DOI: 10.15199/17.2024.12.3

Wpływ popularnych leków przeciwbólowych na wybrane parametry osadu czynnego

The influence of popular painkiller medications on selected activated sludge parameters

Krzysztof Piaskowski*)

Słowa kluczowe: *farmaceutyki, ścieki, osad czynny, ibuprofen, paracetamol, kwas acetylosalicylowy, aktywność enzymatyczna, dehydrogenazy*

Streszczenie
Rosnące zapotrzebowanie na leki przeciwbólowe powoduje także wzrost obecności farmaceutyków w całym środowisku, stwarzając coraz większe zagrożenie. Jedną z głównych dróg rozpowszechniania się mikrozanieczyszczeń tego typu są ścieki, a jako pierwsze poddane wpływowi farmaceutyków są organizmy stanowiące biologiczną część oczyszczalni ścieków – osadu czynnego. W artykule przedstawiono badania nad wpływem trzech najpopularniejszych leków NLPZ zawierających ibuprofen, paracetamol oraz kwas acetylosalicylowy na aktywność osadu czynnego po 24 godz. kontaktu. Uzyskane wyniki wskazują na duże zróżnicowanie oddziaływania badanych leków. Ibuprofen wpływał na kłaczki osadu czynnego poprzez zwiększenie aglomeracji, podczas gdy paracetamol powodował ich defragmentację. Jednakże w obu przypadkach indeks osadu SVI zwiększał się nawet o 38%, podczas gdy dla kwasu acetylosalicylowego zmniejszał się o 20%. Natomiast aktywność osadu mierzona testem aktywności enzymu dehydrogenazy TTC zmniejszyła się o ponad 80% w próbkach z paracetamolem, dla kwasu acetylosalicylowego nieznacznie wzrastała, podczas gdy dla ibuprofenu, zwiększała się nawet dwukrotnie, co wskazuje, że wpływ na osad czynny może mieć nie tylko rodzaj substancji aktywnej, ale również obecne w lekach substancje pomocnicze.

Keywords: *pharmaceuticals, wastewater, activated sludge, ibuprofen, paracetamol, acetylsalicylic acid, enzymatic activity, dehydrogenase*

Abstract
The increasing demand for pain medications is also increasing the presence of pharmaceuticals throughout the environment, posing an increasing threat. One of the main sources of the spread of this type of micropollutant is sewage, and the first to be affected by pharmaceuticals are organisms that constitute the biological part of the sewage treatment plant – activated sludge. The article presents research on the influence of the three most popular NSAIDs containing ibuprofen, paracetamol and acetylsalicylic acid on the activity of activated sludge after 24 hours. contact. The obtained results indicate a very large differentiation of the impact of the tested drugs. Ibuprofen affected the activated sludge flocs by increasing agglomeration, while paracetamol caused their defragmentation. However, in both cases the SVI sediment index increased by up to 38%, while for acetylsalicylic acid it decreased by 20%. The activity of activated sludge measured by the TTC dehydrogenase enzyme activity test decreased by more than 80% in samples with paracetamol, increased slightly for acetylsalicylic acid, while for ibuprofen it increased even twofold, which indicates that not only the type of active substance but also the excipients present in the drugs may have an influence on the activated sludge.

Wstęp

Wzrost zapotrzebowania na leki przeciwbólowe dostępne bez recepty (ang. *OTC – Over-The-Counter*), wynikający z ich powszechnej dostępności oraz procesu starzenia się społeczeństwa, generuje coraz więcej problemów związanych z ich praktycznie stałą wykrywalnością, już nie tylko w wodach powierzchniowych, ale również w środowisku wód gruntowych [19]. Najczęściej stosowane farmaceutyki należą do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych (NLPZ), które w organizmie częściowo podlegają przemianom metabolicznym i biotransformacji, a w części są wydalane w niezmienionej postaci (w zależności od rodzaju farmaceutyku od 10 do nawet 90%). Usuwane produkty metabolizmu, które są zmienioną formą substancji czynnej leku, mogą w środowisku ponownie przekształcić się w formę aktywną. Możliwe jest również utworzenie związku nawet bardziej toksycznego w stosunku do formy pierwotnej [3,13]. Prowadzone w ostatnich latach na szeroką skalę w różnych krajach badania wykazały obecność ponad 80 różnych farmaceutyków w środowisku wodnym. Ich występowanie, nawet w niskich stężeniach, może stanowić zagrożenie dla organizmów żywych w zakresie zaburzeń endokrynologicznych, lekooporności, czy też oddziaływania toksycznego [6,21].

Jedną z głównych dróg przedostawania się mikrozanieczyszczeń farmaceutycznych do środowiska są odpływy z oczyszczalni ścieków miejskich. Aktualnie stosowane procesy oczyszczania ścieków umożliwiają tylko częściowe usunięcie mikrozanieczyszczeń farmaceutycznych. Biologiczne oczyszczalnie ścieków w systemie osadu czynnego są przede wszystkim zaprojektowane

* **Krzysztof Piaskowski,** Politechnika Koszalińska, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji, Katedra Technologii Wody, Ścieków i Odpadów, 75-453 Koszalin, ul. Śniadeckich 2, krzysztof.piaskowski@tu.koszalin.pl, ORCID – 0000-0001-8440-1562

do usuwania łatwo degradowalnych substancji organicznych, podczas gdy rozkład bardziej złożonych związków organicznych jest zwykle ograniczony. Systemy doczyszczające ścieki miejskie (IV stopień oczyszczania) będą musiały powstawać ze względu na nową dyrektywę ściekową UE, ale aktualnie są już one często na etapie badań. Przykładem jest oczyszczalnia ścieków w Jaworznie z instalacją testującą usuwanie farmaceutyków w procesach fizykochemicznych [18,12]. W systemach biologicznego oczyszczania ścieków niektóre farmaceutyki mogą być kumulowane w osadzie, a inne metabolizowane do bardziej hydrofilowych, ale ciągle trwałych form, które w konsekwencji odprowadzane do wód powierzchniowych wykrywane są w nich w stężeniach od ng/l do mg/l [11]. Zakres i charakter przemian farmaceutyków zachodzących w systemie osadu czynnego zależy od składu oraz rodzaju leku. Niektóre substancje farmakologiczne są łatwo biodegradowalne, inne dopiero pod wpływem działalności mikroorganizmów (biodegradacja, biosorpcja, hydroliza) mogą stać się bardziej podatne na rozkład, natomiast są też w ściekach substancje na tyle trwałe, że nie ulegają przemianom biochemicznym i dopływają ze ściekami oczyszczonymi do odbiornika [7,14].

Niesteroidowe leki przeciwzapalne są substancjami, które nie zostają całkowicie usunięte, zarówno podczas oczyszczania ścieków, jak i w procesach samooczyszczania wód. Jako substancje biologicznie czynne mogą stanowić realne zagrożenie dla organizmów wodnych [11,15]. NLPZ charakteryzują się różną strukturą chemiczną, ale o podobnym mechanizmie działania: przeciwzapalnym, przeciwgorączkowym i przeciwbólowym. Głównymi przedstawicielami tych leków są m.in. diklofenak, ibuprofen, paracetamol, kwas salicylowy, które w środowisku wodnym występują w największych stężeniach [3,5,14].

Ibuprofen jest jednym z najpopularniejszych, ze względu na ograniczone działania niepożądane i trzecim najczęściej przyjmowanym lekiem na świecie. Jest również jednym z najczęściej analizowanym w ściekach farmaceutykiem [1,15,19]. Jego stężenie w ściekach jest najwyższe wśród leków należących do grupy środków przeciwbólowych, co jest związane z tym, że jedynie 5–15% spożywanego leku może być metabolizowane przez ludzi lub zwierzęta, a pozostała ilość jest wydalana z organizmu. Analizy dotyczące usuwania ibuprofenu w oczyszczalniach ścieków miejskich wskazują poziom skuteczności rzędu 37-59% [3]. Stąd też lek ten jest często wykrywany w ściekach oczyszczonych w zakresie stężeń 0 –1673 µg/l [9]. Ponieważ ibuprofen ma charakter lipofilowy, może przenikać przez błony biologiczne, stąd jego długoterminowy wpływ na organizmy żywe może powodować różnorodne zmiany o charakterze przewlekłym [4]. Jego obecność w środowisku wodnym może powodować zaburzenia endokrynologiczne i rozrodcze u zwierząt wodnych. Badania wykazały również, że ibuprofen wpływa na biomasę osadu czynnego, zmniejszając pobór tlenu oraz wiązanie pozakomórkowych substancji polimerowych [10]. W przypadku kwasu acetylosalicylowego, wskazywanego jako związek bezpieczny i łatwo ulegający degradacji, przy stężeniu 180 mg/l ,obserwowano wystąpienie zaburzeń w rozrodczości rozwielitki i wioślarki [15]. Z kolei paracetamol okazał się bioakumulacyjny w organizmach wodnych, wywołując zaburzenia rozrodcze i neurotoksyczne [5].

Ibuprofen, jak również paracetamol, są farmaceutykami zwykle odpornymi na hydrolizę. Podstawowym mechanizmem usuwania ibuprofenu może być biodegradacja i biosorpcja. Paracetamol jest głównie rozkładany biologicznie lub w procesie sorpcji oraz biodegradacji osadem czynnym. Badania wykazują możliwość ich usuwania ze skutecznością na poziomie 66% i 34% [7]. Toksyczność niesteroidowych leków przeciwzapalnych rośnie jednak w mieszaninach z innymi substancjami leczniczymi. Przykładowo ibuprofen z kwasem acetylosalicylowym, naproksenem i diklofenakim odznacza się dużo większą toksycznością, co wykazano w badaniach nad *Daphniamagna* (rozwielitki), niż przy występowaniu samodzielnym [19].

Ścieki miejskie stanowią bardzo różnorodną matrycę związków organicznych, nieorganicznych, wśród których występuje w różnym stężeniu szeroka paleta mikrozanieczyszczeń. Obecność substancji, które mogą mieć działanie hamujące na procesy biochemiczne lub też toksyczne, w stosunku do mikroorganizmów osadu czynnego, będą wpływały na efektywność pracy biologicznej oczyszczalni ścieków [2]. Aktywność biologiczna osadu czynnego, stanowiący swoisty ekosystem mikrobiologiczny, bazuje na działaniu mikroorganizmów skupionych w formę kłaczków. Degradacja i usuwanie zanieczyszczeń organicznych to przede wszystkim funkcjonowanie różnorodności enzymów mikrobiologicznych, na których aktywność mogą mieć wpływ czynniki środowiskowe – także farmaceutyki, a w rezultacie decydując o jakości ścieków oczyszczonych [4,7].

Do oceny aktywności mikrobiologicznej w procesach oczyszczania ścieków mogą być stosowane różne metody, takie jak szybkość pobierania tlenu (OUR), adenozynotrifosforan (ATP), dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NADH) oraz aktywność dehydrogenazy (DHA), która jest enzymem biorącym udział w wielu reakcjach metabolicznych oczyszczania ścieków. Test aktywności tego enzymu (TTC) wykorzystuje się często do oceny stanu metabolicznego osadu czynnego, jego aktywności biochemicznej w zakresie rozkładu związków organicznych zawartych w ściekach [7,16]. Jest on szczególnie przydatny w kontroli przebiegu oczyszczania ścieków w obecności inhibitorów reakcji biochemicznych, czy też związków toksycznych, obniżających aktywności dehydrogenaz osadu czynnego [20].

Pomimo, iż stężenia farmaceutyków w środowisku wodnym i ściekach są często niższe od wskaźników toksyczności ostrej, to należy zwrócić uwagę na zjawisko tzw. oddziaływania subtelnego [14]. Są to długofalowe zmiany, często zachodzące w sposób niepozorny, ale prowadzące do utrwalania w kolejnych pokoleniach organizmów trwałych i nieodwracalnych zmian. Zarówno u wielu gatunków, których środowiskiem są wody powierzchniowe, jak również w biocenozie osadu czynnego, będącym w oczyszczalni ścieków systemem, gdzie dynamika procesów biologicznych jest nieporównywalnie większa.

W niniejszym artykule przedstawiono wyniki badań laboratoryjnych bezpośredniego wpływu na parametry osadu czynnego trzech farmaceutyków z grupy OTC, zawierających w swoim składzie substancje czynne: ibuprofen, paracetamol oraz kwas acetylosalicylowy.

Metodyka badań

Charakterystyka farmaceutyków

W badaniach zastosowano trzy popularne, ogólnodostępne bez recepty leki, stosowane w różnego rodzaju pochodzenia bólach, zawierające w swoim składzie substancję czynną: Paracetamol (P) – o działaniu przeciwbólowym i przeciwgorączkowym, Ibuprofen (IB) oraz kwas acetylosalicylowy (A) – przeciwbólowe, przeciwgorączkowe oraz przeciwzapalne**.** Dla każdego farmaceutyku określono zawartość substancji czynnej w 1g leku (P – 90,5%; IB – 38,6%; A – 61%), następnie zmielono je do postaci proszku i w takiej formie dozowano.

Osad czynny

Osad czynny został pobrany z ostatniej komory biologicznej (napowietrzania) miejskiej oczyszczalni ścieków m. Koszalina. Obiekt ten pracuje w systemie mechaniczno-biologicznym z wysokoefektywnym usuwaniem azotu i fosforu w układzie komór beztlenowych, anoksycznych oraz tlenowych (zmodyfikowany

A_2O). Po przywiezieniu do laboratorium osad odwirowano (5 min, 800 obr/min), następnie uzupełniono ściekami oczyszczonymi do założonego poziomu stężenia osadu – ok 2 g/l.

Procedura badań

Badania prowadzono w kolbach stożkowych o pojemności 250 ml, do których w pierwszej kolejności wlewano po 50 ml ścieków, następnie dodawano naważki farmaceutyków w przeliczeniu na dawkę substancji czynnej: 100, 250 i 500 mg/l (dawki na masę osadu dla obu serii wyniosły: D-1 = 48,5 – 46,7 mg/g_{os}, D-2 = 121,4 – 116,8 mg/g_{os}, D-3 = 242,7 – 233,6 mg/g_{os}) i mieszano w celu ich rozpuszczenia. Kolby uzupełniano następnie przygotowaną zawiesiną osadu czynnego (100 ml) i mieszano na wytrząsarce (150 rpm) przez 24 godziny. Po zadanym czasie reakcji analizowano zawiesinę osadu czynny. Badania prowadzono w temperaturze pokojowej 19-20°C.

Analityka

W badaniach wykonano analizy ścieków po przesączeniu osadu czynnego (sączki średnie) w zakresie temperatury, pH, przewodności właściwej miernikiem wielofunkcyjnym CX-505 Elmetron oraz analizy osadu czynnego: stężenie osadu, indeks objętościowy osadu (SVI), badania mikroskopowe osadu czynnego (Motic BA310 LED opticalmocroskope) oraz test kuwetowy aktywności enzymatycznej osadu czynnego LCK318 (TTC-SA) firmy Hach Lange, z chlorkiem 2,3,5-trifenylotetrazoilowym (TTC), bazujący na aktywności enzymu dehydrogenazy. Pomiar przeprowadzono na spektrofotometrze UV-VIS DR5000 Hach Lange. Wynik aktywności osadu podano w µg formazanu na mg masy osadu. Procentowy spadek aktywności dehydrogenaz (% stopień inhibicji I_{AD}) wyznaczono na podstawie wzoru (1) [12].

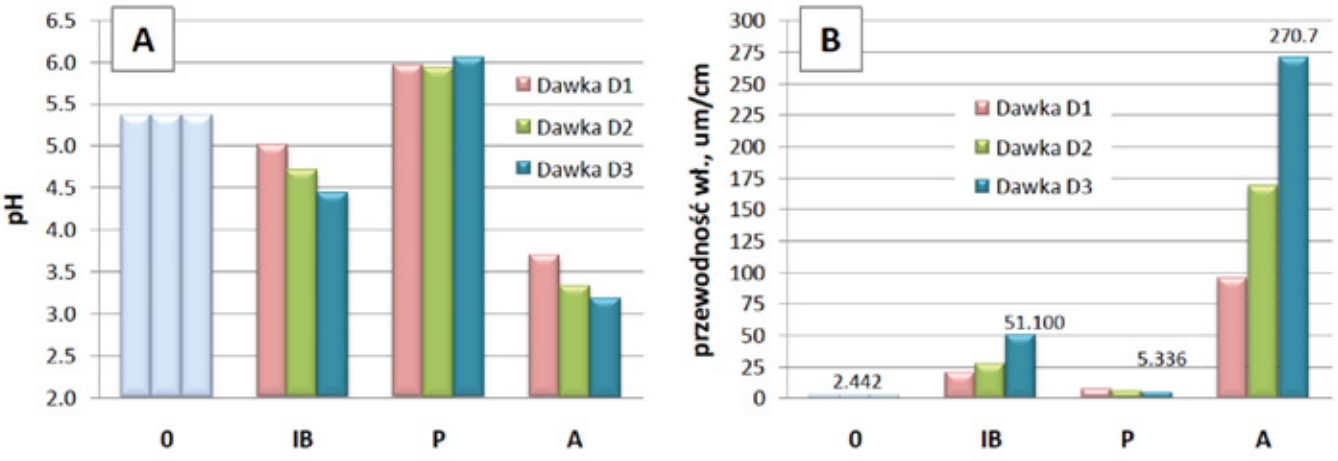
$$I_{AD} = \frac{AD_o - AD_x}{AD_o} \cdot 100\% \qquad (1)$$

gdzie:
AD_o – aktywność dehydrogenaz bez dodatku farmaceutyku, µgTF/mg
AD_x – aktywność dehydrogenaz osadu czynnego w obecności farmaceutyku, µgTF/mg

Wyniki badań

Zastosowane w badaniach farmaceutyki charakteryzują się różnorodnym składem chemicznym, nie tylko ze względu na zastosowaną substancję czynną, ale również substancje pomocnicze obecne w składzie leku. Ilość dodatków stanowiła od 9,5% masy leku (oznaczonego jako P, gdzie substancją czynną jest paracetamol), 39% w przypadku leku z kwasem acetylosalicylowym (A) oraz aż do 61,4% dla leku zawierającego ibuprofen (IB). W zależności od rodzaju leku, substancje te to m.in. skrobia kukurydziana, celuloza, wosk Carnauba, guma Guar, talk, sacharoza, kaolin, cukier, węglan wapnia, krzemionka koloidalna uwodniona, olej roślinny utwardzony, makrogol, powidon itp.

Nie tylko sama substancja czynna, ale również substancje pomocnicze – ich rodzaj i ilość, mogą w pewnym stopniu kształtować charakterystykę fizyczno-chemiczną ścieków, a tym samym mieć wpływ na aktywność osadu czynnego. Dlatego też wykonano podstawową analizę roztworu (pH oraz przewodność wł.), przygotowanego na bazie wody destylowanej oraz rozpuszczonych dawkach substancji czynnych: 100, 250 i 500 mg/l. Uzyskano wyniki wskazujące na znaczne różnice pomiędzy poszczególnymi farmaceutykami (rys.1A-B). W stosunku do próbki kontrolnej (woda destylowana, która charakteryzuje się brakiem właściwości buforowych) próbka P lekko zwiększała wartość pH z 5,4 do 6, w próbce IB obserwowano niewielki spadek wartości parametru do 4,5-5, natomiast w przypadku próbki A nastąpiło znaczące zakwaszenie roztworu (główny składnik to kwas acetylosalicylowy) do poziomu pH= 3,2 dla największej dawki. Charakterystyczny trend zmian wartości pH korelował ze zmianami przewodności elektrycznej właściwej, będącej miarą zawartości związków mineralnych. Dla próbki z kwasem acetylosalicylowym (A) obserwowano największy, ponad 100-krotny wzrost wartości parametru w stosunku do próbki kontrolnej przy największej dawce D_3. Dla próbki IB, gdzie notowano największy udział substancji pomocniczych, wzrost wyniósł 21-krotność próbki kontrolnej, natomiast najmniejsze 2-krotne zwiększenie wartości przewodności notowano dla próbki P (najmniejsza ilość substancji pomocniczych w leku). Poszczególne próbki różniły się rozpuszczalnością danego farmaceutyku w wodzie. Próbka P wykazywała bardzo dobrą rozpuszczalność, próbka IB tworzyła mętną, białawą zawiesinę, z kolei próbka A rozpuszczała się najdłużej.



Rys.1A-B. Wpływ dawki wybranych farmaceutyków na jakość wody destylowanej. Dawka substancji czynnej: D_1=100, D_2=250 i D_3=500 mg/l. Oznaczenia: 0 – próba kontrolna, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – kwas acetylosalicylowy.

Fig.1A-B. The effect of the dose of selected pharmaceuticals on the quality of distilled water. Dose of the active substance of the drug: D_1=100, D_2=250 i D_3=500 mg/l. Symbols: 0 – control sample, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – acetylsalicylic acid.

Tabela 1. Zestawienie wyników badań wpływu dawki i rodzaju farmaceutyków na parametry osadu czynnego po 24 godz. kontakcie (I-II seria). Dawka substancji czynnej: D-1=100; D-2=250; D-3=500 mg/l. Oznaczenia: 0 – próba kontrolna, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – kwas acetylosalicylowy

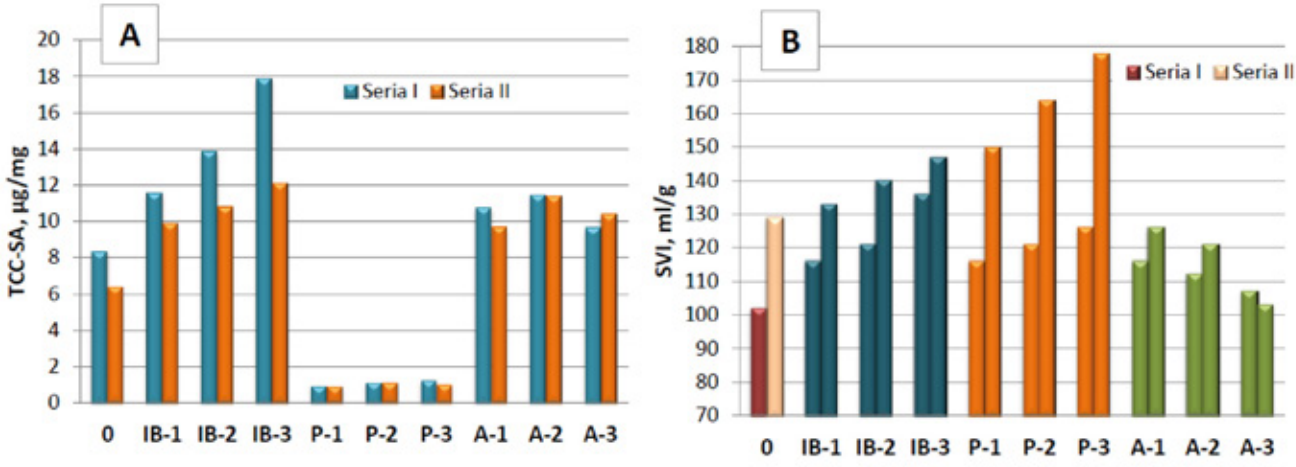
Table 1. Summary of test results of the effect of dose and type of pharmaceuticals on activated sludge parameters after 24 hours of contact (I-II series). Active substance dose: D-1=100; D-2=250; D-3=500 mg/l. Designations: 0 – control sample, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – acetylsalicylic acid

Oznaczenie	Próbki									
	0	IB			P			A		
		D-1	*D-2*	*D-3*	*D-1*	*D-2*	*D-3*	*D-1*	*D-2*	*D-3*
Seria I										
pH	7,99	8,17	8,01	7,80	8,03	7,94	8,10	8,16	7,89	7,80
Przewodność wł., mS/cm	1,161	1,151	1,144	1,137	1,177	1,190	1,176	1,160	1,156,	1,164
Stężenie osadu, g/l	2,06									
SVI, g/cm^3	102	116	121	136	116	121	126	116	112	107
TTC-SA, µg/mg	8,4	11,6	13,9	17,9	0,97	1,17	1,3	10,8	11,5	9,7
Seria II										
pH	8,30	8,34	8,13	7,97	8,30	8,25	8,35	8,34	8,15	8,00
Przewodność wł., mS/cm	1,149	1,141	1,130	1,126	1,159	1,165	1,158	1,146	1,145	1,142
Stężenie osadu, g/l	2,14									
SVI, g/cm^3	129	133	140	147	150	164	178	126	121	103
TTC-SA, µg/mg	6,4	9,9	10,8	12,1	0,9	1,1	1,0	9,7	11,4	10,4

Wpływ farmaceutyków na osad czynny

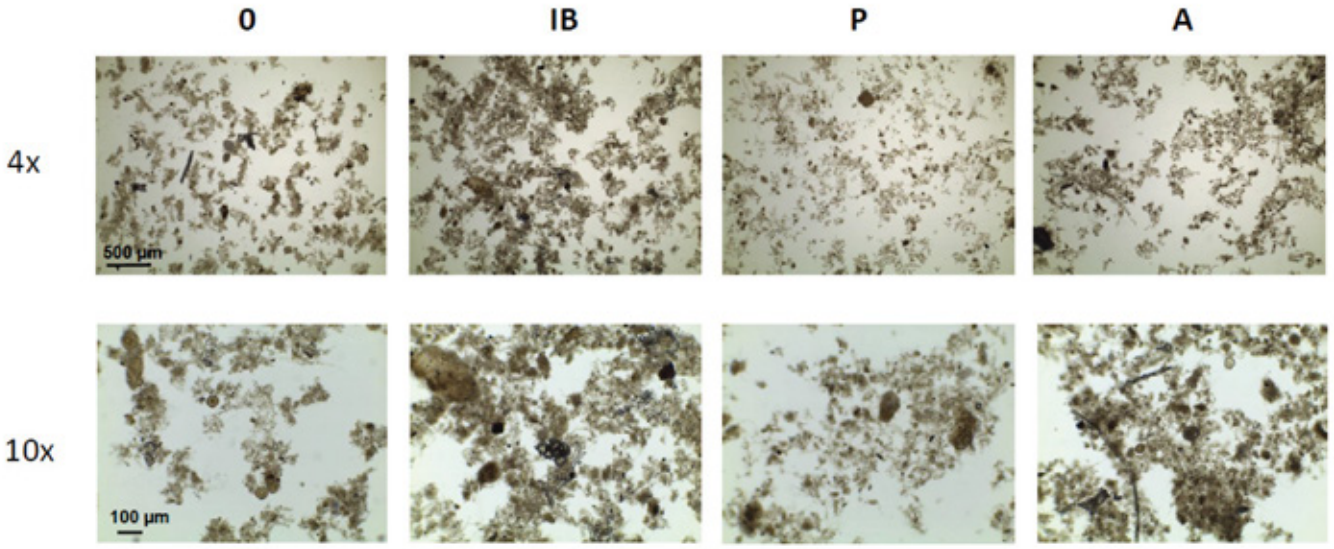
W badaniach wykorzystano zawiesinę osadu czynnego i ścieków oczyszczonych. Dzięki temu ograniczono dostęp do innych substratów, niż własna komórka oraz dozowane farmaceutyki. Przeprowadzono dwie niezależne serie badań w tygodniowym odstępie czasowym (dwukrotny pobór osadu czynnego), a wyniki przedstawiono w tab.1. Zweryfikowano wyniki uzyskane w badaniach na wodzie destylowanej dla pH i przewodności wł. W środowisku osadu czynnego i ścieków oczyszczonych oddziaływanie dozowanych farmaceutyków w tym zakresie zostało w dużym stopniu zniwelowane. Mimo tego, notowano podobny trend zmian, jaki obserwowano w badaniach samych farmaceutyków w wodzie destylowanej – obniżenie pH wraz ze wzrostem dawki dla próbek IB i A oraz stabilność parametru dla próbki P. Ograniczony efekt zmian po dozowaniu farmaceutyków wynikał głównie z potencjału ścieków, jak i samego osadu czynnego do buforowania roztworów. Dzięki temu w obu seriach pH wszystkich próbek utrzymywało się w zakresie wartości 7,8 – 8,3. Natomiast w przypadku przewodności wł. w zakresie 1,126 – 1,190 ms/cm, nie odbiegając tym samym poziomem wartości od próbki kontrolnej (samej zawiesiny osadu czynnego bez farmaceutyków).

Analiza osadu czynnego, czyli zastosowany w badaniach test aktywności osadu TTC-SA oraz indeksu objętości osadu SVI, wykazała dość różnorodne oddziaływanie poszczególnych farmaceutyków na zmiany wartości parametrów (rys.2A-B). Największą zmianę obserwowano dla próbek P, dla których aktywność osadu



Rys.2A-B. Wpływ dawki i rodzaju farmaceutyków na parametry osadu czynnego (aktywność osadu TTC-SA oraz indeks SVI) po 24 godz. kontaktu w warunkach tlenowych. Dawka substancji czynnej: D-1=100; D-2=250; D-3=500 mg/l. Zestawione wyniki z dwóch niezależnych serii badań. Oznaczenia: 0 – próba kontrolna, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – kwas acetylosalicylowy.

Fig.2A-B. Effect of dose and type of pharmaceuticals on activated sludge parameters (sludge activity TTC-SA and SVI index) after 24 h of contact in aerobic conditions. Active substance dose: D-1=100; D-2=250; D-3=500 mg/l. Compiled results from two independent test series. Designations: 0 – control sample, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – acetylsalicylic acid.



Fot.1. Wyniki badań mikroskopowych osadu czynnego po 24 godz. kontakcie z farmaceutykami. Oznaczenia: 0 – próba kontrolna, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – kwas acetylosalicylowy. Fotografie zrobione dla osadu czynnego zatężonego po sedymentacji, dawka substancji czynnej D-3 = 500 mg/l. Powiększenie 4× i 10×.

Photo 1. Results of microscopic examination of activated sludge after 24 hours of contact with pharmaceuticals. Designations: 0 – control sample, IB – ibuprofen, P – paracetamol, A – acetylsalicylic acid. Photographs taken for concentrated activated sludge after sedimentation, active substance dose D-3 = 500 mg/l. Magnification 4× and 10×.

obniżyła się do poziomu 0,9-1,3 µgTF/mg, wykazując silne ograniczenie aktywności enzymatycznej osadu. Procentowy spadek aktywności dehydrogenaz (stopień inhibicji) wywołany przez paracetamol ,wyniósł dla obu serii i praktycznie od pierwszej dawki 84 – 88% i tylko dla tego farmaceutyku uzyskano taki efekt. W przypadku kwasu acetylosalicylowego (A) notowano nieznaczny wzrost aktywności dehydrogenaz w stosunku do próbki kontrolnej, natomiast dla ibuprofenu (IB) uzyskano w obu seriach rosnący trend od 8,4 do 17,9 µgTF mg wraz ze wzrostem dawki farmaceutyku (dla I serii). To szczególne zachowanie osadu czynnego mogło wynikać z dużego udziału w leku z ibuprofenem substancji pomocniczych (61,4% masy leku), wśród których obecne składniki mogły stanowić dla mikroorganizmów osadu czynnego odżywcze substraty, powodujące wzrost jego aktywności enzymatycznej.

Brak innego źródła węgla mógł spowodować wśród mikroorganizmów również modyfikację ich procesów metabolicznych i dostosowania do pobierania innych obecnych w lekach substancji, jak również samego ibuprofenu, aktywnie uczestnicząc w jego degradacji [22]. Badania innych autorów wykazały, że w systemie osadu czynnego jest możliwe skuteczne wyeliminowanie ostrej toksyczności IB i jego produktów biotransformacji, ale niestety przy potencjalnej możliwości zachowania przewlekłej toksyczności farmaceutyku dla organizmów [9]. Inne wyniki wykazały, że bakterie osadu czynnego mają zdolność tolerowania stresu oksydacyjnego (wzrost aktywność tych enzymów w przypadku obecności niesteroidowych leków przeciwzapalnych), w wyniku aktywacji układu antyoksydacyjnego w warunkach ciągłego dopływu IB [2]. Jednakże długotrwałe narażenie osadu czynnego na obecność IB i jego usuwanie przez mikroorganizmy może skutkować obniżeniem wydajności biologicznego oczyszczania ścieków, jak również generowaniem toksycznych produktów pośrednich [8,9]. Przykładem mogą być uhydroksylowane pochodne powstające podczas mikrobiologicznej degradacji NLPZ, charakteryzujące się nierzadko większą toksycznością niż związki macierzyste, jak 4-aminofenol powstający w wyniku biodegradacji paracetamolu [23].

Dawkowanie farmaceutyków do zawiesiny osadu czynnego wpływało również na zmiany charakterystyki sedymentacyjnej osadu czynnego, mierzonej indeksem SVI. Dla próbek z kwasem acetylosalicylowym (A) w I serii notowano bardzo niewielki wzrost wartości parametru, natomiast w II serii widoczny jest jej spadek wraz z dawką, nawet o 20% w stosunku do próby kontrolnej. Natomiast w przypadku próbek z IB oraz P notowano wzrost indeksu SVI wraz ze wzrostem dawki leku. W zależności od serii i dawki farmaceutyku wzrost indeksu dla IB wyniósł od 3 do 33%, natomiast dla P wartość wzrastała od 14 do 38% (rys.2B). Analiza mikroskopowa kłaczków osadu czynnego (fot.1) wykazała, że osad w próbkach P jest wyraźnie zdeflokulowany, kłaczki są bardziej rozdrobnione, mniej spoiste, co utrudniało efektywną sedymentację (nie stwierdzono również żadnych charakterystycznych organizmów żywych, w przeciwieństwie do pozostałych farmaceutyków – obecne głównie orzęski wolnopływające oraz osiadłe). Natomiast próbka osadu czynnego z IB wykazywała kłaczki bardziej zaglomeryzowane, rozbudowane, rozgałęzione, ale też ostatecznie utrudniające skuteczną opadalność osadu i jego zagęszczanie. Również literatura wykazuje wpływ IB na słabe osiadanie osadu, a także stymulowanie wydzielania nadmiaru pozakomórkowych substancji polimerycznych (EPS), które powodowały wręcz pęcznienie osadu w komorach biologicznych [9]. Badania ilościowej analizy obrazu osadu czynnego QIA (Quantitative Image Analysis) potwierdziły, że farmaceutyk ten sprzyja wzrostowi zagregowanej biomasy [17].

Wnioski

Przeprowadzone badania wykazały, że spośród trzech najbardziej popularnych substancji czynnych używanych w lekach przeciwbólowych, jedynie paracetamol generował najbardziej negatywne skutki dla aktywności osadu czynnego. Wykazał ponad 80% stopień inhibicji aktywności enzymatycznej, zdezaktywował organizmy wyższe, jak również wpłynął na podwyższenie indeksu osadu SVI poprzez deflokulację kłaczków osadu czynnego. Jednocześnie farmaceutyk ten zawierał najmniej substancji dodatkowych oraz nie wpływał istotnie na zmiany pH i przewodności właściwej. Z kolei ibuprofen spowodował dwukrotny wzrost aktywności dehydrogenazy, zwiększoną aglomerację kłaczków, ale przez to również wzrost indeksu osadu o >30%. Mogło to być

efektem dość dużego, ponad 60% udziału substancji pomocniczych w masie leku, które mogły stanowić dla mikroorganizmów osadu czynnego źródło substratów, niwelując ewentualne działanie substancji aktywnej. Pomimo, iż sam farmaceutyk generował znaczny wzrost przewodności właściwej oraz niewielką zmianę pH, w kontakcie z osadem czynnym następowało buforowanie tego oddziaływania. Efekt ten obserwowano dla wszystkich próbek farmaceutyków. Kwas acetylkosalicylowy, jako trzeci zastosowany farmaceutyk, charakteryzował się największą ilością związków mineralnych mierzonych przewodnością właściwą (przy 39% udziału substancji dodatkowych w masie leku), wykazywał również wyraźny kwaśny charakter substancji, ale nie wpływał istotnie na aktywność dehydrogenaz, natomiast obniżał wartość indeksu osadu o 20%.

LITERATURA:

[1] Aguilar-Romero I., Madrid F., Villaverde J., Morillo E. 2024. "Ibuprofen-enhanced biodegradation in solution and sewage sludge by a mineralizing microbial consortium. Shift in associated bacterial communities", *J. Hazard. Mater.*, 464, 132970, doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.132970 .

[2] Amariei G., Boltes K., Rosal R., Leton P. 2020. "Enzyme response of activated sludge to a mixture of emerging contaminants in continuous exposure", PLoS ONE 15(1): e0227267, doi: 10.1371/journal.pone.0227267.

[3] Czerwiński J., Kłonica A., Ozonek J. 2015. "Pozostałości farmaceutyków w środowisku wodnym i metody ich usuwania", JCEEA, t. XXXII, z. 62 (1/15), 27-42.

[4] Davids M., Gudra D., Radovica-Spalvina I., Fridmanis D., Bartkevics V., Muter O. 2017. "The effects of ibuprofen on activated sludge: Shift in bacterial community structure and resistance to ciprofloxacin", *J. Hazard. Mater.*, 340, 291-299, doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.06.065

[5] Ferreira B.L., Ferreira D.P., Borges Swanny F., Ferreira A.M., Holanda F.H., Ucella-Filho J.G.M., Cruz R.A.S., Birolli W.G., Luque R., Ferreira I.M. 2023. "Diclofenac, ibuprofen, and paracetamol biodegradation: overconsumed non-steroidal anti-inflammatories drugs at COVID-19 pandemic", Front. Microbiol., 14:1207664, doi: 10.3389/fmicb.2023.1207664.

[6] Grdulska A. 2020. "Pharmaceuticals in water and wastewater – overview", Struct. Environ., 12, Issue 2, doi: 10.30540/sae-2020-009.

[7] Ioan C., Robescu D.N. 2015. "Dehydrogenase activity and quantitative image analysis of morphological characteristics of activated sludge at cernavoda wastewater treatment plant (romania)", U.P.B. Sci. Bull., Series D, 77, Iss. 3, 241-248.

[8] Jia Y.Y., Yin L.W., Khanal S.K., Zhang H.Q., Oberoi A.S., Lu H. 2020. "Biotransformation of ibuprofen in biological sludge systems: investigation of performance and mechanisms", *Water Res.*, 170, 115303l, doi: 10.1016/j.watres.2019.115303.

[9] Jiaa Y., Khanal S.K., Yin L., Sun L., Lu H. 2021. "Influence of ibuprofen and its biotransformation products on different biological sludge systems and ecosystem", Environ. Int., 146, 106265, doi: 10.1016/j.envint.2020.106265.

[10] Kanafin Y.N., Kakimov Y., Adamov ., Makhatova A., Yeshmuratov A., Poulopoulos S.G., Inglezakisa V.J., Arkhangelsky E. 2021. "The effect of caffeine, metronidazole and ibuprofen on continuous flow activated sludge process", J. *Chem.Technol. Biotechnol.*, 96, 1370–1380, doi: 10.1002/jctb.6658.

[11] Karaman R., Khamis M., Abbadi J., Amro A., Qurie M., Ayyad I., Ayyash F., Hamarsheh O., Yaqmour R., Nir S., Bufo S.A., Scrano L., Lerman S., Gur-Reznik S., Dosoretz C.G. 2016. "Paracetamol biodegradation by activated sludge and photocatalysis and its removal by a micelle–clay complex, activated charcoal, and reverse osmosis membranes", *Environ. Technol.*, 37, no. 19, 2414–2427, doi: 10.1080/09593330.2016.1150355.

[12] Kraigher B., Kosjek T., Heath E., Kompare B., Mandic-Mulec I. 2008. "Influence of pharmaceutical residues on the structure of activated sludge bacterial communities in wastewater treatment bioreactors", *Water Res.*, 42, Iss. 17, 4578-4588, doi: 10.1016/j.watres.2008.08.006.

[13] Kuczyńska A. 2017. "Wyniki pilotażowego badaniazawartości substancji czynnych farmaceutyków w wodach podziemnych w próbkach wody pobranych z krajowej sieci monitoringu wód podziemnych", *Prz. Geol.*, 65, nr 11/1, 1096-1103.

[14] Kwaśny J. 2021."Zanieczyszczenie środowiska wodnego substancjami farmaceutycznymi. Strategiczne ujęcie problemu, *Przem. Chem.*, 1(9), 72-76, doi:10.15199/62.2021.9.14.

[15] Marchlewicz A., Guzik U., Wojcieszyńska D. 2015. " Właściwości, występowanie i biodegradacja ibuprofenu w środowisku wodnym", *Ochrona Środowiska*, 37 (1), 65-70.

[16] Pan Y. Yu SS., Xiao ZC. Min Y., Tian T., Zheng Y.M., Zhao QB., Yuan ZH., Yu HQ. 2023. "Re-evaluation and modification of dehydrogenase activity tests in assessing microbial activity for wastewater treatment plant operation", *Water Res.,* 246, 120737, doi: 10.1016/j.watres.2023.120737.

[17] Quintelas C., Mesquita D.P., Torres A.M., Costa I., Ferreira E.C. 2020. "Degradation of widespread pharmaceuticals by activated sludge: Kinetic study, toxicity assessment, and comparison with adsorption processes", *J. Water Process Eng.*, 33:101061 (2020), doi: 10.1016/j.jwpe.2019.101061.

[18] Siedlecka E., Biń A. K., Pawełek J., Bergel T., Szatkowska B., Muszański R., Kosiniak M. 2021. "Efektywność usuwania wybranych leków na przykładzie instalacji ozonowania oczyszczanych ścieków komunalnych w Jaworznie – badania w skali pilotowej", *Gaz Woda Tech. Sanit.*, 7-8, 28-34, doi: 10.15199/17.2021.7–8.6.

[19] Szymonik A., Lach J. 2012. "Zagrożenie środowiska wodnego obecnością środków farmaceutycznych, *Inż. Ochr. Śr.,* 15, nr 3, 249-263.

[20] Tomska A. 2016. "Wpływ wybranych farmaceutyków na aktywność dehydrogenaz osadu czynnego*", Inż. Ekol.*, 48, 214–218, doi: 10.12912/23920629/63280.

[21] Wanot B., Domagała M. 2019. "Zanieczyszczenie wody hormonami i innymi farmaceutykami oraz ich degradacja", *Tech. Wody*, 4 (66):30-34.

[22] Zembrzuska J., Ginter-Kramarczyk D., Zając A., Kruszelnicka I., Michałkiewicz M., Dymaczewski Z., Piątkowska A., Wawrzyniak M. 2019. "The influence of temperature changes in activated sludge processes on ibuprofen removal efficiency", *Ecol. Chem. Eng.* S., 26(2):357-366, doi: 10.1515/eces-2019-0025.

[23] Zhang L, Hu J., Zhu R., Zhou Q., Chen J. 2013. "Degradationof paracetamol by pure bacterial cultures and their microbial consortium", *App. Microbiol. Biot.*, 97:3687–3698.l