D., Gabelica-Marković, V., Jelić, D., Nunhuck, S., Valko, K., and Koštrun, S. Physicochemical profile of macrolides and their comparison with small molecules. *European Journal of Medicinal Chemistry*.

- Terzic, S., Senta, I., Matosic, M., and Ahel, M. (2011). Identification of biotransformation products of macrolide and fluoroquinolone antimicrobials in membrane bioreactor treatment by ultrahigh-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* *401*, 353–363.
- Thiele- Bruhn, S. (2003). Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* *166*, 145–167.
- Vasconcelos, T.G., Henriques, D.M., König, A., Martins, A.F., and Kümmerer, K. (2009). Photo-degradation of the antimicrobial ciprofloxacin at high pH: Identification and biodegradability assessment of the primary by-products. *Chemosphere* *76*, 487–493.
- Vieno, N.M., Härkki, H., Tuhkanen, T., and Kronberg, L. (2007). Occurrence of Pharmaceuticals in River Water and Their Elimination in a Pilot-Scale Drinking Water Treatment Plant. *Environ. Sci. Technol.* *41*, 5077–5084.
- Watkinson, A.J., Murby, E.J., and Costanzo, S.D. (2007). Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research* *41*, 4164–4176.
- Xiao, Y., Chang, H., Jia, A., and Hu, J. (2008). Trace analysis of quinolone and fluoroquinolone antibiotics from wastewaters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* *1214*, 100–108.
- Yang, X., Flowers, R.C., Weinberg, H.S., and Singer, P.C. (2011a). Occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in an advanced wastewater reclamation plant. *Water Research* *45*, 5218–5228.
- Yang, X., Flowers, R.C., Weinberg, H.S., and Singer, P.C. (2011b). Occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in an advanced wastewater reclamation plant. *Water Research* *45*, 5218–5228.
- Zhang, D., Pan, B., Wu, M., Wang, B., Zhang, H., Peng, H., Wu, D., and Ning, P. (2011). Adsorption of sulfamethoxazole on functionalized carbon nanotubes as affected by cations and anions. *Environmental Pollution* *159*, 2616–2621.

Zhang, D., Pan, B., Zhang, H., Ning, P., and Xing, B. (2010). Contribution of Different Sulfamethoxazole Species to Their Overall Adsorption on Functionalized Carbon Nanotubes. *Environ. Sci. Technol.* *44*, 3806–3811.

Zhang, T., and Li, B. (2011). Occurrence, Transformation, and Fate of Antibiotics in Municipal Wastewater Treatment Plants. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* *41*, 951–998.

Zhou, W., and Moore, D.E. (1997). Photosensitizing activity of the anti-bacterial drugs sulfamethoxazole and trimethoprim. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* *39*, 63–72.