

Joanna ZEMBRZUSKA<sup>1</sup>, Izabela KRUSZELNICKA<sup>2</sup>,  
Dobrochna GINTER-KRAMARCZYK<sup>2</sup>

*Instytut Chemii i Elektrochemii Technicznej<sup>1</sup>  
Politechnika Poznańska  
Instytut Inżynierii Środowiska<sup>2,3</sup>  
Politechnika Poznańska*

## ŚCIEŻKA BIODEGRADACJI LEKÓW PRZECIWBÓŁOWYCH – IBUPROFENU W ŚCIEKACH COŚ W POZNANIU

BIODEGRADATION PATHWAY OF ANALGESIC DRUGS –  
IBUPROFEN IN WASTEWATER PLANTS COŚ IN POZNAŃ

*The occurrence and fate of pharmaceuticals residues in wastewater treatment and the environment has attracted an increasing interest during the last decade. Non-steroidal anti-inflammatory drugs are extensively used as non-prescription drugs, with an estimated annual consumption in developed countries of several hundreds of tons. The removal of many of these pharmaceuticals during municipal wastewater treatment has been found to be incomplete. As a result, residues of these compounds have been detected in surface waters in concentrations ranging from the ng/L up to the mg/L level. While transformation of pharmaceuticals in the human body and in other mammals has been studied extensively, the microbial degradation of such compounds, its degradation pathways and products, have rarely been investigated and are largely unknown. Only for ibuprofen have microbial metabolites been identified, which were identical to human metabolites. Knowledge on the formation of stable metabolites is also important for assessing the environmental behavior of the parent pharmaceutical.*

### 1. Nowe zanieczyszczenia środowiska wodnego

W dzisiejszych czasach jednym z ważniejszych problemów cywilizacyjnych jest jakość wody [1]. Dlatego też ważna jest ochrona ekosystemów wodnych oraz zabezpieczenie dostępu do zasobów wody pitnej. Z tego powodu należy przede wszystkim zwrócić uwagę na obecność w wodach toksycznych pestycydów, pewnych grup substancji organicznych oraz zanieczyszczeń przemysłowych stanowiących duże zagrożenie dla zdrowia człowieka. Rozwój bardziej precyzyjnych technik wykrywania i oznaczania związków chemicznych powoduje, że analitycy zwracają uwagę także na inne grupy obecnych w środowisku wodnym bioaktywnych substancji. W polskim słownictwie brak jeszcze precyzyjnej nazwy dla tych nowo pojawiających się grup zanieczyszczeń, które

w światowej literaturze określa się angielskim terminem *emerging contaminants* (EC's) [2]. Mimo, że angielska nazwa sugeruje, że są to nowe grupy zanieczyszczeń środowiska wodnego, większość z nich prawdopodobnie istnieje od dawna, lecz dopiero niedawno zostały wykryte i oznaczone. Są to naturalne lub syntetyczne związki chemiczne wchodzące w skład produktów codziennego użytku (stosowanych w przemyśle, gospodarstwach domowych i hodowlanych), które mogą stanowić zagrożenie dla ekosystemów wodnych oraz zdrowia ludzkiego. Przede wszystkim są to farmaceutyki, związki powierzchniowo czynne, środki przeznaczone do higieny osobistej, zanieczyszczenia przemysłowe, gospodarcze, itp., a także produkty ich rozkładu. W tabeli 1 przedstawiono grupy nowo zidentyfikowanych zanieczyszczeń środowiska. Niestety lista tych zanieczyszczeń nie jest listą zamkniętą [1]. Niektóre związki mogą nie zostać rozpoznane, jeśli nie pojawią się skuteczne metody ich detekcji. Charakterystyczną cechą tych związków jest to, że wprowadzane są do środowiska w sposób ciągły, dlatego też nie muszą być chemiczne trwałe, by wywołać negatywne skutki w środowisku.

Tab. 1. Grupy nowo zidentyfikowanych zanieczyszczeń środowiska [1]

Tab. 1. *Emerging contaminants* [1]

| Grupa związków  | Przykłady  |
|---|--|
| <b>Środki farmaceutyczne</b>                          |  |
| Steroidy i hormony                                    | ▪ dietylstilbestrol, estradiol, estron, estriol  |
| Niesteroidowe leki przeciwbólowe i przeciwzapalne     | ▪ ibuprofen, kodeina, diklofenak, kwas acetylosalicylowy                               |
| Leki psychotropowe                                    | ▪ diazepam, karbamazepina  |
| Regulatory tłuszczów                                  | ▪ bezafibrany, kwas fenofibrynowy, kwas klofibrynowy                                   |
| Betablokery   | ▪ metroprolol, propranolol, timolol  |
| Środki kontrastowe stosowane w prześwietleniach RTG   | ▪ diatrizan, jopamidol, jopromid   |
| Antybiotyki stosowane w medycynie i weterynarii       | ▪ erytromycyna, linkomycyna, sulfametaxozol, trimetoprim                               |
| <b>Środki higieny osobistej</b>                       |  |
| Substancje zapachowe                                  | ▪ piżmo nitrowe, policykliczne i makrocykliczne  |
| Środki ochrony przeciwslonecznej                      | ▪ benzofenon, kamfora metylbenzylidenowa   |
| <b>Związki powierzchniowo czynne i ich metabolity</b> | ▪ alkilofenole (oktylofenole i nonylofenole), alkilofenolowe etoksylany i karboksylany |

| Grupa związków                        | Przykłady  |
|---------------------------------------|--|
| Środki antyseptyczne                  | ▪ chlorofen, triklosan   |
| Środki opóźniające palenie            | ▪ polibromowane etery difenyłowe [PBDEs], tris(2-chloroetylo)fosforany [TCEP]                              |
| Plastyfikatory                        | ▪ ftalany [ftalan dimetylu, ftalan dietylu] bisfenol A   |
| Środki i dodatki przemysłowe          | ▪ związki kompleksujące [EDTA], aromatyczne sulfoniany, chlorowoderek tris(2-karboksyetylo) fosfiny [TCEP] |
| Dodatki do benzyn                     | ▪ etery dialkylowe, eter metylo-tetra-butylowy [MTBE]  |
| Produkty uboczne procesów dezynfekcji | ▪ bromiany, bromokwasy, bromoacetonitryle, bromoaldehydy, N-nitrozodimetyloamina [NDMA], jodotrihalometany |
| Nanomateriały                         | ▪ tlenek glinu, ditlenek tytanu, węglowe fulereny i nanorurki  |

Badania naukowe coraz częściej skupiają się na oznaczaniu w skali globalnej tych nietypowych zanieczyszczeń. W tabeli 2 przedstawiono występowanie wybranych nowo zidentyfikowanych zanieczyszczeń w Europie i na świecie [1]. Badania dotyczyły oznaczenia zanieczyszczeń znajdujących się w ściekach surowych, oczyszczonych, w wodach powierzchniowych, a także w wodzie pitnej [1]. W większości badanych przypadków zanieczyszczenia te występują na poziomie kilku ng/L do kilku µg/L. Najwyższe stężenie zanieczyszczeń zaobserwowano w ściekach surowych, tj. leków na poziomie kilkudziesięciu µg/L [w 2007r. w Hiszpanii zanotowano stężenie ibuprofenu, które wyniosło lokalnie 10 µg/L oraz w 2002r., w USA stężenie antybiotyku (tetracykliny) sięgało lokalnie 48 µg/L] i dodatku do benzyn na poziomie kilkuset µg/L [w 2001r. w Austrii stężenie MTBE (eteru metylo-tetra-butylowego), wyniosło 121 µg/L].

Tab. 2. Występowanie wybranych nowo identyfikowanych zanieczyszczeń w Europie i na świecie [1]

Tab. 2. Occurrence of selected emerging contaminants in Europe and worldwide [1]

| Analit                                     | Rodzaj próbki       | Stężenie substancji [ $\mu\text{g/L}$ ] |
|--|---------------------|---|
| <b>Leki przeciwbolowe i przeciwzapalne</b> |                     |   |
| Ibuprofen                                  | Ścieki surowe       | 8,9-10,4 [Hiszpania 2007]               |
|  | Ścieki oczyszczone  | 0,4-2,3 [Hiszpania 2007]                |
|  | Wody powierzchniowe | 0,2-0,4 [Niemcy 2000]                   |
| Kwas salicylowy                            | Ścieki surowe       | 0,14 [Niemcy 1996]                      |
|  | Ścieki oczyszczone  | 0,14 [Kanada 2004]                      |
|  | Wody powierzchniowe | 0,02 [Niemcy 1998]                      |
| Diklofenak                                 | Ścieki surowe       | 0,6 [Grecja 2002]                       |
|  | Ścieki oczyszczone  | 0,01-0,36 [Grecja 2002]                 |
|  | Wody powierzchniowe | 0,3-0,53 [Polska 2004]                  |
| <b>Antybiotyki</b>                         |                     |   |
| Tetracyklina                               | Ścieki surowe       | 48,0 [USA 2002]                         |
|  | Ścieki oczyszczone  | 3,6 [USA 2002]                          |
| Erytromycyna-H <sub>2</sub> O              | Ścieki surowe       | 3,9 [USA 2002]                          |
|  | Ścieki oczyszczone  | 1,1 [USA 2002]                          |
|  | Wody powierzchniowe | 0,15 [Niemcy 1998]                      |
| <b>Leki psychotropowe</b>                  |                     |   |
| Karbamazepina                              | Ścieki surowe       | 0,02-0,15 [Hiszpania 2007]              |
|  | Ścieki oczyszczone  | 0,05-0,11 [Hiszpania 2007]              |
|  | Wody powierzchniowe | 0,25 [Niemcy 1998]                      |
| <b>Regulatory tłuszczów</b>                |                     |   |
| Benzafibrat                                | Ścieki surowe       | 1,88 [Hiszpania 2007]                   |
|  | Ścieki oczyszczone  | 0,87 [Hiszpania 2007]                   |
|  | Wody powierzchniowe | 3-24 ng/l [Finlandia 2003]              |
| Kwas klofibrynowy                          | Ścieki surowe       | 0,5 [Wielka Brytania 2004]              |
|  | Ścieki oczyszczone  | 0,04 [Wielka Brytania 2004]             |
|  | Wody powierzchniowe | 0,07 [Niemcy 1998]                      |
| <b>Środki higieny osobistej</b>            |                     |   |
| Galaxolide [HHCB]                          | Ścieki surowe       | 3,18-3,4 [Hiszpania 2002]               |
|  | Ścieki oczyszczone  | 0,5 [Hiszpania 2002]                    |

| Analit                            | Rodzaj próbki       | Stężenie substancji [µg/L]           |
|-----------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
| <b>Hormony</b>                    |                     |                                      |
| Estradiol                         | Ścieki surowe       | 0,009 [Kanada 2004]                  |
|                                   | Ścieki oczyszczone  | 0,002 [Kanada 2004]                  |
|                                   | Wody powierzchniowe | 0,6 ng/l Niemcy 2000]                |
|                                   | Woda pitna          | 0,3 ng/l Niemcy 2000]                |
| Estron                            | Ścieki surowe       | 0,02-0,22 [Niemcy 2000]              |
|                                   | Wody powierzchniowe | 0,17-0,2 ng/l [Wielka Brytania 2001] |
|                                   | Woda pitna          | 0,4 ng/l [Niemcy 2000]               |
| <b>Związki opóźniające zapłon</b> |                     |                                      |
| Bisfenol A                        | Ścieki surowe       | 1,28 [Kanada 2004]                   |
|                                   | Ścieki oczyszczone  | 0,18 [Kanada 2004]                   |
|                                   | Wody powierzchniowe | 0,16 [Hiszpania 2002]                |
| <b>Środki odkażające</b>          |                     |                                      |
| Triklosan                         | Ścieki surowe       | 0,43 [Norwegia 2002]                 |
|                                   | Ścieki oczyszczone  | 0,39 [Norwegia 2002]                 |
| <b>Dodatki do benzyny</b>         |                     |                                      |
| MTBE (eter metylo-tetra-butylowy) | Ścieki surowe       | 121,0 [Austria 2001]                 |
|                                   | Ścieki oczyszczone  | 5,6 [Austria 2001]                   |
|                                   | Wody powierzchniowe | 0,15 [Włochy 1999]                   |
|                                   | Woda pitna          | 0,02-0,71 [Niemcy 2003]              |

Martwiący jest fakt, że w każdym przypadku, badania wykazały obecność zanieczyszczeń w wodach powierzchniowych, a zwłaszcza w wodzie pitnej [hormony – Niemcy 2000r., dodatek do benzyn – Niemcy 2003r.].

### 1.1. Klasyfikacja substancji leczniczych

Duża ilość oraz różnorodność substancji leczniczych stosowanych we współczesnej farmakoterapii stwarza konieczność przejrzystego, ścisłego pod względem naukowym, a zarazem praktycznego ich uporządkowania.

Podstawą klasyfikacji leków może być ich podobieństwo w strukturze chemicznej lub działanie farmakologiczne. W tabeli 3 przedstawiono podział środków farmaceutycznych ze względu na ich działanie farmakologiczne wraz z krótką charakterystyką [3-7].

Tab. 3. Podział środków farmaceutycznych wraz z krótką charakterystyką

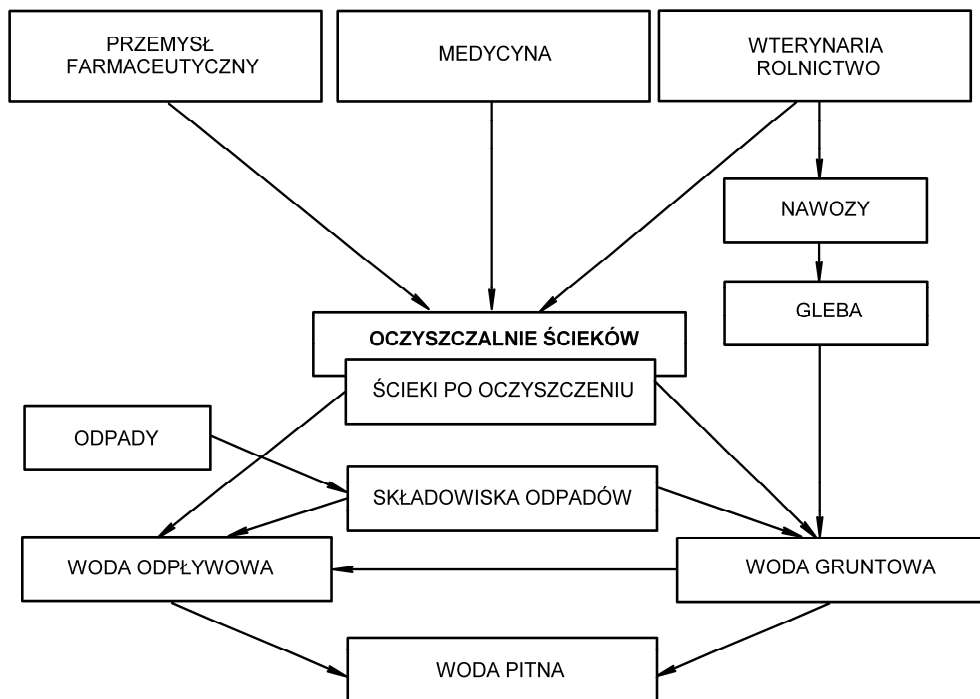
Tab. 3. Classification of pharmaceutical in terms of their pharmacological action

| Podział   | Charakterystyka  |
|---|--|
| <b>Leki działające na ośrodkowy układ nerwowy</b>                         | Leki te stosuje się w celu poprawy lub zmodyfikowania czynności nerwowej. Łagodzą objawy chorobowe lub przywracają prawidłowe funkcjonowanie i zachowanie chorego. Do tej grupy związków należą neuroprzekazniki, neurohormony, neuromodulatory i inne substancje biorące udział w przewodzeniu bodźców, a także leki psychotropowe, leki o działaniu analeptycznym, leki uspokajające i nasenne, leki przeciwpadaczkowe, leki stosowane w chorobie Parkinsona oraz tzw. Niesteroidowe Leki Przeciwzapalne (NLPZ) – leki przeciwbólowe, przeciwgorączkowe i przeciwzapalne. Te ostatnie są najczęściej stosowane przez ludzi, ze względu na łatwy dostęp do nich i brak konieczności posiadania recepty. |
| <b>Leki wpływające na obwodowy układ nerwowy</b>                          | Leki wpływające na obwodowy układ nerwowy stosuje się w chorobach układu autonomicznego oraz przy zaburzeniach czynności narządów. W tej grupie związków możemy wyróżnić takie leki jak: leki pobudzające lub hamujące układ współczulny i przywspółczulny, leki spazmolityczne muskulotropowe i neuromuskulotropowe, leki działające na zwoje układu autonomicznego, leki zwiotczające mięśnie szkieletowe, a także leki znieczulające miejscowo.   |
| <b>Leki przeciw-histaminowe</b>   | Leki przeciwhistaminowe znoszą lub łagodzą objawy alergii, w przypadku, gdy nie jest możliwe uniknięcie kontaktu z alergenami. Najczęściej stosowane są przy zapobieganiu katarowi siennemu na skutek reakcji alergicznej wywołanej przez pyłki, sierść zwierząt, czy alergeny kurzu domowego. Stosuje się je także w przypadku alergii skórnej. Są to leki blokujące działanie receptorów H1 i H2 oraz leki należące do grupy agonistów i antagonistów receptorów serptonicznych  |
| <b>Leki działające na układ krążenia i wpływające na krzepliwość krwi</b> | Leki te stosowane są w chorobach serca lub naczyń krwionośnych. Należą do nich takie leki jak: leki nasercowe, przeciwarytmiczne, leki stosowane w chorobie niedokrwiennej serca, leki obniżające ciśnienie krwi, leki rozszerzające naczynia obwodowe i mózgowe, leki zmniejszające stężenie lipidów tzw. leki hipolipemiczne oraz środki krwiozastępcze i leki wpływające na krzepliwość krwi.   |
| <b>Diuretyki, czyli leki moczopędne</b>                                   | Leki moczopędne stosuje się przy niewydolności mięśnia sercowego, w ostrej i przewlekłej niewydolności nerek, marskości wątroby i obrzękach płuc. Są także często stosowane w leczeniu nadciśnienia i przy zatruciach. Do tej grupy należą leki moczopędne oraz diuretyki.   |
| <b>Leki stosowane w chorobach układu oddechowego</b>                      | Stosuje się je w celu usunięcia z dróg oddechowych zalegającej tam wydzieliny oraz aby zmniejszyć jej wytwarzanie, rozkurczyć tchawicę i oskrzela lub zapobiec ich skurczowi oraz w celu złagodzenia objawów zapalenia w układzie oddechowym. Wyróżnić tutaj należy leki stosowane w astmie oskrzelowej, leki przeciwkaszlowe oraz leki wykrztuśne.  |
| <b>Leki stosowane w chorobach przewodu pokarmowego</b>                    | Leki z tej grupy stosuje się w przypadku stanów zapalnych żołądka i jelit, przy nieprawidłowym wydzielaniu soku żołądkowego, co może doprowadzić do nadkwasoty, a nawet wrzodów trawiennych. Stosuje się je także przy takich dolegliwościach jak biegunka, zaparcia, czy w zespole jelita drażliwego. Do tej grupy leków należą leki pobudzające wydzielanie soku żołądkowego, leki stosowane w chorobach wątroby i dróg żółciowych oraz w chorobie wrzodowej, leki przeczyszczające, przeciwbiegunkowe, przeciwwymiotne, a także leki stosowane w przewlekłych chorobach zapalnych jelit.  |

| Podział  | Charakterystyka  |
|--|--|
| <b>Hormony</b>   | Hormony lub leki o podobnym działaniu do hormonów stosuje się w leczeniu chorób nieendokrynologicznych. Hormony naturalne lub ich syntetyczne analogi stosuje się w leczeniu chorób układu wydzielania wewnętrznego. W grupie hormonów wyróżnia się: hormony podwzgórza, hormony przysadki, hormony tarczycy i leki stosowane w chorobach tarczycy, hormony o budowie steroidowej (kortykosteroidy, hormony płciowe), hormony wysp trzustkowych, a także doustne leki przeciwkukrzycowe. Należy zwrócić szczególną uwagę na hormony, które są składnikami środków antykoncepcyjnych. Są to estrogeny (np. etinyloestradiol) i gestageny (np. etynodiol). Mimo, że leki te są wydawane na receptę, to ilość przyjmowanych środków wzrasta z roku na rok |
| <b>Witaminy</b>  | Witaminy są złożonymi związkami chemicznymi, które są potrzebne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Niestety organizm potrafi wytwarzać tylko witaminę D pod wpływem światła słonecznego, dlatego niezbędne jest przyjmowanie witamin wraz z pożywieniem. Do grupy witamin zalicza się m.in. retinol i retinoidy, witaminy z grupy B, kwas askorbowy, witaminy z grupy D, witaminy K i inne.   |
| <b>Leki działające na drobnoustroje chorobotwórcze</b> | Leki działające na drobnoustroje chorobotwórcze wykazują szeroki zakres działania, a ponadto dużą skuteczność w leczeniu wielu zakażeń bakteryjnych i grzybiczych. Mają szerokie zastosowanie przy odkażaniu skóry podczas operacji chirurgicznych oraz do dezynfekcji rąk i narzędzi. Stosuje się je także do dezynfekcji wody. Są to środki dezynfekujące i odkażające, sulfonamidy, antybiotyki, leki przeciwgruźlicze i przeciwtrądowe, leki przeciwwirusowe, leki przeciwgrzybiczne, leki przeciwpierwotniakowe i leki przeciwrobaczne.   |
| <b>Leki przeciwnowotworowe</b>                         | Obecnie do leczenia nowotworów istnieje ok. 90 leków. Leki te przede wszystkim znajdują zastosowanie w przypadkach, w których leczeniem podstawowym jest farmakoterapia, czyli w leczeniu nowotworów rozlanych, nieoperacyjnych. Do tej grupy leków zalicza się leki alkilujące, antymetabolity zasad pirymidynowych i kwasu foliowego, antybiotyki przeciwnowotworowe, alkaloidy, pseudoalkaloidy o działaniu przeciwmityotycznym, enzymy, hormony i antyhormony.   |
| <b>Leki immunotropowe</b>                              | Leki immunotropowe stosowane są w leczeniu chorób immunologicznych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, gdy choroba ma nasilony przebieg, a wcześniejsze leczenie okazało się mało skuteczne. Stosuje się je także przed i po przeszczepieniu narządów naczyniowych i innych tkanek. Na leki immunotropowe składają się leki immunosupresyjne i leki immunostymulujące.   |

## 1.2. Źródła farmaceutyków w środowisku

Istnieją dwa główne źródła przedostawania się farmaceutyków do środowiska: przemysł oraz człowiek i zwierzęta, co ilustruje rysunek 1 [8]. Farmaceutyki do środowiska trafiają z przemysłu farmaceutycznego i weterynaryjnego, aptek, szpitali, laboratoriów analitycznych, gospodarstw domowych, itp. – wszystkich tych miejsc gdzie wytwarzane są, bądź wykorzystywane preparaty chemiczne. Farmaceutyki są zrzucane do otoczenia jako pozostałości po procesach produkcyjnych czy też po prostu wyrzucane jako stare, nie zużyte, przeterminowane leki. W ten sposób przedostają się bezpośrednio do ścieków i wód, a także do gleb, za których pośrednictwem poprzez spływy powierzchniowe i infiltrację trafiają również do zbiorników wodnych.



Rys. 1. Drogi przedostawania się farmaceutyków zawartych w wodzie wychodzącej z oczyszczalni ścieków do środowiska [9,10]

Fig. 1. Way of the entry of pharmaceuticals in the water coming from the sewage treatment plant into the environment

Metabolizm organizmów ludzkich i zwierzęcych również przyczynia się do wzrostu liczby farmaceutyków w naszym środowisku. Rynek farmaceutyczny w naszym kraju bardzo mocno się rozwija. Każdy z nas choruje i dlatego sięgamy po ogólnodostępne leki. Chodzimy również z naszymi pupilami do przychodni weterynaryjnych, gdzie również podawane są im różne preparaty chemiczne. Statystyki wskazują, że rocznie każdy z nas kupuje 29 opakowań leków (głównie tabletek przeciwbólowych). Dlatego też w spożyciu leków uklasyfikowaliśmy się na 3 miejscu w świecie zaraz po Amerykanach i Francuzach [8]. Większość pobieranych przez organizm środków jest wydalana w postaci metabolitów w formie zmienionej lub w postaci macierzystej. W ten sposób trafiają one do obiegu w przyrodzie – gleby i wód.



### 1.3. Losy farmaceutyków w oczyszczalni ścieków

Farmaceutyki w oczyszczalni ścieków mogą:

- ulegać mineralizacji związanej z procesem biodegradacji – rozkład do dwutlenku węgla (CO<sub>2</sub>) i wody (H<sub>2</sub>O) za pomocą mikroorganizmów,
- pozostać uwolnione do wód w formie niezmienionej,
- pozostać zatrzymane w osadzie ściekowym.

Stopień oczyszczania leków jest zróżnicowany (tabela 4). Najlepsze efekty obserwuje się w przypadku leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych. Farmaceutyki z tej grupy takie jak ibuprofen czy ketoprofen są eliminowane ze ścieków prawie w 100% głównie latem. Oczyszczalnie posiadające reaktory o wyższym stopniu wieku osadu, czyli czasie potrzebnym na namnożenie bakterii [11], są bardziej efektywne w procesie usuwania niż z reaktorami o niższym stopniu [12].

Tab. 4. Stężenia wybranych farmaceutyków na wejściu i wyjściu z oczyszczalni ścieków oraz sprawność oczyszczania [8].

Tab. 4. Concentrations of selected pharmaceuticals in the waste water treatment plant influent and in the effluent and purification efficiency

| Grupa terapeutyczna              | Lek                    | Stężenie w ściekach [µg/L] |               | Stopień oczyszczenia [%] | Literatura |
|----------------------------------|------------------------|----------------------------|---------------|--------------------------|------------|
|                                  |                        | surowych                   | oczyszczonych |                          |            |
| Przeciwbólowe/<br>przeciwzapalne | Kwas acetylosalicylowy | 3,2                        | 0,6           | 81                       | [11]       |
|                                  | Diklofenak             | 3,0                        | 2,5           | 17                       | [12]       |
|                                  |                        | 1,0                        | 0,3           | 71                       | [13]       |
|                                  |                        | 2,8                        | 1,9           | 23-30                    | [14]       |
|                                  |                        | 9,5-14,7                   | 0,01-0,02     | 99                       | [15]       |
|                                  | Ibuprofen              | 2,0-3,0                    | 0,6-0,8       | 53-79                    | [16]       |
|                                  |                        | 5,7                        | 0,2           | 97                       | [14]       |
|                                  |                        | 28,0                       | 3,0           | 98                       | [13]       |
|                                  |                        | Paracetamol                | 6,9           | 0,0                      | 100        |
|                                  | Ketoprofen             | 0,41-0,52                  | 0,008-0,02    | 98                       | [15]       |
|                                  |                        | 0,25-0,43                  | 0,15-0,24     | 8-53                     | [16]       |

|                                 |                 |           |           |    |      |
|---------------------------------|-----------------|-----------|-----------|----|------|
| <b>B-blokery</b>                | Metoprolol      | -         | -         | 83 | [17] |
|                                 | Propanolol      | -         | -         | 96 | [17] |
| <b>Regulatory<br/>tłuszczów</b> | Bezafibrat      | -         | -         | 83 | [17] |
|                                 |                 | 2,6       | 0,2       | 91 | [14] |
|                                 | Kwas klofibrowy | -         | -         | 51 | [17] |
|                                 |                 | 0,3       | 0,0       | 91 | [13] |
|                                 |                 | 0,15-0,25 | 0,15-0,25 | 0  | [16] |

Pojawiły się już nowe metody, które uskuteczniają działanie oczyszczalni i pozwalają na osiągnięcie lepszych wyników oczyszczenia. Można tu wymienić m. in. takie metody jak techniki membranowe, procesy biologiczne (bioreaktory membranowe) i fizyczne (ultrafiltracja, nanofiltracja, procesy odwróconej osmozy), a także nowoczesne procesy utleniania (ozonowanie, chlorowanie, fotoliza) [16].

#### 1.4. Skutki środowiskowe

Leki nie są obojętne dla środowiska i nie znikają w nim. Trafiają one do gleb i wód w związku z czym oddziałują nie tylko na człowieka, ale także na zwierzęta czy rośliny. Organizmy wodne są stale i wielopokoleniowo narażone na działanie farmaceutyków. Z wszystkich leków jako silnie toksyczne wymienić można m. in. diklofenak, czy propanolol [8]. Negatywne skutki wywołują w środowisku naturalnym także hormony. Nawet niewielkie dawki mogą spowodować zmianę płci u ryb lub płazów. Obecność estrogenów wywołuje u samców ryb bezpłodność albo proces wytwarzania ikry. Obserwuje się także spadek rozwoju zarodków [2]. Leki psychotropowe takie jak np. serotonina zaburzają układ nerwowy a antybiotyki powszechnie stosowane w leczeniu mogą powodować wzrost odporności czynników chorobotwórczych [8]. W badaniach wykazano, że niektóre leki z osobna nie wykazują żadnych bądź wykazują minimalne skutki środowiskowe. Natomiast w połączeniu z innymi środkami tworzą mieszaniny (np. z grupy NLPZ), które mogą powodować zwiększenie działania innych zanieczyszczeń, a co za tym idzie przyczyniają się do znacznych, negatywnych zmian w środowisku naturalnym [20].

Spożywanie wody zanieczyszczonej przez środki farmaceutyczne przyczynia się do zmniejszenia lekooporności organizmu; zostaje zaburzona równowaga wewnętrzna [7].

## 2. Niesteroidowe leki przeciwzapalne

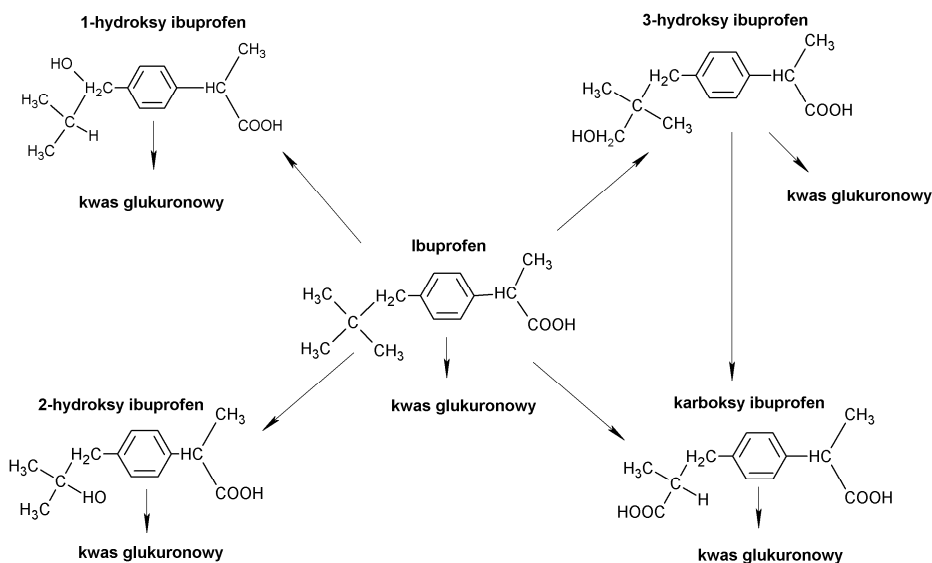
Niesteroidowe leki przeciwbólowe i przeciwzapalne (NLPZ; ang. *Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs – NSAIDs*) to grupa leków o działaniu przeciwbólowym, przeciwzapalnym i przeciwgorączkowym. Leki te nazywane są „niesteroidowymi” w odróżnieniu od kortykosteroidów zwanych w skrócie steroidami, które również działają przeciwzapalnie, jednak znacznie silniej. Działanie NLPZ polega na blokowaniu enzymu cyklooksygenazy (COX), co powoduje z kolei hamowanie wytwarzania prostaglandyn. Prostaglandyny są uwalniane przez komórki np. pod wpływem urazu. Odpowiadają za objawy zapalenia przy uszkodzeniu tkanek. Hamowanie wytwarzania prostaglandyn za pomocą NLPZ powoduje w końcowym efekcie zmniejszenie bólu i innych objawów zapalenia.

NLPZ są powszechnie stosowane w chorobie zwyrodnieniowej stawów, reumatoidalnym zapaleniu stawów, a także w innych schorzeniach reumatologicznych.

Leki te nie leczą tych chorób, lecz zmniejszają zapalenie, obrzęk stawów i uśmierzają ból. Stosuje się je także w takich stanach, jak bóle lędźwiowe, bóle menstruacyjne, bóle głowy, przy łagodnych bólach pooperacyjnych, a także przy bólach spowodowanych niewielkimi urazami np. naderwaniem więzadła.

### 2.1. Ibuprofen

Ibuprofen jest powszechnie stosowanym lekiem o działaniu przeciwbólowym, przeciwzapalnym i przeciwgorączkowym dostępnym niemalże w każdym punkcie handlowym. Łatwa i nieograniczona dostępność do medykamentów zawierających ibuprofen jako substancje czynną powoduje, że środki takie produkuje się na świecie w tysiącach ton [21]. Tak olbrzymia produkcja i powszechność użycia tej substancji powoduje, że ibuprofen staje się istotnym ekologicznie związkiem. Po zastosowaniu przez pacjenta jest wydalany w formie niezmienionej oraz w postaci jego metabolitów: hydroksyibuprofenu (OH-Ibu); karboksyibuprofenu (CA-Ibu) [22-24]. Podczas metabolizmu ibuprofenu część związku macierzystego oraz jego metabolitów zostaje sprężona z kwasem glukuronowym (rysunek 2).



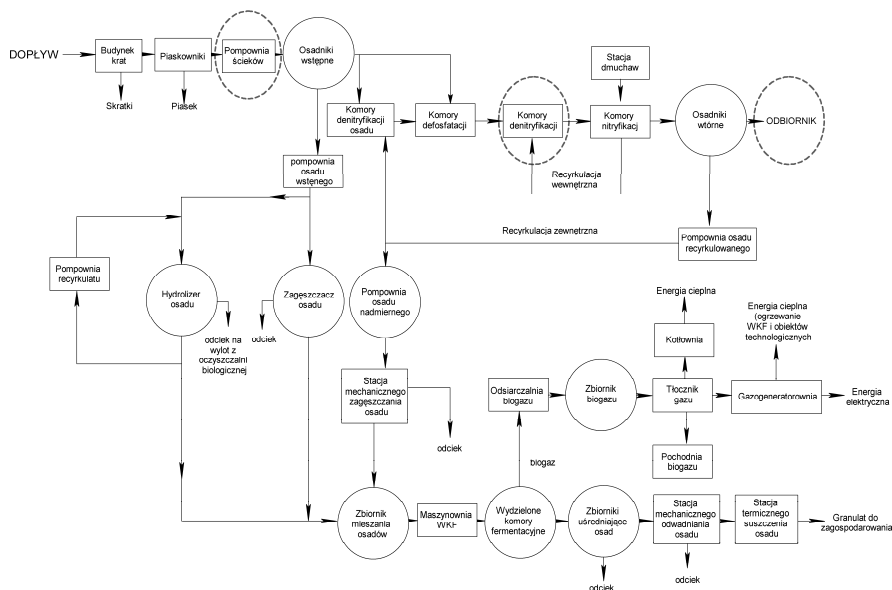
Rys. 2. Szlak metaboliczny ibuprofenu [24]

Fig. 2. Metabolic pathway of ibuprofen [24]

Zaobserwowano, że wśród możliwych metabolitów dominuje 1-hydroksy ibuprofen oraz 3-hydroksyibuprofen oraz ich pochodne z kwasem glukuronowym. Dwa pozostałe – 2-hydroksy ibuprofen oraz karboksy ibuprofen i ich pochodne glukuronowe obecne są w śladowych ilościach. Odkąd rozpoczęto badania nad obecnością farmaceutyków w środowisku wodnym, zaobserwowano obecność ibuprofenu zarówno w wodach powierzchniowych, ściekach surowych i tych oczyszczonych na poziomie od ng/L do µg/L [21,25-27]. Występowanie tego leku z grupy NLPZ świadczy o niepełnej degradacji podczas procesu oczyszczania w biologicznych oczyszczalniach ścieków. Oprócz formy wyjściowej ibuprofenu, wykryto zarówno w ściekach surowych jak i oczyszczonych, metabolit OH-Ibu. Podczas tych badań zaobserwowano podwyższone stężenie tego metabolitu w ściekach oczyszczonych w porównaniu z jego zawartością w ściekach surowych [25]. To spostrzeżenie wzbudziło zainteresowanie naukowców, czy podwyższone stężenie OH-Ibu jest spowodowane biodegradacją pierwotnej formy ibuprofenu czy też jest wynikiem rozpadu połączenia kwasu glukuronowego z OH-Ibu (metabolitu ibuprofenu powstającego podczas przemian w ludzkim organizmie). Odpowiedzi na to pytanie udzielił Zwienier i współpracownicy [28], którzy to monitorowali stężenie ibuprofenu oraz metabolitów podczas biodegradacji w warunkach tlenowych i beztlenowych. Z ich badań wyniknęło, że pochodna OH-Ibu jest głównym produktem biodegradacji ibuprofenu w warunkach tlenowych.

### 3. Obecność NLPZ w ściekach COŚ w Poznaniu

W celu określenia stężenia wybranych leków z grupy NLPZ (ibuprofenu, naproxenu, fenoprofenu, ketoprofenu, tolmetinu i paracetamolu) zbadano próbki ścieków nieoczyszczonych, wstępnie oczyszczonych i oczyszczonych pobranych z Centralnej Oczyszczalni Ścieków Aquanet S.A., która mieści się przy ul. Gdyńskiej 1, Koziegłowy w Poznaniu. Próbkę zostały pobrane w punktach przedstawionych na rysunku 3.



Rys. 3. Schemat Centralnej Oczyszczalni Ścieków w Poznaniu

Fig. 3. Scheme of the Central Wastewater Treatment Plant wPoznaniu

Procedura analityczna obejmowała wydzielanie i zateżanie analitów z próbek ścieków na drodze ekstrakcji do ciała stałego (SPE) oraz oznaczeniu techniką wysoko-sprawną chromatografią cieczową łączonej z tandemową spektrometrią mas LC-MS/MS.

#### 3.1. Przygotowanie i oznaczanie pozostałości NLPZ w próbkach ścieków pochodzących z COŚ w Poznaniu

##### 3.1.1. Przygotowanie próbek do analizy LC-MS/MS

Próbki do analizy pobrane zostały z następujących miejsc: z pompowni ścieków – ścieki surowe, komory denitryfikacji, komory nityfikacji oraz odbiornika (ścieki

oczyszczone). Poszczególne miejsca zaznaczono na schemacie blokowym (rysunek 3), który przedstawiono na rysunku 3. Ekstrakcję prowadzono dla objętości próbek wynoszących 500 mL. Aby uwzględnić wpływ matrycy na zawartość analitów w próbce stężenie poszczególnych związków oznaczono techniką dodatku wzorca, tj. przez dodatek wzorca na różnym poziomie stężeń przed etapem ekstrakcji. Dla wymienionych próbek rzeczywistych adsorpcje prowadzono przy pH=7, wykorzystując złoże C18 (J.T. Baker). Zaadsorbowane anality eluowano metanolem, który następnie odparowano pod strumieniem azotu, zaś suchą pozostałość rozpuszczano w fazie początkowej stosowanej do rozdzielania chromatograficznego.

### 3.1.2. Analiza LC-MS/MS

Rozdzielenia chromatograficznego mieszaniny leków dokonano na kolumnie chromatograficznej Hypersil Gold C18 RP, jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę 5 mM roztworu wodnego octanu amonu i metanolu, której skład zmieniał się podczas analizy. Przepływ fazy ruchomej przez kolumnę wynosił 0,25 ml/min. Rozdzielanie prowadzone było w temperaturze 35 °C. Tabela 5 przedstawia parametry pracy chromatografu.

Tab. 5. Warunki rozdzielania chromatograficznego

Tab. 5 LC parameters

| Element układu pomiarowego        | Parametry pracy układu   |     |     |
|-----------------------------------|--|-----|-----|
| Chromatograf cieczowy             | UltiMate 3000 RSLC, Dionex   |     |     |
| Kolumna chromatograficzna         | Hypersil Gold C18 RP (100mm x 2,1 mm i.d.), Thermo Scientific            |     |     |
| Faza ruchoma                      | A: H <sub>2</sub> O + 5 mM CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub><br>B: MeOH |     |     |
| Natężenie przepływu fazy ruchomej | 0,25 mL/min  |     |     |
| Gradient                          | Czas [min.]  | % A | % B |
|                                   | 0  | 70  | 30  |
|                                   | 10   | 33  | 67  |
|                                   | 12   | 0   | 100 |
| Czas trwania analizy              | 12 minut   |     |     |

Detekcji z wykorzystaniem detektora MS/MS dla rozdzielonej formy mieszaniny leków dokonano stosując jonizację w trybie ujemnym. Próbkę jonizowano przez elektro-rozpylanie. Szczegółowe warunki pracy spektrometru mas przedstawia tabela 6.

Tab. 6. Warunki pracy detektora masowego

Tab. 6 MS parameters

| Element                             | Parametr pracy |
|-------------------------------------|----------------|
| Sposób jonizacji                    | ESI            |
| Tryb pracy                          | ujemny         |
| Temperatura [°C]                    | 400            |
| Gaz osłonowy [bar]                  | 20             |
| Ciśnienie gazu w rozpylaczu [bar]   | 50             |
| Gaz suszący [bar]                   | 50             |
| Napięcie przyłożone do kapilary [V] | -4500          |

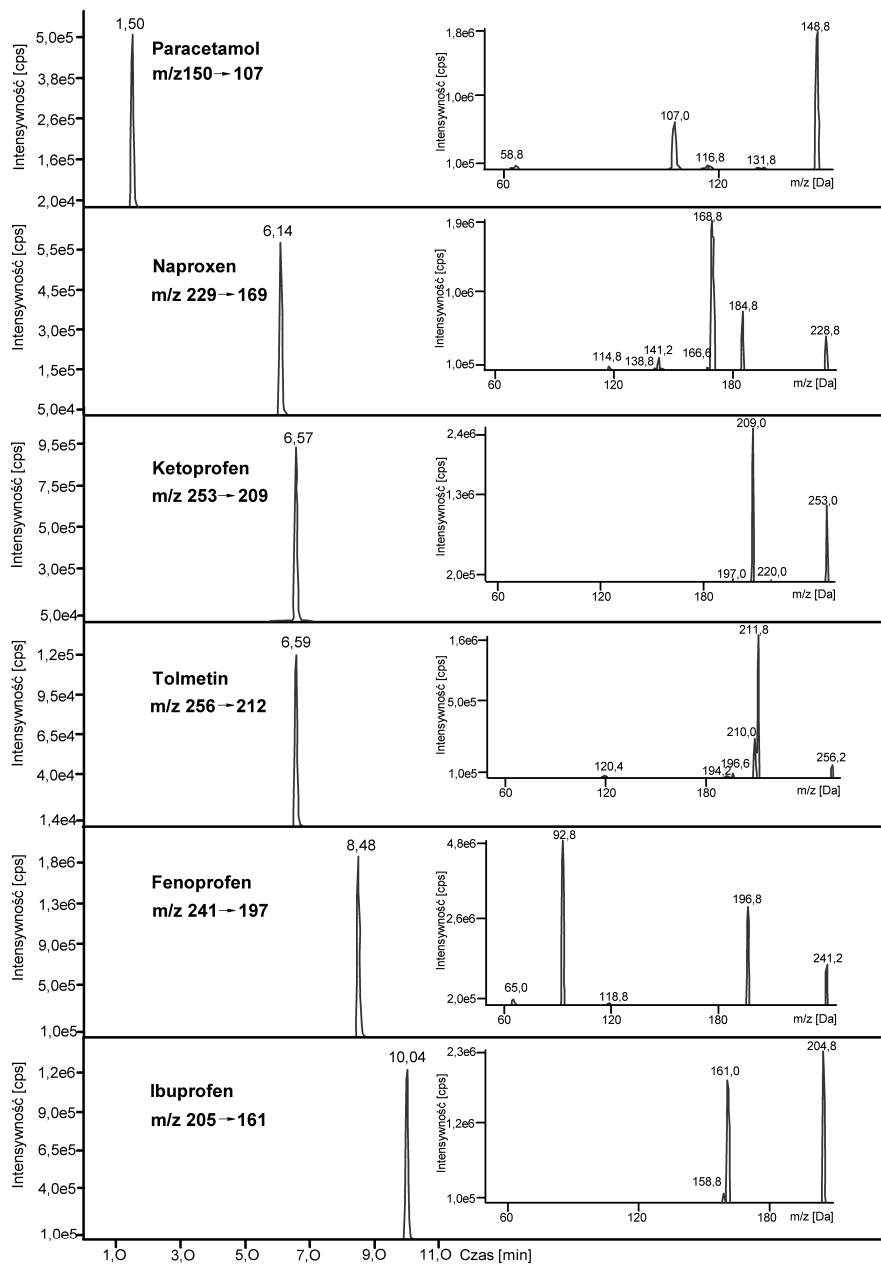
Na podstawie widm fragmentacyjnych wykonanych dla mieszaniny wzorców NLPZ wybrane zostały charakterystyczne pary MRM, które posłużyły do wykonania analiz ilościowych. Następnie dla tych par zoptymalizowano takie parametry pracy spektrometru mas jak: potencjał fragmentacji i energię kolizji, mające wpływ na czułość i selektywność analizy ilościowej i jakościowej. W tabeli 7 przedstawiono parametry pracy spektrometru mas stosowane do oznaczeń par MRM dla wybranych związków z grupy NLPZ.

Tab. 7. Optymalne parametry pracy MS/MS dla poszczególnych związków z grupy NLPZ

Tab. 7. MS/MS parameters for the acquisition of NSAIDs

| Związek     | Jon pseudo-molekularny [M-H] | Potencjał fragmentacji | MRM1      | Energia kolizji [V] | MRM2      | Energia kolizji [V] |
|-------------|------------------------------|------------------------|-----------|---------------------|-----------|---------------------|
| Ibuprofen   | 205                          | -50                    | 205 → 161 | -12                 | 205 → 159 | -8                  |
| Ketoprofen  | 253                          | -50                    | 253 → 209 | -12                 | 253 → 197 | -10                 |
| Fenoprofen  | 241                          | -40                    | 241 → 197 | -12                 | 241 → 93  | -52                 |
| Naproxen    | 229                          | -45                    | 229 → 169 | -38                 | 229 → 185 | -10                 |
| Tolmetin    | 256                          | -30                    | 256 → 212 | -10                 | 256 → 210 | -26                 |
| Paracetamol | 150                          | -20                    | 150 → 107 | -24                 | 150 → 60  | -14                 |

Na rysunku 4 przedstawiono chromatogramy mieszaniny NLPZ oraz widma fragmentacyjne poszczególnych związków: paracetamolu, naproxenu, ketoprofenu, tolmetinu, fenoprofenu i ibuprofenu.



Rys. 4. Chromatogramy przejść jon pseudomolekularny → jon fragmentacyjny oraz widma fragmentacyjne leków z grupy NLPZ

Fig. 4. Chromatograms of standard solution (transitions precursor ion → product ion) of 1 µg/mL of each compound and spectra of NSAIDs respectively



### 3.2. Zawartość wybranych NLPZ w ściekach

Opisaną procedurą analityczną oznaczono pozostałości NLPZ w ściekach surowych, podczyszczonych oraz oczyszczonych. Otrzymane stężenia dla poszczególnych leków w próbkach z oczyszczalni ścieków przedstawiono w tabeli 8.

Tab. 8. Stężenie leków w próbkach ścieków

Tab. 8. The concentration of pharmaceutical in sewage samples

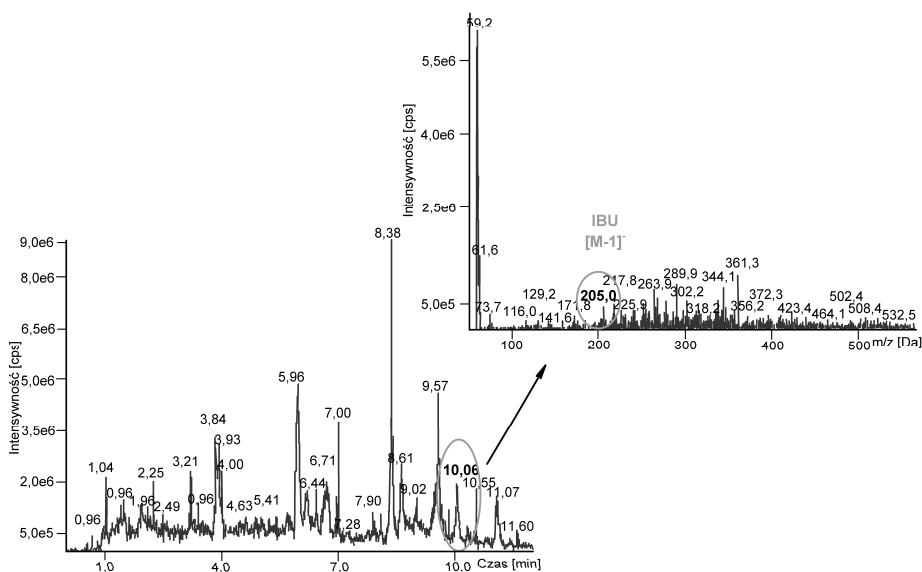
| Rodzaj pobieranej próbki | Miejsce poboru próbki     | związek               |            |            |           |          |              |
|--------------------------|---------------------------|-----------------------|------------|------------|-----------|----------|--------------|
|                          |                           | ibuprofen             | ketoprofen | fenoprofen | naproxen  | tolmetin | parace-tamol |
|                          |                           | Stężenie (RSD) [ng/L] |            |            |           |          |              |
| Oczyszczalnia ścieków    | Ścieki surowe             | 4000 (3)              | 2500 (3)   | 62,8 (4)   | 2700 (3)  | 76 (3)   | 51400 (3)    |
|                          | Komora denitryfikacyjna   | 48 (2)                | 163 (1)    | 60 (3)     | 490 (1)   | 7,0 (5)  | 28,4 (2)     |
|                          | Komora nityfikacyjna      | 36,6 (3)              | 95,2 (3)   | 51 (2)     | 145 (2)   | 6,0 (3)  | 26,3 (3)     |
|                          | Odbiornik przed filtracją | 37,5 (2)              | 91,7 (3)   | 14,8 (3)   | 114,5 (2) | 6,6 (3)  | 17,2 (3)     |
|                          | Odbiornik po filtracji    | 47 (3)                | 95,2 (0,5) | 28,3 (4)   | 99,8 (4)  | 6,0 (5)  | 21,2 (4)     |

Analizując otrzymane wyniki można stwierdzić, że trafiający do oczyszczalni strumień ścieków z gospodarstw domowych jak i z zakładów przemysłowych (m.in. firm farmaceutycznych) i szpitali, niesie ze sobą znaczne ilości badanych leków (tab. 8 – ścieki surowe). Leki te ulegają procesom degradacji (biodegradacji) podczas kolejnych etapów oczyszczania, czego dowodem jest spadek stężeń poszczególnych NLPZ (tab. 8). W monitorowanych miejscach oczyszczalni warto również zwrócić uwagę na fakt, że leki te podczas całego procesu oczyszczania nie zostają jednak w 100% usunięte z oczyszczonych ścieków, gdyż wykryto i oznaczono je także na wyjściu z oczyszczalni (tab. 8 - odbiornik). Przyglądając się oznaczonym stężeniom badanych leków widać wyraźnie które z nich są w dużej ilości i bardzo powszechnie stosowane podczas leczenia. Paracetamol, który dostępny jest w każdym punkcie handlowym w postaci prostej np. Apap, jak i złożonej np. Grypex w ściekach obecny jest na najwyższym poziomie (ok. 51  $\mu\text{g/L}$ ) w porównaniu z pozostałymi oznaczanymi NLPZ. Na drugim miejscu klasyfikuje się też często stosowany „w samo leczeniu” ibuprofen (4  $\mu\text{g/L}$ ). Dane otrzymane dla ścieków surowych pozwalają stwierdzić, że wszystkie leki, które oznaczone zostały w ściekach surowych na poziomie  $\mu\text{g/L}$  swój tak wysoki udział w zanieczyszczeniach zawdzięczają szerokiej kampanii reklamowej w środkach masowego przekazu, która niewątpliwie ma ogromny wpływ na wybór leku przez społeczeństwo i niestety na „samo leczenie”. Najprawdopodobniej poziom zanieczyszczenia ścieków tymi lekami będzie zmieniał się wraz z porami roku. Wiąże się to z podwyższoną zachorowalnością w okresie jesienno-zimowym.

Podczas badań sprawdzono również wpływ etapu filtracji na odzysk leków podczas etapu przygotowania próbki. Z przeprowadzonego doświadczenia wynika, że w większości przypadków na tym etapie traci się część analitu. Z tego też względu wykonując w przyszłości kolejne badania nad monitoringiem np. NLPZ w środowisku wodnym należy uwzględnić straty analitów wynikające z procesu filtracji.

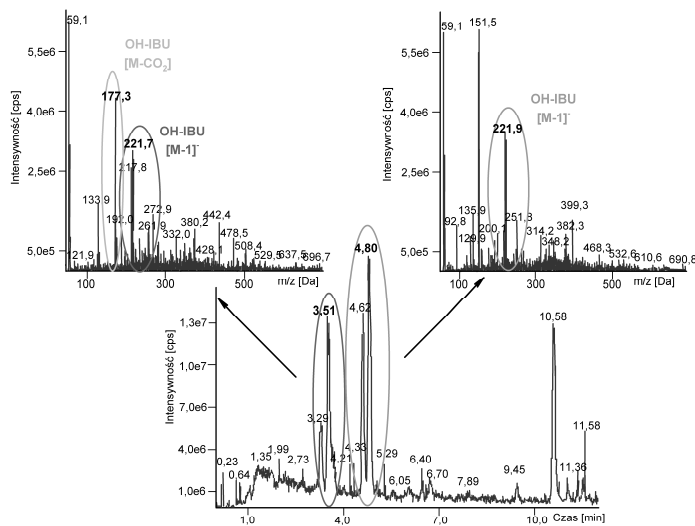
### 3.3. Obecność metabolitów rozkładu ibuprofenu w ściekach

Obok ilościowego oznaczenia pozostałości wybranych leków z grupy NLPZ dokonano identyfikacji głównego metabolitu ibuprofenu OH-Ibu. Identyfikację oparto na widmach ESI/MS i porównaniu ich z danymi literaturowymi [21,25]. Na otrzymanych chromatogramach zidentyfikowano obok ibuprofenu jego metabolit OH-ibu (rysunek 5-7).



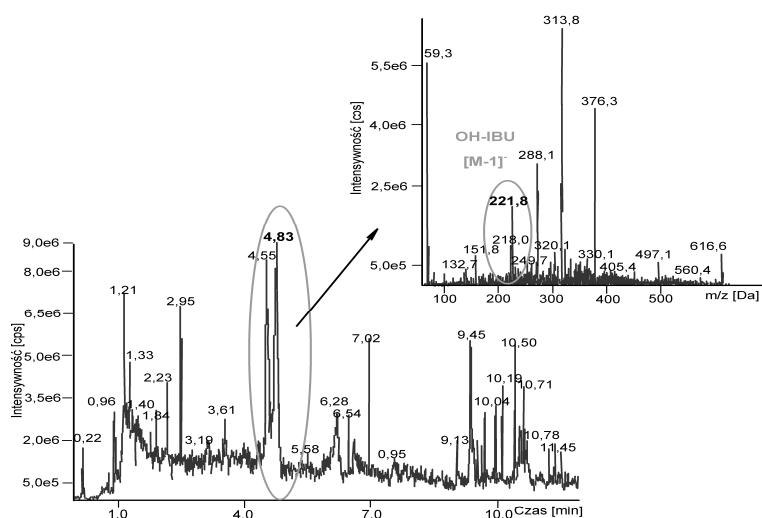
Rys. 5. Chromatogram LC-MS (TIC) ekstraktu ścieku surowego oraz widmo masowe ibuprofenu

Fig. 5. LC-MS chromatograms (TIC) of the waste water treatment plant influent. The mass spectrum corresponding to the ibuprofen is shown as an insert



Rys. 6. Chromatogram LC-MS (TIC) ekstraktu ścieku surowego oraz widmo masowe OH-ibu

Fig. 6. Figure 5.LC-MS chromatograms (TIC) of the waste water treatment plant influent. The mass spectrum corresponding to the OH-ibu is shown as an insert

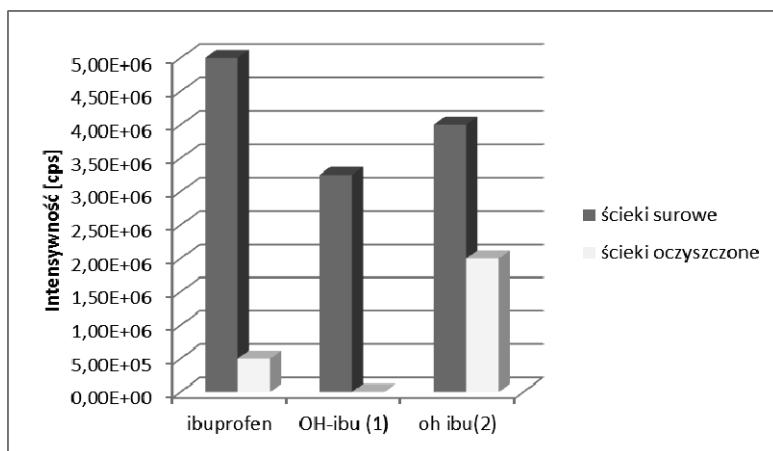


Rys. 7. Chromatogram LC-MS (TIC) ekstraktu ścieku oczyszczonego oraz widmo masowe OH-ibu

Fig. 7. Figure 5.LC-MS chromatograms (TIC) of the waste water treatment plant effluent. The mass spectrum corresponding to the OH-ibu is shown as an insert

OH-ibu obecny był zarówno w ściekach surowych jak i oczyszczonych. Na chromatogramie ścieków surowych obecne były dwa piki należące do dwóch izomerów OH-ibu (rysunek 6).

Zauważono również, że intensywności sygnałów [M-1] ibuprofenu i OH-ibu nie są jednakowe na widmach ścieków surowych i oczyszczonych (rysunek 8). Intensywność sygnału jonu pseudomolekularnego ibuprofenu była znacząco większa dla ścieków surowych, zaś metabolitu OH-ibu dla ścieków oczyszczonych. Te zależności mogą świadczyć o biodegradacji ibuprofenu polegającej na tworzeniu się metabolitu- OH-ibu oraz jego dalszym przemianom w kierunku utworzenia ditlenku węgla i wody. Należy tu jednak podkreślić, że przeprowadzone badania świadczą o niekompletności rozkładu ibuprofenu w COŚ w Poznaniu.



Rys. 8 Zawartość ibuprofenu i OH-ibu w ściekach surowych i oczyszczonych

Fig. 8 The content of ibuprofen and OH-IBU in the waste water treatment plant influent and in the effluent

#### 4. Wnioski

Obecność pozostałości leków oraz ich metabolitów w ściekach surowych i oczyszczonych świadczy o niekompletności rozkładu. Oznacza to, że proces oczyszczania ścieków w oczyszczalni prowadzi jedynie do obniżenia zawartości zanieczyszczeń a nie ich zupełnego usunięcia. W efekcie leki jak i ich metabolity trafiają do wód powierzchniowych.

## Bibliografia

- [1] Sosnowska, K., Szyszko-Grochowiak, K., Gołaś J. Nowe zanieczyszczenia w środowisku wodnym – źródła, zagrożenia, problemy analityczne. *Analityka*, 2009, 4 44-48
- [2] Namieśnik, J., Chrzanowski, W., Szpinek, P. Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym - rozdz. 10. Wydawnictwo CEEAM, Gdańsk, 2003
- [3] Zejc, A., Gorczyca, M. Chemia leków. Podręcznik dla studentów farmacji i farmaceutów. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2008
- [4] Bidiuk, J., Grabska, J., Korzeniewska-Rybicka, I., Tołodziecka Ł. Nowy Leksykon leków. Świat Książki, Warszawa, 2007
- [5] Gergov, M., Robson, J.N., Ojanpera, I., Heinonen, O.P, Vuori, E. Simultaneous screening and quantitation of 18 antihistamine drugs in blood by liquid chromatography ion spray tandem mass spectrometry. *Forensic Sci. Intern.*, 2001, 121, 108
- [6] Chem, C.W. *IOS Press*, 2002, 37
- [7] Namieśnik, J., Chrzanowski, W., Szpinek, P., Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym - rozdz. 34, Wydawnictwo CEEAM, Gdańsk, 2003
- [8] Sosnowska, K., Szyszko-Grochowiak, K., Gołaś, J., „Leki w środowisku – źródła, przemiany, zagrożenia”, Krakowska Konferencja Młodych Uczonych, 2009, 395-404
- [9] Jorgensen, S.E., Halling-Sørensen, B. Drugs in the environment. *Chemosphere*, 2000, 40, 691
- [10] Daughton, C.G., Ternes, A.Th. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? *Environ. Health Persp.*, 1999, 107, 907
- [11] Heidrich, Z., Witkowski, A. Urządzenia do oczyszczania ścieków. Projektowanie, przykłady obliczeń. Wydawnictwo Seidel-Przywecki Warszawa, 2005
- [12] Felis, E., Miksch, K., Sikora, J. Występowanie i możliwość usuwania farmaceutyków w Polsce. [www.srodowiskoazdrowie.pl](http://www.srodowiskoazdrowie.pl), 20.05.2011
- [13] T.A. Ternes, T.A., M. Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R.D. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-I. Investigations in Germany Canada and Brazil, Servos, *Sci Total Environ*, 1999, 8 225 1–90
- [14] T.Heberer, Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol Lett*, 2000, 131 5–17
- [15] Roberts, P.H, Thomas, K.V. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci Total Environ*, 2006, 356 143–153

- [16] Quintana, J.B., Weiss, S., Reemtsma, T. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Res*, 2005, 39 2654–2664
- [17] Thomas, P.M., Foster, G.D. Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, caffeine, and triclosan in waste water by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Environ. Sci. Heal A*, 2004, 39 1969–1978
- [18] Tauxe-Wuersch, A., Alencastro, L.F.D., Grandjean, D., Tarradellas, J. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res*, 2005, 39 1761–1772
- [19] Ternes, T.A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res*, 1998, 32 3245–3260
- [20] Fent, K., Weston, A.A., Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol*, 2006, 76 122–159
- [21] Buser, H.R., Poiger, T., Müller, M.D. Occurrence and environmental behaviour of the chiral pharmaceutical drug Ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environ Sci Technol*, 1999, 33 2529–2535
- [22] Hutt, A.J., Caldwell, J., The metabolic chiral inversion of 2-arylpropionic acids--a novel route with pharmacological consequences. *J. Pharm. Pharmacol*, 1983, 35 693-704
- [23] Mills, R.F.N., Adams, S.S., Cliffe, E.E., Dickinson, W., Nicholson, J.S., The Metabolism of Ibuprofen. *Xenobiotica*, 1973, 3 589-598
- [24] Kepp, D.R., Sidelmann, U.G., Tjørnelund, J., Hansen, S.H. Simultaneous quantitative determination of the major phase I and II metabolites of ibuprofen in biological fluids by high-performance liquid chromatography on dynamically modified silica. *J. Chromatogr. B*, 1997, 696, 235-241
- [25] Stumpf, M., Ternes, T., Haberer, K., Baumann, W., Isolierung von Ibuprofen-Metaboliten und deren Bedeutung als Kontaminanten der aquatischen Umwelt. *Vom Wasser*, 1998, 91, 291-303
- [26] Stan, H.J., Heberer, K., Linkerhäger, M. Occurrence of clofibric acid in the aquatic system – Is the use in human medical care the source of the contamination to surface, ground *Vom Wasser*, 1994, 91, 57-68
- [27] Ternes, T., Vorkommen von Pharmaka in Gewässern. *Wasser Boden*, 2001, 53, 9-14
- [28] Zwiener, C, Seeger, S., Glauner, T., Frimmel, F.H. Metabolites from the biodegradation of pharmaceutical residues of ibuprofen in biofilm reactors and batch experiments. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, 372, 569-575