



ÓBUDAI EGYETEM
ÓBUDA UNIVERSITY

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

BEZSENYI ANIKÓ

Gyógyszermaradványok eltávolításának intenzifikálása
a szennyvíztisztásban kometabolízissal és nagyenergiájú
ionizáló sugárzással

Témavezető:

Takács Erzsébet, DSc prof. emerita (HUN REN Energiatudományi
Kutatóközpont)

ANYAGTUDOMÁNYOK
ÉS TECHNOLÓGIÁK
DOKTORI ISKOLA

Budapest, 2024. július 23.

A Doktori Iskola vezetője:

Dr. Réger Mihály egyetemi tanár

Szigorlati bizottság:

Elnök: Borsa Judit prof. emerita, CSc, ÓE

Tagok: Bodáné Kendrovics Rita egyetemi docens, PhD, ÓE

Wojnárovits László emeritus kutató professzor, DSc, MTA EK, EKBI

Nyilvános védés bizottsága:

Opponensek: Schiller Róbert DSc prof. emeritus (HUN REN Energiatudományi
Kutatóközpont)

Belák Ágnes PhD, egyetemi docens, MATE

Tartalék opponens, tag: Kovács Mónika, PhD egy. docens, MATE

Elnök: Telegdi Lászlóné professor emerita, DSc, ÓE

Tartalék elnök, tag: Borsa Judit prof. emerita, CSc, ÓE

Titkár: Bodáné Kendrovics Rita egyetemi docens, PhD, ÓE

Tag: Bakos Vince PhD tanársegéd, BME

Tartalék titkár: Demény Krisztina PhD, egyetemi adjunktus, ÓE

Nyilvános védés időpontja:

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK ÉS GYAKORI FOGALMAK JEGYZÉKE	5
1. BEVEZETÉS.....	7
2. IRODALMI HÁTTÉR	10
2.1. A szennyvíztisztítás	10
2.1.1. A szennyvíztisztítási technológia rövid leírása.....	10
2.1.2. A szervesanyagformák változása a szennyvízkezelés során és jelentőségük	13
2.1.3. A denitrifikálók és tápanyagaik (külső és belső szénforrások).....	17
2.1.4. A csurgalékvizek összetétele	21
2.2. Gyógyszermaradványok a szennyvízben.....	22
2.3. Hogyan lesz az antibiotikumokból táplálék a baktériumok számára.....	25
2.3.1. A dózisok kérdése (MIC).....	25
2.3.2. Az antibiotikum-rezisztencia formái és terjedése.....	25
2.3.3. Metabolizmus kontra kometabolizmus.....	28
2.3.4. Az enzimek evolúciója	33
2.4. A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (AOP)	34
2.4.1. A víz radiolízise	34
2.4.2. Az AOP hatásmechanizmusa és a képződő termékek	37
2.4.3. Az AOP osztályozása.....	39
2.4.4. Az eljárások során képződő termékek pozitív és negatív hatásai	40
2.4.5. A biológia és kémiai vizsgálati módszereket befolyásoló reakciótermékek.....	41
2.5. A gyógyszermaradványok eltávolítása a szennyvízből	42
2.5.1. A különböző technológiák hatékonysága	42
2.5.2. Ami a gyakorlatban is működik – változatok a negyedik fokozatra	42
2.5.3. A biológiai eltávolítás esélyei.....	45
3. AZ IRODALMI HÁTTÉR ÖSSZEFOGLALÁSA	46
4. CÉLKITŰZÉS	49
5. A KÍSÉRLETEK FELÉPÍTÉSE.....	51
6. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	54
6.1. Felhasznált anyagok	54
6.2. Mintaelőkészítés, tárolás és utókezelés	54
6.2.1. Mintaelőkészítés	54
6.2.2. Tárolás	55
6.2.3. Utókezelés - a radiolízis során képződő hidrogén-peroxid eltávolítása	55
6.3. Gamma-radiolízis	56

6.4.	Vízminőségi vizsgálatok	56
6.4.1.	Kémiai oxigénigény vizsgálat (KOI).....	56
6.4.2.	Teljes szerves széntartalom (Total Organic Carbon, TOC)	56
6.4.3.	Az összes lebegőanyag tartalom mérése	57
6.5.	Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC)	57
6.6.	Gázkromatográfia (GC).....	57
6.7.	Légzésszesztek.....	58
6.8.	Biokémiai oxigénigény vizsgálatok (BOI)	59
6.9.	Mikroszkópos analízis	61
6.10.	Laboratóriumi mini-reaktor	61
6.11.	Agar-diffúziós teszt	62
6.12.	Összes heterotróf baktériumszám.....	63
6.13.	Statisztikai módszerek	63
7.	EREDMÉNYEK	64
7.1.	A rövidtávú hatások felmérése	64
7.1.1.	Előtesztek	64
7.1.2.	A kometabolizmus vizsgálatához tartozó mérések	69
7.1.3.	Az AOP hatásának vizsgálata	76
7.1.4.	Az AOP és a kometabolizmus együttes hatásának vizsgálata	78
7.2.	A hosszútávú hatások felmérése	80
7.2.1.	Előtesztek	80
7.2.2.	A kometabolizmus vizsgálatához tartozó mérések	83
7.2.3.	Az AOP hatásának vizsgálata	84
7.2.4.	Az AOP és a kometabolizmus együttes hatásának vizsgálata	89
8.	ÉRTÉKELES ÉS DISZKUSSZIÓ	90
9.	ÖSSZEFOGLALÁS	95
10.	SUMMARY.....	97
11.	TÉZISEK.....	99
12.	THESES OF PHD DISSERTATION.....	101
13.	KÖZLEMÉNYEIM.....	103
14.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	107
	IRODALOMJEGYZÉK	108
	MELLÉKLETEK	132

RÖVIDÍTÉSEK ÉS GYAKORI FOGALMAK JEGYZÉKE

AMO: ammónia-monooxygenáz enzim

AOA: ammónia-oxidáló archeák (ösbaktériumok)

AOB: ammónia-oxidáló baktériumok

AOP: advanced oxidation processes, nagyhatékonyságú oxidációs eljárások, technológiai eljárások csoportja

AOS (average oxidation state): a széntatomok átlagos oxidációs állapota

AR: antibiotikum-rezisztencia

ARB: antibiotikum-rezisztens baktériumok

ARG: AR gének

ATU: N-Alliltiokarbamid (1-Allil-2-tiokarbamid), a nitrifikációt gátló vegyület

autotróf: egyszerű szerves anyagokból bonyolult szerves vegyületek felépítésére képes szervezet

BOI: biokémiai oxigénigény, adott idő alatt elfogyasztott oxigénmennyiség, amelyet a vízben levő mikroorganizmusok a szerves anyagok aerob biokémiai lebontásához felhasználnak. (BOI_5 = 5 napos vizsgálat)

CBZ: karbamazepin

CCS: centrifuga csurgalék

CFA: klofibrinsav

CFU: colony-forming unit

CLX: kloxacillin

CTC: klórtetraciklin

CV: coefficient of variation, a szórás százalékos aránya az átlaghoz viszonyítva, (relatív hiba).

D.O. vagy DO: dissolved oxygen

DCF: diklofenák

DOX: doxiciklin

Dp-i SZVTT: Dél-pesti Szennyvíztisztító Telep

ECHA: The European Chemicals Agency

EPS (extracellular polymeric substances): ~ glikokalixnak, tok, nyák, mikrokapszula. Szénhidátokban vagy fehérjékben gazdag, ragadós tok, amelynek funkciója a sejt védelme, segíti a tápanyagok felvételét, a mikroorganizmusok különböző felszínekhez való kötődését.

ERY: eritromicin

Eü: előülepített szennyvíz

F/M (food/microorganism): terhelés

fakultatív anaerob: olyan mikroorganizmusok, amelyek könnyebben növekednek (több energiát nyernek) oxigén jelenlétében, de anélkül is túlélnek.

GAC: granular activated carbon

GVCS: gravitációs sűrítő csurgalék

HAO: hidroxil-amin-oxidoreduktáz enzim

heterotróf: olyan organizmus, amelynek a túléléséhez szükséges kémiai energia megtermeléséhez szerves anyagokra van szüksége.

IBF: ibuprofén

Kofaktor: az enzimműködéshez nélkülözhetetlen szerves molekula vagy fémion

KOI: kémiai oxigénigény

KOI_k: a KOI vizsgálatok kálium-dikromáttal végzett változata.

KOI-ekvivalens: KOI értéknek megfelelő oldatmennyiség

LEÉ: A lakosegyenérték a szennyvízterhelés nemzetközileg elfogadott mértékegysége, 60 g BOI₅ terhelést jelent naponta.

LET: linear energy transfer, lineáris energiaátadás, egységnyi úthosszon leadott energia (J/m)

MBR: membrane bioreactors, szennyvíz-tisztítási technológia

MCRT: mean cell residence time, iszapkor

MIC: minimum inhibitory concentration, az antibiotikum azon legkisebb koncentrációja ($\mu\text{g L}^{-1}$ vagy mg L^{-1}), amely még hatásosan gátolja az adott törzs növekedését

MLSS: mixed liquor suspended solids, az eleveniszap szárazanyag tartalma, a gyakorlatban az eleveniszapos medence lebegőanyag koncentrációja (mg L^{-1}).

MLVSS: mixed liquor volatile suspended solids, az iszap szárazanyag tartalmának szerves része (mg L^{-1})

MMO: metil-monooxygenáz (enzim)

MR: multi-rezisztens ~ baktériumok, olyan „szuperbaktériumok”, amelyek ellen nincs, vagy alig akad működő antibiotikum.

Na-Ac: nátrium-acetát

NOM: natural organic matter

NOR: nitrit-oxidoreduktáz enzim

organotróf: a szerves anyagot energiatermelésre (elektron donor) használó szervezet

OTC: oxitetraciklin

OUR: oxygen uptake rate

OXA: oxacillin

PAC: powdered activated carbon

PIP: piperacillin

PNEC_{STP}: predicted no effect concentration, (PNEC), itt szennyvízre (sewage treatment plant, STP) vonatkozik.

PPCP: pharmaceutical and personal care products

rbKOI: readily biodegradable chemical oxygen demand

sbKOI: slowly biodegradable chemical oxygen demand

SBR: sequencing batch reaktor

SMX: szulfametoxazol

SOUR: specific oxygen uptake rate, fajlagos (szervesanyagra vonatkoztatott) oxigénfelvételi ráta

SRT: sludge retention time, iszapkor

TCN: tetraciklin

TIN: tital inorganic nitrogen, a teljes szervetlen nitrogéntartalom (ammónia+nitrit+nitrát)

TOC: total organic carbon

TPM: trimetoprim

VFA (volatile fatty acids): 2-6 szénatomszámú (C₂-C₆) szerves savak, az rbKOI része

1. BEVEZETÉS

A különböző vízformákban literenként mikrogramm, illetve nanogramm koncentrációban megtalálható mikroszennyezők az életfolyamatok feltételeit ronthatják, és a víznek az ember számára való felhasználhatóságát csökkenthetik, rosszabb esetben megakadályozhatják. Biológiaiilag nem vagy nehezen bonthatók, így a szennyezőforrástól időben és térben is távol kerülhetnek. A hagyományos szennyvíztisztítási eljárások nem alkalmasak minden, a tisztítótelepre kerülő szennyezőanyag eltávolítására. A mikroszennyezők gyakran változatlan formában jutnak keresztül a szennyvíztisztító rendszereken, és a felszíni vizek közvetítésével eljuthatnak a későbbi vízhasználókhoz. Szerves és szervetlen vegyületek alkotják ezt a rendkívül komplex csoportot.

A felszíni vizekben megjelenő mikroszennyezők közül a gyógyszerek kiemelkedő jelentőséggel bírnak, hiszen igen elterjedten és nagy mennyiségben alkalmazzák ezeket a vegyületeket. Becslések szerint évente több százezer tonna farmakológiailag aktív anyagot használunk világszerte ember- és állatgyógyászati célokra [1]. Jelentőségük nemcsak a felhasznált mennyiség miatt nagy, hanem komoly népegészségügyi kockázatot is hordozhatnak bizonyos gyógyszerfajták.

A gyógyszerek közül az antibiotikumok hatása, illetve jelenlétük kockázata vitathatatlan. A literenkénti mikro-, illetve nanomennyiségük ellenére is kiemelt jelentőségük az antibiotikum-rezisztencia fokozott terjedése miatt. Ma a világon évente 700 ezer ember halálát okozza az antibiotikum-rezisztencia, ebből 50 ezren Európában és az Egyesült Államokban hunynak el. Az előrejelzések szerint ez a szám 2050-re 10 millióra növekedhet [2].

Az antibiotikumok ng L^{-1} , illetve $\mu\text{g L}^{-1}$ koncentrációja ahhoz kicsi, hogy a szennyvíz baktériumait elpusztítsák, vagy szaporodásukat gátolják. Ugyanakkor a rezisztencia kialakulásához ez a közeg kedvező. A kórházak mellett a szennyvíztisztító telepek is forró pontjai az ún. multirezisztens törzsek kialakulásának. A másik fontos faktor az, hogy a szennyvízben rengeteg baktérium van egy helyen, és egymásnak képesek átadni a rezisztenciagénüket (horizontális génátadás) [3][4][5]. A génátadásnak annál nagyobb a valószínűsége, minél több baktérium halmozódik fel egy helyen. Ha van ilyen közeg, akkor az a nyers szennyvíz, amelyben milliliterenként 10^5 - 10^8 CFU baktérium tenyészik [6][7][8]. Ráadásul a modern biológiai szennyvíztisztító telepeken a biomasszasűrűség 3 nagyságrenddel növekszik a bioreaktorokban [8].

A szennyvíztisztító telepek általában nem alkalmasak a mikroszennyezők eltávolítására, hiszen nem áll rendelkezésükre megfelelő technológia. Mindemellett jelenleg határértékek sincsenek. A mikroszennyezők az adott vegyület fizikai-kémiai sajátosságaitól függően különböző mértékben távolíthatók el a szennyvízből a tisztítóművekben. Eltávolításuk hatásfoka 0 és 100% között változhat, és a két szélsőérték között bármilyen értéket felvehet. A gyógyszerekkel sincs ez másként. Az acetaminophen közel 100%-os eltávolítási hatásfoka mellett az eritromicin közel 30%-os eltávolítása jellemző. Azonban az eltávolítás hatékonysága a szennyvíztisztítási technológiától függ leginkább, így van olyan technológia, amelynél az eritromicin egyáltalán nem vonható ki a rendszerből [9].

Az eltávolítás tekintetében is sok új lehetőség tárult fel technológiai újítások formájában az elmúlt egy-két évtizedben. A szerves mikroszenynyező anyagok hatékony eltávolítása szennyvízből negyedik tisztítási fokozat kiépítésével érhető el. A számításba vehető technológiák közül a tisztítási hatásfok, a beruházási és az üzemeltetési költségek, valamint az energiaigény figyelembevételével, az oxidáció ózonnal és az adszorpció aktív szénen (PAC, GAC) tekinthető nagyüzemi méretekben is megvalósítható megoldásnak, illetve a különböző membrántechnológiák is megfelelő választást jelenthetnek [10]. Az utóbbi pár évben felzárkózni látszik az ózonnal történő oxidáció mellé egy másik nagyhatékonyságú oxidációs eljárás is (Advanced Oxidation Processes, AOP), amelynél az ionizáló sugárzást elektrongyorsító segítségével állítják elő [11][12].

A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások bevezetése több szempontból kedvező lehet a megemelkedett költségek ellenére is. A biológiailag nem vagy nehezen bontható szerves molekulák szerkezetét képesek megbontani, roncsolni az alkalmazott dózistól függő mértékben. A képződő egyszerű szerves és szervesetlen molekulák már hasznosíthatók a szennyvíztisztítók baktériumai számára, a baktériumok enzimeit pedig véletlenszerűen (kometabolizmus) is képesek lehetnek a gyógyszer-hatóanyagok szerkezetének megváltoztatására. Ebben az esetben a szerves és szervesetlen molekulák hajtómotorként szolgálnak az enzimek működéséhez.

Mivel az AOP során képződő reaktív gyökök a komplex szerves molekulákat hasítják, így közvetve sejtroncsoló, örökítőanyag-károsító hatásuk is van. Ezek alapján az antibiotikum-rezisztencia elleni küzdelemben fontos szerepet tölthetnek be, mivel megbontják a gyógyszer-molekulák szerkezetét, az antibiotikum-rezisztencia gének (AR gének) szerkezetét módosíthatják, illetve a rezisztens baktériumokat elpusztítják.

Az elmúlt években zajlott 'A települési szennyvíz kezeléséről szóló' 91/271/EGK irányelv módosítása. Az irányelv követelményeket fogalmaz meg a szennyvíztisztító telepek energiasemlegességével, az üvegházhatású gázok kibocsátásával, valamint a szennyvíztisztítás hatásfokával kapcsolatban. Az egyik legfontosabb, és egyben legköltségesebb igény, amely a szennyvíztisztító telepekkel szemben jogi szabályozást ölt a mikroszennyezők eltávolítását biztosító negyedik tisztítási fokozat megvalósítása. Ez a szigorítás nem érint minden üzemeltetőt. Elsősorban a 200 000 LE feletti terhelésű szennyvíztisztító telepeket kötelezik a megvalósításra 2045-ig, de a 10 000-200 000 LE terhelésintervallumba eső tisztítóművek között is akad majd érintett indokolt esetben (érzékeny befogadó). Az irányelv friss (2023-2024) változásai is mutatják a mikroszennyezők eltávolításának jelentőségét és a témakör aktualitását.

Munkám során a biológiai szennyvíztisztítás hatékonyságának növelésére, a szennyvízben oldott gyógyszervegyületek hatékonyabb lebontására kerestem megoldásokat. A módszerek, amelyeket megvizsgáltam: szubsztrát alkalmazása a kometabolizmus (véletlenszerű biológiai átalakítás) serkentésére, nagyhatékonyságú oxidációs eljárás (AOP, ez esetben ionizáló sugárzás) segítségével a gyógyszervegyületek roncsolása és a két módszer kombinációja. A lebontás hatékonyságát követtem a szennyvíztelepeken is alkalmazott u.n. összegparaméterek (KOI, BOI, TOC, OUR) mérése mellett, néhány esetben az antibakteriális aktivitás változásának mérésével (agar diffúzióval), valamint a lebontatlan gyógyszervegyület koncentrációjának meghatározásával (HPLC segítségével).

2. IRODALMI HÁTTÉR

2.1. A szennyvíztisztítás

Bizonyos mértékű szennyezést a természetes vizek tolerálni képesek az öntisztulási képességüknek köszönhetően. A szennyvíztisztítás feladata a keletkező szennyvíz szerves és szervesetlen szennyezőanyagainak olyan mértékű eltávolítása, hogy a maradék szennyezőket a természetes befogadó (folyó, patak, tó, tenger) az öntisztulási folyamatok során képes legyen eliminálni [13].

2.1.1. A szennyvíztisztítási technológia rövid leírása

A szennyvíztisztítás technológiai lépcsőit alapvetően négy fokozatba soroljuk.

Az **I. fokozat a mechanikai tisztítás (elsődleges, primer tisztítás)**, amelynek során elsősorban a durva, nem oldott szennyeződések távolítják el (*1. ábra*). A fontos szerepe a következő fokozatok tehermentesítése, illetve a technológiai berendezések (pl. szivattyúk), műtárgyak védelme (pl. homok eltávolításával a kopás mérséklése, zsírok eltávolításával a dugulások elkerülése), így a szennyvíz tisztítása minden esetben ezzel indul. Utolsó eleme az ún. **előülepítő**, amelyben a finom lebegő szennyezők gravitációs eltávolítása zajlik. Ennek kiülepített iszapja, a **primer iszap** további feldolgozás céljából az **iszapkezelés vonalára** kerül. Az I. fokozatból kikerülő víz nem felel meg a felszíni befogadóba bocsátás feltételeinek (91/271/EGK irányelv a települési szennyvíz kezeléséről és hatósági előírások), ezért ma már önállóan nem alkalmazzák [14][15][16].

Kiegészítő eljárásokkal fokozható a mechanikai tisztítás hatékonysága, azon belül is a lebegőanyag és a szervesanyagok eltávolítása. A nem, vagy csak nehezen ülepedő kolloid méretű (1 – 500 nm) lebegőanyag eltávolítása, ezáltal a zavarosság és a szervesanyagtartalom mennyiségének csökkentése derítéssel érhető el. A vegyszeres eljárás (derítőszer) során az oldott szennyezőanyagok egy része is kicsapható. Ezután valamilyen fázisszétválasztási (ülepítés, szűrés, flotálás stb.) eljárással távolíthatjuk el a szennyvízből a kicsapódott szennyezőket. Bizonyos esetekben semlegesítéssel történik az optimális pH-érték (6 – 9) beállítása, amely nélkülözhetetlen a következő fokozatban zajló biológiai folyamatokhoz. Mindkét eljárás a kémiai kezelések körébe tartozik, amellyel intenzifikálhatók a fizikai és biológiai tisztítási eljárások [16][17].

A szennyvíztisztítási és iszapkezelési technológia folyamatsora az *1. ábrán* követhető a *Dél-pesti Szennyvíztisztító Telep felépítésén keresztül*.

A szennyvízzel táplált biomassza túlszorodása révén feleslegessé vált eleveniszap részt **fölősiszapként (szekunder iszap)** az iszapkezelési technológia vonalára továbbítják [15][19][20][21]. Az eleveniszapos medencék levegőztetési mintázatának jelentősége van. Az **oxikus** (levegőztetett, oxigén van), **anoxikus** (nem levegőztetett; oxigén nincs, de nitrát van) és **anaerob** (nem levegőztetett, se oxigén, se nitrát) térszerek különböző mikrobiológiai folyamatokhoz nyújtanak optimális környezetet.

Ha biztosítunk hordozófelületet a baktériumok számára, amelyre a sejteket borító nyálkaanyag (**Extracellular Polymeric Substances, EPS**) segítségével kitapadhatnak, akkor bevonatot (biofilm) képeznek a hordozóanyagon. Ezekben a biofilmes rendszerekben a biológiai tisztítás a szilárd hordozón (égetett agyagszemcsék, zeolit, műanyag, textil, kötőrmelék stb.) kialakuló biofilmrétegben zajlik [15][18].

Ha a szennyvíztisztító nem rendelkezik III. fokozattal, akkor a fertőtlenítés a II. fokozat részének tekintendő [17].

A **III. fokozat (harmadlagos, tercier tisztítás)** fizikai-kémiai, illetve biológiai utókezelési technológiák halmaza. A funkciója lehet a biológiai tisztítás után fennmaradó lebegőanyagtartalom eltávolítása, ha az nem felel meg a tisztított szennyvízre vonatkozó határértékeknek. Ez történhet szemcsés töltetű szűrőkkel (Granular Medium Filter, GMF) amelyek tartalmazhatnak például antracitot, homokot, vagy felületi szűrőkkel (mikroszíták). A sótartalom és a gázok eltávolítása is szükséges lehet. A fertőtlenítési eljárások is idetartoznak (UV-lámpák, klórgáz), ha egyéb eleme is van a III. fokozatnak [16][17]. A III. fokozat célja az is, hogy a felszíni vizek terhelését tovább csökkentse az eutrofizációt okozó tápanyagok (nitrogén- és foszforvegyületek) hatékonyabb kivonásával. Ez a cél ma már általában a második fokozaton belül valósul meg, de ebben az esetben is gyakran a III. fokozat részének tekintik a **tápanyageltávolítást** [14][16][17]. A III. fokozat technológiai egységei általában nagyon költségesek, és a helyigényük miatt is nehezen építhetők be utólagosan, így csak indokolt esetben alkalmazzák (érzékeny befogadóknál). A III. fokozat gyakran több lépcsőből áll, amelyek közül mindig a fertőtlenítés az utolsó.

A **IV. fokozat (negyedleges, kvaterner tisztítás)** célja a szerves mikroszennyezők (antibiotikumok, növényvédő szerek, hormonok, kozmetikai és testápolószerek, biszfenolok, poliklórozott bifenilek stb.) terjedésének csökkentése, mivel ezek jelenléte a felszíni vizekben az emberi egészségre és a vízi környezet biodiverzítására nézve is gondot okozhat. A szerves mikroszennyezők a hagyományos szennyvíztisztítási eljárásokkal nem, vagy csak részben

távolíthatók el a szennyvízből [22]. Az antibioitikum-rezisztencia (AR) gének jelenléte a szennyvízben, illetve ennek következtében a multirezisztens (MR) törzsek kialakulásának valószínűsége tovább erősítette az igényt a IV. fokozat kiépítésére.

2.1.2. A szervesanyagformák változása a szennyvízkezelés során és jelentőségük

A szennyvízben megjelenő szervesanyagokat sokáig minden megkülönböztetés nélkül, egységesen kezelték. Mennyiségüket olyan összeg paraméterek alapján becsülték, mint a Kémiai Oxigénigény (KOI) és a Biokémiai Oxigénigény (BOI). A KOI a szerves anyagok kémiai oxidációjához szükséges oldott oxigén koncentrációját fejezi ki mg L^{-1} formában, vagyis a szennyvíz teljes szervesanyagtartalmát fejezhetjük ki vele. A BOI a biológiailag bontható szervesanyagtartalom (mg L^{-1}), azaz a szervesanyag azon része, amelyet a mikroorganizmusok átalakítanak, hasznosítanak [20]. A biológiai szennyvíztisztítás folyamataiban hagyományosan a szerves szénforrást szubsztrátként, a N- és P-vegyületeket pedig tápanyagként említjük [23].

A szennyvíz összes, KOI-ban kifejezett szervesanyagtartalma négy frakcióra osztható [24]:

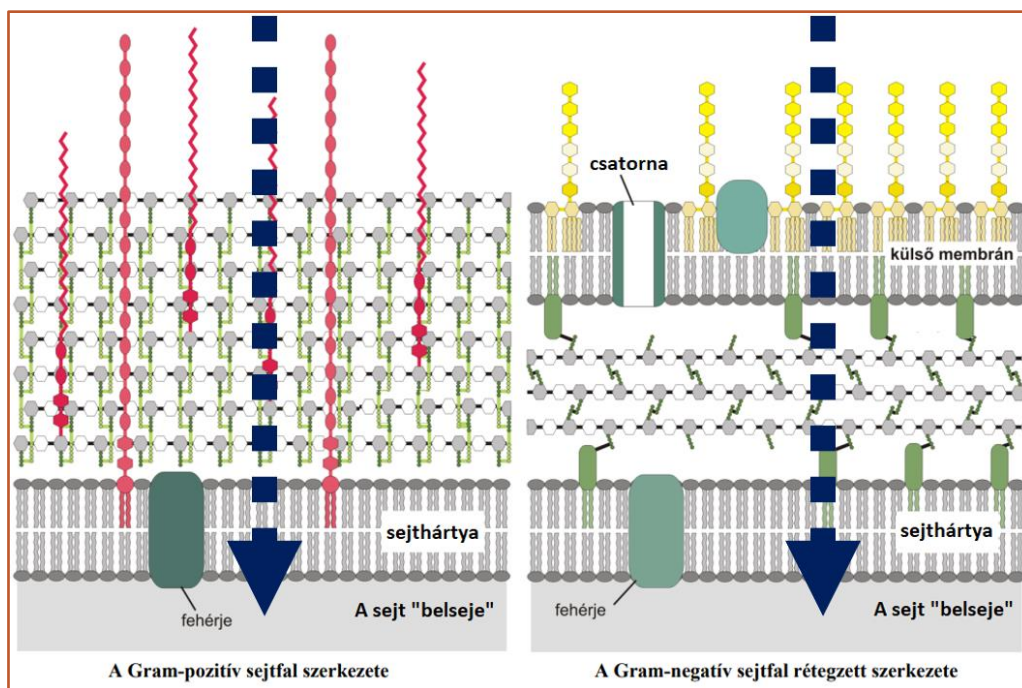
→ **Biológiailag könnyen bontható KOI frakció = rbKOI (Readily biodegradable, rbCOD):** A **heterotróf** (szervesanyag-fogyasztó) mikroorganizmusok számára közvetlenül elérhető kis molekulák (illékony zsírsavak, alkoholok, aminosavak, egyszerű cukrok) csoportja.

→ **Biológiailag nehezen bontható, szemcsés (partikuláris) KOI frakció = sbKOI (Slowly biodegradable, sbCOD):** Vízben nem, vagy nehezen oldható, nagyobb molekulák, amelyek hidrolízist (extracelluláris enzimes lebontást, lsd. később) igényelnek, mielőtt a heterotróf mikroorganizmusok elfogyasztják (pl. fehérjék, zsírok/lipidek, összetett szénhidrátok). Szemcsés formában jelennek meg a szennyvízben.

→ **Biológiailag nem bontható, oldott frakció = nbsKOI (Soluble non-biodegradable, nbsCOD):** Az oldható frakció ezen részét nem befolyásolja a biomasszával való érintkezés, a kezelés során nem változik, és a szennyvízzel együtt távozik. Főként ipari forrásból származnak. Például aromás vegyületek, lignin és származékai (papíripar).

→ **Biológiailag nem bontható, szemcsés frakció = nbpKOI (Particulate non-biodegradable, nbpCOD):** Biológiailag nem lebontható, de könnyen eltávolítható ülepítéssel. A szemcsés (**partikuláris**) frakció a primer és/vagy a szekunder iszap jelentős részét képezheti. Jelentősen befolyásolja a szennyvíztisztító telep iszaptermelését és az iszap anaerob kezelését (fermentálhatóság) [24].

A partikuláris szervesanyag lassú lebontásának okát a baktériumok felépítésében kell keresni. A baktériumok citoplazmáját (~sejtanyag) több réteg választja el a külvilágtól (belülről kifelé: sejthártya, sejtfal, EPS) [21][25][26] (2. ábra).

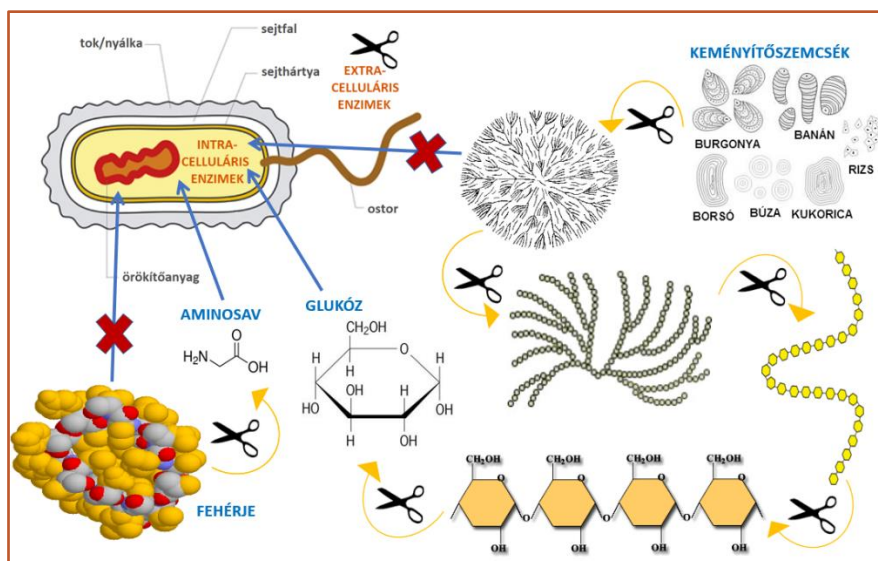


2. ábra A baktériumok sejtfala és sejthártyája, amelyek akadályozzák a nagy molekulák bejutását a sejtbe. (Gram-pozitív és Gram-negatív a baktériumok két nagy csoportja, amelyet a festődési tulajdonságaik alapján különítenek el.) ([26] felhasználásával)

A mikroorganizmusok nem képesek tetszőlegesen nagy molekulák, vegyületek felvételére. A sejtfal és a sejthártya fizikai akadályt jelent (2. ábra), amelyeken a tápanyagoknak át kell hatolniuk ahhoz, hogy a sejtbe bejussanak. A sejtfal „szűrőhatása” elsősorban méretbeli korlátozást eredményez, de kémiai szelektivitás is valószínűsíthető. Az oldott anyagok útját ténylegesen a sejthártya korlátozza, melyek csak akkor képesek áthatolni rajta, ha valamilyen hajtóerő fejti ki a hatását (koncentrációkülönbség, nyomáskülönbség). A legtöbb molekula olyan specifikus szállítót igényel, amely a sejthártyában helyezkedik el [26][27].

A baktérium azonban képes áthidalni azt a problémát, hogy nagyobb molekulákat nem tud közvetlenül elfogyasztani, mert azok nem képesek a sejtbe bejutni. A baktériumok olyan enzimeket termelnek, amelyek kijutnak a sejtől és a külvilágban (a baktérium környezetében) bontják le az óriásmolekulákat olyan kisméretű molekulákra, amelyek már képesek a sejtbe bejutni (**hidrolízis**), a sejten belüli enzimek pedig befejezik a lebontást. Az előbbieket **extracelluláris (sejten kívüli)**, az utóbbiakat **intracelluláris (sejten belüli) enzimeknek** nevezzük. Az enzimek a lebontási folyamatokat katalizálják. A 3. ábrán látható a keményítőszemcsék lebontása legkisebb alkotóelemmé, amely a glükózmolekula. Csúpn a

glükóz képes bejutni a baktériumba, ennél nagyobb részlete a keményítőmolekulának nem. A fehérjék esetében is hasonló a helyzet, mivel csak a fehérjéket felépítő aminosavak juthatnak át a sejthártyán [20][25][28].



3. ábra A baktériumok enzimtípusai, az óriásmolekulák lebontása és bejutása a sejtbe.

Minden baktérium termel intracelluláris enzimeket, de nem mindegyik termel extracelluláris enzimeket, illetve ez utóbbiból nem minden fajtát (proteázok, lipázok stb.) a szennyvíz/iszap változatos szemcsés szerves szennyezőinek lebontásához. Tehát fajgazdag (diverz) baktériumközösség szükséges a szervesanyagok lebontásához, intracelluláris és extracelluláris enzimek sokaságával [20][25][28].

Nemcsak a szerves anyag minősége, hanem a mennyisége is fontos tényező az eleveniszap közösségi összetétele szempontjából, amelyet baktériumok és az arra épülő tápláléklánc (egysejtűek, különböző férgek stb.) alkot. Az **iszapterhelés** az egységnyi bakteriális biomasszára jutó szervesanyag mennyisége ($\text{kg BOI} \times \text{kg}^{-1} \text{ iszap szervesanyag} \times \text{nap}^{-1}$). A nagyobb terhelésű rendszereket kisebb biológiai sokféleség jellemzi, mivel ez a környezet sok baktériumfaj számára túlzott stresszt jelent. Ezek az érzékeny fajok lassan szaporodnak, ezért csak kisebb **terhelésű** rendszerekben jelennek meg nagy gyakorisággal (pl. nitrifikálók). A terhelés elterjedten használt, angolszász eredetű jelölése az Food/Microorganism arány, rövidítve **F/M** [18][20][30].

A szervesanyag terheléssel szorosan összefügg az **iszapkor** fogalma, amely az az időintervallum, amelyet a mikroorganizmusok (biomassza) az eleveniszapos rendszerben töltenek. A napokban kifejezett iszapkort **SRT (Solids Retention Time)**, illetve **MCRT (Mean Cell Residence Time)** rövidítéssel jelölik az angolnyelvű szakirodalomban, és ezt a magyar

szakemberek is elterjedten használják. Fordított összefüggésben áll a terheléssel, vagyis az F/M aránnyal. Ez az összefüggés azért áll fenn, mert magasabb iszapkor esetén a mikroorganizmusok számára több idő és lehetőség nyílik a szennyvíztisztító telepre beérkező szerves terhelés (BOI) lebontására [18][20][23][25][30]. Így a nagyterhelésű szennyvíztisztító telepek kis iszapkorral működnek, a kisterhelésűek pedig nagy iszapkorral. *Az eleveniszapos rendszerek terhelésük szerinti csoportosítását és jellemzőit foglaltuk össze a 1. táblázatban.*

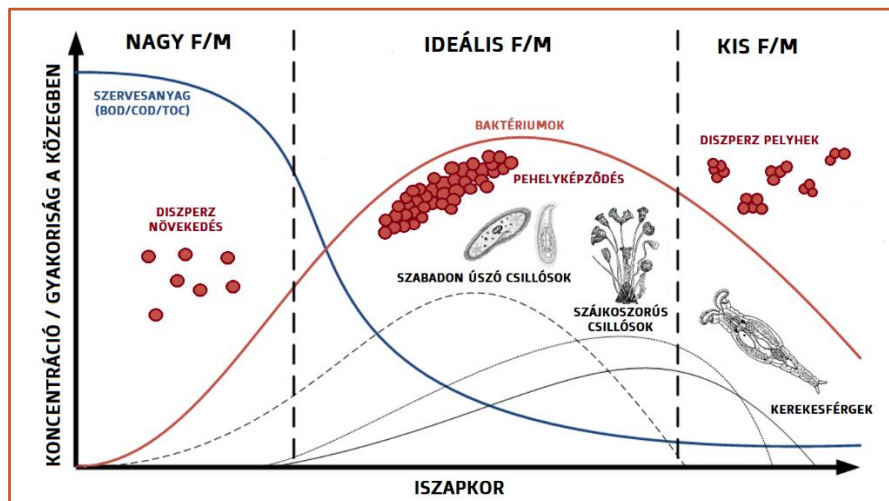
1. táblázat Az eleveniszapos rendszerek csoportosítása terhelésük szerint [18].

	HRT (óra)	iszapkor (nap)	terhelés (F/M) (kg BOI kg MLSS nap ⁻¹)	iszaphozam (kg iszap kg ⁻¹ eltávolított BOI)
Nagy terhelés	1 – 2	0.2 - 0.5	>1,0	0,8 – 1,0
Közepes terhelés	5 - 14	3 - 4	0,2 – 0,5	0,5 – 0,8
Kis terhelés	24 – 72	>5 – 6	<0,1	<0,4

Fiatalabb iszap, kisebb iszapkor esetében tehát sok baktérium kimosódik a rendszerből, mielőtt szaporodhatna és utódsejtjei megjelenének a következő generációban. Ugyanez igaz a bakteriális biomasszára települő tápláléklánc tagjaira. Az egysejtű élőlények viszonylag gyorsan szaporodnak (generációs idő 5 h – 2 nap; [31][32][33][34]) ezért rövid iszapkornál is megjelennek az eleveniszapban. Az olyan többsejtű szervezetek, mint a kerekesszék (Rotifera) már nagyobb iszapkort igényelnek (generációs idő 5 °C-on 12,4 – 26,2 nap és 20 °C-on 2,53 – 4,25 nap; [35][36][37]). Nagy egyedszámuk főként nyáron jellemző kisterhelésű telepeken. A nyári szaporodási sebességüket közelíti a házas amőbák (Testacea) fajainak generációs ideje (2,67-3,96 nap; [38]). A tápláléklánc csúcsán elhelyezkedő fonálféreg (Nematoda) pedig már kifejezetten nagy iszapkornál figyelhetők meg csak mikroszkóp alatt (generációs idő 2 – 11 nap; [39]). Nem meglepő tehát, hogy a biológiai sokféleség (diverzitás) növekszik az iszapkorral [40][41][42].

A pehelyképződést is alapvetően meghatározza a terhelés, illetve az iszapkor (4. ábra). A **nagy terhelésű**, fiatal iszapban indul el a pehelyképződés folyamata, de a baktériumok között az EPS még csak laza kapcsolatot biztosít, a pelyhek aprók és gyenge szerkezetűek, sok baktérium még nem csatlakozott a pelyhekhez és szabadon lebeg a szennyvízben. Az iszapkor növekedtével a pehelyképződés felgyorsul, erősebb szerkezetű és nagyobb méretű pelyhek fejlődnek. A pelyhek ülepedése ebben a **közepes (ideális) terhelésű** fázisban optimális. Az idős pelyhek egyre tömörebbé válnak, a baktériumokat erősen összetartja az EPS. Méretük csökken. Itt

már a **terhelés kicsi**, kevés a szervesanyag és a baktériumok éheznek. Ebben a környezetben az ún. fonalas baktériumok versenyképesek (nem tárgyaljuk részletesen), amelyek kitöltik a pelyheket, valamint több fajtájuk egészen hosszúra növe gyöngysorszerűen fogja össze a kis, tömör pelyheket. Bár az önálló pelyhrészek mérete kicsi, a fonalasok hidat képezve közöttük óriáspelyheket hoznak létre, amelyek rosszul ülepednek [18][20][25][30].



4. ábra Az iszapkor és a terhelés (F/M) hatása a közösség szerkezet alakulására és a pelyhek képződésére [18][20][43].

2.1.3. A denitrifikálók és tápanyagaik (külső és belső szénforrások)

A gyógyszermaradványok eliminációjában két olyan mikroorganizmuscsoport is jelentős szerepet játszhat, amelyek a nitrogéneltávolítás kulcsfontosságú résztvevői. Az alábbiakban részletesen tárgyaljuk ezen csoportok metabolikus sajátosságait és igényeit.

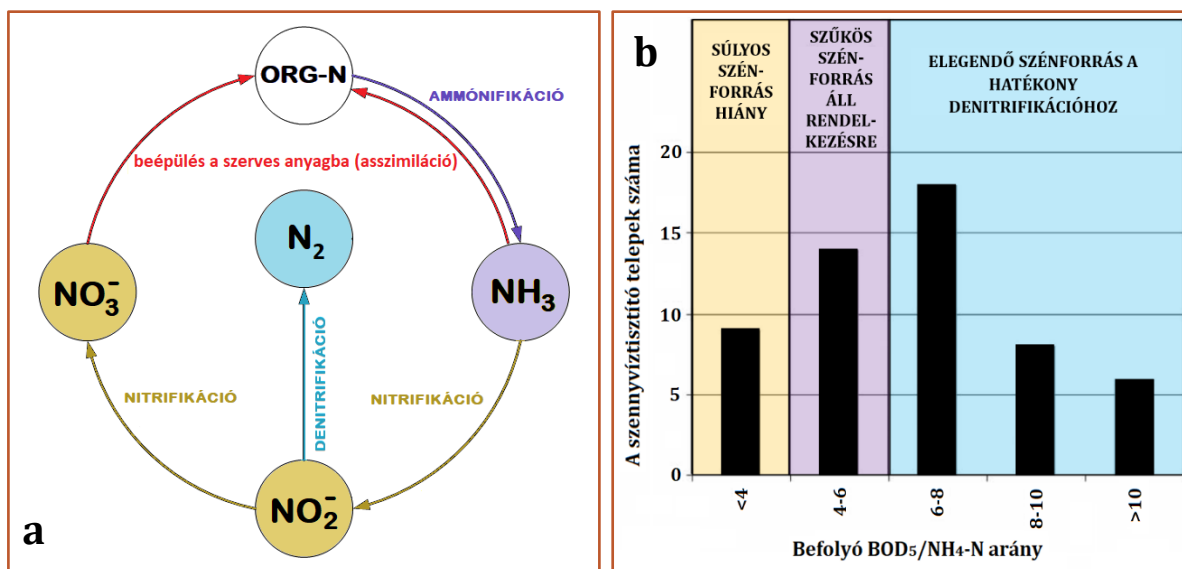
2.1.3.1. Nitrogéneltávolítás a szennyvíztisztítás során

A nitrogéneltávolítás folyamata több lépésben zajlik és a teljes folyamatsor csak biológiai úton valósítható meg a szennyvízkezelés során. Bár az elmúlt évtizedben több elemmel gazdagodott a szennyvíz nitrogénciklusának elméleti felépítése [44][45], a gyakorlatban még mindig három biológiai folyamat tekinthető a ciklus alapjainak: az ammonifikáció, a nitrifikáció és a denitrifikáció. A nitrogénciklus részletei az 5. ábra „a” részén láthatók. A ciklus komplexitásának jelentős szerepe van a közösség diverzitásának (fajgazdagság) alakulásában. Az a szennyvíztisztítómű, amely a nitrogénciklus közel teljes megvalósítására alkalmas, fajgazdagabb eleveniszapközösséggel jellemezhető a ciklust csak részben kivitelező társaikénál (pl. a nitrifikációhoz minimum 8 napos iszapkor szükséges négyévszakos klímán).

Az **ammonifikáció** során a mikroorganizmusok a szerves kötésbe épült nitrogént szabadítják fel ammónia formájában az általános lebontási folyamatok során [26]. A szennyvíztisztításban

a befolyó víztől az elfolyó, tisztított szennyvíz felé haladva az ammonifikáció szerepe egyre jobban csökken úgy, ahogyan a szennyvíz szervesanyagtartalma is fogyatkozik.

A következő lépésben a nitrifikálók a szennyvíz ammóniatartalmát két lépésben oxidálják. Az ammónia nitritté alakítását az **ammónia-oxidáló** (AOB; AOA), majd a nitrit nitráttá oxidálását a **nitritoxidálók** (NOB = Nitrit-Oxidáló Baktériumok) végzik. Bizonyos baktériumokfajok (*Nitrospira sp.*) képesek mindkét oxidációs lépést végrehajtani [25][44].



5. ábra A nitrogénciklus a szennyvízben (leegyszerűsített forma) (a) és a magyar szennyvíztelepek befolyó BOD₅/NH₄-N arányának jellemző megoszlása (b) [50].

A témakör szempontjából a folyamatsorozat zárólépéseit végző **denitrifikáló** szervezetek kiemelt jelentőséggel bírnak. Ezek a mikroorganizmusok a nitrátot nitriten keresztül molekuláris nitrogénné redukálják O₂-hiányos (technológiailag anoxikus, mikrobiológiailag anaerob) környezetben. Nitrogénig futó folyamat végén az inert gáz a légkörbe távozik, ez történik a gáz halmazállapotú köztitermékekkel is. **Heterotróf** és organotróf szervezetek, azaz szénforrásként és energiaforrásként is szerves anyagokat használnak. A nitrát a légzés során alakul át. Az oxigén gátló hatása a denitrifikáció enzimeire (szintézis/előállítás) [46][47][48], ráadásul az aerob (oxigént lélegezve) lebontás energetikailag is kedvezőbb a baktériumok számára. Nitrát-légzésre oxigénmentes környezetben válnak, vagyis **fakultatív anaerobok**. A denitrifikációhoz szükséges enzimek szintézise induktív, vagyis az ehhez szükséges környezeti feltételek mellett történik, folyamatosan nem termelődnek [25][48][49].

Az előzőkből következik, hogy a denitrifikációs reaktortérben nincs levegőztetés, de az eleveniszappelyhek belsejében, ahová az oxigén csak 100 µm mélyen diffundál, a levegőztetett medencékben is kialakulnak a denitrifikációnak megfelelő körülmények (szimultán

denitrifikáció). Az oxigénmentes környezet mellett elengedhetetlen a megfelelő mennyiségű könnyen hasznosítható szerves szubsztrát (rbKOI) jelenléte.

2.1.3.2. A denitrifikálók szervesanyag igénye

A denitrifikációs folyamatokhoz szükséges szubsztrátmennyiség mindig az eltávolítandó nitrátkoncentráció függvénye. A bakétrium sejtek **C:N aránya** 3,8 – 9,5 [51][52][53] között változik, és szaporodásuk során ugyanezt az arányt kell reprodukálniuk újra meg újra. A heterotróf baktériumok általában nitrogénben gazdagabbak, mint a cianobaktériumok (fototrófok) [54]. Érthető tehát, hogy a tápközeg C:N aránya döntő befolyással van a baktériumok élettevékenységeire, anyagcseréjükre. A baktériumközösség csak annyi szerves szénvegyületet képes eltávolítani a szennyvízből, amelyhez megfelelő arányban áll rendelkezésre nitrogén. Ez a tétel fordítva is érvényes, így az eltávolított nitrogén mennyisége a szénforrások függvénye. Optimális a baktériumok számára, ha a C:N arány 20 – 30 (BOI₅:TIN) [53]. Ez az érték általában érvényes a mikroorganizmusokra (talaj, komposzt, rothasztók stb.), így a szennyvíz baktériumközösségére is [55][56]. Ez az arány azonban technológiától függően változhat [57][58].

A tisztítóműbe beérkező nyers szennyvíz akár tartalmazhatja is a megfelelő mennyiségű és minőségű, könnyen oxidálható szerves szénforrást, de gyakran a szennyvíz C/N aránya nem megfelelő (<20) ehhez. Ez azt jelenti, hogy túl nagy az eltávolítandó nitrogénmennyiség a hozzá társuló szénforrások mennyiségéhez képest. Ezen irányban hatnak a hosszú csatornahálózatban lejátszódó biokémiai folyamatok, amelyek során az rbKOI mennyisége csökken és a bomló szervesanyagokból felszabaduló ammónia mennyisége növekszik. Ez utóbbi ugyan nem változtatja meg az összes nitrogén mennyiségét, de kötött formából szabad, vízben oldott formává (10-20°C és 7,0-8,5 pH értéknél a redukált nitrogénformák ~95%-a NH₄⁺; [25]) transzformálódik, így a hozzáférhetősége nő meg.

A hazai szennyvíztisztító telepek helyzete 5. ábra (b) alapján mérhető fel, amelyen egy 55 szennyvíztisztító telep adatsorát feldolgozó tanulmány eredményei láthatók. A vizsgált szennyvíztelepek jelentős része (42%) olyan szennyvizet fogad be, amelyből hiányzik a megfelelő mennyiségű szénforrás. Ezen belül 16% (9/55) súlyos szénforráshiánnyal küzd, így nem várható hatékony denitrifikáció [50]. 2020-ban 818 szennyvíztisztító telep üzemelt Magyarországon [59], és ha az előbbi tanulmány adatsora reprezentatív, ebből 344 valamilyen fokú szervesanyaghiány mellett kénytelen a megfelelő mértékű nitrogéneltávolítást megoldani.

A denitrifikáció szénforrásigénye megoldható belső és külső forrásból is. Elegendő szervesanyagforrás hiányában a mikroorganizmusok saját sejtanyagukat bontják, és azzal fedezik életfolyamataik energiaigényét. Ezt endogén metabolizmusnak, illetve **endogén légzésnek** nevezzük, és az ily módon kivitelezett denitrifikáció az **endogén denitrifikáció** [60].

Amennyiben a belső szénforrások nem elegendőek a nitráteltávolításhoz, a hiányzó mennyiséget **külső szénforrás** bevonásával pótolni kell. Ebben az esetben a nitrifikációs tér/fázis után adagolják a szerves anyagot, amely a leggyakrabban metanol, de más anyagokat (etanol, aceton és ecetsav) is alkalmaznak.

2.1.3.3. Külső szénforrások bevonása

A denitrifikációhoz legszélesebb körben használt szénforrások a metanol, az etanol és az ecetsav/nátrium-acetát. Ezeket gyakran **konvencionális szénforrásokként** említi a szakirodalom, amelyek közül hatékonyságának köszönhetően a metanol a legkeresettebb [61]. Sok egyéb **egyszerű szerves vegyület** alkalmazható ezen kívül: glükóz [62][63][64][65], szacharóz [17], citromsav [66][67][68], glicerin [17][69][70][71], etilén-glikol [72], tejsav [73][74], tejcukor [74] stb. **Bonyolultabb szerkezetű**, de ugyancsak **tiszta vegyületekkel** is találkozhatunk a gyakorlatban: szemcsés/hidrolizált keményítő [75][76], cellulóz [63][77]. A tiszta szénforrások költségesek, így ipari, illetve mezőgazdasági forrásból származó alternatívákkal igyekeznek kiváltani.

Ipari szennyvizek is megfelelőek lehetnek, ha könnyen, vagy lassabban botható szénforrást tartalmaznak nagyobb koncentrációban. Ezek általában az agrártermékeket feldolgozó iparágakból, vagy kifejezetten az élelmiszeriparból származnak. **Fermentációs csurgalékvizek** [64][78] és hulladéklerakó csurgalékok [76] szintén optimális szénforrásnak bizonyultak. Ázsiában jelentős forrás lehet a szójabab nagy fehérjetartalmú szennyvizének fermentleve [79]. Az **anaerob közegben (rothasztók, fermentálók, hulladéklerakók) zajló hidrolízis során sok egyszerű szerves molekula (illósavak, volatile fatty acids VFAs) képződik, amely könnyen fogyasztható a denitrifikálók számára. Ezek az egyszerű szerves savak nem közvetlenül az óriásmolekulák (fehérjék, cellulóz stb.) enzimatis bontásából származnak, hanem a lebontást végző biomassza anyagcseretermékei (savképződés). Nevezhetjük fermentációnak (erjedés) is a folyamatot. Az illósav frakció az rbKOI része, és olyan vegyületek alkotják, mint az ecetsav, a propionsav, a vajsav. Általánosságban 2-6 szénatomszámú (C2-C6) molekulák. Az anaerob fermentáció legfontosabb szerves termékeit a M1. táblázatban foglaltuk össze. Ezek jobban hasznosulnak, hatékonyabb**

nitráteltávolítást eredményeznek, mint az ecetsav/nátrium-acetát önmagában, és alkalmazásuk nagyobb mikrobiális diverzitást alakít ki a befogadó biomasszában (pl. eleveniszap) [80][81][82]. Azonban nitrogén (ammónia) és foszfortartama (ortofoszfát) is jelentős a széntartalom mellett, amely lerontja az előbb felsorolt előnyöket.

A **mezőgazdasági szilárd hulladékanyagok** is felhasználhatók, amelyek a fermentlevekhez hasonlóan működnek. Ezek alapvetően biofilm hordozók, de enzimatis bontással (extracelluláris enzimek) szénforrásként hasznosulhatnak, azaz rbKOI (hangyasav, ecetsav, oxálsav, fumársav, glukóz, fruktóz) és sbKOI (cellobióz, xilóz, cellulóz) szabadul fel a komplex növényi anyagból [83]. Ezt a fajta, szilárd szénforrást alkalmazó, technológiát **heterogén denitrifikációnak** nevezzük.

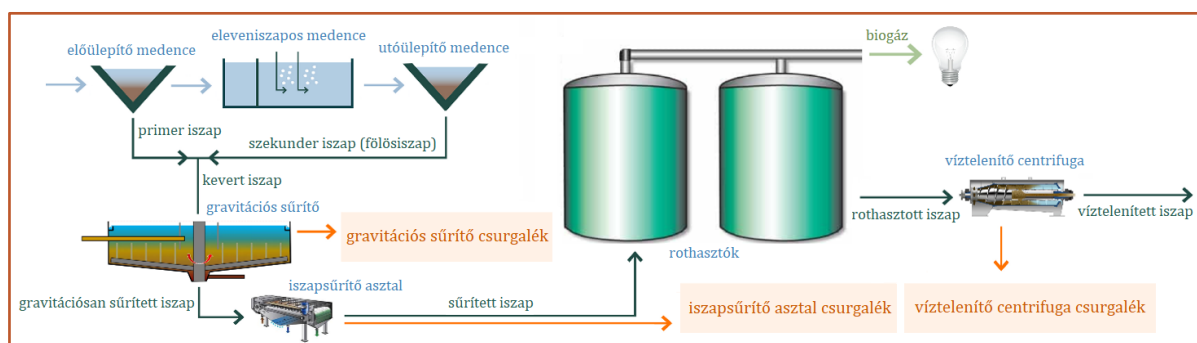
Gáznemű szénforrás is létezik a denitrifikáció intenzifikálásához, bár ebben az esetben közvetett forrásról beszélhetünk csak. A metánt fogyasztó metanotróf mikroorganizmusok nem képesek denitrifikációra, de különböző mikroorganizmusokkal alkotott konzorciumai már végeznek denitrifikációt. Ebben az esetben a metanotrófok oxidálják a metánt és oldható szerves anyagokat szabadítanak fel anyagcseréjük során, amelyeket a velük közösséget alkotó denitrifikálók szubsztrátként használnak a denitrifikációhoz (aerob AME-D és anaerob ANME-D technológiák) [84].

2.1.4. A csurgalékvizek összetétele

Az iszapkezelés részeként működő sűrítési és víztelenítési lépéseknél többféle csurgalékvíz keletkezik. A rothasztótérfogat hatékony kihasználása érdekében sűrítik az iszapokat a rothasztóba táplálás előtt. A rothasztás során képződő iszapot az iszapelhelyezés költségeinek csökkentése érdekében víztelenítik. *A sűrítési és víztelenítési eljárások komplex rendszere és a képződő csurgalékvizek a Dp-i SZVTT példáján követhetők a 6. ábrán.*

Az iszapkezelés során képződő csurgalékvizek jellemző kémiai összetételét a M2. táblázatban gyűjtöttük össze. A csurgalékvizek összetételére jellemző, hogy sok biológiailag többé-kevésbé bontható szervesanyagot (Biokémiai oxigénigény, BOI), nitrogént (TKN, $\text{NH}_4^+\text{-N}$) és foszfort (Össz-P, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) tartalmaznak, valamint a szervesanyag jelentős része lebegőanyag formájában (TSS) van jelen. Ugyancsak közös jellemző a VFA jelenléte [85], amely az anaerob körülmények között zajló biológiai lebontási folyamatok következménye. A VFA az rbKOI része, így a denitrifikáló baktériumok számára fontos tápanyag lehet.

Az **iszapsűrítési** fázisban a primer- és a szekunder iszap hidrolízise során képződő VFA a sűrítőegység csurgalékvizében is megjelenik [86][87][88], és mennyisége a hidrolízis időtartama, a pH és a hőmérséklet növelésével fokozható, de ezzel együtt a VFA összetétel is változik [86][88][89]. A primer iszapban képződő VFA összetétele: ecetsav 26–31%, propionsav 43–49% és vajsav 14–18 % [87]. Ugyanez a szekunder iszapban: 41–69%, propionsav 19–29%, vajsav 9 – 21% és valeriansav 8 – 14% [88].



6. ábra A Dél-pesti SZVTT-en képződő csurgalékvizek.

A **víztelenítési** eljárások során képződő csurgalékvíz VFA tartalma is jelentős lehet. Egy rothasztó illósavtartalmának átlagos összetétele 38% ecetsav, 36% propionsav, 16% vajsav és 10% valeriansav [90]. Ez az illósavtartalom és összetétel jellemző a rothasztó után kinyert csurgalékvizekre is.

A denitrifikáló szervezetek jellemző VFA preferenciája [91]:

ecetsav > vajsav > propionsav > valeriansav.

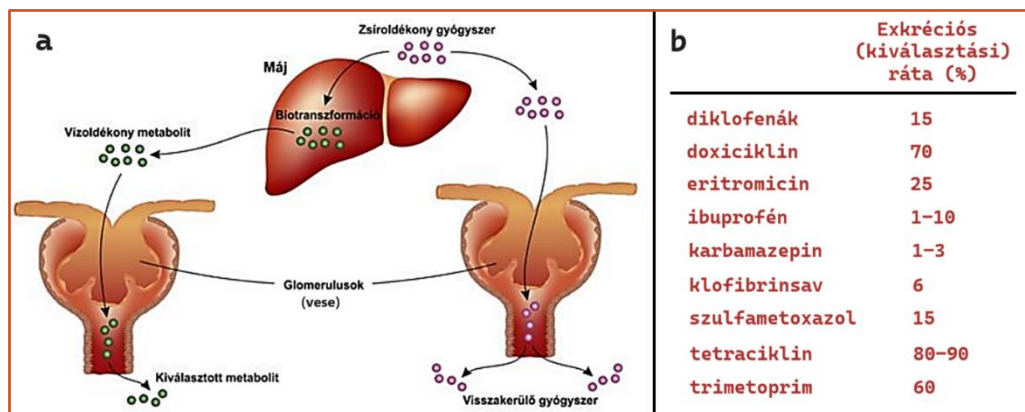
2.2. Gyógyszerek a szennyvízben

A felszíni vizekben kimutatható mikroszennyezők közül a gyógyszerek kiemelkedő jelentőséggel bírnak, hiszen igen elterjedten és nagy mennyiségben alkalmazzák ezeket a vegyületeket. Becslések szerint évente több százezer tonna farmakológiailag aktív anyagot használunk világszerte ember- és állatgyógyászati célokra [1].

A hagyományos szennyvíztisztítási eljárások nem alkalmasak minden, a tisztítótelepre kerülő szennyezőanyag eltávolítására. A mikroszennyezők gyakran változatlan formában jutnak keresztül a szennyvíztisztító rendszereken, és a felszíni vizek közvetítésével eljuthatnak a későbbi vízhasználókhoz.

A 2013-ban leggyakrabban felírt – tehát vényköteles – gyógyszerhatóanyagok között a cukorbetegség és inzulin-rezisztencia esetében alkalmazott metformin vezet. Ezen kívül két

gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító szer foglalja el a dobogós helyeket. Az öt leggyakoribb gyógyszer közül négy tartozik ez utóbbi kategóriába [92].



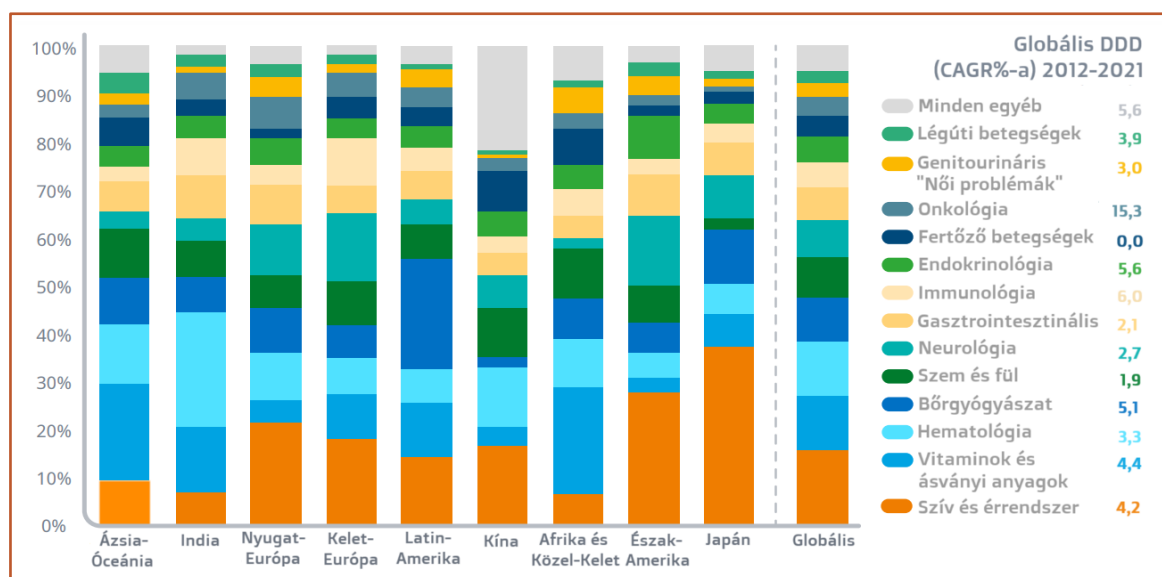
7. ábra A gyógyszerek metabolizmusának és a gyógyszerek kiválasztásának áttekintése (a, [93]) és néhány gyógyszerhatóanyag exkréció (kiválasztási) rátája (b, [96][97]), azaz a változatlan hatóanyag kiválasztási (vesén keresztül, vizelettel) aránya.

A gyógyszerek, illetve hatóanyagaik eltávolítása az emberi szervezetből kémiai átalakítás (metabolizáció) vagy kiválasztás útján történik. A vesék a vízben oldódó anyagok kiválasztásának fő szervei. *A gyógyszerek metabolizmusának és kiválasztásának általános sémáját 7. ábrán mutatjuk be.* A hatóanyagok egy része nem a veséken keresztül távozik a szervezetből, hanem a májon való áthaladás után változatlan formában kiválasztódik az epébe. Az epe az emésztőtraktusba kerül, majd innen a gyógyszermolekula a széklettel ürül ki [93][94][95]. Bizonyos gyógyszerek (pl. doxiciklin, tetraciklin) esetében a hatóanyag akár 70-90% is változatlan formában távozik a szervezetből a veséken keresztül (= exkréció vagy kiválasztási ráta) [96][97]. *Néhány gyógyszerhatóanyag exkréció rátáját a 7. ábrán gyűjtöttük össze.* Tehát a szervezetbe juttatott (orálisan, anélisan, injekcióval stb.) hatóanyagok kisebb-nagyobb része a vizelettel a szennyvízbe kerül.

A gyógyszerfogyasztás földrajzi különbségeit szemlélhetik a 8. ábra, ahol az összetett éves növekedési ráta (Compounded Annual Growth Rate, CAGR) százalékaként jelennek meg a fogyasztási arányok. A CAGR itt a 2012-2021 időszakra vonatkozó növekedés alapján számolt éves hozam. A legtöbb fő terápiás területen az 2012-2021 közötti tízéves periódusban nőtt a gyógyszerhasználat, az onkológia felhasználása messze meghaladta a többi a 15,3%-os 10 éves CAGR-értékével [98].

A Magyarországon leggyakrabban használt gyógyszerhatóanyagok 2018-as TOP15 listája követhető a 9. ábrán. A magyar gyógyszerfogyasztás Covid-19 betegség hatásaival még nem érintett adatsorában két antibiotikum (amoxicillin és azitromicin) ért el dobogós helyezést,

mellettük még a csontritkulás ellen szedett D3 provitamin (kolekalciferol) fért el az élvonalban. Az első tizenöt hatóanyag között még két antibiotikum szerepel (levofloxacin és cefuroxim), így négyre egészül ki az antibiotikumok száma. Ezen kívül fájdalomcsillapítók (diklofenák, naproxén), szívgyógyszerek (nebivolol, amlodipin), gyomorsavtermelést gátló szerek (pantoprazol, famotidin), egy vérhígító (acetilszalicilsav), egy vérnyomáscsökkentő (perindopril), egy koleszterinszint csökkentő (rosuvastatin) és egy húgysavszint csökkentő szer (allopurinol) van a népszerűségi lista elején [99]. Ezeknek a gyógyszereknek a felmérése a szennyvízmintákban Magyarországon mindenképpen indokolt.



8. ábra A gyógyszerfogyasztás geopolitikai különbségei. A meghatározott napi adagok (DDD) aránya terápiás területek szerint 9 régióban és globálisan [98].



9. ábra A leggyakrabban használt gyógyszerhatóanyagok Magyarországon a legtöbb betegnek felírt gyógyszerfajta alapján (2018). Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő (NEAK) adatai alapján [99].

2.3. Hogyan lesz az antibiotikumokból táplálék a baktériumok számára

Fontos kérdés az, hogy olyan kémiai hatóanyagok, amelyeket baktériumok elpusztítására, vagy legalábbis élettevékenységeinek korlátozására szánnak, hogyan kerülhetnek végül mégis a célszervezetek étlapjára. Ebben a fejezetben erre keressük a választ. Így szó esik majd a gyógyászatban alkalmazott dózisokról, az antibiotikum-rezisztenciáról, a formáiról és a terjedéséről. Kitérünk a baktériumok anyagcseréjének a gyógyszerek lebontását érintő területeire, végül a lebontásukban közreműködő evolúciójáról is ejtünk pár szót.

2.3.1. A dózisok kérdése (MIC)

Nehéz meghatározni az antibiotikumok biztonságos koncentrációját a szennyvízben, mivel az eredmények nem egyeznek meg azzal kapcsolatban, hogy a minimális gátló koncentrációnál (MIC) alacsonyabb antibiotikum-koncentrációk okozzák-e az ARG szelekcióját [8]. Egyre nyilvánvalóbb azonban, hogy a MIC alatti antibiotikum-koncentrációk pozitívan szelektálhatják a rezisztencia mutációkat, növelhetik az antimikrobiális rezisztencia gének (ARG) horizontális génátvitelét, és növelhetik a mutációs rátákat. Mindezek növelik a rezisztencia kialakulásának valószínűségét [100].

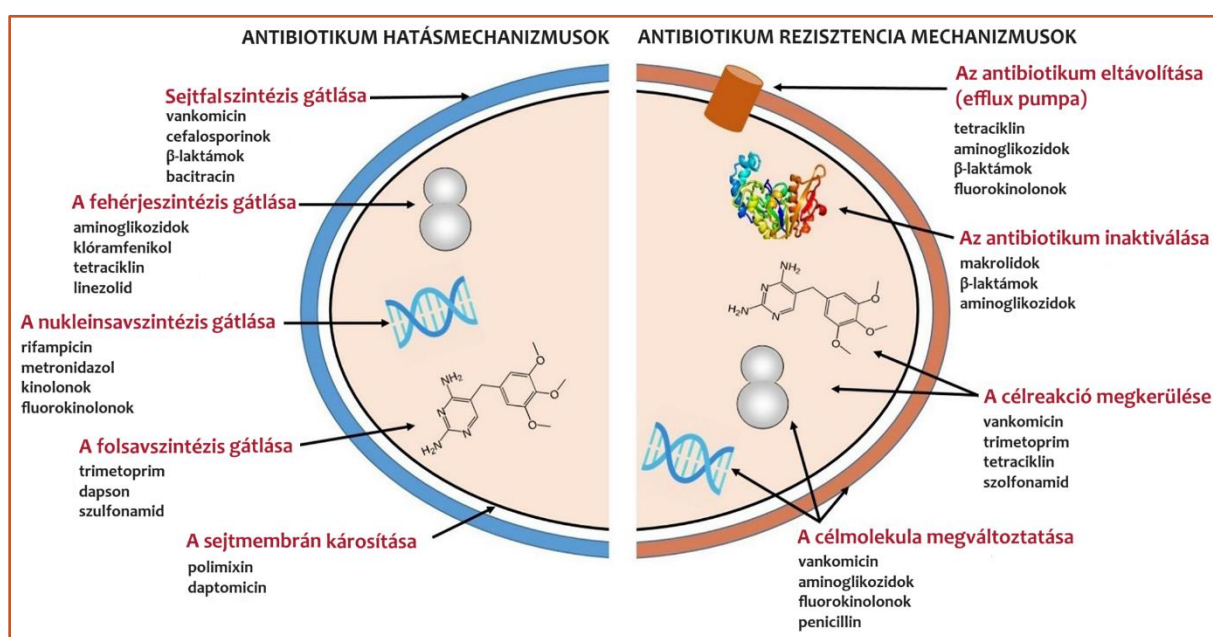
2.3.2. Az antibiotikum-rezisztencia formái és terjedése

Az antibiotikum az emberi, illetve állati szervezetben megtelepedett baktériumokat elpusztítja (baktericid), vagy csak a szaporodásukat gátolja (bakteriosztatikus). Az antibiotikumok alapvetően természetes vegyületek, amelyeket baktériumok vagy gombák állítanak elő, hogy elpusztítsák a versenytársaikat. A baktériumok olyan részeit támadják (sejtfal), amelyek az emberi sejtekben nem találhatók, vagy olyan folyamatokat (enzimeket) gátolnak, amelyek csak a baktériumokra jellemzőek (folsavszintézis) [3][8]. *Az antibiotikumok hatásmechanizmusait és a rezisztencia-mechanizmusokat a 10. ábra foglalja össze.*

Az antibiotikum-rezisztencia – amely ellenállóvá teszi a kórokozót egy antimikrobiális gyógyszerrel szemben – hátterében az áll, hogy a baktériumok különböző stratégiákat fejlesztenek az antibiotikus hatás elkerülésére. Például a sejtfal áteresztőképességét változtatják meg, vagy a sejtbe bekerülő gyógyszert kipumpálják a sejten kívülre [8][101]. Az antibiotikum(ok)nak való kitettség stressztényező a baktériumok számára, amihez alkalmazkodniuk kell, ha életben akarnak maradni [3][102].

Nemcsak természetes antibiotikum (penicillin), de **természetes antibiotikum-rezisztencia** is létezik. Például a baktériumot olyan védőburok (sejtfal) veszi körül, amely bizonyos

antibiotikumok számára áthatolhatatlan. Tehát egy faj összes tagjának élettani tulajdonságai lehetővé teszik, hogy ellenálljon bizonyos antibiotikumok hatásának. Ezt *intrinsic* (belső) rezisztenciának is nevezik [100]. Ha a baktériumok eredendően nem rendelkeznek rezisztenciával, akkor meg tudják szerezni (**szerzett rezisztencia**). Örökítőanyag-szinten történik olyan változás, amely ellenállóvá teszi az adott antibiotikummal szemben. Egyrészt mutáció léphet fel magában a sejtben, másrészt más baktériumoktól is átvehet rezisztenciagéneket. Ez utóbbit **horizontális génátvitelnek (géntranszfer)** nevezzük, és különböző baktériumfajok között is megtörténhet, így ez az egyik fő útvonala a rezisztencia terjedésének [3][102][103].

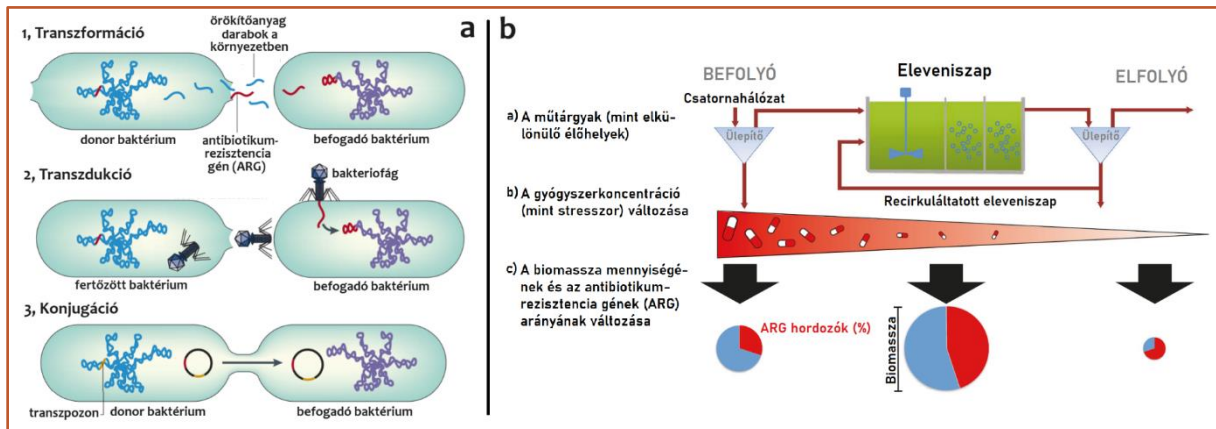


10. ábra Az antibiotikumok hatásmechanizmusai és a rezisztenciamechanizmusok [8].

A horizontális génátvitel többféleképpen zajlik. Ezeket a 11. ábra 'a' részén foglaltuk össze. Egyrészt a baktériumok képesek a külvilágból hosszabb DNS- vagy RNS-molekulákat felvenni, és azokat beépíteni a saját örökítőanyagukba (transzformáció, 11. ábra/a-1). Ezek a felvett DNS/RNS-darabok tartalmazhatnak antibiotikum-rezisztencia géneket. Másrészt egy baktériumot megfertőző vírus (bakteriofág) is átszállíthat DNS-t egy másik baktériumba (transzdukció, 11. ábra/a-2). Harmadrészt az egyik baktérium összekapcsolódhat egy társával (konjugáció, 11. ábra/a-3), amit sokszor a baktériumok szexuális szaporodásának neveznek, és átadhatja neki a lemásolt örökítőanyag egy példányát [104].

Érdeemes megemlíteni a rezisztencia speciális formáit is. Ez a **keresztrezisztencia**, amely akkor fordulhat elő, ha különböző antimikrobiális szerek ugyanazon a ponton támadják meg a baktériumot. A végeredményként az egyik antibakteriális szerrel szembeni rezisztencia

kialakulása egy másik szerrel szembeni rezisztenciával jár együtt [105]. A **ko-rezisztencia** egynél több antibiotikum-csoporttal szembeni rezisztencia jelenlétét jelenti ugyanabban a baktériumtörzsben. Ez a különböző rezisztencia gének közötti fizikai kapcsolat miatt következik be, vagyis az örökítőanyagban egymáshoz közel helyezkedik el a két rezisztenciagén, így együtt kerülnek át egyik egyedből a másikba.



11. ábra A horizontális génátvitel (géntranszfer) formái (a, [104]) és a gyógyszer-koncentráció, a mikrobiális biomassa és az antibiotikum rezisztencia-gének (ARG) arányának elméleti változása a szennyvíztisztítás során (b, [4]). A transzpozonok (ún. ugráló gének) olyan DNSszakaszok, amelyek képesek megváltoztatni helyüket az örökítőanyagban. A baktériumok transzpozonjai sok esetben tartalmaznak antibiotikum-rezisztencia gént.

A természetes antibiotikumok és a rezisztencia jelensége már évmilliók óta jelen van a természetben, de mi, emberek, felgyorsítottuk a folyamatokat. Az ún. szelekciós nyomást növeltük meg az antibiotikumok szintetikus előállításával és fejlesztésével, hiszen napjainkban a baktériumok sokkal több antibiotikumnak vannak kitéve. A túlélésért rezisztenssé kell válniuk. Súlyosbította a helyzetet a helytelen, mértéktelen antibiotikum-használat (az állattenyésztésben is), az állati eredetű termékek nemzetközi kereskedelme, a turizmus világméretűvé válása [3].

A szennyvíz **rezisztómiájának** nevezzük a szennyvízminták teljes örökítőanyag-készletében előforduló **antibiotikum-rezisztencia gének összességét**, vagyis a szennyvíz antibiotikum-rezisztencia gényűjteményét. Az átfogó rezisztómvizsgálatok kimutatták, hogy a szennyvízben megjelenő antibiotikumok és azok hatását blokkoló antibiotikum-rezisztencia gének megjelenése a közegben szorosan összefügg. Ez szinte az összes vizsgált rezisztenciagénre igaznak bizonyult. Kivéteklént az ún. bla géneket említhetjük. A β -laktám antibiotikumok az osztódó baktériumokra hatnak, a sejtfaluk alakját torzítják el. A baktériumok védekező mechanizmusának egyik módja a β -laktamáz enzim előállítása, mely hatástalanítja a gyógyszert. Ezt az enzimtípust kódolják a bla gének, amelyek gyakran előfordultak a szennyvízben, annak ellenére, hogy a β -laktám antibiotikumokat ritkán sikerült kimutatni a

vizsgált mintákból [4]. *Az elméleti összefüggéseket a gyógyszerkoncentráció, a mikrobiális biomassza és az ARG arányának változása között a 11. ábra 'b' részén mutatjuk.*

A rezisztenciát gyakran úgy határozzák meg, mint egy sejt öröklődő képességét, hogy magas antibiotikum-koncentráció mellett növekedjen, függetlenül az expozíció időtartamától. A kórházak mellett a szennyvíztisztító telepek is forró pontjai az ún. multirezisztens törzsek kialakulásának, amelyekkel szemben több antibiotikum is hatástalan [3][4][5]. Az ilyen, ún. szuperbaktériumoknak új dimenzióját jelentik a pánrezisztens baktériumok, mivel nemcsak többféle, hanem jóformán az összes antibiotikummal szemben ellenállóak. A pánrezisztens baktériumok jelenléte sem csupán fantázia kérdése, hiszen szennyvizek kiterjedt vizsgálata Izraelben igazolta több ilyen kórokozó jelenlétét [106].

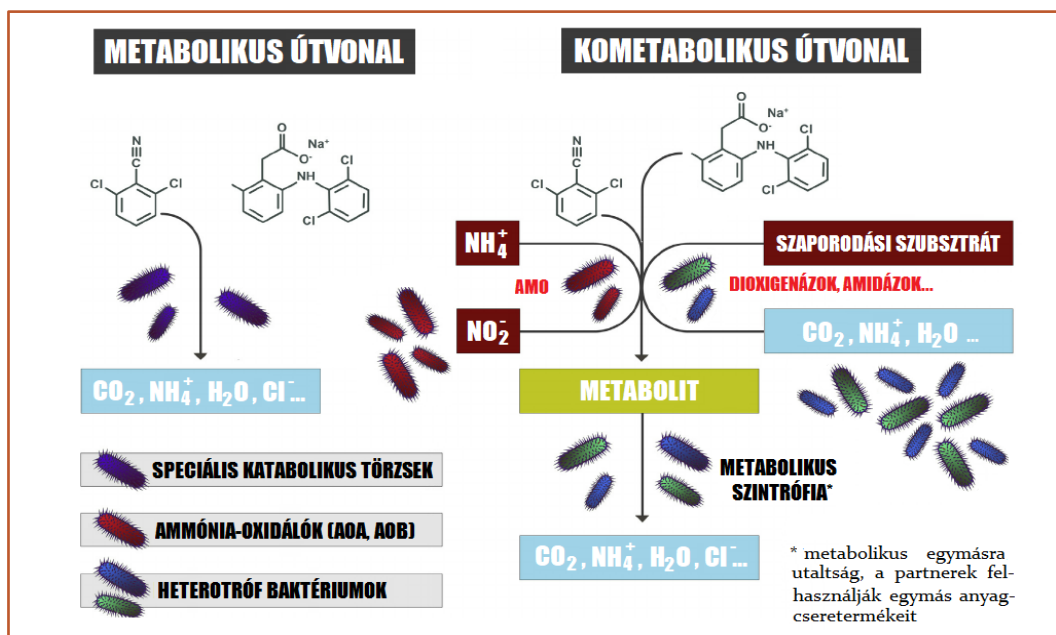
2.3.3. Metabolizmus kontra kometabolizmus

Az **enzimek** kulcsfontosságú szerepet töltenek be a szerves anyagok lebontásában (biodegradációban), hiszen a biokémiai folyamatokban részt vesznek. Mint biokatalizátorok gyorsítják a lejátszódó kémiai reakciók sebességét (valójában csökkentik a reakciók elindításához szükséges aktiválási energiát egy kisebb energiájú reakcióút megnyitása révén). A katalitikus aktivitás a fehérjék (enzim) és a szubsztrátok között kialakuló speciális kölcsönhatásnak köszönhető, amelyet a molekulák térszerkezete befolyásol alapvetően. Az enzim azon részét nevezzük **kötőhelynek**, ahol ez a térszerkezetfüggő kapcsolódás megtörténik. Az enzim átalakítást végző régiója az **aktív hely, vagy aktív centrum**, de enzimtől függően lehet azonos a kötőhellyel. Az enzimek specifikitását a katalizált folyamatok, illetve az elfogadott szubsztrátok köre jelöli ki. A szigorúan szabályozott folyamatot katalizáló enzimek specifikusabbak [107].

A hagyományos biológiai lebomlási folyamat során a szerves molekulák a mikroorganizmusok számára **növekedési szubsztrátként** szolgálnak (növekedést támogató szubsztrátok, primer szubsztrátok) egyrészt a sejtek növekedéséhez és a szaporodáshoz, másrészt ezek indukálják az enzimeket az anyagcsere-folyamataikhoz. Azokat a lebontási útvonalakat, amelyek megfelelnek az előbbi kritériumoknak, **metabolikusnak** nevezik [108].

A nyers szennyvízben jelenlévő, a biológiai bonthatóság különböző fokozatait képviselő szervesanyagformák tömegéhez képest a mikroszennyezők, így a gyógyszerek mennyisége elenyésző. Mindemellet ezek a vegyületek gyakran perzisztensek, vagyis nem bomlanak számottevően az ember várható átlagos életkorának megfelelő időtartamban, esetleg toxikusak is. Ezek alapján a környezetben jelenlévő gyógyszermaradványok jelentős része nem képes

egyedüli szén- vagy energiaforrásként funkcionálni, amely a baktériális biomassza növekedésének fenntartásához és a metabolikus folyamatok enzimjeinek indukálásához szükséges. Ebben az összefüggésben valamilyen növekedési szubsztrát jelenléte elengedhetetlen. Így már nem beszélhetünk metabolikus biodegradációs útvonalról, hanem a **kometabolizmus** néven ismert jelenséggel állunk szemben [9][108][109][110]. Tehát a kometabolizmus egy szervesanyag mikrobiális átalakítása, anélkül, hogy a vegyület energia-, vagy esszenciális tápanyagforrásként szolgálna a mikroorganizmus számára, így egy másik (növekedési) szubsztrát jelenléte is szükséges. Egy olyan biotranszformációs folyamat, ahol az átalakított anyag sem energiatermelésre, sem sejtfelépítésre nem alkalmas. Ezt az átalakított, de nem hasznosított molekulát nevezzük kosubsztrátnak. A metabolikus és a kometabolikus biodegradációs útvonalak közötti különbségeket szemlélteti az 12. ábra.



12. ábra A metabolikus és a kometabolikus biodegradációs útvonalak jellegzetességei. (katabolikus törzsek: lebontást végző baktériumok; AMO, dioxigenázok, amidázok: enzimek) [109 alapján].

Mind a természetes, mind a mesterséges rendszerekben a mikroszennyezők biodegradációja a mikroorganizmusok metabolikus és kometabolikus útvonalain egyaránt végbemegy. A metabolikus lebomlásában szerepet játszó mikroorganizmusok **heterotrófok** (szerves vegyületeket hasznosítanak), amelyek képesek a gyógyszervegyületeket, mint egyedüli szén- vagy energiaforrást felhasználni.

A mikroorganizmusok abban az esetben képesek a metabolikus útvonalakon hasznosítani egy gyógyszervegyületet, ha az nem toxikus, a sejtet nem károsítja, a mikrobiális növekedést nem

gátolja, és elegendően nagy a koncentrációja a környezetben a bakteriális biomassza fenntartásához, a lebontáshoz szükséges enzimek (és kofaktoraik) indukciójához. Nem világos azonban, hogy a mikroszennyezők mekkora koncentrációja képes beindítani (iniciálni) a mikroorganizmusok metabolikus aktivitását [108].

Korlátozott a száma azoknak a kutatásoknak, amelyek a gyógyszerek metabolikus degradációját, azaz egyedüli szénforrásként való hasznosítását mutatták ki. *Az 2. táblázatban foglaljuk össze a metabolikus lebontás igazolt eseteit, a teljesség igénye nélkül.*

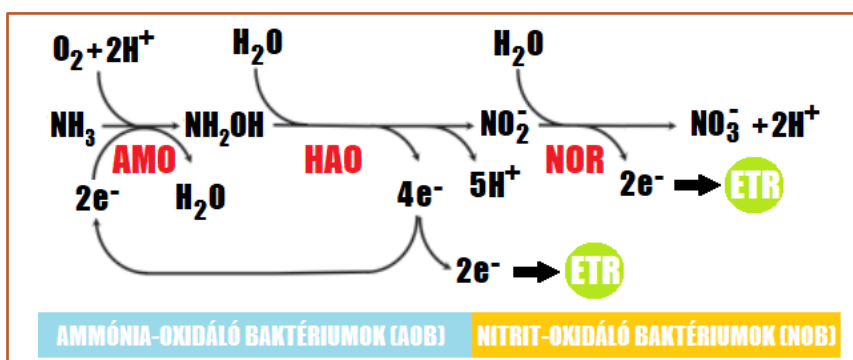
2. táblázat A metabolikus lebontás igazolt eseteinek összefoglaló táblázata.

Gyógyszer- vegyület	Lebontási hatékonyság	Biomassza/törzs	Referencia
Acetaminofen	~100%	<i>Delftia tsuruhatensis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[111]
Diklofenák	70%	<i>Labrys portucalensis F11</i>	[112]
	75%	Eleveniszap	[113]
	35%	<i>Brevibacterium D4</i>	[114]
Ibuprofén	-	<i>Sphingomonas Ibu-2</i>	[115]
	~100%	Eleveniszap	[113]
Fluoxetin	100%	<i>Labrys portucalensis F11</i> (fluoroorganic-degrading strain)	[116]
Karbamazepin	50%	<i>Pseudomonas sp. CBZ-4</i>	[117]
Szulfametoxazol	24-44%	MBR rendszerből szelektíven dúsított és azonosított: <i>Microbacterium sp. BR1</i> , <i>Rhodococcus sp. BR2</i> , <i>Achromobacter sp. BR3</i> , <i>Ralstonia sp. HB1 és HB2</i>	[118]
	35.6 %	<i>Pseudomonas psychrophila HA-4</i>	[119]
	15%	<i>Rhodococcus equi (13557)</i>	[120]

A kometabolikus biodegradációra nemcsak heterotróf szervezetek képesek, hanem **autotrófok** is (**autotróf kometabolizmus**). Az autotróf mikroorganizmusok egyszerű szerves anyagokból (pl. ammónia, szén-dioxid) bonyolult szerves vegyületek felépítésére képesek, a heterotrófokkal ellentétben, amelyeknek mindenképpen szervesanyag forrásra van szükségük. Valójában az egyik legjelentősebb mikroorganizmus csoport ebből a szempontból, amely a legtöbb kometabolizmussal foglalkozó kutatás alanya is egyben, a nitrifikálók, azon belül is az ammónia-oxidálók [9][108][110]. Bár a heterotrófok és az autotróf nitrifikálók sok tekintetben

különböznek egymástól, a kometabolizmus azonos elvi alapokon működik mindkét esetben. Fontos kritérium a növekedési szubsztrát jelenléte, amely az ammónia-oxidálók esetében az ammónia (*lsd. 2.1.3.1 fejezet*).

A két kulcsfontosságú enzim ezek közül az AMO (ammónia-monooxygenáz) és a HAO (hidroxil-amin-oxidoreduktáz) (13. ábra). In vivo (az élő szervezetben belül) mindkét enzim egymástól függ, mivel szubsztrátot és elektronokat generálnak egymásnak. Először hidroxil-amin (NH_2OH) képződik az AMO enzim közreműködésével, amely egy réz tartalmú integráns membránfehérje molekula (a sejthártya részét képezi).



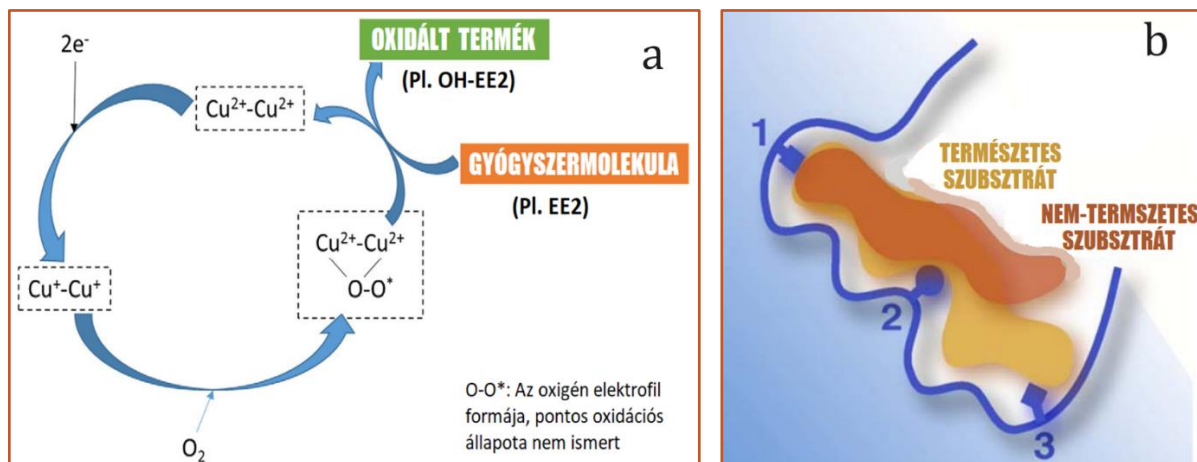
13. ábra A nitrifikáció, azaz az ammónia biológiai oxidációja nitráttig. (AMO: ammónia-monooxygenáz enzim, HAO: hidroxil-amin-oxidoreduktáz enzim; NOR: nitrit-oxidoreduktáz enzim; ETR: az energiatermelést szolgáló elektrontranszporlánc) [26] alapján

Az AMO az oxigén molekulából egy oxigén atom beépülését segíti az ammónia molekulába. A következő lépésben a hidroxil-amin a HAO enzim katalizálta reakcióban nitráttá oxidálódik. Az oxidáció során 4 elektron keletkezik, amelyből 2 egy újabb ammónia molekula hidroxil-aminná történő átalakulásában hasznosul [9][26][108].

Az elektronok ezután belépnek egy ún. katalitikus ciklusba. Az AMO enzim aktív helyén (a katalízis helye) található egy kettős rézmagot Cu(I)-Cu(I) formában tartalmazó fehérjerész. A katalitikus ciklus úgy kezdődik, hogy az oxigén reakcióba lép a Cu(I) formával, így az Cu(II) formává alakul, eközben az oxigén elektrofil csoportként kötődik. Az enzim „oxigénezett” formája ezután reagál a szerves szubsztrátokkal, és így – az oxigént elvesztve – Cu(II) formát képez. A Cu(II) forma a HAO enzim által katalizált reakcióból érkező 2 elektronnal redukálódik, és visszaáll a kettős rézmag Cu(I)-Cu(I) formájára, amely fogadhatja az újabb oxigénmolekulát [121]. Az aktív hely szerkezetének változása és az oxidáció folyamata a 14. ábra „a” részén követhető.

Mint sok más monooxygenáznak, az AMO enzimnek is figyelemreméltóan széles a szubsztrátspektruma, vagyis sokféle szerves szennyezőanyagot képes oxidálni, így különböző

gyógyszervegyületeket is [110][121][123][124][125][126][127]. Az AMO enzim közreműködésével kometabolizálható gyógyszerekre a melléklet M3. táblázatában találhatók példák.



14. ábra Az ammónia-monooxygenáz (AMO) enzim aktív helyének működése és a kometabolikus transzformáció elméleti modellje (a, [9] alapján), valamint a szubsztát szerinti promiskuitás sematikus ábrája (b, [122] alapján).

Ammónia hiányában (ammónia-éhezés) azonban az ammónia-oxidálók hidroxil-amint nem termelnek (13. ábra), és az elektronok visszaáramlása sem működik. Az AOB endogén légzése elegendő redukálószerrel szolgáltat a szerves mikroszennyezők biotranszformációjához ammónium hiányában, egy ideig, ám hosszú távon ammónia-nitrogént kell biztosítani a mikroorganizmusok szaporodásának és energiaháztartásának fenntartásához [108].

A **heterotróf kometabolizmus** során a mikroorganizmusok sokféle növekedési szubsztátot hasznosíthatnak, de alapvetően az adott mikroorganizmus anyagcsere útvonalaitól függ, hogy melyeket. A heterotróf szervezetek esetében mindenképpen valamilyen egyszerűbb szerves vegyület az, amely gyorsan és könnyen bontható, így a szaporodást és az enzimek termelését kellőképpen támogatja. A kísérletek során gyakran alkalmaznak glükózt [120], glicerint [128], ecetsavat [112][113][114], adipinsavat [129], élesztőkivonatot [128][129], toluolt [113], tripton [128], vagy tejport [130]. A növekedési szubsztát jelenléte nélkülözhetetlen a gyógyszer-molekula (koszubsztát) enzimatisz átalakításához. A heterotróf kometabolizmus igazolt eseteit és a folyamatokban résztvevő enzimeket az M3. táblázatban gyűjtöttük össze.

A szerves anyag fogyasztó heterotróf mikroorganizmusok közül a metilotrófok **metán-monooxygenáz (MMO)** enzimével kapcsolatban általánosságban ismert a kometabolizmus jelentősége [26]. A kometabolikus biodegradáció aerob vagy anaerob körülmények között történhet. A mikroszennyezők aerob kometabolizmusa a domináns, az anaerob kometabolizmus kevésbé érvényesül [108].

2.3.4. Az enzimek evolúciója

Az enzimek jellegzetes – és evolúciós szempontból sem elhanyagolható - sajátossága: a promiszkuitásuk. Ez a megszokott szubsztrátok lecserélését, változtatását, a természetestől eltérő reakciók katalízisét jelenti, vagyis a nem természetes szubsztrátok átalakítását. A jelenség valószínűleg rendkívül fontos az enzimek evolúciója szempontjából, és sokkal elterjedtebb, mint korábban feltételezték.

A promiszkuitás három formáját különböztetik meg [131]:

1. *A működési körülmények szerinti promiszkuitás*

A környezeti feltételek függvényében változhat a katalitikus aktivitás. Bizonyos enzimek nem veszítik el aktivitásukat a természetes körülményeiktől eltérő, esetleg szélsőséges pH-értékek, hőmérséklet mellett, vagy vízmentes tápközegben.

2. *A szubsztrát szerinti promiszkuitás*

Tulajdonképpen a szigorú szubsztrátspecifitás ellentéte. Az adott enzim szélesebb, illetve laza szubsztrátspecifitással rendelkezik.

3. *A katalitikus promiszkuitás*

A szigorú reakcióspecifitás ellentéte. Teljesen eltérő, határozottan különböző kémiai átalakulásokat katalizáló enzimek jellemzője. Különféle átmeneti állapotok jöhetnek létre a reakciók során, esetleg a fehérjemolekula (enzim) más-más doménjeit (önállóan feltekeredő, saját funkcióval rendelkező egység) mint aktív helyeket felhasználva. Összefoglalva a természetestől teljesen eltérő mechanizmussal és katalitikus aktivitással valósul meg.

Sok tudós az enzimek divergens evolúciójának (széttartó, egy enzimből két vagy többféle enzim alakul ki) kiindulópontját látja a jelenségben. Az enzimet előállító mikroorganizmus túlélését jelentősen befolyásolja közvetve a promiszkuitásuk. Ha az enzim szubsztrátként ismer fel egy olyan vegyületet, amit addig nem, akkor a gazdasejt tápanyag repertoárját bővítheti hosszútávon. Ez csak a kezdőlökést adja meg, ezután az enzim egyre tökéletesebb katalizátorrá csiszolódhat, fejlődhet, egyre inkább pontos illeszkedéssel az új szubsztráthoz [131]. Tehát a promiszkuitás nemcsak az enzimek evolúciójában játszik fontos szerepet, hanem a mikrobiális közösségek, bakteriális anyagcsere hálózatok evolúciójában is. Valószínűleg a legtöbb jelenleg ismert, „kortárs” enzim a promiszkuitás következtében és / vagy többfunkciós (generalista) ősi

enzimekből fejlődött ki, egy fokozott katalitikus specifikitást és hatékonyságot eredményező evolúciós optimalás eredményeként.

Egyszerűen megfogalmazható a promiszkuitás kémiai háttere. Az enzimek aktív helye (szubsztrátkötőhelye) gyakran nem köti kémiaiilag szorosan a szubsztrátot, így hasonló kémia karakterű vegyületeknek lehetősége nyílik arra, hogy alternatív szubsztrátként kötődjenek az enzimen [122]. A kometabolizmus jelensége ezen alapul. Egy olyan véletlenszerű folyamat, amikor az enzim tulajdonképpen hibázik, elvétí a természetes szubsztrátját. Az idegen szubsztrátot (koszubsztrát) hasznosítani nem tudja a sejt, de az enzim egy kémiai műveletet végrehajt rajta. *Az előzőkben leírtakat a szubsztrát szerinti promiszkuitás alapján szemlélteti a 14. ábra „b” része.*

2.4. A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (AOP)

Az utóbbi évtizedekben kidolgozott és gyors ütemben fejlődő nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (Advanced Oxidation Process, AOP) ígéretes, hatékony és környezetbarát módszereket jelentenek, amelyeket elsősorban a perzisztens szerves szennyező anyagok (POP) vizekből és szennyvizekből való eltávolítására fejlesztettek ki. Ez a technológiasorozat különböző in situ gyökgenerálási folyamatokon keresztül előállított szabadgyökök, erős oxidálószerkeg segítségével roncsolja a szerves molekulákat, ezzel elősegítve degradációjukat. Az oxigénbefogással képződő átmeneti peroxi-gyökökön ($\text{ROO}^\bullet$) és peroxidokon (R-O-O-R) keresztül a szennyezők mineralizációja is megvalósítható [132][133][134]. A lehetséges módszerek közül a tisztítandó mátrix szennyezettségének, illetve a végső tisztítási célnak (elvárt vízminőség) megfelelően választhatjuk ki az optimális eljárást. Ezek a módszerek kombinálhatók is a technológiai soron belül.

Ebben a fejezetben az AOP hatásmechanizmusát tárgyaljuk részletesen. Az AOP módszerekhez sorolhatók a nagyenergiájú ionizáló sugárzást (Co-60 gamma, gyorsított elektronok) alkalmazó módszerek is. Ehhez a víz radiolízisét kell ismernünk először, hiszen a kísérleteink során híg vizes oldatokat vetettünk γ -radiolízis kezelés alá.

2.4.1. A víz radiolízise

A vizes közeg kezelésére leggyakrabban ^{60}Co γ -forrást ($E_1 = 1,33 \text{ MeV}$ és $E_2 = 1,17 \text{ MeV}$) és **elektrongyorsítókat** (0,5-10 MeV elektronok) alkalmaznak. Az anyag által elnyelt dózist Gray egységekbén fejezzük ki ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J kg}^{-1}$), a dózisteljesítményt pedig Gy s^{-1} formában értelmezhetjük [135][136].

A ^{60}Co γ -sugárzással történő besugárzás során a fő fizikai kölcsönhatás az anyaggal olyan primer folyamatokon keresztül valósul meg, mint a fotoelektromos-effektus (leginkább $E < 0,1$ MeV, könnyű atomokban), Compton-effektus ($E = 0,01$ MeV – 100 MeV) és a párkeltés ($E > 2$ MeV). Ezek a véletlenszerűen előforduló események minden kölcsönhatáskor jelentős energiavesztéssel járnak, és **másodlagos (szekunder) elektronok** képződését eredményezik. Vizes oldatok besugárzása esetén döntően a Compton-szórás megy végbe, amely során a γ -fotonok energiájuk egy részének elvesztése közben szekunder elektronokat hoznak létre. Tehát vizes oldatokban a γ -források alkalmazásával gyors elektronokat hozunk létre. [137][138] Az elektrongyorsítók alkalmazása során monoenergetikus elektronokat vezetünk közvetlenül a mintákba. A kémiai változásokat túlnyomórészt gyors elektronok váltják ki. A fő folyamatok az ionizáció, a gerjesztés és a röntgensugárzás vagy a Cserenkov-sugárzás kibocsátása. [137][138] Tehát a nagy energiájú részecskék molekulákkal való kölcsönhatásának eredménye minden esetben szekunder elektronok képződése, amelyek önmagukban is elegendő energiával rendelkezhetnek további ionizációhoz [135].

Az **ionizáló sugárzás** egyik fontos jellemzője, hogy energiáját **nem szelektíven nyeli el a besugárzott mátrix**, így a molekulák a vizsgált közegben való relatív mennyiségüknek megfelelően ionizálhatók vagy gerjeszthetők. Híg oldatokban az energiát túlnyomórészt az oldószer nyeli el, melynek következtében reaktív intermedierek (**gyökök**) képződnek, amelyek indukálják az oldott molekulák kémiai reakcióit [135][139]. Ugyancsak fontos jellemző a **sugárkémiai hozam**, más néven **G-érték**, amely 1 J sugárzási energia hatására képződő, átalakuló molekula-, illetve reaktív gyök mennyiségét adja meg. Mértékegysége: (mol J^{-1}) [138].

A víz radiolízise során az intermedierek főként a vízmolekulák ionizációja következtében keletkeznek, de a gerjesztett állapotú vízmolekulákból is képződnek reaktív gyökök [139]. *A 3. táblázatban látható (2-3) reakciók a vízmolekulák ionizációját és gerjesztését írják le, amelyek egy elektronátmenet időskáláján történnek. A (4)–(6) reakciók termékei kis, egymástól távol eső spurokban csoportosulnak, amelyek átlagosan 2-3 ionpárt tartalmaznak.*

A víz radiolízise kis LET (linear energy transfer, lineáris energiaátadás) értékű sugárzás esetén (például $0,23 \text{ eV nm}^{-1}$) az alábbi reakcióval (1) írható le:



Kis LET értékű sugárzás esetén az $\cdot\text{OH}$, e_{aq}^- és $\text{H}\cdot$ primer hozamai (ún. G-értékek) a spur eljárások után rendre: 0,28, 0,28 és 0,06 $\mu\text{mol J}^{-1}$, amelynek 40%-át a spur-reakciók fogasztják el, ahol H_2 (0,047 $\mu\text{mol J}^{-1}$) és H_2O_2 (0,073 $\mu\text{mol J}^{-1}$) képződik, valamint kisebb mértékben a vízmolekulák reformációja is zajlik (13.). [138] *A spurreakciókat a 4. táblázatban foglaltuk össze.*

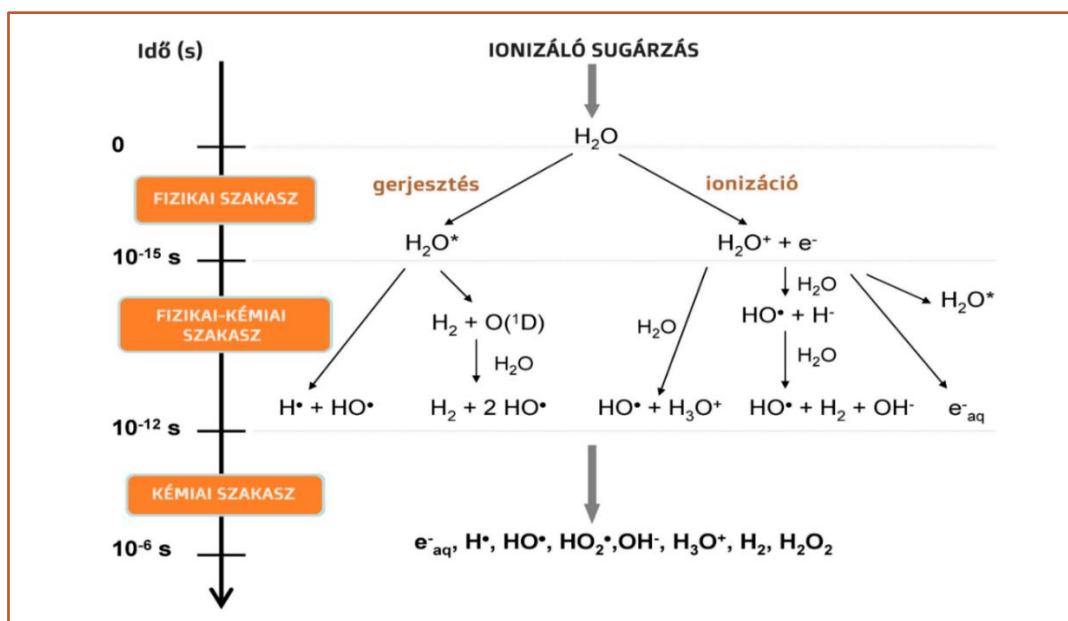
3. táblázat A víz radiolízise [135][139].

Reakció	Reakcióidő	A reakció sorszáma
$\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\gamma} \text{H}_2\text{O}^{\bullet+} + e^-$	10^{-16} s	2.
$\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\gamma} \text{H}_2\text{O}^*$	10^{-16} s	3.
$\text{H}_2\text{O}^{\bullet+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ + \cdot\text{OH}$	10^{-14} s	4.
$e^- + n \text{H}_2\text{O} \rightarrow e_{\text{aq}}^-$	10^{-13} s	5.
$\text{H}_2\text{O}^* \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{H}\cdot$	10^{-12} s	6.

A víz radiolízisét szemlélteti a 15. ábra, amelyen jól követhető a reakciósorozat három szakasza. Az első, fizikai szakasz képviseli az anyag-ionizáló sugárzás kölcsönhatást közvetlenül (1 fs) követő folyamatsorozatot, amely az (2-3.) reakciókat foglalja magába. A második, fizikai-kémiai szakaszban ($10^{-15} - 10^{-12}$ s) zajlanak a spurreakciók, beleértve az ion-molekula reakciót (4.), a gerjesztett állapotok autoionizációját, a szubgerjesztő elektronok termalizálását (elektronok szolvatációja) (5.) és a disszociatív relaxációt (6.) stb. A harmadik, kémiai szakaszban ($10^{-12} - 10^{-6}$ s) a termékek a nyomvonal mellett reagálnak, majd az oldatba („bulk”) diffundálnak, amely lehetőséget ad arra, hogy reakcióba léphessenek egymással és a környező molekulákkal is (az oldott molekulákkal). A részecskék nyomvonala kitágul a gyökök diffúziója és az azt követő kémiai reakciók miatt [136].

4. táblázat A spurreakciók [135][138].

Reakció	A reakció sorszáma
$e_{\text{aq}}^- + e_{\text{aq}}^- \rightarrow \text{H}_2 + 2 \text{OH}^-$	7.
$e_{\text{aq}}^- + \text{OH}\cdot \rightarrow \text{OH}^-$	8.
$e_{\text{aq}}^- + \text{H}_3\text{O}^+ \rightarrow \text{H}\cdot + \text{H}_2\text{O}$	9.
$e_{\text{aq}}^- + \text{H}\cdot \rightarrow \text{H}_2 + \text{OH}^-$	10.
$\text{H}\cdot + \text{H}\cdot \rightarrow \text{H}_2$	11.
$\cdot\text{OH} + \cdot\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	12.
$\cdot\text{OH} + \text{H}\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	13.
$\text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^- \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$	14.



15. ábra A víz radiolízisének három szakasza és a szakaszon során bekövetkezett legfontosabb reakciók [136].

2.4.2. Az AOP hatásmechanizmusa és a képződő termékek

Az AOP-kat Glaze et al. (1987) olyan vízkezelési eljárásként definiálta, amelyet szobahőmérsékleten és normál nyomáson hajtanak végre, erős oxidálószer in situ előállításán alapulnak, és az oxidálószerkeleg megfelelő koncentrációban vannak jelen a vizek hatékony dekontaminálásához [134][140]. Ezek a reaktív részecskék leggyakrabban szabad gyökök, amelyekben felelősek az oxidációs folyamatért (szuperoxid gyök anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peroxil gyökök ($\text{RO}_2^{\cdot}$), hidroxilgyök ($\cdot\text{OH}$), hidroperoxil gyök ($\text{HO}_2^{\cdot}$), singlet oxigén ($^1\text{O}_2$), hidroxidion (OH^-), szulfát gyök anion ($\text{SO}_4^{\cdot-}$); karbonát gyök ($\text{CO}_3^{\cdot-}$)) [141]. Hatásuk nem szelektív és nagy redoxpotenciállal rendelkeznek [142]. Közülük a hidroxilgyök redukciós potenciálja a legnagyobb ($E^\circ = 2,7\text{-}2,8\text{ V}$), így a leghatékonyabb oxidálószer a felsoroltak közül [142]. A szennyvíztisztítás szempontjából releváns reaktív oxidálószerkeleg redukciós potenciálja a 5. táblázatban látható.

A szennyező anyagok oxidációja során a kiindulási vegyületek kis molekulatömegű szerves savakká bomlanak. Ezek a biológiailag lebomló vegyületek további oxidáció során teljesen mineralizálódnak, azaz H_2O , CO_2 és különböző szervesetlen vegyületek képződnek, mint végtermék. Ezek a szervesetlen vegyületek hagyományos kezelési módszerekkel kezelhetők, illetve eltávolíthatók a közegből, végül csak H_2O , CO_2 marad, ami a szennyezett közeg teljes mineralizálódását jelenti [143]. Valójában a teljes mineralizáció elérése igen nehéz, és nem is cél, hiszen a mikroszennyezők olyan mértékű átalakulása, amely biológiailag bonthatóvá teszi

a termékeket már elegendő. Természetesen a végső cél a gyakorlatban a technológiai konfiguráció függvénye.

5. táblázat A szennyvíztisztítás szempontjából releváns reaktív oxidálószer redukciós potenciálja [135][141][144][145].

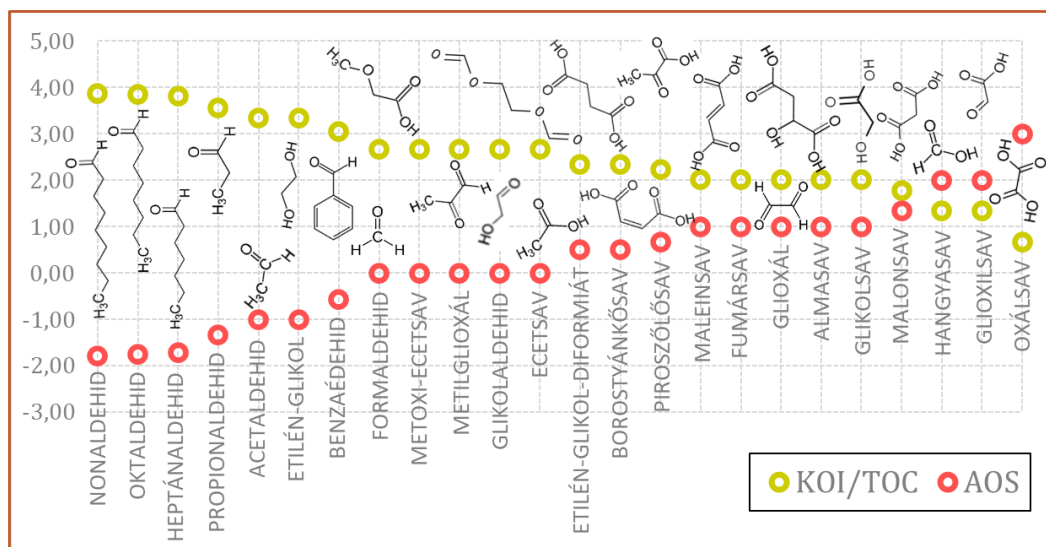
OXIDATÍV MOLEKULA/VEGYÜLET	REDUKCIÓS POTENCIÁL (E°, V)
Fluor (F ₂)	3,03
Hidroxil gyök (•OH)	2,7-2,8 (savas közeg); 1,9
Szulfát gyökkanion (SO ₄ • ⁻)	2,5 – 3,1
Szinglet oxigén (¹ O ₂)	2,42
Klór gyökkanion (Cl ₂ • ⁻)	2,09
Ózon (O ₃)	2,07; 1,01 (pH =11-12)
Perszulfát (S ₂ O ₈ ²⁻)	2,1
Hidrogén-peroxid (H ₂ O ₂)	1,78; 0,46 – 0,87 (pH = 7)
Oxid gyökkanion (O• ⁻)	1,78
Permanganát (MnO ₄ ⁻)	1,7
Klór-dioxid (ClO ₂)	1,5
Szuperoxid gyök (O ₂ • ⁻)	1,0
Perhidroxil gyök (HO ₂ •)	0,79; 1,5
Klór (Cl ₂)	0,42 – 0,60
Hipoklórossav (HClO)	0,04 – 0,46

Az AOP alkalmazása, vagyis a különböző mikroszennyezők oxidatív lebomlása során keletkező egyszerű szerves és szervesetlen melléktermékek az alapvegyület szerkezetétől függően változnak: aldehidek, alkoholok, karbonsavak/karboxilsavak, szervesetlen vegyületek. *A leggyakoribb melléktermékeket az 16. ábrán foglaltuk össze, kiegészítve a molekulaszerkezetükkel.*

Mivel oxidációs eljárásokról van szó, a termékek oxidációs állapotának nyomonkövetése sok információt hordoz és stabil viszonyítási pontot nyújt a kémiai adatsorok értékeléséhez [143] [146].

A szerves molekulák átlagos oxidációs állapotát (AOS) a $AOS = 4 (TOC - KOI) / TOC$ egyenlet segítségével [147] kapjuk meg A KOI és a TOC mol dm⁻³ O₂ és mol dm⁻³ C egységekben van kifejezve. Az AOS értéke -4 (CH₄) és +4 (CO₂) között változhat (dimenzió nélküli szám). Ez a paraméter szerves vegyületek szénatomjainak oxidációs fokát tükrözi.

Minél oxidáltabbak a szerves molekulák, annál nagyobb AOS értéket kapunk eredményül. A formaldehid és az ecetsav AOS értéke 0, a hangyasavé +2, az oxálsavé +3 [148].



16. ábra Az AOP módszerek alkalmazása során képződő szerves melléktermékek/végtermékek oxidációs állapota ([149][150][151][152][153][154] alapján).

A **KOI/TOC** arány ugyancsak a szerves molekulák oxidációs állapotát jelzi és értéke az oxidáltsággal csökken, tehát az AOS-sal ellentétesen változik. Az erősen oxidált oxálsav KOI/TOC aránya 0,67, a hangyasavé 1,33, az ecetsavé 2,67, míg a teljesen redukált metáné (CH_4) 5,33 [60]. Mindkét értéket kiszámoltuk a leggyakoribb szerves AOP melléktermékekre. Az adatsorokat a 16. ábra foglalja össze grafikus formában.

2.4.3. Az AOP osztályozása

Az AOP az oxidáció módja alapján osztályozható. Az oxidáció a következő eljárásokon keresztül történhet:

- Kémiai eljárás (kémiai reagens és katalizátor használatával)
- Fotokémiai (napenergia/UV forrás felhasználásával)
- Elektrokémiai (elektromos forrás használatával)
- Szonokémiai (ultrahang segítségével) [134]
- Ionizáló sugárzás.

A **kémiai eljárások** közé olyan módszerek tartoznak, amelyek kémiai reagenset használnak az erős oxidálószer előállítására. A hidrogén-peroxid és az ózon a leggyakrabban használt reagens. Az oxidálószer többségét általában két eljárással állítják elő: a Fenton-eljárással és a peroxon-eljárással. A Fenton-reakció egy olyan katalitikus reakció, amelynél Fe^{2+} katalizátor hatására a hidrogén-peroxid hidroxilgyökké bomlik, és ehhez savas közegre ($\text{pH} = 2-3$) van

szükség. Optimális hőmérsékletet, nyomást és pH-t igényel a módszer az oxidálószer előállításához, ami korlátozza a szennyező anyagok lebontásában való széles körű alkalmazhatóságát [134][144]. Ipari szennyvizek toxikus szennyezőinek eliminálásánál alkalmazzák esetenként [155]. A gyakorlatban az ózonozás terjedt el leginkább.

Fotokémiai eljárások az UV-sugárzást egészítik ki erős oxidálószerekkel (O_3 , H_2O_2) és katalizátorral (Fe^{3+} , TiO_2). Ez növeli a hidroxilgyök hozamát, és így felgyorsítja a szennyező anyagok lebomlását. A gyakorlatban nem terjedtek el.

Az oxidálószer **elektrokémiai** előállítása környezetbarát **eljárás**, azonban a gyakorlatban nem alkalmazzák, elterjedésüket nagy energiafelhasználásuk gátolja [134].

A **szonokémiai módszerek** nagy intenzitású ultrahanggal (energiaforrás) állítanak elő oxidálószeret. Ez tulajdonképpen harmonikusan változó, nagy intenzitású nyomásteret jelent a folyadékban. A folyamatban 20–1000 kHz-es ultrahang hanghullámok hatására mikron méretű buborékok keletkeznek, amik klaszterekbe rendeződnek, majd a buborékok radiális pulzálásba kezdenek. Az oszcilláció során a kontrakció olyan nagy lehet (összeroppanás), hogy a buborékok belsejében a hőmérséklet elérheti a több ezer Kelvin fokot. A folyamat által a rendszerbe vezetett hatalmas mennyiségű hőenergia indukál kémiai reakciókat, ugyanis a vizet hidroxilgyökökre hasítja. A módszer kémiai reagensekkel vagy katalizátorokkal intenzifikálható [141][144][156][157]. Ezek az eljárások önmagukban, ipari méretben nem üzemeltethetők gazdaságosan [158].

Az **ionizáló sugárzás** alkalmazása a víz radiolízisén alapul, amelyet a 2.4.1. fejezetben részleteztünk. Nincs szükség adalékanyagokra (pl. katalizátor), és bármilyen hőmérsékletben, fázisban alkalmazható. A szennyvízkezelés gyakorlatában – nagyobb dózisteljesítményük miatt - az elektrongyorsítókat alkalmazzák néhány helyen [11][12][135].

2.4.4. Az eljárások során képződő termékek pozitív és negatív hatásai

Az AOP alkalmazásával a szerves mikroszennyezők biodegradációja fokozható. Egyrészt a komplex szerkezetű szerves molekulák felépítése egyre egyszerűbbé, a mikroorganizmusok számára is hozzáférhetőbbé válik [159][160][161][162][163]. Másrészt a különböző mikroszennyezők oxidatív lebomlása során többek között sok olyan alifás sav képződik, amely a sejttanyagcsere általánosan elterjedt természetes eleme: maleinsav, almasav, piroszőlősav, glioxilsav és oxálsav. **Emellett a denitrifikációnak kedvező egyszerű szerves savak (ecetsav, hangyasav) is megjelennek a termékek között. Nem meglepő tehát, hogy ezek az eljárások**

nemcsak egyszerűen biodegradációt segítik a nehezen bontható komplex szerves molekulák roncsolásával, hanem a metabolikus útvonalak mellett a kometabolikus lebontási útvonalakat is erősítik megfelelő szubsztrát biztosításával. A leggyakoribb melléktermékek a 16. ábrán láthatók.

Az **ózonozás** utáni toxicitás növekedését figyelték meg több kutatás során, amely fiatal szivárványos pisztrángok (*Oncorhynchus mykiss*) elhullásához és fejlődésének késleltetéséhez vezetett [164], illetve Lumbriculus nemzetségbe tartozó kevéssejtű gyűrűsférgek szaporodásának gátlásához [165]. Okozott zebraakagylók (*Dreissena polymorpha*) esetében mortalitás (elhalálozás) növekedést [165], és a békalencse (*Lemna sp.*) növekedésének gátlását [166] is megfigyelték. Az ózonozás utáni genotoxikus és mutagén potenciál növekedéséről is beszámoltak [165][167]. Ezeket a hatásokat az ózonozás során képződő mérgező oxidációs melléktermékeknek, például **aldehideknek** tulajdonították, amelyek homokszűrés után eltávolíthatók voltak. Ezzel ellentétes eredmények is születtek, amelyek az ózonozás során a toxicitás csökkenését mutatták ki [168][169][170]. A gondos tervezés kulcsfontosságú az AOP eljárásoknál, így az ózonozási eljárásnál is. A hosszabb reakcióidő elősegíti a labilis köztes termékek lebomlását [10][171]. Az aldehidek és **karbonsavak** képződése ózonozáskor jól ismert. A karbonsavak biológiailag könnyebben bonthatók. A természetes szerves anyag ózonozásának fő azonosított termékei a hangyasav, ecetsav és oxálsav (és oxalátok), valamint számos ketosav (pl. piroszőlősav, glioxálsav, ketomalonsav) [172]. Az AOP alkalmazása során nagyon gyakran megjelenő toxikus melléktermékek közé tartoznak a nitrocsoporthoz tartozó kémiai vegyületek (**nitrotermékek**) [173].

2.4.5. A biológia és kémiai vizsgálati módszereket befolyásoló reakciótermékek

A víz radiolíziséből származó H_2O_2 két okból kifolyólag is torzítja a biológiai vizsgálatok eredményeit. Egyrészt toxikus az élő szervezetekre nézve bizonyos koncentráció felett. Másrészt a peroxo kötés ($-\text{O}-\text{O}-$) kötési energiája nem nagy, ezért a hidrogén-peroxid erősen bomlékony. Bomlásakor hőfejlődés közben víz és oxigén keletkezik:



A hidrogén-peroxidból nemcsak spontán módon, hanem a szerves anyagokkal reakcióba lépve is oxigén szabadul fel (abiotikus), de enzimatisz folyamatokon keresztül (biotikus) is végbemegy hasonló folyamat [174]. A kataláz enzimek a hidrogén-peroxidot oxigénné és vízzé bontják [26].

Mivel az abiotikus és a biotikus reakciók során is oxigén szabadul fel, így az összes olyan vizsgálat, amely oxigénkoncentráció mérésén alapul, hibás eredményeket szolgáltat hidrogén-peroxid jelenlétében. Erre az eltérésre már a KOI vizsgálatokkal kapcsolatban felhívták a figyelmet több cikkben, sőt, kalibrációs görbéket is felállítottak erre a mérésre [175][176][177]. A hidrogén-peroxid oxidálószerrel – ebben az esetben a kálium-dikromáttal – lép reakcióba pozitív hibát okozva a KOI vizsgálatnál [177].

2.5. A gyógyszermaradványok eltávolítása a szennyvízből

Ebben a fejezetben a szennyvíz gyógyszermaradványainak eltávolításáról lesz szó részletesebben. A jelenlegi általános helyzetből indulunk ki, hogy áttekintő képet nyerjünk általában a különböző technológiák gyógyszer eltávolítási hatékonyságát illetően. Ezután konkrét példákat nézünk meg a már működő negyedik fokozatra, és végül a biológiai eltávolításban rejlő lehetőségeket tekintjük át.

2.5.1. A különböző technológiák hatékonysága

A hagyományos szennyvíztisztítási technológiában a gyógyszerek eltávolítása általában nem teljes és a hatékonysága is változó. Néhány gyakori gyógyszervegyület esetében 12,5% és 100% között mozog. Ennek oka főként a gyógyszerek sajátosságaiban (pl. hidrofóbitás, biológiai bonthatóság) és kis koncentrációjukban keresendő, amely az eltávolításukat a legtöbb esetben megnehezíti. Ezért továbbra is kiemelt feladat marad a szennyvíztisztítás optimalizálása a mikroszennyező anyagok eltávolítására, amely szinte kizárólag csak negyedik fokozat telepítésén keresztül valósítható meg. A biológiai kezelés általában nem képes eltávolítani a poláris perzisztens mikroszennyezőket. Hatékonysága azonban kedvező feltételek mellett (pl. kiterjesztett SRT és HRT, megfelelő hőmérséklet és a redox körülmények finomhangolása) javítható.

Az AOP, az adszorpciós eljárások és a különböző membrántechnológiák ígéretes alternatíváknak bizonyulnak, de két fontos problémával kell szembe nézni ezekkel kapcsolatban: a magas üzemeltetési költségek, valamint a melléktermékek és koncentrált maradékanyagok képződése [178].

2.5.2. Ami a gyakorlatban is működik – változatok a negyedik fokozatra

Az AOP-t előnyben részesítik más módszerekkel szemben, mivel környezetbarát technológiák. A melléktermék képződés minimalizálható. Nem visznek át szennyező anyagokat egyik fázisból a másikba, mint például akkor, amikor a különösen veszélyes, erősen szennyezett

gyógyszeripari szennyvizet égetéssel semmisítik meg. Nem termelnek veszélyes iszapot a szennyező anyagok kezelése során, mint a membrántechnológiák során. A kiszűrt, erősen toxikus szennyeződést (szűrletet) kezelni kell. Az egyéb (nem AOP) technológiák, sok esetben hatástalannak bizonyultak a mikroszennyezők eltávolításában, míg az AOP olyan szennyvizek kezelésére is alkalmasak, amelyek nagy mennyiségű szerves anyagot tartalmaznak, és kis pH-értékük miatt nem lehet azokat biológiai módszerekkel kezelni [179]. A membrántechnológiákkal ellentétben az AOP nem koncentrálja a hulladékot, szükségessé téve egy további kezelési lépést. Más folyamatokkal kombinálva is használható az AOP, és bizonyos esetekben az energiafogyasztása is kedvező [180]. Ezen felül még az AOP (különösen a nagyenergiájú ionizáló sugárzás) alkalmas a másodlagos kezelés során el nem távolított kórokozók inaktiválására is [179].

Az AOP-knek az előnyök mellett számos hátrányuk is van. Az egyik fő probléma az, hogy nem minden folyamat méretezhető az ipari igényekhez. A másik pedig, hogy a hagyományos módszereknél nagyobb tőke- és működési költségek jellemzik. Ugyancsak jelentős hátrány lehet, hogy egyes esetekben az oxidálószer koncentráció ellenőrzése és a pH korrekció kontrollja elkerülhetetlen, valamint a folyamat korlátai szintén a pH-változásokhoz is kapcsolódhatnak (részecskék aggregációja, a heterogén katalizátorok felületi tulajdonságainak módosítása) [180].

Németország és a „Reine Ruhr” program

A Ruhr-vidék több mint 5 millió embert lát el ivóvízzel. Ugyanakkor a Ruhr-vidék elnyeli egy erősen iparosodott, több mint 2 millió lakosú régió szennyvizét. A szennyvizet főként a Ruhr- és mellékfolyóinak középső folyásába vezetik. Az ivóvízellátáshoz szükséges vizet azonban elsősorban a Ruhr alsó folyásáról veszik. 2008-ban Észak-Rajna-Vesztfália tartomány elindította a **„Tiszta Ruhr” programot („Reine Ruhr”)**, amely keretében 2018-ra bevezették a mikroszennyezők csökkentését szolgáló technológiákat. Az érintett szennyvíztisztító telepek változatosan alkalmazták a rendelkezésre álló eljárásokat, így ózonozás, ózon + PAC (aktívszén por), membrántechnológia, membrán bioreaktor (MBR), MBR + UV, MBR + membrántechnológia, PAC, PAC + membrántechnológia, UV egyaránt szerepel a repertoárban [181][182][183][184][185].

A **kölner AdOx projekt** keretein belül **2017** óta sikeresen alkalmazzák a granulált aktív szén (GAC) és az ózonos oxidáció kombinációját [186][187].

Japán és az ózonos kezeléssel reciklizált vizek

Az ózonozás nagyon elterjedt technológia Japánban, bár nem a mikroszennyezők eltávolítását szolgálja eredendően. 1990 óta a települési szennyvíztisztításra szolgáló ózonos létesítmények száma nagyon jelentős növekedést mutat. Az ózon használata a tisztított szennyvíz újrafelhasználásához, illetve a végső kibocsátásához szükséges [188][189].

Scájc mintaértékű nemzeti programja

A 2016-ban elkészült új vízügyi szabályozásnak megfelelően Svájcban 2040-ig 750-ből 120-130 szennyvíztisztító esetén építik ki a mikroszennyezők eltávolítási fokozatát. A fejlesztésre kerülő szennyvíztisztítók kiválasztásánál elsődleges szempontként szerepelt az érzékeny víztestek védelme. Ezek a nagy szennyvíztisztító telepek az összes szennyvíz több mint 10%-át kezelik. Az ózonozás mellett az aktív szén technológia két formája (PAC, GAC) szerepel alternatívaként [190][191][192].

Kanada – a világ legnagyobb ózonozó technológiája

Montrealban 2008-ban jelentették be, hogy **Montreal lesz az első metropolisz a világon, amely ózonozással fertőtleníti az összes szennyvizét** Az ózonos technológiával kiegészített szennyvíztisztító telep 2024 decemberében nyílik meg, hat évvel később az eredeti tervekhez képest és háromszoros áron [188][193].

Ázsia elektronágyú

Az ózonozás és aktívszenes szűrés mellett az **elektrongyorsító (Electron Beam, EB)** a másik nagyhatékonyságú oxidációs eljárás, amit a gyakorlatban is alkalmaznak. Jelenleg még nagy beruházási, de viszonylag kis üzemeltetési költséggel működnek elektrongyorsítók elsősorban Ázsiában. Ez a néhány, jól működő ipari üzem bizonyította az EB-technológia életképességét mind környezetvédelmi, mind gazdasági szempontból.

Említést érdemel a **voronyezsi szintetikus gumigyár (Oroszország)** szennyvíz-rehabilitációs üze me, ahol két elektrongyorsító (0,7-1 MeV energia és 50 kW teljesítmény) akár napi 2000 m³ szennyvizet képes kezelni. A biológiailag le nem bomló Nekl (C₁₆H₁₉O₃S⁻; CAS No. 12653-75-7) emulgeálószer biológiailag lebomló formává alakítják az eljárás segítségével.

Dél-Koreában, **Daeguban** (Daegu Dyeing Industrial Complex, DDIC) 2005 decemberében helyeztek üzembe egy 10.000 m³/nap kapacitással működő EB kezeléssel kombinált szennyvíztisztítót. 1 MeV - 400 kW -os gyorsítóval kombinált biológiai tisztítási eljárással kezelik az erősen szennyezett szennyvizet. Az elektronsugár alatt vezetik el a szennyvizet

filmrétegszerűen. A gyorsított elektronok behatolási mélysége az energiájuktól függ. 1–2 MeV-nál nagyobb gyorsítóenergiát általában nem alkalmaznak, így nem hatolnak nagyon mélyen a vízbe a gyorsított elektronok (néhány milliméter) [135][194].

A dél-kínai Jiangmen városban a **Guanhua Knitting Factory** napi 30 ezer m³ textilipari szennyvizének tisztítására alkalmas szennyvízkezelő rendszert hozott létre. Ehhez a kapacitáshoz 7 elektrongyorsítót telepítettek [12].

2.5.3. A biológiai eltávolítás esélyei

A tartózkodási idő jótékony hatását a mikroszennyezők eltávolítására több cikk és tanulmány is jelzi [178]. A nitrifikáló baktériumok lassan szaporodnak és növekednek, ráadásul gyenge pehelyképzők, így gyorsan kimosódhatnak az eleveniszapos rendszerből alacsony iszapkor/ rövid iszap tartózkodási idő (sludge retention time, SRT) esetén. Ha nitrifikáló rendszert szeretnénk fenntartani, akkor a legalább 8 napos iszapkor ajánlott [25], amely a gyakorlatban az üzemhőmérséklettől függően 7-10 nap. Tehát a hosszú tartózkodási idő / nagy iszapkor valójában a nitrifikálók arányát növeli és a kometabolizmusukon keresztül gyakorol jótékony hatást a mikroszennyezők eltávolítására [110][178]. Felvetődött annak a lehetősége is, hogy a hosszú tartózkodási idő a biomassa diverzitását növeli, így közvetve is képes a kometabolizmus hatékonyságát javítani, de ez az összefüggés nem igazolódott egyértelműen. Azonban a nitrifikáló és heterotróf biomassa kombinációjáról bebizonyosodott, hogy javítja az mikroszennyezők biotranszformációját és csökkenti az átalakulási termékek felhalmozódását a nagyobb mikrobiális diverzitásnak és a nem specifikus enzimek szélesebb körű expressziójának köszönhetően [110].

3. AZ IRODALMI HÁTTÉR ÖSSZEFOGLALÁSA

A szennyvíztisztítás technológiai lépéseit jelenleg három általánosan elterjedt fokozatra soroljuk. Az I. fokozat (elsődleges tisztítás) a mechanikai tisztítás, amelynek során elsősorban a durva, nem oldott szennyeződések távolítják el. A **II. fokozat (másodlagos tisztítás) a biológiai tisztítás**, amelynek során a megmaradó lebegő szervesanyagnak, valamint az **oldott és kolloidális szerves szennyezőknek a lebontása, biológiai transzformációja** zajlik. Ennek két alapvető formája **szuszpendált (eleveniszapos)** és a **fixágys („biofilmes”)** rendszer. A III. fokozat (harmadlagos tisztítás) fizikai-kémiai, illetve biológiai utókezelési technológiák halmaza.

A **szerves mikroszennyezők** a hagyományos szennyvíztisztítási eljárásokkal nem, vagy csak részben távolíthatók el a szennyvízből, ezért az elmúlt két évtizedben joggal épült fel a társadalmi és szakmai igény egy újabb fokozat kialakítására. A **IV. fokozat (negyedleges tisztítás)** célja a szerves mikroszennyezők (antibiotikumok, növényvédő szerek, hormonok, kozmetikai- és testápolószerek, biszfenolok, poliklórozott bifenilek stb.) terjedésének csökkentése, mivel ezek jelenléte a felszíni vizekben az emberi egészségre és a vízi környezet biodiverzítására nézve is gondot okozhat. Az **antibiotikum-rezisztencia (AR)** gének jelenléte a szennyvízben, illetve ennek következtében a **multirezisztens (MR) törzsek** kialakulásának valószínűsége tovább erősítette az igényt a IV. fokozat kiépítésére.

Az utóbbi évtizedekben kidolgozott és gyors ütemben fejlődő nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (**Advanced Oxidation Process, AOP**) ígéretes, hatékony és környezetbarát módszereket jelentenek, és már jelenleg is több helyen alkalmazzák – főként Európában és Ázsiában – IV. fokozatként. Ez a technológiai csoport különböző in situ gyökgenerálási folyamatokon keresztül előállított **szabadgyökök, erős oxidálószer** segítségével roncsolja a szerves molekulákat, ezzel elősegítve degradációjukat. Az oxigénbefogással képződő átmeneti peroxi-gyökökön ($\text{ROO}^\bullet$) és peroxidokon (R-O-O-R) keresztül a szennyezők mineralizációja is megvalósítható. Ezek a módszerek kombinálhatók is a technológiai soron belül. Legelterjedtebb jelenleg az ózonozási eljárás. Az AOP módszerekhez sorolhatók a nagyenergiájú ionizáló sugárzást (Co-60 gamma, vagy gyorsított elektronok) alkalmazó módszerek is. Ez utóbbinak több képviselője van már ma is az ázsiai (Dél-Korea, Kína) régióban.

A hagyományos, **metabolikus** biológiai lebomlási folyamat során a szerves molekulák a mikroorganizmusok számára **növekedési szubsztrátként** szolgálnak egyrészt a sejtek

növekedéséhez és a szaporodáshoz, másrészt ezek **indukálják az enzimeket** az anyagszerkezet-folyamataikhoz. Azonban a nyers szennyvízben jelenlévő, a biológiai bonthatóság különböző fokozatait képviselő szervesanyagformák tömegéhez képest a mikroszennyezők, így a gyógyszerek mennyisége elenyésző. Ráadásul ezek a vegyületek gyakran perzisztensek, vagyis hosszútávon nem bomlanak számottevően, esetleg toxikusak is. Emiatt a **gyógyszermaradványok jelentős része nem képes egyedüli szén- vagy energiaforrásként, azaz növekedési szubsztrátként funkcionálni.**

Az enzimek szubsztrátkötő helye gyakran nem köti kémiaiilag szorosan a szubsztrátot, így hasonló kémia karakterű vegyületeknek lehetősége nyílik arra, hogy alternatív szubsztrátként kötődjenek az enzimen. A **kometabolizmus** jelensége ezen alapul. Egy olyan véletlenszerű folyamat, amikor az enzim tulajdonképpen hibázik, elvéti a természetes szubsztrátját. **Az idegen szubsztrátot (kosubsztrát) hasznosítani nem tudja a sejt, de az enzim egy kémiai műveletet végrehajt rajta.** Ehhez a folyamathoz azonban valamilyen növekedési szubsztrát jelenléte elengedhetetlen, ami tulajdonképpen a hibát vétő enzim természetes szubsztrátja. Tehát a kometabolizmus olyan biotranszformációs folyamat, ahol az átalakított anyag sem energiatermelésre, sem sejtfelépítésre nem alkalmas.

A gyógyszermaradványok eliminációjában két olyan mikroorganizmus csoport is jelentős szerepet játszhat, amelyek a nitrogéneltávolítás kulcsfontosságú résztvevői. A **nitifikáló szervezetekkel** gyakran foglalkozik a szakirodalom és jelentőségüket a szennyvízben megjelenő gyógyszerek **autotróf kometabolikus átalakításában** már bizonyították. Fontos enzimünk az **ammónia-monooxigenáz (AMO)**. A denitifikáló baktériumok által végzett **heterotróf kometabolizmus** jelentőségét nem tárták még fel ilyen alaposítással. A denitifikáló baktériumok funkcionális halmazába tartoznak a **metilotróf baktériumok**, amelyek **metán-monooxigenáz (MMO) enzimének** jelentősége a kometabolizmusban más területeken igazolt. **A szennyvíztisztításban jelentőségüket még nem tárták fel. Továbbá a szennyvízkezelésben a kometabolizmus hatékonysága, illetve elterjedtsége (a gyógyszerek köre, amelyek esetében működik) sem tisztázott még.**

A kevésbé kutatott denitifikációs kometabolizmus esetében elengedhetetlen a megfelelő mennyiségű, **könnyen hasznosítható szerves szubsztrát (rbKOI)** jelenléte, amely a szennyvíztisztító telepek jelentős hányadában nem áll rendelkezésre. Ezt hagyományosan belső és külső forrásból is pótolhatják. Belső forrásként hidrolizált eleveniszapot, külső forrásként egyszerű szerves vegyületeket (esetsav, etanol, metanol), bonyolultabb szerkezetű, tiszta vegyületeket (keményítő), ipari szennyvizeket, fermentációs csurgalékvizet, mezőgazdasági

hulladékanyagokat (rizsszalma) és gáznemű szénforrásokat (metán, csak közvetett forrás) alkalmaznak. **A könnyen hasznosítható szerves szubsztrátok körét, illetve azok különböző hatását a kometabolizmusra még nem mérték fel a szennyvíztisztítás területén.**

Az iszapkezelés részeként működő **sűrítési és víztelenítési lépéseknél** többféle **csurgalékvíz** keletkezik. Az anaerob közegben (rothasztók, fermentálók, hulladéklerakók) zajló hidrolízis során sok egyszerű szerves molekula (**illósavak, volatile fatty acids VFA**) képződik, amely **könnyen fogyasztható a denitrifikálók számára**. Ezek az egyszerű szerves savak nem közvetlenül az óriásmolekulák (fehérjék, cellulóz stb.) enzimatis bontásából származnak, hanem a lebontást végző biomassza anyagcseretermékei (savképződés). Nevezhetjük fermentációnak (erjedés) is a folyamatot. Az illósav frakció az rbKOI része, és olyan vegyületek alkotják, mint az **ecetsav, a propionsav, a vajsav, valeriánsav**. Általánosságban 2-6 szénatomszámú (**C2-C6**) molekulák. A denitrifikáló szervezetek jellemző VFA preferenciája: ecetsav > vajsav > propionsav > valeriánsav. **Nem kutatott terület a csurgalékvizek hasznosítása a kometabolizmus intenzifikálására.**

A denitrifikáció hajtóerejét jelentő rbKOI más úton is megtermelhető. Az AOP működésük során szintén szolgáltatnak egyszerű szervesanyagforrást, így segíthetik a heterotróf kometabolizmust. A szerves és szervetlen melléktermékek az alapvegyület szerkezetétől függően változnak: **aldehidek, alkoholok, karbonsavak/karboxilsavak, szervetlen vegyületek**. Tehát az AOP hatása kettős, hiszen a gyógyszermolekulák szerkezetét megbontják, így megfelelő dózis alkalmazásával a molekulákat hozzáférhetővé teszik a mikroorganizmusok számára, és lehetőséget adnak a biotranszformációra. Emellett a kometabolizmushoz megfelelő rbKOI képződik az alkalmazásuk során. Az AOP hatása a biológiai bonthatóságra a kutatók egy szűk csoportja által vizsgált terület, de **az AOP kometabolizmust intenzifikáló hatásával még nem foglalkoznak.**

Ugyanakkor káros melléktermékek is képződnek az AOP működése során. A legfontosabb talán a H₂O₂, amelyből biotikus (kataláz enzim) és abiotikus bomlás során szabadul fel oxigén. Ez utóbbi az oxigénkoncentráció mérésén alapuló vizsgálatokat ellehetetlenítheti. **A hibát, amelyet a hidrogén-peroxidból felszabaduló oxigén okozhat az eredményekben egyelőre csak KOI méréseknél kutatták, a BOI vizsgálatokra és légzéstartesztokra gyakorolt hatását még nem térképezték fel részletesen.**

4. CÉLKITŰZÉS

A kutatásaim során a szennyvíztisztításban a **kometabolizmus intenzifikálásának** lehetőségeit vizsgálom. Ennek során felmérem majd ennek a jelenségnek a **rövid és hosszútávú hatásait** a gyógyszermolekulák biotranszformációjában. A rövidtávú hatásokat **légzéstesztek**, a hosszútávúakat **BOI mérések** segítségével vizsgálom.

A kometabolizmus nitrifikáló baktériumok esetében igazolt, és alaposan kutatott terület, ezért én a mikroorganizmusok másik nagy csoportjára, a szervesanyagfogyasztó baktériumokra (**heterotróf**) fókuszálok majd. Közülük kiemelten kezelem a szennyvíztisztításban kevésbé kutatott csoportot, a **metilotróf baktériumokat**, amelyek a külső forrásként metanollal táplált denitrifikáló rendszerekben jelennek meg nagyobb számban.

A **heterotróf kometabolizmus**hoz szubsztrátként főként egyszerű szerves vegyületeket (szerves savak, alkoholok) használok. A szennyvíztisztító rendszer különböző pontjain képződő **csurgalékvizek jelentős VFA tartalmuknak** köszönhetően megfelelő támogatói lehetnek a kometabolizmusnak, ezért több csurgaléktípus (centrifuga csurgalék, gravitációs sűrítő csurgalék) kometabolizmusra gyakorolt hatását tervezem tesztelni. Az ugyancsak jelentős VFA-tartalmú előülepített szennyvizet is alkalmaztam szénforrásként a kíséretekhez. A csurgalékvizek és az előülepített szennyvíz esetében ezek desztillátumát használok majd, amely csak illósav komponenseket tartalmazza.

14 gyógyszervegyületen keresztül felmérem a **kometabolizmus elterjedtségét** (a gyógyszerek köre, amelyek esetében működik) a szennyvíztisztításban, illetve **kometabolizmus hatékonyságát** diklofenák esetében (metilotróf biofilm).

Az **AOP hatását a biológiai bonthatóságra** több olyan gyógyszer esetében vizsgálom majd, amelyek még hiányoztak a szakirodalomból (oxacillin, kloxacillin, tetraciklin és klórtetraciklin). A modellezéshez 0,5; 1; 2; 4 kGy dózisú γ -radiolízist használok. Az **AOP kometabolizmust intenzifikáló hatását** szulfametoxazol és diklofenák (koszubsztrátok) esetében tesztelem, többféle szubsztrát adagolása (ecetsav, metanol, etilén-glikol) mellett. Tervezem az AOP alkalmazása során képződő **hidrogén-peroxid BOI vizsgálatokra és a légzéstesztekre gyakorolt hatásának felmérését**, hiszen jelentősen befolyásolhatják a vizsgálatok eredményét.

A kísérletek során az alábbi – a 17. ábrán kérdésmátrix formájában is megjelenített - kérdésekre keresem a választ.

1. KOMETABOLIZMUS

1.a - Milyen szubsztrátokat tud hasznosítani a mikroorganizmus közösség (eleveniszap és biofilm)? Ezek a szubsztrátok indukálják az enzimeket.

1.b - Valóban működik a kometabolizmus a szennyvíztisztítás mikroorganizmus közösségével?

1.c - Mennyire elterjedt/gyakori jelenség a kometabolizmus (minden gyógyszer esetében működik)?

1.d - Mennyire hatékony a kometabolizmus (gyógyszer eltávolítási hatékonyság)?

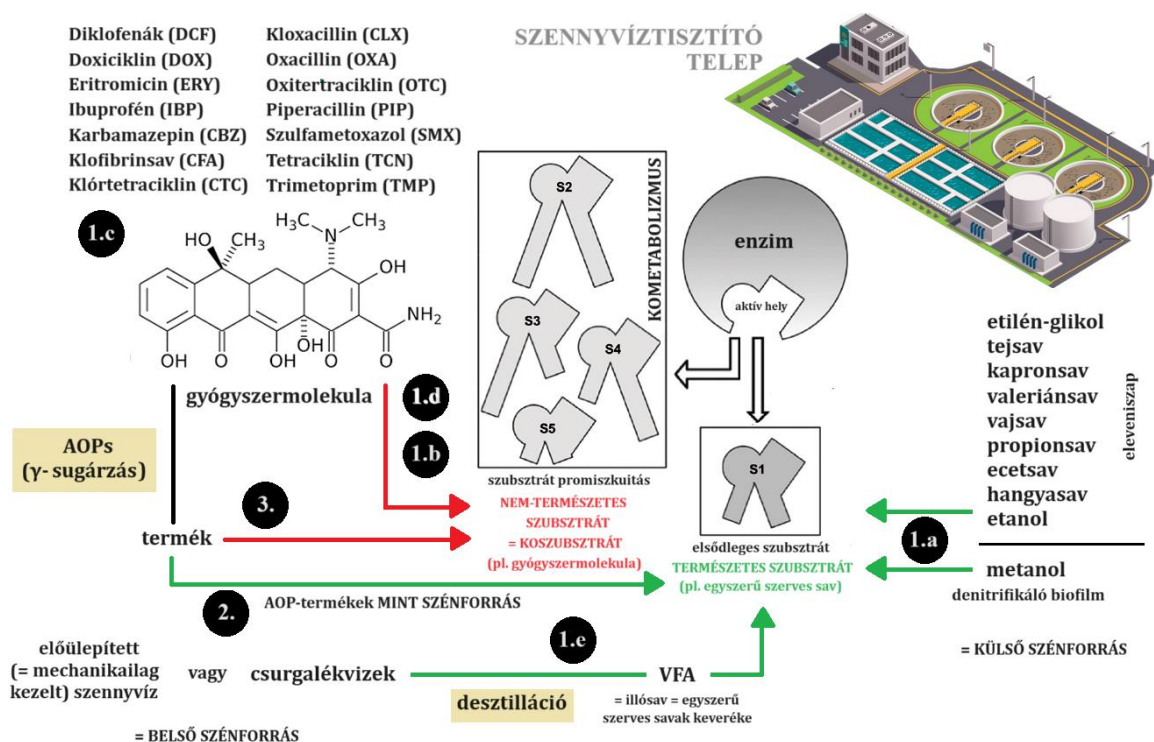
1.e - Belső szénforrások előidézik a kometabolizmust? (indukálják az enzimeket)

2. AOP

Hogyan változik a gyógyszerek biológiai bonthatósága AOP kezelés hatására?

3. AOP+KOMETABOLIZMUS

Az AOP-vel kezelt gyógyszerek (koszubsztrát) bonthatósága hogyan változik szubsztrát jelenlétében?



17. ábra A kísérletsorozat vázát képező kérdésmátrix

5. A KÍSÉRLETEK FELÉPÍTÉSE

Az **előtesztek** a kísérletek megfelelő beállítását szolgálták. A méréssorozatok során használt összes komponens (szubsztrát, gyógyszer = koszubsztrát, oltóanyag) adagolását optimalizálni szükséges. Így meghatároztuk: a szubsztrát optimális mennyiségét, a biomassához viszonyított arányát (terhelés) és az optimális gyógyszerdózist (toxicitásteszt). Kiválasztottuk a megfelelő oltóanyagot és a γ -radiolízis során képződő hidrogén-peroxid zavaró hatását is felmértük.

A kometabolizmus, illetve az AOP **rövidtávú hatásait** a gyógyszerek biológiai transzformációjára légzéstesztekkel vizsgáltuk. A légzéstesztek 1-3 órán keresztül monitorozzák az oxigénfogyasztást, így a rbKOI frakcióról nyerhetünk információkat.

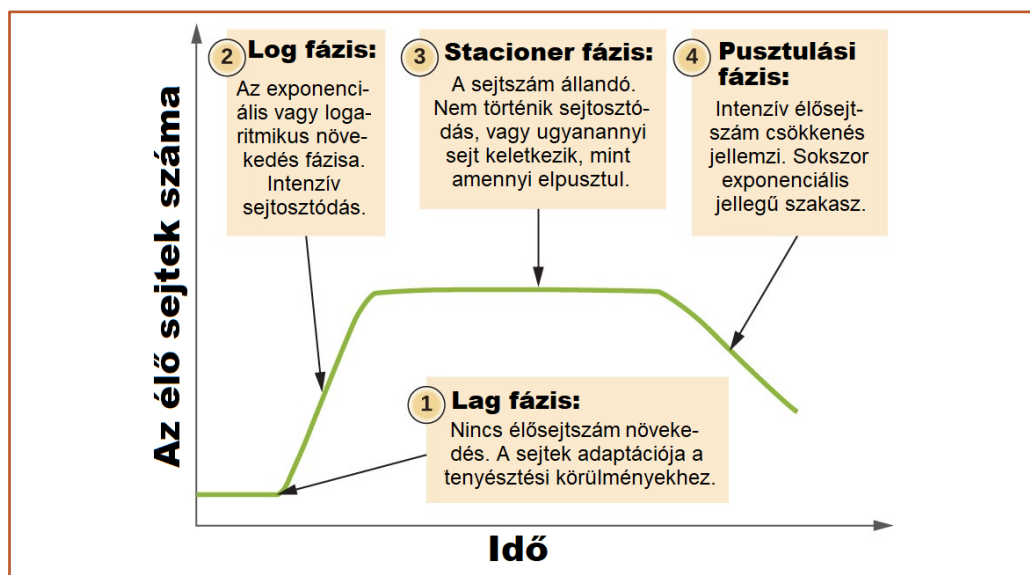
A **hosszútávú hatásokat** 5 napos biokémiai oxigénigény (BOI₅) vizsgálatokkal ellenőriztük. Mivel a kísérleteink során a biotranszformáció változását vizsgáltuk kometabolizmus és/vagy γ -radiolízis hatására, így a standard 5 napos eljárás elegendő volt.

A két tesztípus közötti különbség nem csak az alkalmazott felszerelésben és a vizsgálatok időintervallumában keresendő, az oltóanyag csíraszám is jelentősen eltér. A légzésvizsgálatok esetében közvetlenül az eleveniszapot használunk oltásra, a BOI₅ vizsgálatoknál az eleveniszap szűrletét. Így a **légzéstesztek** kiindulási **összcsíraszám**a (a 22°C-on növvő heterotróf aerob baktériumok száma) **10⁴ CFU cm⁻³** nagyságrendet képvisel, míg a **BOI₅ vizsgálatok** csupán **10² CFU cm⁻³** érték körül mozognak. Az öt napos tesztek során természetesen a baktériumok felszaporodnak az elfogyasztott tápanyagon és **10⁶ CFU cm⁻³ összcsíraszám**mal **zárul a vizsgálat, de egy-két napig még jól bontható minták esetében sem közelítik meg a légzéstesztek baktériumszámát** [143]. *(ld. 7.1. A rövidtávú hatások felmérése, illetve 7.2. A hosszútávú hatások felmérése fejezetek)*

A légzéstesztek rövid mérési időintervalluma alatt (2-3 óra) a baktériumok nem feltétlenül szaporodnak. Ezzel ellentétben a BOI₅ vizsgálatok során bőven van idő a szaporodásra, ha a felkínált szervesanyag megfelelő a baktériumok számára. *Valójában a BOI-görbe jellegzetes alakja is a baktériumok szaporodásgörbét követi le, amelyet a 18. ábra szemléltet* [20][26].

Vannak olyan változások tehát, amelyek egy baktériumgeneráción belül lezajlanak. Gyors és összehangolt váltásokra képesek egyes mikroorganizmusok mind az anyagcserében, mind a viselkedésben. Ezt a jelenséget **akklimatizáció**nak nevezzük [195][196]. Ilyen az induktív enzimek termelése is, amely a bakteriális anyagcsere idomulása a környezetben megjelenő újfajta szervesanyaghoz. Az **adaptáció** folyamata már nem egyéni esemény, hanem

populációs/közösségi szinten értelmezhető. Ehhez már a baktériumok szaporodására is szükség van, hogy generációról-generációra megtörténhessen a változás. Tehát a fajösszetételben történik eltolódás. Míg a rövid légzéstesztek során csupán akklimatizációs folyamatok zajlanak, addig az ötnapos BOI vizsgálatok már az adaptációs folyamatoknak is teret adnak [197].



18. ábra Baktériumtenyészetek szaporodásgörbéje [26].

A két vizsgálat alapvetően mást mutat számunkra. A 2-3 órás légzéstesztek a gyorsan bontható KOI (rbKOI) lebontását tükrözik és a levegőztetőmedencékben zajló folyamatokat modellezzik. Ezzel szemben a BOI₅ vizsgálatok során a lassan bontható KOI-frakció (sbKOI) is sorra kerülhet, hiszen 5 napig tarjuk az üvegeket optimális körülmények között. Miközben a baktériumok összcsíraszama 10^2 értékről négy nagyságrendet ugrik és eléri a 10^6 értéket, az rbKOI és az sbKOI egy része is tápanyagforrássul szolgál.

A BOI₅/KOI-arány a biodegradációs maximumot mutatja, amely a teljes szennyvíztisztítási folyamat során elérhető. Az arányszám közvetlenül utal a minta szervesanyag-tartalmának biológiai bonthatóságára, amely alapján a minta négy kategóriába sorolható: biológiailag nem bontható, lassan bontható, átlagosan, illetve gyorsan bontható. A kategóriákat és a hozzájuk tartozó arányszámokat a 6. táblázatban foglaljuk össze.

6. táblázat A BOI₅/KOI-arány és a szervesanyagok biológiai bonthatósága (biodegradáció) [198][199][200]

A SZERVES ANYAG BIOLÓGIAI BONTHATÓSÁGA

	nem bontható	nehezen bontható	átlagos	jól bontható
BOI/KOI	<0,2	0,2 – 0,4	0,4 – 0,5	0,5 – 0,8

A BOI₅/KOI-arány értéke és a BOI-görbék lefutása együttesen megmutatja, hogy a vizsgált minta milyen biodegradációs sajátosságokkal rendelkezik.

A fentiek figyelembevételével a M4. táblázatban foglaltuk össze a kísérletsorozatok logikai felépítését és a kémiai, biológiai kiegészítő mérések (KOI, TOC, HPLC, agar-diffúziós teszt, mikroszkópos analízis, mini-reaktoros kísérletek) illeszkedését a programba.

A kutatás előkészítésének fontos eleme volt a megfelelő **gyógyszerek kiválasztása**, amelynél több szempontot vettem figyelembe. A legfontosabb tulajdonság a kísérletek szempontjából a vízdoldhatóság. Ez tulajdonképpen feltétele a kometabolizmushoz kapcsolódó kísérletek elvégzésének, hiszen a szerves oldószerek könnyen bontható szubsztrátként (növekedési szubsztrát) szolgálnának a kometabolizmushoz, nem kontrollálható hajtóerőt szolgáltatva a jelenséghez. Ugyancsak fontos szempont volt az is, hogy minél szélesebb spektrumát vizsgáljuk a gyógyszereknek, így kialakítva egy általános képet arról, hogy a kometabolizmus mennyire elterjedt jelenség a szennyvízkezelés során. Természetesen főleg antibiotikumokat teszteltünk (antibiotikum rezisztencia), több antibiotikumcsaládból. Olyan gyógyszervegyület tesztelésére is szükség volt, amelyek esetében a nitrifikálók kometabolizmusa igazolt (ibuprofen), vagy éppen ellenkezőleg, amelyeknél nem működik (diklofenak, szulfametoxazol, karbamazepin, klofibrinsav) a szakirodalmi adatok alapján. A biológiailag nehezen eltávolítható vegyületek (diklofenak, karbamazepin, eritromicin), a közepes nehézséggel eltávolítható vegyületek (klofibrinsav, trimetoprim, szulfametoxazol) kiemelt jelentőséggel bírnak, mivel a hagyományos biológiai szennyvíztisztítás nem csökkenti hatékonyan a koncentrációjukat [9][178]. Tovább gyakran alkalmazott vegyületeket érdemes választani, amelyek jelentősebb koncentrációban jelennek meg a szennyvízben [201].

A kísérleti koncentrációk kiválasztási szempontjait a 7.1.1.1. és a 7.2.1. fejezetben tárgyaljuk részletesen, a koncentrációtartomány környezeti relevanciáit a 7. táblázat mutatja.

7. táblázat A vizsgált gyógyszerek legnagyobb környezeti koncentrációi [202] és a kísérleti koncentrációk

GYÓGYSZEREK (kísérleti koncentráció)	NYERS SZENNYVÍZ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	KÓRHÁZAK NYERS SZENNYVIZE ($\mu\text{g L}^{-1}$)	NYERS IPARI SZENNYVÍZ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
eritromicin (36,7 mg L ⁻¹)	23,10 Törökország	10,60 Ghána	7,84 Kína
diclofenac (14,8 mg L ⁻¹)	721,00 India	186,00 Pakisztán	228,00 Kína
ibuprofen (10,3 mg L ⁻¹)	2 109,88 India	980,00 Kanada	22 000,00 Kenya
karbamazepin (11,8 mg L ⁻¹)	442 080,00 India	12,00 Francia	575,00 Kanada
klofibrinsav (10,7 mg L ⁻¹)	61,00 Kanada	0,13 Olasz	- Szlovénia
klórtetraciklin (23,9 mg L ⁻¹)	1 780,00 Kína	0,79 Svédország	138,80 Kína
kloxacillin (21,8 mg L ⁻¹)	4,60 Ausztrália	- Ausztrália	- Kína
oxacillin (20,1 mg L ⁻¹)	0,17 Kenya	0,16 Kenya	- Kína
oxitetraciklin (23,0 mg L ⁻¹)	334 310,00 Kína	3,74 Norvégia	387,10 Kína
piperacillin (25,9 mg L ⁻¹)	2,60 Németország	- -	- -
szulfametoxazol (12,7 mg L ⁻¹)	309,00 Dél-korea	81,10 India	200 000,00 Kenya
trimethoprim (14,5 mg L ⁻¹)	209,85 USA	15,00 Ausztrália	27 680,00 Horvátország

6. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

6.1. Felhasznált anyagok

A kísérletekhez a következő gyógyszereket használtuk: eritromicin, oxacillin, trimethoprim, piperacillin, kloxacillin, oxitetraciklin, klórtetraciklin, doxiciklin, szulfametoxazol, diclofenák, ibuprofen, klofibrinsav, karbamazepin. Kiemelten kezeltük a szulfametoxazolt, a diclofenákot és a karbamazepint, amelyek a szakirodalmi adatok alapján a biológiailag legnehezebben lebontható gyógyszerek közé tartoznak [9][178]. *A gyógyszervegyületek pontos azonosításához szükséges adatok a beszerzési forrásokkal a M5. táblázatban láthatók.*

Szubsztrátként (GS = growth substrate) a következő egyszerű szerves vegyületeket alkalmaztuk: metanol, etanol, hangyasav, ecetsav, propionsav, vajsav, valeriánsav, kapronsav, tejsav, etilén-glikol. *A vegyületek pontos azonosításához szükséges adatokat a beszerzési forrásokkal a M6. táblázatban foglaltuk össze.*

A kémiai vízanalitikai vizsgálatokhoz a Molar Chemicals Kft-től vásároltuk a vegyszereket. Ugyancsak a Molar Chemicals Kft. forgalmazta a BOI mérésekhez használt vízmentes glükózt és glutaminsavat, valamint a sóoldatok és a puffer vegyszereit. Az N-Alliltiokarbamid a Sigma Aldrich cégtől származik.

6.2. Mintaelőkészítés, tárolás és utókezelés

6.2.1. Mintaelőkészítés

Bizonyos **gyógyszervegyületek** (pl. SMX) nehezen oldódnak vízben, így a 0,1 mM gyógyszeroldatokat 24 órás termosztált keverés (20°C) után hűtöttük.

A **szubsztrátokból** 2-100x hígítást készítettünk a KOI-értéküknek megfelelően. A hígítással az adagolást igazítottuk 0,1 és 10 cm³ közé, a könnyebb kezelés érdekében. A hígítás után a pH-értéket 0,1/1N/40% NaOH és 1N HCl oldatokkal állítottuk be a biológiai vizsgálatokhoz optimális 7,2±0,2 értékre.

A Dél-pesti Szennyvíztisztító Telepről származó **előülepített szennyvizet** és a **csurgalékvizeket** (gravitációs sűrítő csurgalék, centrifuga csurgalék) desztilláltuk a légzéstesztekhez, mivel a minták eredendően sok baktériumot tartalmaznak és ezek önálló légzése egyrészt túlzottan megnöveli az oxigénfogyasztást, másrészt a minták könnyen bontható illósavtartalmát tárolás (4 °C) közben is jelentősen csökkenti. Desztillációt követően a minta hosszú időn keresztül tárolható. Felhasználás előtt a pH-értéket 0,1/1N/40% NaOH

oldatokkal állítottuk be a biológiai vizsgálatokhoz optimális $7,2 \pm 0,2$ értékre. A desztillátumok eredeti pH-értéke az illósavtartalmuk függvényében 1,3 és 3,4 között változott.

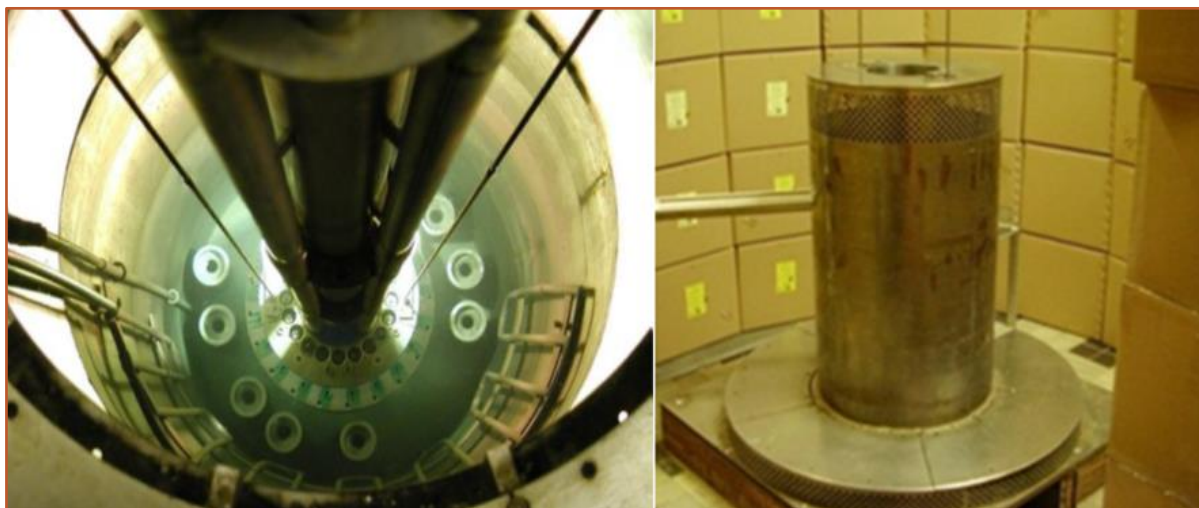
6.2.2. Tárolás

A gyógyszeroldatokat 24 órás termosztált keverés (20°C) után hűtöttük és 4°C -on tároltuk maximum 2 hétig. A szubsztrátként használt vegyületek önmagukban nem igényelnek hűtést, csak biztonságos tárolást. Az előkészített ($\text{pH} = 7,2$) szubsztrátoldatokat ugyancsak 4°C -on tároltuk 6 hónapig.

A HPLC vizsgálatokra küldött mintákat üvegedényben fagyasztva tároltuk a szállításig.

6.2.3. Utókezelés - a radiolízis során képződő hidrogén-peroxid eltávolítása

A mangán-dioxid vagy mangán(IV)-oxid (MnO_2) vízben oldhatatlan, fekete színű por. A mangán-dioxiddal elősegítettük a peroxid katalitikus bontását. Ezzel a módszerrel a hidrogén-peroxidot kivonhatjuk a mintákból szinte teljes egészében. Besugárzás után a minta (gyógyszeroldatok) pH-ját 10-es értékre állítottuk be 0,1 N NaOH-oldat segítségével. 1000 cm^3 térfogatú barna üvegben végeztük el a besugárzást, majd minden üvegbe 5 mg dm^{-3} mangán-dioxidot adagoltunk. Folyamatos keverés mellett (mágneses keverő) 10 percig reagáltattuk a mangán-dioxidot. Ezután $0,45\text{ }\mu\text{m}$ pórusátmérőjű szűrőpapírral szűrtük az oldatokat, vákuumszivattyús üvegszűrő rendszerrel. A biológiai tesztek előtt az oldatokat újra semleges pH-ra ($\text{pH} = 7,2$) állítottuk be. A vakmintákat is kezeltük mangán-dioxiddal.



19. ábra Az Izotóp Intézet Kft 60Co besugárzója és a SLL-01 típusjelzésű, panoráma típusú $\text{Co}60$ γ -sugárforrás

6.3. Gamma-radiolízis

A γ -radiolízis kísérleteket az Izotóp Intézet Kft. tulajdonában lévő SLL-01 típusjelzésű, panoráma típusú, 1,8 PBq aktivitású Co^{60} γ -sugárforrással (19. ábra) végeztük 0,1 mM-os gyógyszeroldatokkal, 0,5; 1; 2; 4 kGy dózist alkalmazva, szobahőmérsékleten. Az etanol-klór-benzol dozimetriával (ECB, ISO/ASTM 51538:2009) mért dózisteljesítmény $2 \text{ kGy} \cdot \text{h}^{-1}$. Folyamatos levegőztetéssel telítettük oxigénnel a mintákat a besugárzás alatt.

Vakként nem kezelt gyógyszeroldatokat használtunk, amelyek pontosan ugyanolyan procedúrán mentek keresztül, mint a kezelt minták, kivéve magát a besugárzást.

6.4. Vízhőminőségi vizsgálatok

A biológiai vizsgálatok (BOI, légzésteztek) kiegészítéseként a M7. táblázatban felsorolt fizikai és kémiai paramétereket használtuk az adatok kiértékeléséhez.

6.4.1. Kémiai oxigénigény vizsgálat (KOI)

A kémiai oxigénigény vizsgálat a vízminta oxidálható anyagainak (szerves; szervetlen: nitrátok, szulfidok, vas(II) ionok) koncentrációját adja meg. Nagy hőmérsékleten ($148 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, 2 óra), oxidatív roncsolással meghatározott szervesanyag tartalom, amely tömény kénsavas kálium-dikromátos ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) reagens-keverékkel zajlik. A keverék tartalmaz ezüstkatalizátort (Ag_2SO_4) és a kloridionok (Cl^-) eltávolításához higany(II)-szulfátot (HgSO_4). A visszamaradó dikromátiont ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) ferroin indikátoros (1,10-fenantrolin, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$) Mohr-só oldattal (vas(II)-ammónium-szulfát, $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$) tirtáljuk. Az oxidációhoz szükséges oxigén a fogyott dikromátion mennyisége alapján számítható az alábbiak alapján:

$$\text{KOI} = \frac{8000 \cdot c \cdot (V_v - V_m)}{V_0}$$

Ahol, c a vas(II)-ammónium-szulfát koncentrációja [mol dm^{-3}]; V_v és V_m az vas(II)-ammónium-szulfát mennyisége, amely a vakpróba és a minta esetében fogyott [cm^3]; V_0 a mintatérfogó [30 cm^3] és a 8000-es szorzó $0,5 \text{ O}_2$ molekula moláris tömege [mg mol^{-1}]. Ezzel a KOI értéket mol dm^{-3} -ben határoztuk meg [203][204].

6.4.2. Teljes szerves széntartalom (Total Organic Carbon, TOC)

A vízben előforduló összes, oldott vagy szuszpendált anyagokhoz kötött szerves vegyület széntartalmának meghatározására szolgáló módszer. TOC meghatározását LiquiTOC (Elementar) elemanalizátorral végeztük. A vizsgált, készülékbe injektált minta magas

hőmérsékleten (680 °C) elég és a keletkező szén-dioxid infravörös (NDIR) és elektrokémiai (EC) detektorral mérhető. A mintában lévő szerves széntartalmat (IC) eltávolítja a készülék olyan módon, hogy az oldat pH értékét 2 alá csökkenti, így CO₂ formájában eltávozik az IC. Ezután oxidálják a szerves C tartalmat. Öblítő- és vivőgázként szénhidrogénmentes levegőt, vakként desztillált vizet használtunk és a kalibrálást kálium-hidrogén-ftalát (C₈H₅KO₄) referenciaoldattal végeztük el [204].

6.4.3. Az összes lebegőanyag tartalom mérése

Az összes lebegőanyag tartalom meghatározásánál az MSZ 260-3:1973 szabvány 4 és 5. fejezete alapján jártunk el. A túlnyomásos szűrőrendszer 2 bar nyomással üzemel. A szűréshez 0,80 µm pórusátmérőjű cellulóz acetát membránszűrőt használtunk. Összesen 20 cm³ mintát szűrtünk a magas lebegőanyag tartalmú eleveniszapból. Először a membránszűrőt tömegállandóságig szárítottuk (105°C) Mettler Toledo HR73 gyors nedvességmérő készülékkel (V₀), majd a leszűrt lebegőanyag tartalommal együtt megismételtük a folyamatot (V_m). A minta teljes tömege és a szárazanyagtartalma (szárítási maradék: V_m-V₀) közötti különbség adja a szárítási veszteséget (nedvességtartalom/víz-tartalom). Az összes lebegőanyag tartalomnak a szárítási maradék felel meg (g dm³) [205].

6.5. Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC)

A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography) vizsgálatokat a Bálint Analitika Mérnöki Kutató és Szolgáltató Kft. végezte el (Diclofenac koncentrációjának meghatározásához) [206].

6.6. Gázkromatográfia (GC)

A vizsgálatokat Agilent 6890N típusú gázkromatográf készüléken végeztük. A mintákat (vizes oldatok) hangyasavas savanyítás (és belső standard hozzáadása) után folyadékinjektálással mértük, polietilén-glikol (DB-Wax, 30 m hossz, 0,32 mm belső átmérő, 0,25 µm filmvastagság) állófázisú kapilláris kolonnán, lángionizációs detektorral. Az injektált mennyiség 1 µl (kézi injektálás, split arány 1:10) volt, injektor hőmérséklete 250 °C. A kolonnán állandó térfogatáram 2,3 ml min⁻¹ hidrogén (kezdeti áramlási sebesség: 42 cm s⁻¹) volt. A kolonna hőmérséklete az alkalmazott program alapján 0,5 percig 40 °C-on maradt, majd 30 °C min⁻¹ felfűtéssel 225 °C-ig emelkedett. A detektor hőmérséklete 250 °C. A mennyiségi méréshez 5 pontos kalibrációs görbét (koncentrációk: 8, 40, 80, 200, 400 mg dm⁻³), belső standardként 2 metil-valeriánsavat használtunk (100 mg dm⁻³ valamennyi kalibrációs oldatban és mintában).

6.7. Légzésteszték

Az OUR (Oxygen Uptake Rate) a BOI módszer „felgyorsított” változata. Ha önmagában az eleveniszap légzésintenzitását, azaz az iszap oxigénfogyasztását mérjük, akkor az iszap állapotát monitorozhatjuk. Ha az eleveniszap légzésintenzitását valamilyen szubsztrát adagolása mellett mérjük, akkor a szubsztrát bonthatóságát tudjuk tesztelni.

A vizsgálatot az eleveniszap mosása előzte meg, mely során az iszapvízben lévő zavaró intermediér termékek (vízben oldott és hasznosítható KOI) eltávolítása a cél. Az iszapmosás legegyszerűbb módja az eleveniszap 2-5x csapvízes mosása dekantálással. 1000 cm³-es mérőhengerben ülepítettük az eleveniszapot, majd a felülúszó iszapvizet eltávolítottuk. A visszamaradt iszapot 20 °C-os csapvízzel 1000 cm³-re egészítettük ki, és ezt a folyamatot legalább 2-szer ismételtük. A mosási lépések után visszamaradt iszapot feltöltöttük csapvízzel, és a felhasználásig levegőztettük.

A légzéstesztet 300 cm³-es Karlsruher-palackokban végeztük. Minden palackba 25 mg szárazanyaggal ekvivalens mennyiségű eleveniszapot (oltókultúra), 150 mg KOI_{ekv} szubsztrátot mértünk be. A palackokat felöntöttük (gallérig) 20°C-ra termosztált, fellevegőztetett csapvízzel. Vakként olyan oldatot használtunk, amelyben csak eleveniszap és csapvíz volt (endogén légzés). A palackokban 2-3,5 órán keresztül mértük félóránként az oldott oxigéntartalmat (D.O.) WTW FDO® 925 oxigénszenzorral, folyamatos keverés biztosításával (mágneses keverőtálca és keverőbotok). Szubsztrátok vizsgálatánál az iszaphoz a megfelelő vegyületet is hozzáadtuk és utána töltöttük fel az üvegeket. Az eleveniszap légzése az endogén (saját) és a szubsztrát (tápanyag) légzésből adódik össze. A szubsztrát légzést a külső szubsztrát jelenlétében mért összes légzés és a szubsztrát távollétében mért endogén légzés különbségeként határoztuk meg. Az endogén légzés arányos a biológiai aktivitással. A légzésintenzitást mg O₂ dm⁻³ h⁻¹ formában fejezzük ki, de az eleveniszap egységnyi száraz lebegőanyag vagy szerves lebegőanyag tömegére (mg O₂ g iszap szerves anyag⁻¹ órá⁻¹) is vonatkoztathatjuk. Ezek a fajlagos légzésértékek (SOUR, Specific Oxygen Uptake Rate) jellemzőek az eleveniszap aktivitására, oxigénfogyasztására és szubsztrátlebontó képességére.

A vizsgálatok összeállításait a 8. táblázatban foglaltuk össze. Minden vizsgálatnál a méréstartomány teljes terjedelmének kihasználására törekedtünk (OUR optimum: 0,5 – 2 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹), amelyet alulról a koncentrációváltozás nyomon követhetősége, felülről az oldott oxigén limitált mennyisége korlátoz.

8. táblázat A légzéssztek felépítése (x mg KOI-ekvivalens = x mg KOI értéknek megfelelő oldatmennyiség)

VIZSGÁLAT TÍPUS		OLTÓANYAG	SZUBSZTRÁT	KOSZUBSZTRÁT és egyéb
ELŐTESZTEK	SZUBSZTRÁT ADAGOLÁS	25 mg MLSS (Dp-i SZVTT eleveniszap)	50-150-250-500-1000 mg KOI-ekvivalens (10)	-
	KOSZUBSZTRÁT (GYÓGYSZEREK) ADAGOLÁS		75 mg KOI-ekvivalens ecetsav	30-70-100-120-150 cm ³ 0,05 mM SMX
			25 mg MLSS (Dp-i SZVTT biofilm)	75 mg KOI-ekvivalens metanol
	H ₂ O ₂ TOXICITÁS	25 mg MLSS (Dp-i SZVTT eleveniszap)	150 mg KOI-ekvivalens ecetsav	0,010-0,050-0,10-0,25-0,500 mM H ₂ O ₂
KOMETABOLIZMUS	IGAZOLÁSA	25 mg MLSS (Dp-i SZVTT eleveniszap)	150 mg KOI-ekvivalens (10 + MSZ)	0,05 mM SMX, DCF, CBZ
	GYAKORISÁG FELMÉRSE	25 mg MLSS (Dp-i SZVTT eleveniszap)	50 mg KOI-ekvivalens előülepített szennyvíz desztillátum	0,05 mM 14 gyógyszer
		25 mg MLSS (Dp-i SZVTT biofilm)	75 mg KOI-ekvivalens metanol	0,03 mM 14 gyógyszer
AOP (γ-radiolízis 0; 0,5; 1; 2; 4 kGy)		25 mg MLSS (Dp-i SZVTT eleveniszap)	(a γ-radiolízis bomlástermékei)	0,05 mM (0,1 mM oldat, 150 cm ³ /300 cm ³) OXA, CLX, TCN, CTC, OTC
AOP (γ-radiolízis 0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) + KOMETABOLIZMUS		25 mg MLSS (Dp-i SZVTT eleveniszap)	50 mg KOI-ekvivalens előülepített szennyvíz desztillátum	0,05 mM (0,1 mM oldat, 150 cm ³ /300 cm ³) mM CTC
		25 mg MLSS (Dp-i SZVTT biofilm)	150 mg KOI-ekvivalens metanol, ecetsav, etilén-glikol	0,05 mM (0,1 mM oldat, 150 cm ³ /300 cm ³) mM SMX, DCF

6.8. Biokémiai oxigénigény vizsgálatok (BOI)

A vízminták biológiailag bontható szerves anyag tartalmának kimutatására, mennyiségi meghatározására szolgáló módszer. Az az oldott oxigénmennyiség, amely a vízben található szerves anyagok aerob baktériumok által végzett lebontásához szükséges, 20°C-on, x nap alatt (BOI_x, 5 < x < 20). A méréseket WTW OxiTop® tesztrendszerrel végeztük. A manometrikus

mérési elv lényege, hogy az 500 cm³ űrtérfogatú barna üvegedényben kivitelezett aerob biológiai bontás során felszabaduló CO₂-t a gáztérben abszorberrel (NaOH pasztilla) megkötjük. Az üvegekben így az oxigénfogyás miatt kialakuló, OxiTop-C fejjel rögzített nyomáscsökkenés a BOI-értékkel arányos. A mérést folyamatos keverés mellett (mágneses keverőtálcák és keverőbotok) végeztük, 20±1 °C hőmérsékleten. A nyomásadatokat a szoftver alakítja át BOI-értékekké (O₂ mg dm⁻³) [207].

9. táblázat A BOI vizsgálatok felépítése

VIZSGÁLATTÍPUS		OLTÓ- ANYAG	SZUBSZTRÁT	KOSZUB- SZTRÁT ÉS EGYÉB	BEMÉRÉS ÉS MÉRÉSI IDŐ
A MÉRÉSEK ÖSSZEÁLLÍTÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA	SZUBSZTRÁT ADAGOLÁS (elméleti)	Dp-i SZVTT eleveniszap	160 mg dm ³ KOI ecetsav (Na-Ac)	-	-
		Dp-i SZVTT biofilm	160 mg dm ³ KOI metanol	-	-
	KOSZUBSZTRÁT (GYÓGYSZEREK) ADAGOLÁS (elméleti)	-	-	0,05 mM	-
	H ₂ O ₂ TOXICITÁS	Dp-i SZVTT eleveniszap	glükóz- glutaminsav standard	3 μM – 2 mM (0,1 – 75 mg dm ⁻³) H₂O₂	164 cm ³ 7 nap
			(a γ-radiolízis bomlástermékei)	OXA + (1-2-4 kGy γ-radiolízis során képződő H₂O₂)	250 cm ³ 14 nap
KOMETABOLIZMUS		Dp-i SZVTT biofilm	160 mg dm ³ KOI metanol	0,5 – 50 μM (118 μg dm ⁻³ – 14,8 mg dm ⁻³) DCF	164 cm ³ 5 nap
AOP (γ-radiolízis 0; 0,5; 1; 2; 4 kGy)		Dp-i SZVTT eleveniszap	-	0,05 mM (0,1 mM oldat 2x hígítása) OXA, CLX, TCN, CTC	250 cm ³ 5 nap
AOP (γ-radiolízis 0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) + KOMETABOLIZMUS		Dp-i SZVTT eleveniszap	160 mg dm ³ KOI ecetsav (Na-Ac)	0,05 mM (0,1 mM oldat 2x hígítása) DOX	164 cm ³ 5 nap

A nitrifikációs folyamatok kizárására 50 mM N-allil-tiokarbamid oldatot alkalmaztunk. Az oltást ún. oltó-hígítóvíz (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SM) 5210) alkalmazásával végezhető el, amely sókat, foszfát puffert (Pro dm³: 1 cm³ g dm⁻³ MgSO₄ x 7 H₂O, 1 cm³ 27,5 g dm⁻³ CaCl₂, 1 cm³ 0,25 g dm⁻³ FeCl₃ x 6 H₂O, cm³ foszfátpuffer pH 7,2) és oltóanyagot tartalmaz. Oltókultúráként levegőztető medencéből származó eleveniszap ülepítés utáni szűrletét (MN 715 ¼), illetve a biofilmes rendszer mosóvizének szűrletét (MN 715 ¼) használtuk (20 cm³/dm³ hígítóvíz) [204][207][208].

A vizsgálathoz használt standard, barna üvegedényekbe ($V = 0,5 \text{ dm}^3$), a minta KOl_k értéke alapján meghatározott mennyiséget mérjük be. A várható/becsült BOI_5 érték a mért KOl_k érték 80%-a. *A becsült BOI_5 értékek figyelembevételével a M8. táblázat alapján választjuk ki a bemért mennyiséget.*

A vizsgálatok összeállításait a 9. táblázatban foglaltuk össze. Minden vizsgálatnál a méréstartomány teljes terjedelmének kihasználására törekedtünk, amelyet alulról az alsó méréshatár, felülről a méréshatáron kívül az esetleges toxicitás korlátoz. Minden esetben 3 párhuzamos mérést végeztünk.

6.9. Mikroszkópos analízis

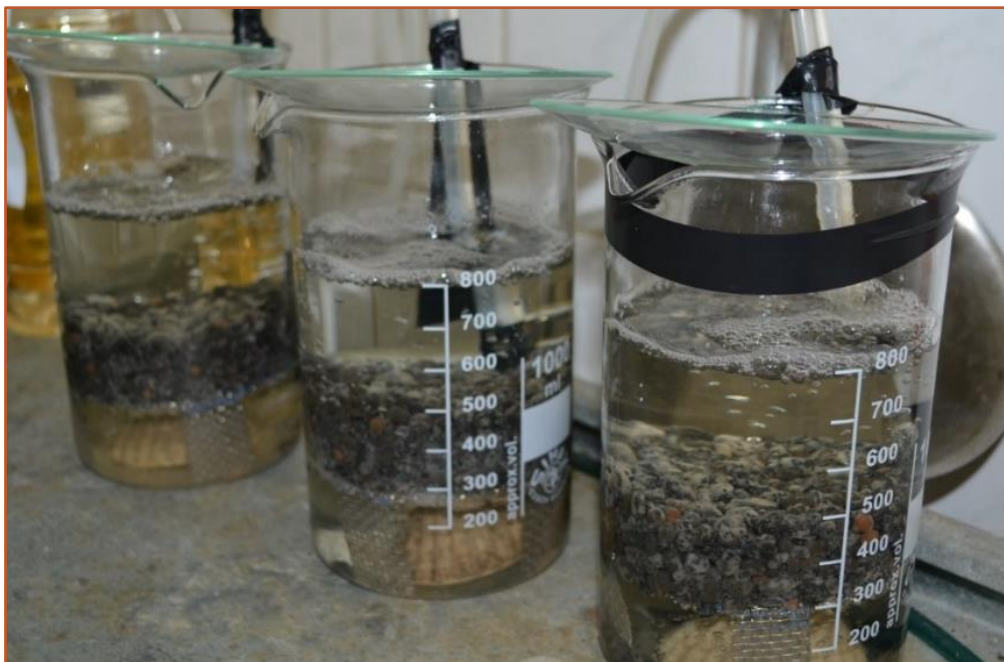
Az eleveniszap minták (natív preparátum) mikroszkópos vizsgálatát Zeiss Jena mikroszkóppal, Eikelboom [19], Gerardi [209] és Jenkins et al. [210] ajánlásait és módszereit követve végeztük el. A fényképeket Euromex VC.3038 HD-Pro kamerával készítettük. A vizsgálathoz natív preparátumokat használtunk, amellyel az élő, festetlen mikroorganizmusok alaki sajátosságait és mozgását vizsgálhatjuk, valamint az eleveniszap pelyhek méretét és szerkezetét. A minta alapos homogenizálása után $50 \mu\text{L}$ eleveniszap mintát tárgylemezre cseppentettünk, majd lefedtük egy fedőlemezzel. Egy itatóspapír segítségével a fedőlemez széléről felitattuk a kipréselődött folyadékot. Az így elkészített natív preparátum közvetlenül vizsgálható.

6.10. Laboratóriumi mini-reaktor

A minireaktoros kísérleteket 1000 mL főzőpoharakban állítottuk össze. Az edény aljára 8 cm -es, saját anyagból készült talpakon álló acél dróthálót helyeztünk, amely egyrészt a biofilm hordozóanyagát tartotta, másrészt helyet biztosított az edény alján a levegőztető habkő zavartalan működéséhez (20. ábra).

Minden reaktorban 200 g töltet volt átlagosan $4,6 \text{ g}$, metanolhoz szokott denitrifikáló biomasszával. 800 cm^3 folyadékszintet tartottunk. A biomasszát naponta makroelemekkel ($0,8 \text{ cm}^3$ $22,5 \text{ g dm}^{-3}$ $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 1 cm^3 $27,5 \text{ g dm}^{-3}$ CaCl_2 , 1 cm^3 $0,25 \text{ g dm}^{-3}$ $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$, foszfátpuffer pH 7,2) és nitrogénforrással (4 g KNO_3) láttuk el. Szubsztrátként naponta $660 \mu\text{L}$ metanolt adagoltunk. A reaktorokat állandó hőmérséklet ($20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) folyamatosan levegőztettük 3 napon keresztül. Kontrollként metanoladagolás nélküli reaktort használtunk, amelyekben így kizárható a kometabolizmus. A harmadik napon a reaktorokat szétszedtük és a folyadékfázist szűrtük MN 715 zsírmentes szűrőpapíron, majd fagyaszttva tároltuk.

A minireaktoros kísérleteknél a diklofenák koncentrációját nagyhatékonyságú folyadék kromatográfia (HPLC) vizsgálatokkal határozta meg a Bálint Analitika Mérnöki Kutató és Szolgáltató Kft..



20. ábra A minireaktorok felépítése

6.11. Agar-diffúziós teszt

A Trypton - Glükóz - Élesztő-kivonat Agar (TGY agar) készítésénél 5 g peptont (Art.-Nr. HP32.1, Carl Roth), 2,5 g élesztőkivonatot (Cat. No. 1.11926, Merck), 1 g glükózt (Cat. No. 1.08346.9029, Merck) és 7,5 g bakteriológiai agart (Art.-Nr. 6494.2, Carl Roth) oldottunk 1 dm³ desztillált vízben.

Az agar-diffúziós teszthez használt *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) törzs (B.01755) (Collection code in the American Type Culture Collection: ATCC1 6538PTM) a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszer tudományi és Technológiai Intézet; 1118 BUDAPEST, Somlói út 14-16.) származott. A mikrobiológiai munkát steril körülmények között végeztük.

A teszt során a 10⁶ CFU cm⁻³ töménységű *S. aureus* baktériumszuszpenzió 1 cm³-ét 25 cm³ TGY táptalajhoz adtuk, majd keverés után a beoltott tápagart vízszintezett Petri-csészékbe öntöttük. Az inokulált táptalaj felületét teljesen leszárítottuk lamináris boxban levegő befúvatással, levett fedővel 30 percig. Ezt követően a megszáradt lemezekbe 10 mm alkoholba mártott, majd lelángolt, 4 mm átmérőjű üvegcsövekkel egyenletes eloszlásban 3-3 lyukat

vágunk, amelyekbe a vizsgálandó antibiotikumoldatokból 0,08 cm³ mértünk. A petricsészéket 24 órán keresztül 37 °C-on inkubáltuk. A vizsgálatokat 4 ismétlésben (4 lemezen) végeztük. A kialakult gátlási gyűrűk átmérőjének átlaga alapján végeztük el az értékelést [211]. Az agar-diffúziós tesztekben a H₂O₂ nem befolyásolta az eredményeket, így eltávolítása szükségtelen volt.

6.12. Összes heterotróf baktériumszám

Telepszám meghatározása 22 °C-on lemezöntéssel történt, az MSZ EN ISO 6222:2000 szabvány alapján. A szennyvízminta hígítási sorozatának tagjaiból (decimális hígítási sor) hígításonként 3 párhuzamosban 1-1 cm³-t előzetesen felolvasztott és 45-50 °C-ra lehűtött 20 cm³ térfogatú steril Nutrient-agar táptalajjal (húskivonat 1 g; élesztőkivonat 2 g; pepton 5 g; agar 12 g; víz 1000 cm³; pH = 7,4) steril Petri-csészékben elkeverünk. A mikroorganizmusok szaporodásuk révén a megszilárdult táptalajban kolóniákat hoznak létre, amelyek megfelelően megválasztott hígítások esetén jól számolhatók. Az értékelhető hígítások párhuzamos feldolgozásával nyert kolóniaszámokból számolhatunk vissza a kiindulási minta mikroorganizmusszámára. Az inkubáció utáni telepszámlálásra azokat az egymást követő hígítási fokokat használjuk fel, amelyek esetén a lemezenkénti telepszám jól értékelhető és 20-200 között van. A vizsgálatokat Budapest Főváros Kormányhivatala Népegészségügyi Főosztály laboratóriumában végezték el három párhuzamos mintavételből.

6.13. Statisztikai módszerek

A statisztikai elemzéseket legalább 3, egymástól függetlenül megismételt kísérlet adataival végeztük (mindegyiknél 3-5 párhuzamossal), hogy reprezentatív eredményeket kapjunk. Az elfogadható szórás (± 2 SD) figyelembevételével szelektáltuk az adatokat [212][213]. A vizsgálatok értékelésénél a mérések átlagértékeiket mutatjuk be, és az adatok eloszlását szórás (σ), illetve relatív szórás (CV, variációs koefficiens) formájában jelenítjük meg, amely a szórás az átlag százalékában fejezi ki.

7. EREDMÉNYEK

7.1. A rövidtávú hatások felmérése

A kometabolizmus, illetve az AOP rövidtávú hatásait a gyógyszerek biológiai transzformációjára légzésteztekkel vizsgáltuk. A légzésteztek eredményeit különböző kémiai, biológiai módszerekkel egészítettük ki, illetve támasztottuk alá.

7.1.1. Előtesztek

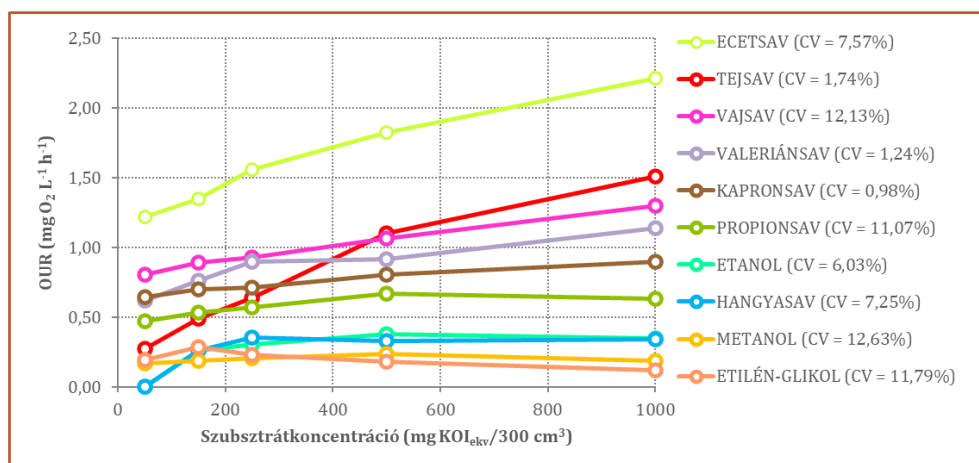
Az előtesztek során a szubsztrátok és a gyógyszervegyületek alkalmazható optimális koncentrációit kerestük. Az optimális koncentrációtartományt felülről a toxicitás, alulról a mérési paraméterek kimutatási határai alakítják. Ezen felül a hidrogén-peroxidból biotikus és abiotikus úton felszabaduló oxigén hatása is előzetes vizsgálatokat igényelt.

7.1.1.1. A mérésbeállítások meghatározása

A méréstartomány ($0 - 3 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^3 \text{ h}^{-1}$) figyelembevételével az optimális szervesanyag terhelést a vizsgálat során $150 \text{ mg KOI-ekvivalens}$ jelenti a Karlsruhe-palackokba adagolt 25 mg biomassza szárazanyag (MLSS) mellé ($500 \text{ mg KOI-ekvivalens dm}^{-3}$). Nem tudjuk azonban, hogy ez a koncentráció toxikus-e az eleveniszapra, illetve a biofilm oltókultúrára nézve. Tájékoztató jellegű adatsor az ökoszisztémát károsan még nem befolyásoló előrejelezhető (Predicted No Effect Concentration, PNEC) koncentráció, amelynek speciálisan szennyvízre vonatkoztatott (Sewage Treatment Plant, STP) értékei is elérhetőek a vegyszerek biztonsági adatlapjain, vagy az Európai Vegyianyag-ügynökség (ECHA) honlapján [214]. *A 10 szubsztrátra vonatkozó PNEC_{STP} értékeket a M9. táblázatban foglaltuk össze.*

Mivel a PNEC_{STP} értékek egy kivételtől (etanol) eltekintve 500 mg dm^{-3} alattiak, így indokolt volt a toxicitás felmérése. 25 mg MLSS eleveniszaphoz szubsztrátonként $50-150-250-500-1000 \text{ mg KOI-ekvivalens}$ mennyiséget mértünk be. A koncentrációsorozat elemeit vakhoz viszonyítva mértük. *Az eredményeket a 21. ábra szemlélteti.* Az eredmények alapján az $500 \text{ mg KOI-ekvivalens dm}^{-3}$ adagolás megfelelő, egységesen adagolható, nem toxikus. Nem okozott negatív eltérést a vakértékhez képest egyik szubsztrát esetében sem (nincs negatív érték).

A gyógyszervegyületek optimális koncentrációját ($0,05 \text{ mM}$) korábbi **kutatások eredményei** [159][161] **alapján** választottuk ki. A KOI, a BOI és az OUR értékek ilyen koncentrációnál jeleníthetők meg, kisebb koncentráció okozta változásokat ezekkel a módszerekkel nem tudunk kimutatni.



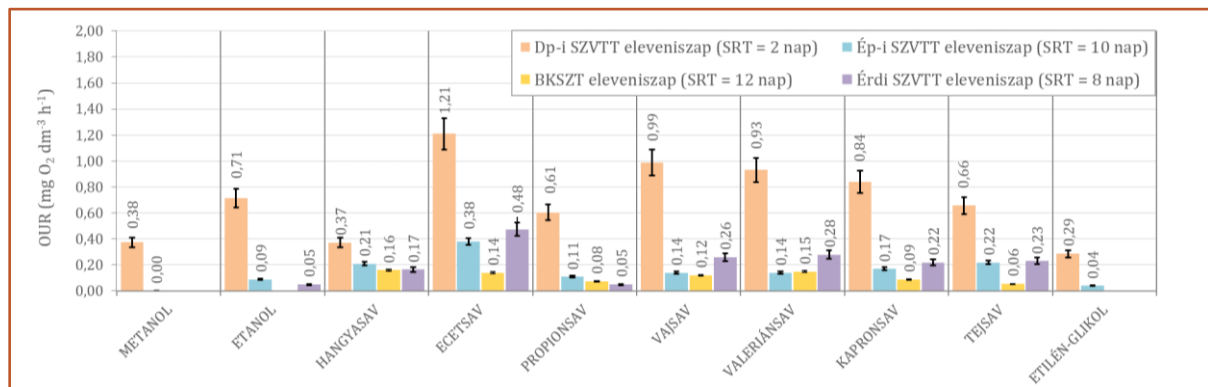
21. ábra A szubsztrátok toxicitásának (vakal korrigált értékek) vizsgálata eleveniszapos oltókultúrával.

7.1.1.2. Az oltóanyag kiválasztása

A kísérletekhez olyan oltóanyagot kerestünk, amely a lehető legtöbb szubsztrátot hasznosítja, illetve a nem toxikus tartományban jól mérhető légzésintenzitást produkál a fogyasztásukkal.

Négy eleveniszapot teszteltünk:

- a Dél-pesti SZVTT eleveniszapja (SRT = 2 nap)
- az Észak-pesti SZVTT eleveniszapja (SRT = 10 nap)
- a BKSZT (Budapesti Központi Szennyvíztisztító Telep) eleveniszapja (SRT = 12 nap)
- Érdi SZVTT (SRT = 8 nap)

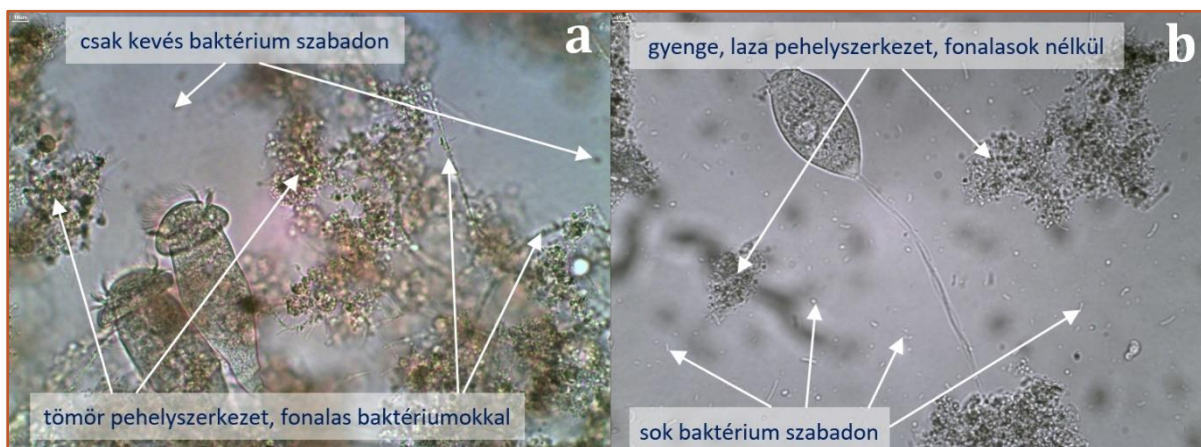


22. ábra Négy különböző SZVTT eleveniszapjának koszubsztrátspektruma. Az OUR értékek vakal (az eleveniszap endogén légzése) korrigáltak.

Az eredményeket a 22. ábra szemlélteti, amely alapján egyértelműen a Dp-i eleveniszap felel meg leginkább a kritériumoknak. Az OUR értékek 0,29 (etilén-glikol) és 1,21 (ecetsav) mg O₂ dm³ h⁻¹ között változnak és minden esetben többszöröse a többi eleveniszap esetében mért értékeknek. Ez 7,25x-ös értéket jelent az etilén-glikol (Ép-i SZVTT: 0,04 mg O₂ dm³ h⁻¹) és 2,52x-es értéket az ecetsav (Érdi SZVTT: 0,04 mg O₂ dm³ h⁻¹) szubsztrátnál. Az eredmények valószínűleg összefüggésbe hozhatók a terhelési viszonyokkal és egyéb technológiai

specialitásokkal. A nagy OUR értékek a nagy terhelésű eleveniszap nagy szubsztrát igényéhez köthetők, ugyanis a baktériumok a gyorsan szaporodó (log) fázisban vannak (18. ábra), amelyben gyors metabolizmus jellemzi őket. A kis terhelésű eleveniszapához kis légzésintenzitás köthető, mert a baktériumok a stacioner/hanyatló fázisban vannak (éheznek), ahol az anyagcsere aktivitás csökkent mértékű.

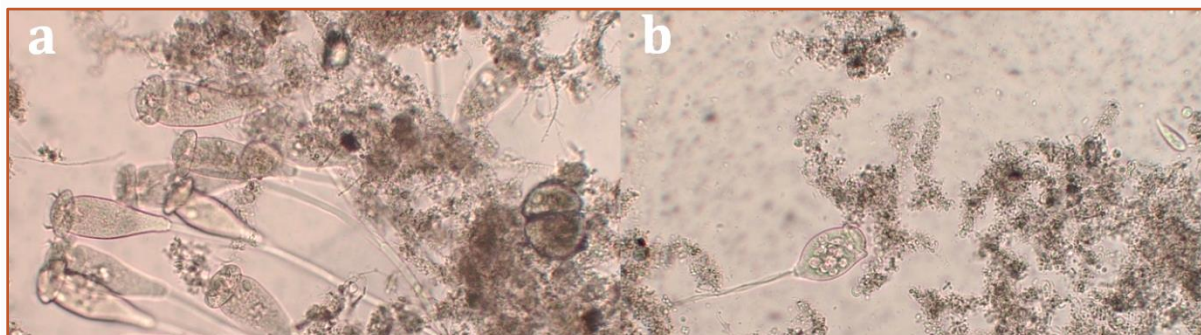
Kis-közepes terhelésű, fajgazdag közösséggé fejlődik az Észak-pesti SZVTT eleveniszapja. A főként egysejtű és különféle féregfajokból álló, baktériumokat fogyasztó táplálékhálózat is változatos felépítésű. A Dél-pesti SZVTT viszont nagy terhelésű rendszer, így az eleveniszap is kevésbé fajgazdag. *A két eltérő technológiai paraméterekkel jellemezhető rendszer mikroszkópos képe is jelentősen különbözik, amely a 23. ábrán és a 24. ábrán követhető. A két eleveniszap közötti különbség jól látható a 23. ábrán. A kis terhelésű eleveniszap pelyhei tömörek és jól fejlettek. Kevés szabadon úszó baktérium jelenik meg a pelyhek körül. Ezzel szemben a nagy terhelésű pelyhek gyengén fejlettek, kevésbé kompakt szerkezetűek, és sok baktérium található a pelyhek közötti térben. Ezek a szabadon úszó baktériumok még nem épültek be a pelyhekbe. A 24. ábra két fényképe az eleveniszapok diverzitása (fajgazdagsága) közötti különbséget szemlélteti. A kis terhelésű eleveniszap pelyhei nagyobbak és tömörebbek, emellett többféle egysejtűfaj jelenik meg benne, nagyobb egyedszámmal. Mintha egy erdő és egy szántóföld képét tennénk egymás mellé.*



23. ábra Kis-közepes terhelésű (a, Észak-pesti szennyvíztisztító telep) és nagy terhelésű eleveniszap (b, Dél-pesti szennyvíztisztító telep) fénymikroszkópos képe.

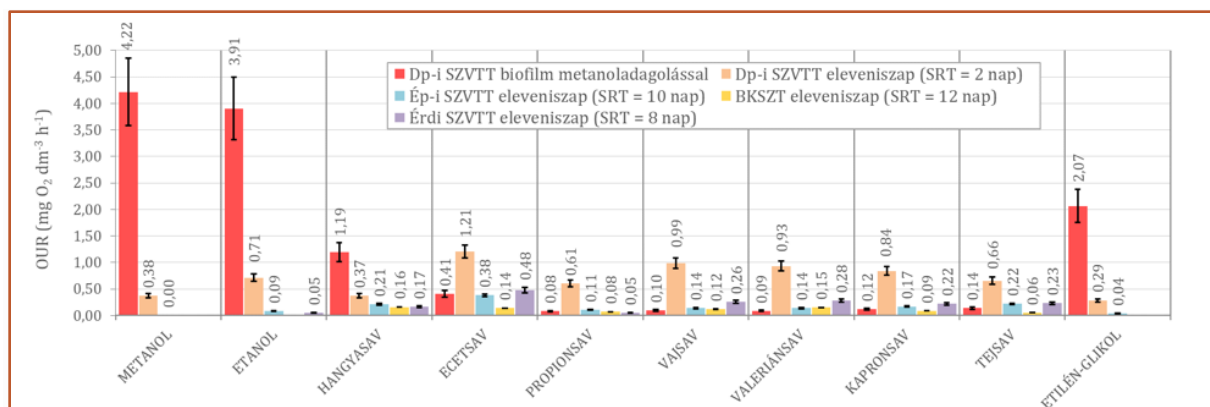
Az eleveniszap légzési intenzitása, amelyet az oxigénfelvételi sebesség formájában határoznak meg, minden esetben jelzi a rendszer terhelését. Nagy terhelésű rendszerek esetén a SOUR érték >20 , közepes terhelésnél $12-20$ és kis terhelésnél $<12 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MLVSS}$. Az alacsony légzési intenzitást az iszap endogén légzése eredményezi, mivel a baktériumok nagyrészt éheznek az kis terhelésű rendszerekben. Az Észak-pesti SZVTT eleveniszapjának SOUR értéke

11 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ MLVSS volt, tehát a rendszer kis terhelésű. A Dél-pesti SZVTT esetében az eleveniszap SOUR értéke 28 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ MLVSS volt, tehát egyértelműen nagy terhelésű.



24. ábra Kis-közepes terhelésű (a, Észak-pesti szennyvíztisztító telep) és nagy terhelésű eleveniszap (b, Dél-pesti szennyvíztisztító telep) fénymikroszkópos képe.

Vizsgáltuk a Dp-i SZVTT speciális biofilmes rendszerének denitrifikáló mikrokultúráját is. Ebben a biofilmben metilotróf baktériumok szaporodnak el szelektíven a mesterséges metanolos táplálás miatt. Ez a baktériumcsoport rendelkezik metán-monooxygenáz (MMO) enzimmel, amely szakirodalmi adatok alapján (*lsd. 2.3.3 fejezet*) képes különböző molekulák kometabolikus átalakítására. *A biofilm több szubsztrát esetében is nagy OUR-értékeket produkált, amelyek a 25. ábráról olvashatók le.* Metanol esetében 4,22; etanolnál 3,91; hangyasavnál 1,19 és etilén-glikolnál 2,07 mg O₂ dm³ h⁻¹ volt a légzésintenzitás.



25. ábra Négy különböző SZVTT eleveniszapjának szubsztrátspektruma kiegészítve a Dp-i SZVTT denitrifikáló biofilmjének eredményeivel.

A tesztek alapján a Dp-i SZVTT eleveniszapját és denitrifikáló biofilmjét választottuk a további kísérletekhez.

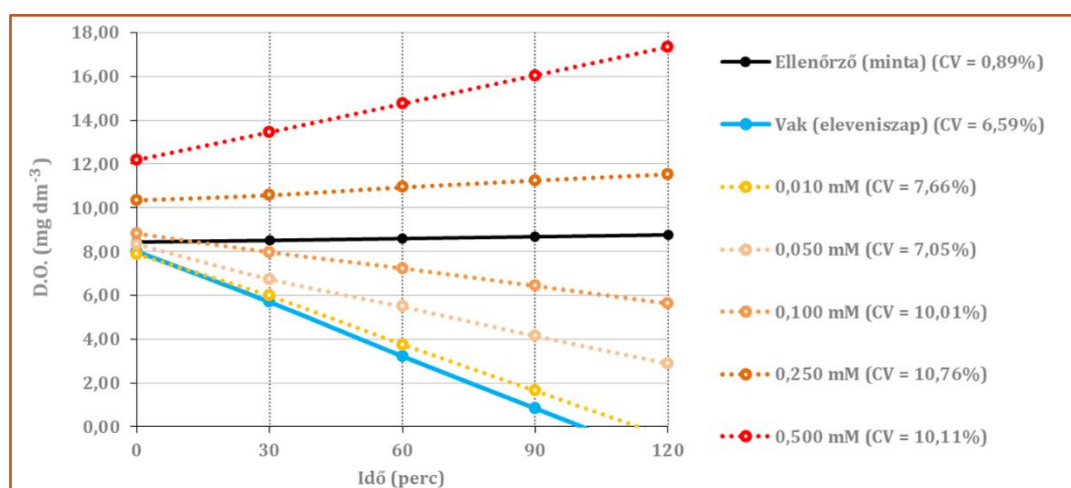
A légzésesztek kiindulási összcsíraszama (a 22°C-on növő heterotróf aerob baktériumok száma) 6,4 x 10⁴ CFU cm⁻³ (72000 / 54000/ 66000 cm⁻¹; szórás 11,7%) nagyságrendet képvisel, amely a 2-3 órás vizsgálatok alatt kimutathatóan nem változott 6,5 x 10⁴ CFU cm⁻³ (69000 / 71000/ 56000 cm⁻¹; szórás 10,2%).

7.1.1.3. A hidrogén-peroxid zavaró hatásának felmérése

A hidrogén-peroxid légzéstartesztekre gyakorolt hatását is vizsgáltuk. A hidrogén-peroxid toxicitását szubsztrát adagolás nélkül (26. ábra) és szubsztrátadagolás (150 mg KOI-ekvivalens ecetsav) mellett (27. ábra) ellenőriztük. A szubsztrát adagolással a biológiai aktivitás növekszik, és ezzel valószínűleg a sejtekben a kataláz enzim aktivitása is, mivel a táplálékkal energiaforráshoz is jutnak a sejtek. Az sem zárható ki, hogy a szubsztrát – mint abiotikus faktor – fokozza a hidrogén-peroxid bomlását.

A következő hidrogén-peroxid koncentráció sorozattal dolgoztunk: 0,010-0,050-0,10-0,25-0,50 mM H_2O_2 . Mindkét esetben a Dél-pesti SZVTT eleveniszapját (25 mg MLSS üvegenként) használtuk oltóanyagként.

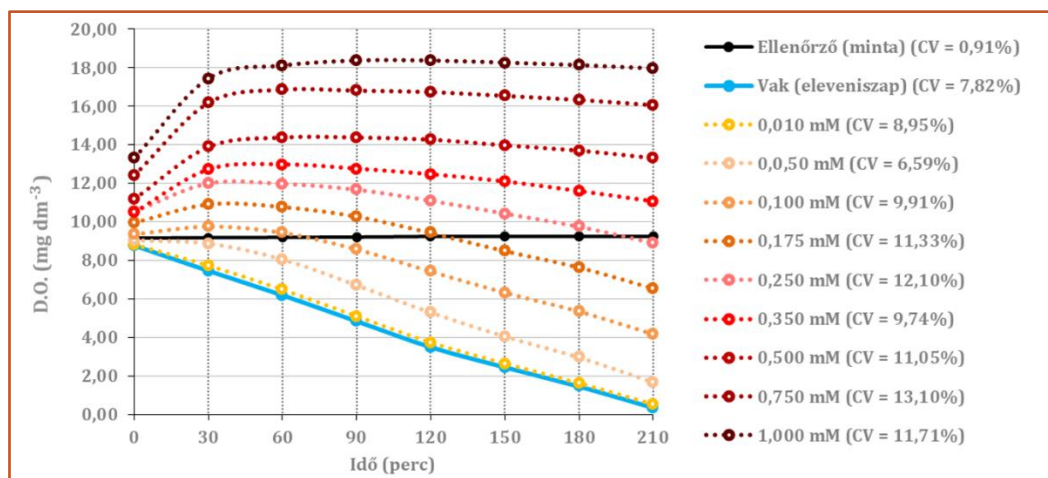
A hidrogén-peroxidból felszabaduló oxigén méréstorzító hatása az **endogén légzés (szubsztrát nélkül)** felvételénél is megfigyelhető (26. ábra, vak). A vakminta oxigénfogyasztása a legnagyobb ($4,79 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ óra}^{-1}$), a hidrogén-peroxidos minták a koncentráció emelkedésének megfelelően növelik az oxigénkoncentrációt, illetve csökkentik az OUR értékét (rendre $4,13; 2,86; 1,60; -0,59; -2,57 \text{ O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ óra}^{-1}$). A két legnagyobb koncentrációnál (0,25 és 0,50 mM) negatív értékeket kaptunk, azaz nem csökken az oxigénkoncentráció, hanem növekszik a mérés során. Az oltóanyag nélküli kontrollminta (0,50 mM H_2O_2 csapvízzel) is negatív ($-0,17 \text{ dm}^{-3} \text{ óra}^{-1}$), vagyis az abiotikus hidrogén-peroxid bomlás ebben az esetben is jelentkezik. Az eleveniszap adagolása biotikus bomlással egészíti ki az abiotikus formát.



26. ábra A hidrogén-peroxid hatása a légzéstartesztek eredményeire szubsztrátadagolás nélkül (endogén légzés). A hidrogén-peroxid koncentrációt is feltüntettük.

Szubsztrát adagolása mellett a hidrogén-peroxid látványosabban befolyásolja az eredményeket (27. ábra). Ismételten vakminta oxigénfogyasztása a legnagyobb ($2,39 \text{ mg O}_2$

dm⁻³ óra⁻¹). A hidrogén-peroxidos minták a koncentráció emelkedésének megfelelően csökkentik az OUR értékét (rendre 2,37; 2,10; 1,49; 0,97; 0,46; -0,16; -0,61; -1,04; -1,33 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹).

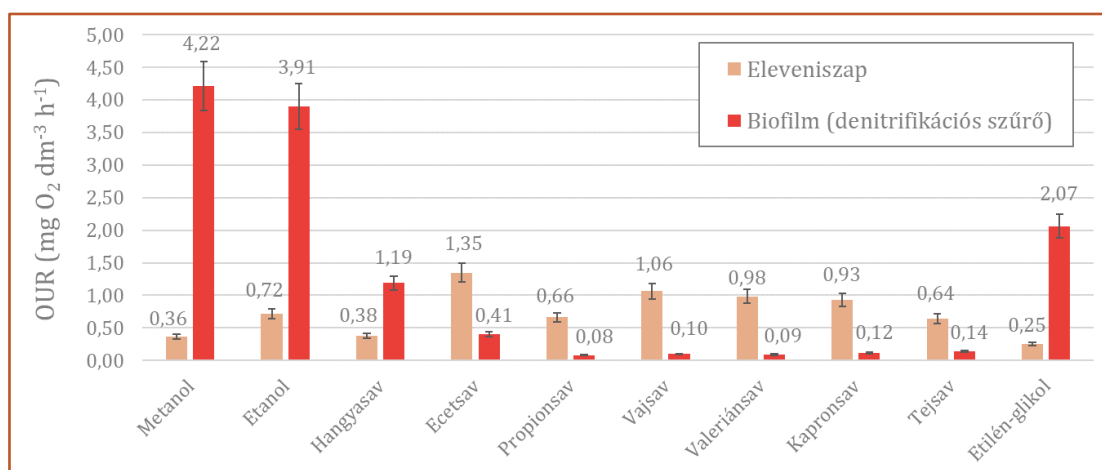


27. ábra A hidrogén-peroxid hatása a légzéstarték eredményeire szubsztrátadagolással (szubsztrátlégzés). A hidrogén-peroxid koncentrációk az ábra mellett láthatók.

7.1.2. A kometabolizmus vizsgálatához tartozó mérések

7.1.2.1. A szubsztrátok kiválasztása a kometabolizmushoz

A szubsztrátok kiválasztása során 25 mg MLSS oltóanyaghoz (eleveniszap, illetve biofilm) szubsztrátonként 150 mg KOI-ekvivalens mennyiséget adtunk, egy palackba csak egyféle szubsztrátot (metanol, etanol, hangyasav, ecetsav, propionsav, vajsav, kapronsav, tejsav, etilén-glikol).



28. ábra A szubsztráthasznosítás vizsgálata légzéstartékkal 10 könnyen bontható szubsztrát (metanol, etanol, hangyasav, ecetsav, propionsav, vajsav, kapronsav, tejsav, etilén-glikol) adagolása mellett. Kétféle oltóanyaggal dolgoztunk: eleveniszap, denitrifikáló biofilm. Az ábrán a vakkal korrigált értékek láthatók.

A légzésteztek eredményeit a 28. ábrán foglaltuk össze. A két oltóanyag típus esetében eltér az optimálisan hasznosítható szubsztrátok köre, amellyel a későbbiekben a gyógyszerek kometabolizmusa vizsgálható. Az eleveniszap az ecetsavat hasznosította a legjobban ($1,35 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$), de a vajsav, a valeriánsav és a kapronsav is kedvező szubsztrát (rendre $1,06$; $0,98$ és $0,93 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$). Általánosságban elmondható, hogy a szubsztrátlégzés értékek között sokkal kisebb eltérés tapasztalható, mint a biofilm oltóanyag esetében, ahol vagy nagyon jól hasznosul a szubsztrát – metanol, etanol, etilén-glikol, hangyasav (rendre $4,22$; $3,91$; $2,07$ és $1,19 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$) – vagy szinte egyáltalán nem (pl. propionsav $0,08 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$).

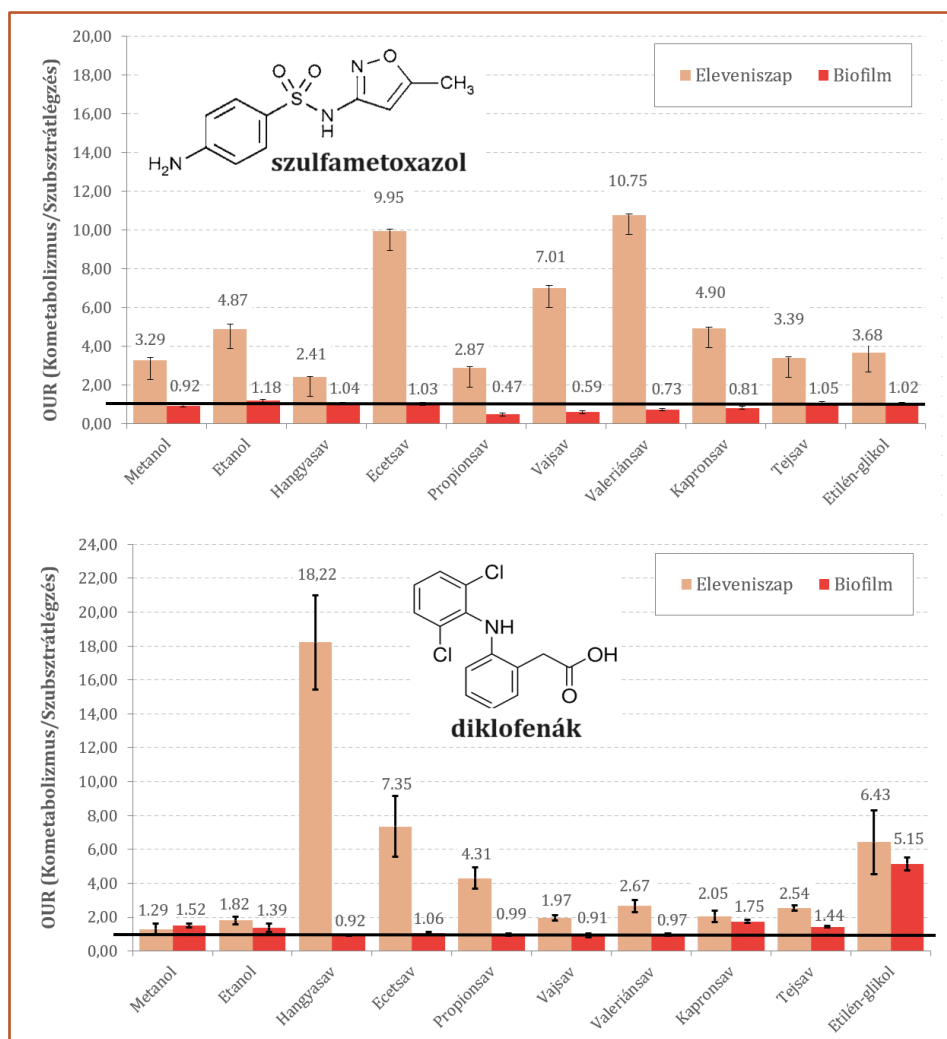
7.1.2.2. A kometabolizmus

A kometabolizmus vizsgálata során $0,05 \text{ mM}$ gyógyszerkoncentráció mellett egységesen $150 \text{ mg KOI-ekvivalens}$ szubsztrátot adagoltunk üvegenként. Két gyógyszermolekula (SMX, DCF) esetében vizsgáltuk a kometabolizmus hatékonyságát. Összevetettük a korábbiakban tesztelt 10 könnyen bontható szerves szubsztrát hatására (szubsztrátlégzés) fellépő oxigénfogyasztást a gyógyszervegyületek és szubsztrátok együttes hatására (kometabolikus légzés) mutatózó oxigénfogyasztással. A kometabolizmus felméréséhez a vakmintán (eleveniszap és víz) kívül szükség volt a gyógyszervegyület és a szubsztrát önálló bonthatóságának meghatározására (eleveniszappal, de külön-külön), valamint a szubsztrát és gyógyszervegyület oltás nélküli keverékének (referencia) oxigén koncentrációját is ellenőriztük minden esetben. Ez utóbbira azért volt szükség, mert a vizsgált vegyületek (gyógyszer és szubsztrát) között felléphet nem kívánatos kémiai reakció, amely hibát okozhat az oxigén koncentráció mérésénél. A referenciaméréseket nem dokumentáltuk, csak eltérés (változás az oxigénkoncentrációban) esetén korrigáltuk volna az eredményeket. Oltóanyagként a Dél-pesti Szennyvíztisztító Telep eleveniszapját és denitrifikáló biofilmjét használtuk. Működő kometabolizmus esetén a gyógyszer és a szubsztrát együttes adagolása nagyobb légzésintenzitást eredményez, mint a külön-külön mért légzésintenzitások összege.

A 29. ábrán a kometabolikus légzés és a szubsztrátlégzés hányadosát ábrázoltuk. A hányados a kometabolizmus hatékonyságát szemlélteti. Minél nagyobb az arány (>1), annál hatékonyabban működik a kometabolizmus. Mindkét gyógyszernél kimutatható volt a kometabolikus hatás, de az eleveniszap esetében volt igazán hatékony. Míg az SMX-nél $0 - 11$ -szeres, a diclofenák esetében $0 - 18$ -szoros intenzitásnövekedés tartományban mértünk.

A könnyen bontható szubsztrátok közül kedvezőket és kevésbé kedvezőket is választottunk a további, γ -besugárzással végzett kísérletekhez. Kedvezőnek azt tekintettük, amelyiknél nagy

volt a kometabolikus és a szubsztrátlégzés hányadosa (10. táblázat és 30. ábra), azaz a leghatékonyabb kometabolizmust eredményezte. Arra voltunk kíváncsiak, hogy melyik szubsztrát esetében érhető el a legnagyobb javulás a besugárzás hatására. Feltételezéseink szerint a γ -besugárzás eredményezhet olyan változást a gyógyszermolekula szerkezetében, amely hozzáférhetővé teszi az eredetileg kedvezőtlen szubsztrát enzime számára, így a kedvezőtlen szubsztrát kedvezővé, illetve kedvezőbbé válhat. Így módon a γ -besugárzással modellezett AOP technológiák segíthetik a gyógyszerek kometabolikus biotranszformációját.



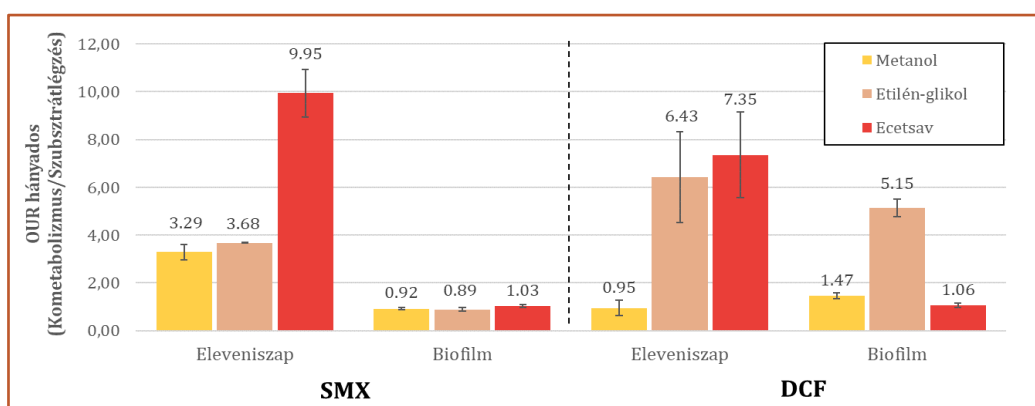
29. ábra A kometabolizmus hatása az oxigénfogyasztásra SMX és diklofenák esetében.

Elsősorban az eleveniszapos eredményeket figyeltük, mivel ennél az oltóanyagnál az összes szubsztrát közreműködött a kometabolizmusban, bár különböző mértékben. Az SMX esetében kedvező szubsztrát az ecetsav (9,95x), kevésbé kedvező az etilén-glikol (3,68x) és gyenge a metanol (3,29x) volt. Diklofenák esetében ugyanez a sorrend. Kedvező szubsztrát az ecetsav (7,35x), kevésbé kedvező az etilén-glikol (6,43x) és gyenge a metanol (0,95x) volt. Mivel a biofilm esetében kevés szubsztrát volt eredményes a kometabolizmus szempontjából, és azok

is inkább csak a DCF biotranszformációját segítették, így a γ -besugárzás hatását biofilmmel érdemes vizsgálni a továbbiakban (7.1.2.4 fejezet).

10. táblázat Az előtesztek során tapasztalt légzésintenzitás változás metanol, etilén-glikol és ecetsav esetében

GYÓGYSZER	OLTÓANYAG	METANOL	ETILÉN-GLIKOL	ECETSAV
SZULFAMETOXAZOL (SMX)	ELEVENISZAP	3,29x	3,68x	9,95x
	BIOFILM	0,92x	0,89x	1,03x
DICLOFENÁK (DCF)	ELEVENISZAP	0,95x	6,43x	7,35x
	BIOFILM	1,47x	5,15x	1,06x

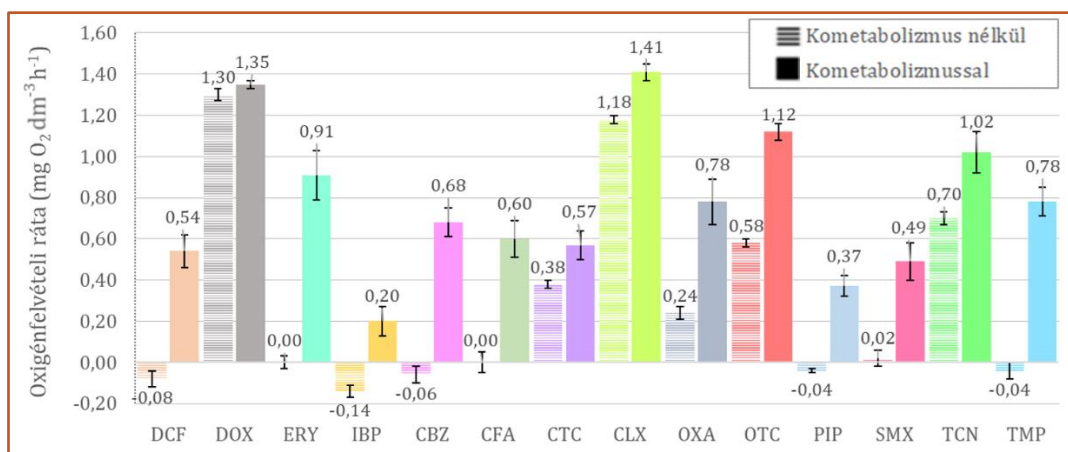


30. ábra Az előtesztek során tapasztalt légzésintenzitás változás metanol, etilén-glikol és ecetsav esetében

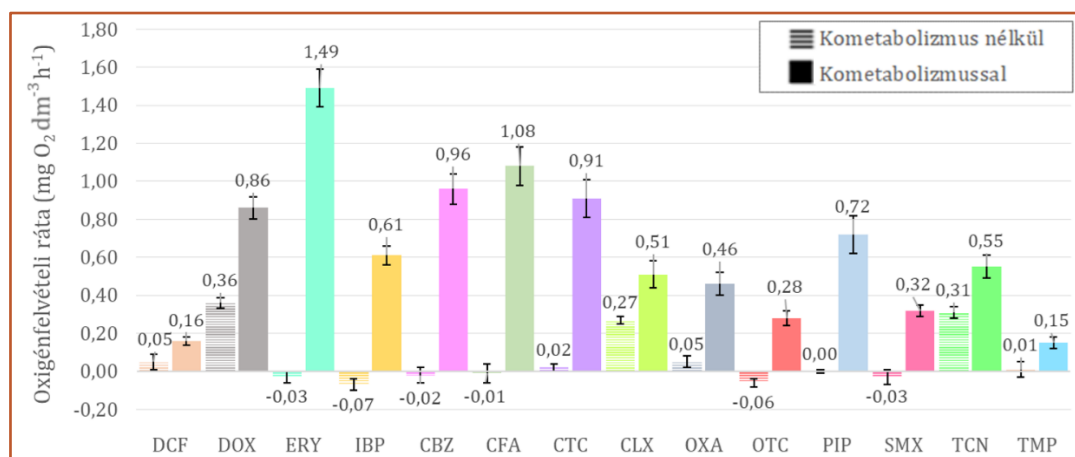
7.1.2.3. A kometabolizmus gyakoriságának felmérése

Az eddigiekben két gyógyszervegyület (SMX, DCF) esetében már bizonyítottuk a kometabolizmus működését. Felmerült a kérdés, hogy mennyire elterjedt jelenségről van szó? Vajon minden gyógyszer esetében működik?

A kometabolizmus gyakoriságának felmérésénél 14 gyógyszervegyületet (ERY, OXA, TPM, PIP, CLX, TCN, OTC, CTC, DOX, SMX, DCF, IBF, CFA, CBZ) vizsgáltunk meg kétféle oltóanyaggal: Dp-i SZVTT eleveniszap és biofilm. **Eleveniszap** esetében a gyógyszerek 0,1 mM oldatához szubsztrátként **előülepített szennyvíz desztillátumát** (50 mg KOI-ekvivalens) adtuk. Az előülepített szennyvíz VFA tartalma $\sim 50 - 100 \text{ mg dm}^{-3}$. A desztillációval ezt a – kometabolizmus szempontjából hasznos - VFA tartalmat nyerjük ki a szennyvízből. **Biofilm** esetében 0,03 mM gyógyszerkoncentráció mellé **metanolt** (50 mg KOI-ekvivalens) adagoltunk. A gyógyszer és a szubsztrátok lebontását önállóan is kimértük. Sikeres kometabolizmus esetén a gyógyszer és a szubsztrát együttes adagolása nagyobb légzésintenzitást eredményez, mint a külön-külön mért légzésintenzitások összege.



31. ábra Különböző gyógyszerek kometabolizmusa eleveniszap oltóanyaggal, ecetsav adagolása mellett. Vakkkal korrigált értékek. Egy szín egy gyógyszervegyületet képvisel, ahol a vonalazott kitöltésű oszlop a kometabolizmus nélküli értéket jelöli, a telített pedig a kometabolizmust.



32. ábra Különböző gyógyszerek kometabolizmusa biofilm oltóanyaggal, metanol adagolása mellett. Vakkkal korrigált értékek. Egy szín egy gyógyszervegyületet képvisel, ahol a vonalazott kitöltésű oszlop a kometabolizmus nélküli értéket jelöli, a telített pedig a kometabolizmust.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a kometabolizmus az összes tesztelt gyógyszervegyület esetében működő jelenség (31. ábra és 32. ábra). A kometabolizmus hatékonysága egy adott gyógyszervegyület esetében is nagyon eltérő lehet két különböző időpontban, mivel a baktériumközösség összetétele változhat (32. ábra nagy szórásértékei *pl.* klórtetraciklin esetében: $0,91 \pm 0,1 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

7.1.2.4. A kometabolizmus hatékonyságának felmérése

Az alábbi kísérletekben számszerűsítettük a kometabolizmus hatékonyságát, a vizsgált gyógyszer koncentrációját HPLC vizsgálatokkal határoztuk meg. A szervesanyag fogyasztó heterotróf mikroorganizmusok közül metilotrófokkal foglalkoztunk, hiszen az MMO (metán-monooxygenáz) enzimrel kapcsolatban ismert a kometabolizmus jelentősége [26]. Korábbi kísérleteink során igazoltuk a kometabolizmust több gyógyszer mellett a DCF esetében is (32. ábra), és a metilotróf dominanciájú denitrifikáló biofilmkultúrát szelektíven tudjuk táplálni

metanollal, amelyhez a Dp-i SZVTT-en adaptálódott. Ez a kultúra az etilén-glikolt is hasznosítani tudja. Ez volt a másik kísérleti szubsztrátunk. Azt vizsgáltuk, hogy metanol, vagy etilén-glikol jelenlétében létrejön-e biotranszformációs lépés, mert egyedüli szubsztrátként ez a kultúra nem tudta bontani a gyógyszert (32. ábra).

A kísérletsorozatban 25 mg MLSS biofilm oxigénfogyasztását mértük 0,05 mM DCF oldaban, 150 mg KOI-ekvivalens metanol adagolása mellett. A kometabolizmus hatékonyságát a légzéstartók lezárása (szűrés 0,45 μm -es szűrőpapírral, majd fagyasztás) után HPLC vizsgálatokkal ellenőriztük, amellyel a kiindulási és a végső DCF koncentrációt mértük. A légzésintenzitás értékeket is regisztráltuk. Az oxigén koncentráció korlátozott volt, mivel nem levegőztethettük a keverékeket, így a vizsgálat az oxigéntartalom kimerüléséig tartott (1-2 óra). Az eredményeket a 11. táblázatban foglaltuk össze. A táblázatban feltüntetett oxigénfogyasztás a DCF molekula által indukált nettó érték, azaz a metanol/etilén-glikol szubsztrátlégzését már levontuk. Az intenzív szubsztrátlégzés miatt használta el a palackokból az oxigént gyorsan a biofilmműködés.

11. táblázat A légzéstartók és a HPLC mérések eredményeinek kiértékelése. A feltüntetett oxigénfogyasztás a DCF molekula által indukált nettó érték, azaz a metanol/etilén-glikol szubsztrátlégzés értékeit nem tartalmazza.

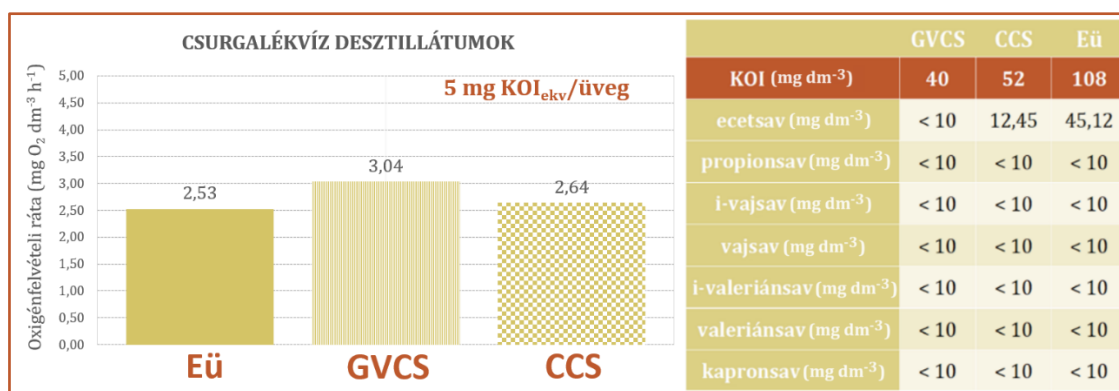
ÖSSZEÁLLÍTÁS	GYÓGYSZER FOGYÁS (mg dm^{-3})	O ₂ FOGYÁS (mg dm^{-3})	O ₂ /DCF
DCF + metanol	2,10 ($c_{\text{kiindulási}}$: $13,81 \pm 0,3 \text{ mg dm}^{-3}$; $c_{\text{végső}}$: $11,71 \pm 0,7 \text{ mg dm}^{-3}$)	1,25 (1 óra alatt)	0,59 (2,32 = teljes oxidáció)
DCF + etilén-glikol	1,15 ($c_{\text{kiindulási}}$: $13,81 \pm 0,3 \text{ mg dm}^{-3}$; $c_{\text{végső}}$: $12,66 \pm 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$)	0,6 (2 óra alatt)	0,52 (2,34 = teljes oxidáció)

A mért oxigénfogyasztás és a gyógyszerfogyás arányából kiolvasható, hogy az oxidáció nem teljes, ami nem meglepő, mert a kometabolizmus valóban csak részleges bontást jelent.

Mivel a légzéstartók során az oxigén koncentráció limitált, így a gyógyszerek kometabolizmusának hatékonysága csak korlátozottan értékelhető. A fellevegőztetett folyadékokban az oxigén koncentráció $7,6 \text{ mg dm}^{-3}$ (20°C) körüli érték, amely gyorsan nullára csökken az aerob biológiai folyamatok következtében. Ezért folyamatos levegőztetés mellett is megismételtük a méréseinket, amelyhez minireaktorokat állítottunk össze. Ugyancsak biofilmes kultúrát használtunk metanoladagolással. A kiindulási DCF koncentráció $34,3 \text{ mg dm}^{-3}$ volt, a végső $26,9 \pm 1,5 \text{ mg dm}^{-3}$. A kometabolizmus hatékonysága $420 \pm 100 \mu\text{g DCF g}^{-1}$ biomassza nap⁻¹. A DCF $0,001 - 94,2 \mu\text{g dm}^{-3}$ koncentrációban van jelen a nyers szennyvízben [178].

7.1.2.5. Belső szénforrások hasznosulása a kometabolizmus során

A fenti kísérletből kiderült, hogy tiszta vegyületekkel (metanol, ecetsav stb.) segíthetjük a gyógyszerek biotranszformációját kometabolizmussal. Nagy VFA tartalmuk miatt az előülepített szennyvíz és a csurgalékvizek is alkalmasak lehetnek a kometabolizmus támogatására. Egy külön méréssorozatban az SMX kometabolizmusát összevettettük kétféle csurgalékvíz (GVCS = gravitációs sűrítő csurgalék; CCS = centrifuga csurgalék) és az előülepített szennyvíz (Eü) illósav tartalmával. Oltóanyagként eleveniszapot használtunk. A desztillátumok szervesanyag tartalma (KOI-értékek a 33. ábrán) és illósavösszetétele is különbözött, bár nagyrészt ecetsavat tartalmaztak. A KOI-értékük Eü (108 mg dm^{-3}) > CCS (52 mg dm^{-3}) > GVCS (40 mg dm^{-3}) sorrendben változott.

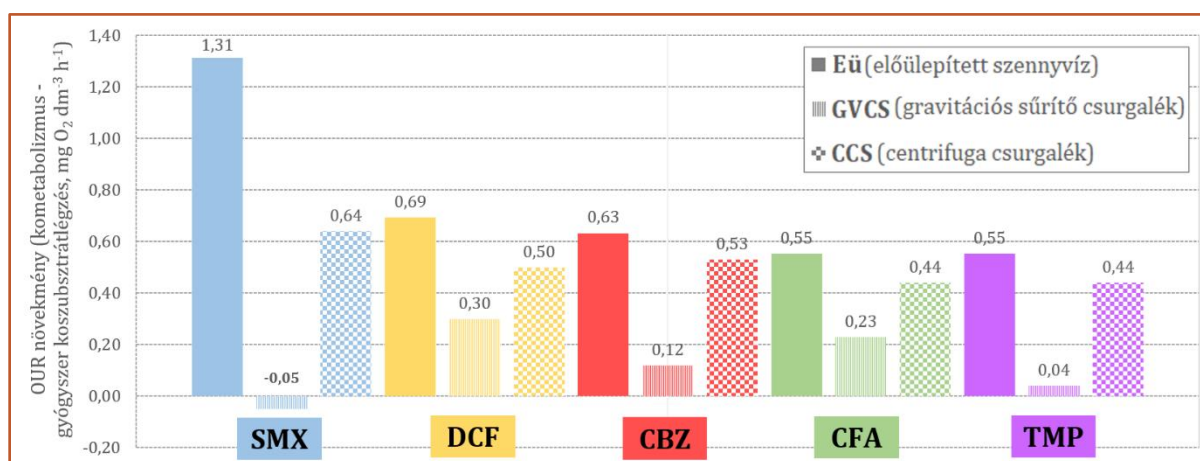


33. ábra Az előülepített szennyvíz és a csurgalékvizek desztillátumainak adatsorai (OUR, KOI és illósavösszetétel)

A légzésesztekek során nem egyenlő térfogatban adagoltuk a szennyvíz desztillátumokat, bár bizonyos szempontból az is megfelelő összehasonlítási alap lenne, hanem azonos terhelési értékeket alkalmazunk. Ez azt jelenti, hogy minden üvegben ugyanannyi iszap (25 mg MLSS) volt, ugyanannyi szerves anyag terheléssel ($= 5 \text{ mg KOI}_{\text{ekv}}$). Ez az eljárás is az illósvartartalom közötti minőségi különbséget mutatja biológiai oldalról. Jobban bontható (nagyobb légzésintenzitás) a kedvezőbb illósvösszetételű forrás. Így olyan különbségeket is láthatunk, amelyet a gázkromatográfia (33. ábra, illósvösszetétel) a méréshatár limitáció miatt nem mutat ki. A 33. ábra alapján is leolvasható, hogy önmagában a GVCS illósvösszetétele a legkedvezőbb ($3,04 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$), a másik két mintáé közel azonos (Eü: $2,53$; CCS: $2,64 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$).

A kometabolizmus kísérletek során, öt gyógyszert teszteltünk ($0,05 \text{ mM}$) SMX, DCF, CBZ, CFA, TMP) eleveniszap oltóanyaggal. A 34. ábra foglalja össze az eredményeket, ahol már a kometabolizmus hatására mérhető légzésintenzitás növekmény olvasható le közvetlenül.

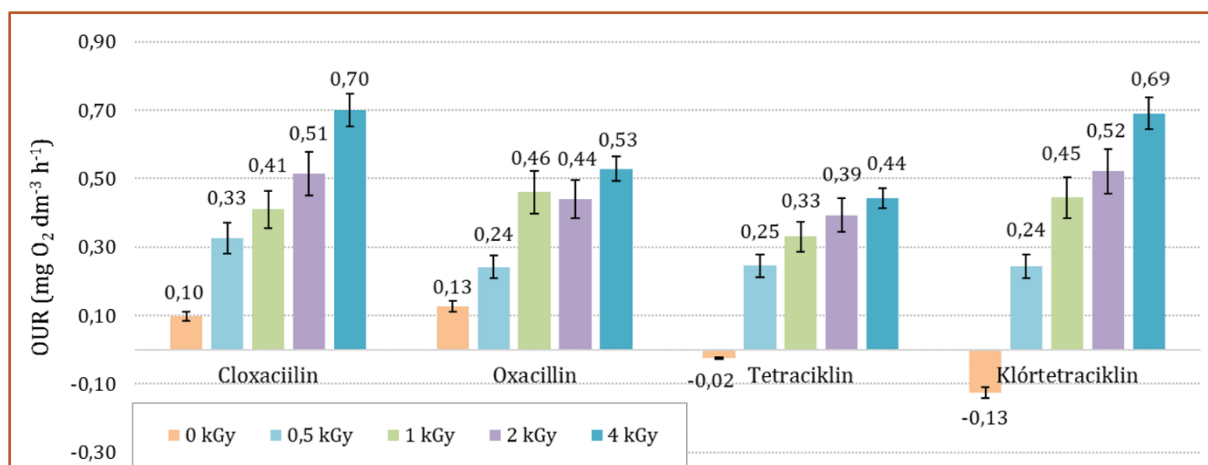
Minden gyógyszernél az Eü adagolás eredményezte a legnagyobb légzésintenzitásváltozást, és SMX esetében a többi gyógyszerénél 2-2,5-szer nagyobb értéket (SMX, DCF, CBZ, CFA, TMP rednre: 1,31; 0,69; 0,63; 0,55; 0,55 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹). Kedvező összetétele ellenére a legkisebb változást minden gyógyszervegyületnél a GVCS idézte elő (SMX, DCF, CBZ, CFA, TMP rednre: -0,05; 0,30; 0,12; 0,23; 0,04 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹), valójában SMX és TMP esetében nem működött kometabolizmus ezzel a szubsztrátkeverékkel. DCF (Eü, GVCS, CCS rendre: 0,69; 0,30; 0,50 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹) és CFA (Eü, GVCS, CCS rendre: 0,55; 0,23; 0,44 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹) volt az a két vegyület, ahol a háromféle desztillátum egyöntetűen támogatta a kometabolizmust. Összességében azonban megfelelő szubsztrátkeveréknek bizonyult mindhárom desztillátumtípus, hiszen ha nem is minden gyógyszer esetében, de elősegítették a kometabolizmust.



34. ábra A kometabolizmus desztillátumokkal és eleveniszap oltóanyaggal. Jelölések: előülepített szennyvíz (Eü), gravitációs sűrítő csurgalék (GVCS), centrifuga csurgalék (CCS), szulfametoxazol (SMX), diclofenák (DCF), karbamazepin (CBZ), klofibrinsav (CFA), trimethoprim (TMP).

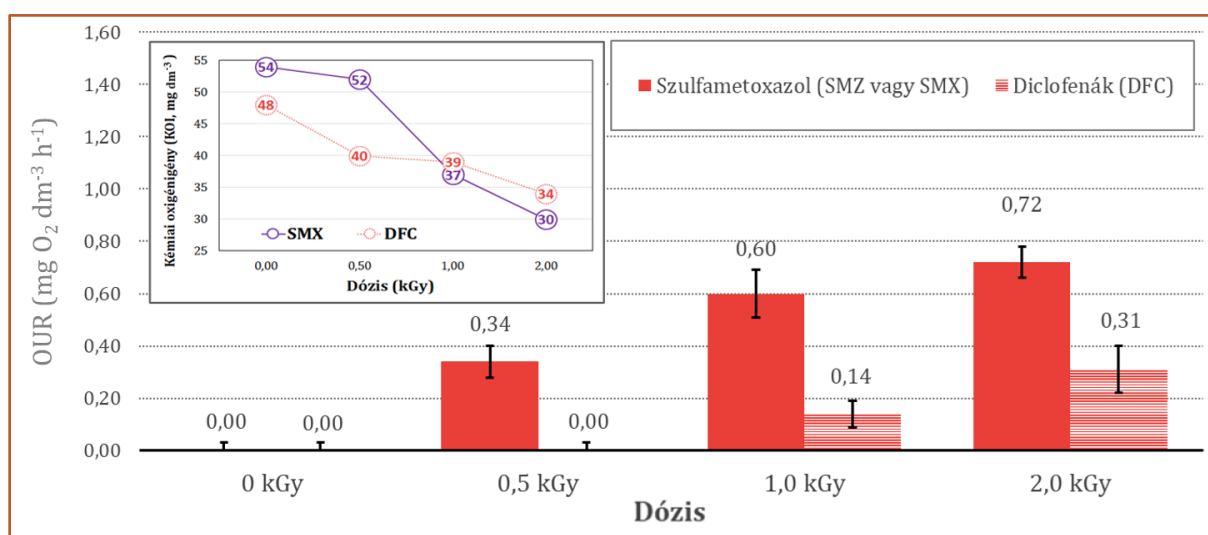
7.1.3. Az AOP hatásának vizsgálata

A γ -sugárzással (0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) kezelt 0,1 mM koncentrációjú gyógyszeroldatok (OXA, CLX, TCN, CTC) esetében 25 mg MLSS eleveniszaphoz csak a kezelt/kezeletlen gyógyszeroldatokat (150 cm³) adtuk. Így a gyógyszerek biológiai bonthatóságának változását, vagyis szubsztrátként való hasznosulását követhettük nyomon. A 35. ábrán jól látható, hogy jelentős légzésintenzitás növekedést mértünk minden elnyelt dózisonál és a bonthatóság a dózissal nőtt. A kezeletlen minták közül (0 kGy) a klórtetraciklin kifejezetten gátolta az eleveniszap normál aktivitását (-0,13 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹), de ez a gátlás már a legkisebb dózisonál (0,5 kGy) eltűnt és légzésintenzitás növekedést mértünk (0,24 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹).



35. ábra A γ -radiolízissel (0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) kezelt gyógyszerek biológiai bonthatóságának változása

Minden gyógyszernél jelentős légzésintenzitás növekedést tapasztaltunk már 0,5 kGy dózis alkalmazásával (CLX: 0,33; OXA: 0,24; TCN: 0,25; CTC: 0,24 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹), majd a dózissal együtt emelkedett az OUR értéke és 4 kGy dózisonál érte el a maximumot (CLX: 0,70; OXA: 0,53; TCN: 0,44; CTC: 0,69 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹).



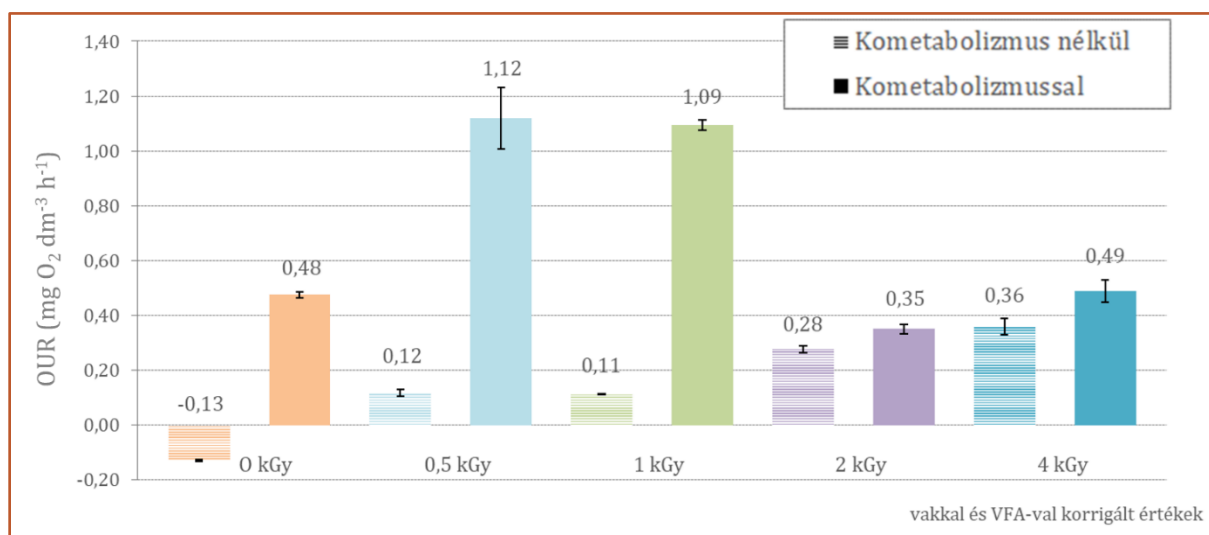
36. ábra A γ -radiolízissel kezelt minták biológiai bonthatóságának változása légzéstanalízissel vizsgálva. A bal felső ábrarészlet a KOI-értékek változását mutatja.

A γ -radiolízis (0; 0,5; 1; 2 kGy) hatását a biológiai bonthatóságra SMX és DCF (0,1 mM oldat) esetében is vizsgáltuk az előző kísérlet összeállítására (25 mg MLSS eleveniszap, 150 cm³ kezelt/kezeletlen gyógyszeroldat). Besugárzás hatására javult a biológiai hozzáférhetőség mindkét gyógyszernél, a dózis növelésének függvényében. Az eredményeket a 36. ábrán követhetjük nyomon. 0,5; 1,0 és 2,0 kGy elnyelt dózisonál az SMX esetében 0,34; 0,60 és 0,72 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹, míg a DCF esetében 0,00; 0,14 és 0,31 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹ oxigénfogyasztás növekedést mértünk.

Az SMX hasonlóan viselkedett, mint a 35. ábrán bemutatott 4 vegyület, azaz 0,5 kGy dózis is elegendő a biotranszformációs folyamatok elindulásához. DCF esetében azonban csak 1 kGy dózisérték felett figyelhető meg változás, és még 4 kGy dózis hatására is kisebb oxigénfogyasztás növekedést mértünk, mint SMX esetén 0,5 kGy elnyelt dózissal. A KOI értékekben is jelentős változást mértünk. Az SMX oldat KOI-ja 54 mg dm³ értékről 30 mg dm³-re csökken, a DCF-é 48 mg dm³-ről 34 mg dm³-re. A csökkenés a szerves anyagok részleges oxidációjának, esetleg mineralizációjának köszönhető, mely során szerves molekulákból oxidáltabb formák, illetve szervesetlen molekulák képződnek. Tehát a minták lecsökkent KOI-értéke mellett mértünk emelkedett légzésintenzitást.

7.1.4. Az AOP és a kometabolizmus együttes hatásának vizsgálata

A γ -radiolízis (0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) kometabolizmusra gyakorolt hatását vizsgáltuk klórtetraciklin esetében, Dp-i SZVTT eleveniszap (25 mg MLSS) oltóanyaggal. A kometabolizmust előlepipített szennyvíz desztillátumával idéztük elő (150 KOI-ekvivalens). Az eredmények a 37. ábrán láthatók. Az elnyelt dózis növelésével együtt a klórtetraciklin biológiai bonthatósága is növekedett, amelyet a növekvő OUR-értékek mutatnak (0 kGy: -0,13; 0,5 kGy: 0,12; 1 kGy: 0,11; 2 kGy: 0,28; 4 kGy: 0,36 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹). A kometabolizmus ezen légzésintenzitás értékeket tovább növeli (0 kGy: 0,48; 0,5 kGy: 1,12; 1 kGy: 1,09; 2 kGy: 0,35; 4 kGy: 0,49 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹), de a kometabolizmus maximumát 0,5-1 kGy dózissal értük el.

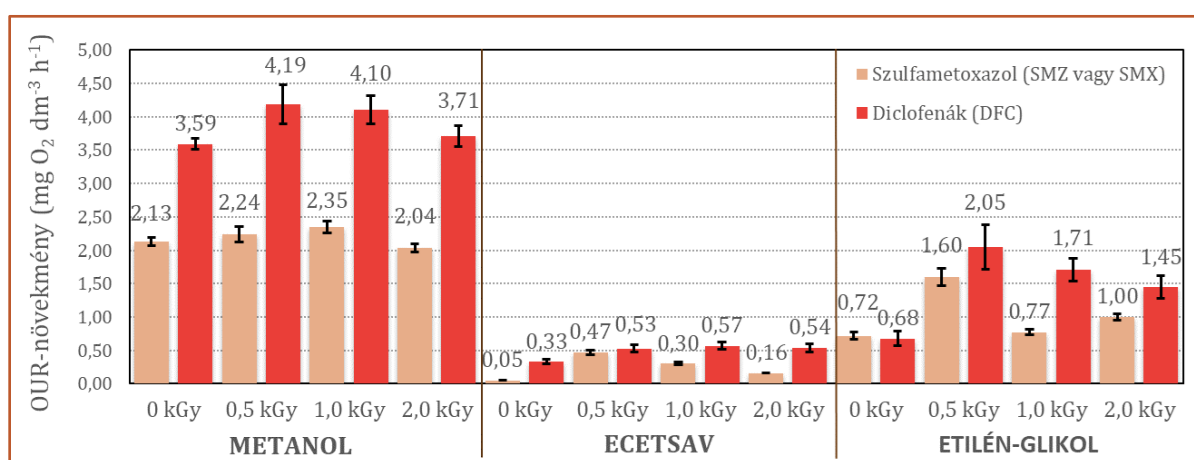


37. ábra γ -radiolízissal (0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) kezelt klórtetraciklin oldat (0,05 mM) kometabolizmusa előlepipített szennyvíz desztillátum adagolásával,

Ennek két oka lehet. Egyrészt elképzelhető, hogy a nagyobb dózisoknál már túloxidáltak a termékek ahhoz, hogy a baktériumok szervesanyag-forrásként használják. Másrészt térfogatalapú adagolást alkalmaztunk, így a γ -radiolízis KOI-t csökkentő hatását nem tudjuk

figyelembe venni. Tehát elképzelhető, hogy már eleve kisebb a szerves anyagok teljes mennyisége a nagyobb dózissal (2-4 kGy) kezelt mintákban.

További két gyógyszer esetében (SMX, DCF) komplexebb felépítésű kísérletsorozatot végeztünk el. A γ -radiolízissel (0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) 0,1 mM gyógyszeroldatot kezelünk, majd légzéstartól vizsgáltuk (150 cm³ / 300 cm³ üveg, 25 mg MLSS biofilm). Szubsztrátként az enzimek indukciójára metanolt, ecetsavat és etilén-glikolt használtunk (150 mg KOI-ekvivalens). Az AOP és a kometabolizmus eredmények a 38. ábra láthatók, ahol az oszlopok a növekményt jelenítik meg, vagyis azt a változást, amelyet a kezeletlen/kezelt gyógyszer adagolása eredményez a szubsztrát önálló adagolásánál mérthez képest (szubsztrátlégzés).



38. ábra A légzésintenzitás változása besugárzás hatására SMX és DCF esetén, metanol, ecetsav, illetve etilén-glikol adagolása mellett.

A vizsgálatok során azt tapasztaltuk, amit már az előzőleg bemutatott méréseinkben is, hogy a kezeletlen mintákat önmagában a baktériumkultúra nem volt képes bontani (0 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹, azaz nem volt anyagcsere aktivitás; ez itt nem szerepel az ábrán). Míg szubsztrát jelenlétében (rendre ecetsav, etilén-glikol, metanol) a légzésintenzitás növekedett (SMX: 0,05 - 0,72 - 2,13 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹; DCF: 0,33 - 0,68 - 3,59 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹). A 38. ábra kezeletlen, azaz 0 kGy jelű oszlopa mutatja a kometabolizmus alapértékét, amellyel összehasonlíthatjuk a három szubsztrát hatását. Mindkét gyógyszervegyület kometabolizmusánál a metanol bizonyult a leghatékonyabb szubsztrátnak, ez a szubsztrát növelte meg legnagyobb mértékben a légzésintenzitást a gyógyszeroldathoz képest.

A két módszer kombinálása során megfigyeltük, hogy a kometabolizmus hatékonyságát a besugárzás képes fokozni 0,5 kGy dóziséig (ecetsav, etilén-glikol, metanol sorrendben; SMX: 0,47 - 1,60 - 2,24 mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹; DCF: 0,53 - 2,05 - 4,19 mg mg O₂ dm⁻³ órá⁻¹), nagyobb dózisinál már nem tapasztaltunk javulást. A kezelés azonban nem metanol esetében hozta a

legnagyobb javulást. A szulfametoxazolhoz adagolt ecetsav közel tízszeres ($0,05 \rightarrow 0,33 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$), a diklofenákhhoz kevert etilén-glikol háromszoros ($0,68 \rightarrow 2,05 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$) légzésintenzitást eredményezett az önálló kometabolikus hatáshoz viszonyítva. Metanollal a kezelés hatása alig kimutatható (SMX: 2,13-ről 2,24 $\text{mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$ -re; DCF 3,59-ről 4,19 $\text{mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ órá}^{-1}$ -re).

A kísérletek során bebizonyosodott, hogy ugyan a γ -sugárzással végzett kezelés önmagában is képes biológiailag hozzáférhetővé tenni a gyógyszervegyületeket, a kometabolizmussal a biológiai átalakulás jelentősen fokozható. Az eredmények alapján az AOPk alkalmazása a – természetes folyamatok intenzifikálásán alapuló – kometabolizmussal sikeres fejlesztési útvonal lehet a szerves mikroszennyezők eltávolításában. [215]

7.2. A hosszútávú hatások felmérése

A kometabolizmus, illetve az AOP hosszútávú hatásait a gyógyszerek biológiai transzformációjára BOI mérésekkel vizsgáltuk. A BOI-tesztek eredményeit különböző kémiai, biológiai módszerekkel egészítettük ki, illetve támasztottuk alá.

7.2.1. Előtesztek

Az előtesztek során a **szubsztrátok és a gyógyszervegyületek optimális koncentrációit** kerestük, amely a vizsgálatoknál alkalmazható. Az optimális koncentrációtartományt felülről a toxicitás, alulról a mérési paraméterek kimutatási határai ($\text{BOI}_5, \text{OxiTop} > 10 \text{ mg dm}^{-3}$) alakítják. Ezen felül a biotikus és abiotikus úton a hidrogén-peroxidból felszabaduló oxigén hatása is előzetes vizsgálatokat igényelt. A légzéstesztekkel ellentétben a **mérésbeállításokat elméleti úton** határoztuk meg. Két alapfeltevés lehetséges:

- a) A **gyógyszeroldatok** metabolikus bonthatóságának vizsgálatánál nem használunk koszubsztrátot, így csak oltani szükséges az oldatot, ami 2x-es hígítást jelent oltó-hígítóvízzel. A mérési tartomány korlátozása miatt a 0,1 mM gyógyszeroldatoknál legfeljebb 2x-es hígítás megengedhető (elméleti BOI_5 hígítás után $< 30 \text{ mg dm}^{-3}$). Ezekhez a vizsgálatokhoz a 250 cm^3 -es bemérést alkalmaztunk, amely a módszer teljes méréstartományának (22,7 – 43,5 – 97 – 164 – 250 – 365 – 432) a közepe és kisebb KOI értékű oldatok vizsgálatához is alkalmas. A toxicitást a vakmintához viszonyított BOI-értékek alapján vizsgáltuk minden mérésnél külön-külön.

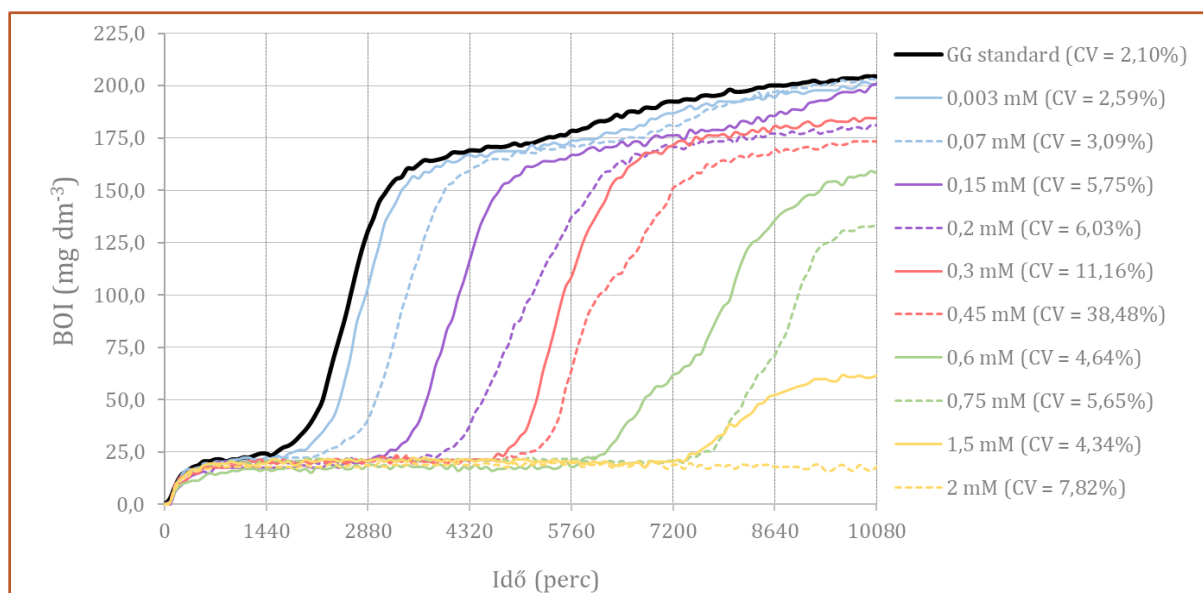
- b) A kometabolizmus vizsgálatához **szubsztrátok** adagolása szükséges, és ennek BOI_5 -értéke egyben referenciaértékként is szolgál. Kometabolizmus esetén ez az érték növekedhet, de gátlás/toxicitás esetén nagymértékben csökkenhet is. Ezért a szubsztrátadagolást úgy kellett megválasztanunk, hogy mind a negatív, mind a pozitív változások jól olvashatók legyenek ($KOI \sim 160 \text{ mg dm}^{-3}$, ill. $BOI_5 \sim 160 \text{ mg dm}^{-3}$, mivel a Na-Ac és a metanol 100%-osan bontható biológiailag). A kometabolizmus vizsgálatához nátrium-acetát oldatát, illetve metanolt használtuk szubsztrátként.

A kísérletekhez a légzéseszközök során kiválasztott oltóanyagokat, a Dp-i SZVTT eleveniszapját és biofilmjét (szűrleteket) használtuk. A BOI_5 vizsgálatok kiindulási összcsíraszám (a 22°C -on növekvő heterotróf aerob baktériumok száma) $6,4 \times 10^2 \text{ CFU cm}^{-3}$ ($650 / 690 / 580 \text{ cm}^{-1}$; szórás: 7,1%). Az 5 napos tesztek során a baktériumok felszaporodtak az elfogyasztott tápanyagon és $4,3 \times 10^6 \text{ CFU cm}^{-3}$ ($3,1 \times 10^6 / 3,9 \times 10^6 / 5,9 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}$; szórás: 27,4%) összcsíraszámra zárul a vizsgálat, de egy-két napig még nem változik jelentősen a baktériumszám (*ld. BOI görbe formája, 39. ábra*).

A légzéseszközökhöz hasonlóan a γ -besugárzás során képződő **hidrogén-peroxid** BOI vizsgálatokra gyakorolt hatását is vizsgáltuk. A glükóz-glutaminsav standard oldat (SM 5210, Glucose-glutamic acid check, $150\text{--}150 \text{ mg dm}^{-3}$) BOI értékét ($210 \pm 30 \text{ mg dm}^{-3}$) és a görbe időbeli lefutását összehasonlítottuk ugyanazon oldathoz adagolt H_2O_2 koncentráció sorozat ($0,03\text{--}2 \text{ mM}$) esetében mért értékekkel. A 39. ábrán és a 40. ábrán (a) jól látható, hogy a H_2O_2 kétféleképpen torzítja a BOI értéket. A toxikus vegyület az érzékenyebb baktériumcsoportokat elpusztítja, míg a toleránsabbak növekedéséhez szükséges alkalmazkodási időt megnöveli. Emellett a BOI érték csökken, mert a hidrogén-peroxidból felszabaduló oxigén negatív hibát eredményez, mivel az O_2 -fogyasztás ellen hat. Kis H_2O_2 -koncentráció esetén az adaptációs idő rövid és egy bizonyos idő elteltével a görbe növekedni kezd, jelezve, hogy a baktériumtenyészet a növekedés logaritmikus fázisába lépett (a logaritmikus fázist vagy az exponenciális fázist a sejtduplázódás jellemzi). Ez azt jelenti, hogy a sejtek valamilyen (pl. kataláz enzim termelése) formában képesek elkerülni a gátló hatást, és hasznosítani tudják a minta biológiailag lebomló szervesanyag-tartalmát. Nagy H_2O_2 -koncentrációnál ($0,6 \text{ mM H}_2\text{O}_2$ felett) a biológiai lebontás a teljes 7 napos vizsgálati időszak alatt csökkent mértékű.

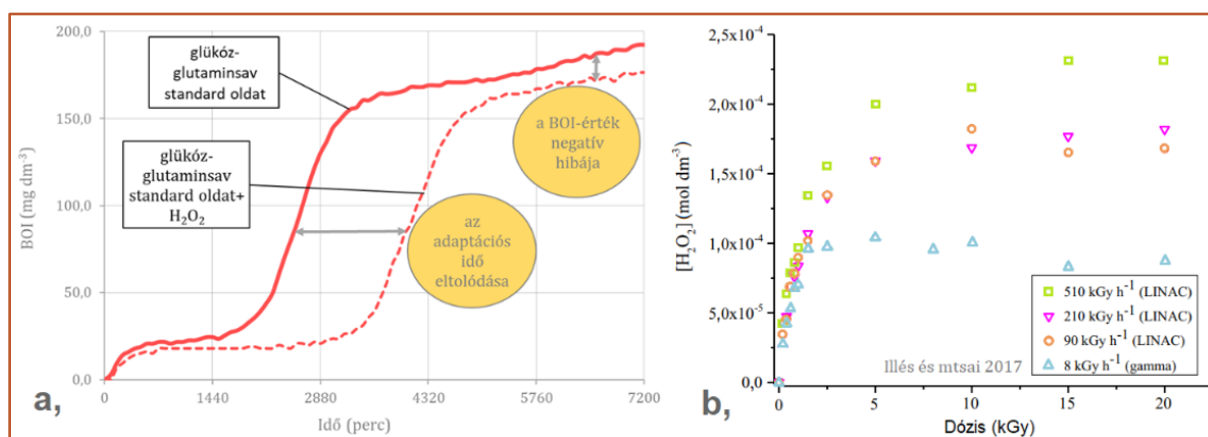
Hogy érzékeltesük a H_2O_2 BOI mérésekre kifejtett hatását Illés és mtsai [216] oxacillinnel végzett kísérletének eredményeit mutatjuk be röviden. 40 mg dm^{-3} ($0,1 \text{ mmol dm}^{-3}$) oxacillinoldatot 0,5, 1, 2 és 4 kGy dózisu γ -sugárzással kezeltek, melynek eredményeként rendre ~ 3 , ~ 5 , ~ 9 és $\sim 10 \text{ mg dm}^{-3}$ H_2O_2 képződött (40. ábra, b). Összevetve ezeket az értékeket

a 39. ábra adatsorával látható, hogy ezek a H_2O_2 koncentrációk már jelentősen torzítják a BOI vizsgálatok eredményét. A változások részletei a 12. táblázatban követhetők. A legkisebb dózis legalább 9,3 óra eltolódást okoz és 5,9%-os csökkenést a BOI értékben. A legnagyobb dózis már 2,17 nap adaptációs idő többletet idézhet elő és a BOI 10,7%-os csökkenését. Ezért mindenképpen el kell távolítani a képződő H_2O_2 -ot a közegből.



39. ábra A hidrogén-peroxid méréstorzító hatása a glükóz-glutaminsav standard oldatra. A vizsgálathoz $3 \mu M$ – 2 mM ($0,1 - 75 \text{ mg dm}^{-3}$) H_2O_2 -oldatsorozatot használtunk.

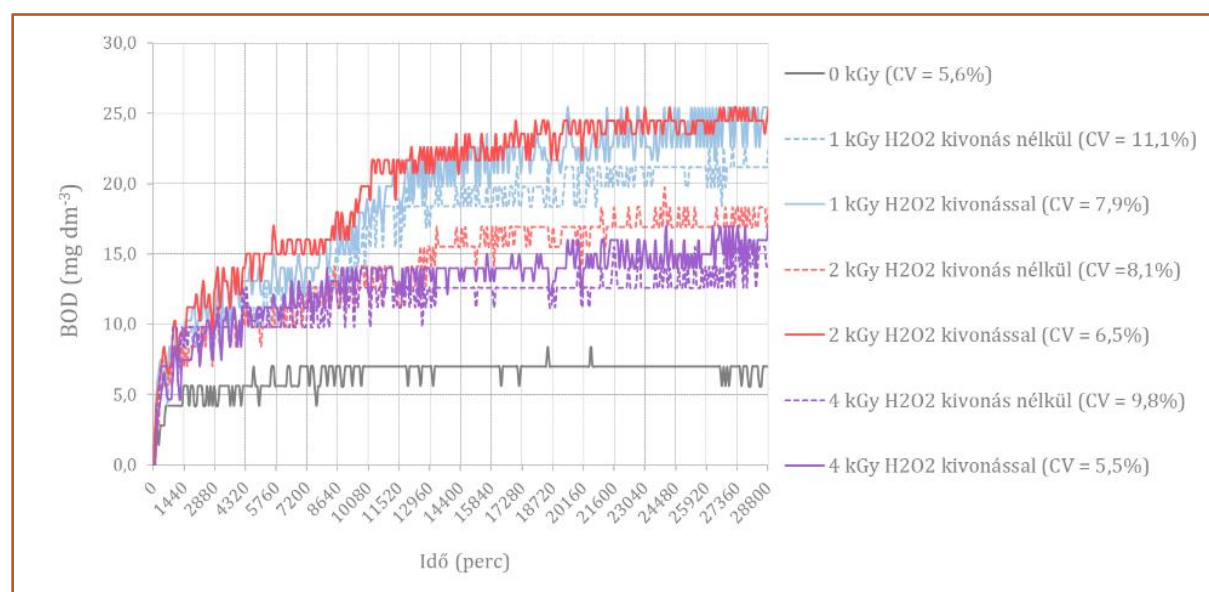
A hidrogén-peroxid eltávolításának jelentőségét igazolja a 41. ábrán látható kísérletsorozat, amely Oxacillin BOI eredményeinek változását mutatja különböző dózisú (1 ; 2 ; 4 kGy) γ -besugárzás hatására, a H_2O_2 jelenlétében és anélkül. A H_2O_2 kivonása után mért BOI értékek minden esetben nagyobbak, mint a kivonás nélküliek (H_2O_2 kivonás nélkül/kivonással: 1 kGy $22,6/25,4$; 2 kGy $18,3/25,4$; 4 kGy $14,0/17,1 \text{ mg dm}^{-3}$).



40. ábra A hidrogén-peroxid méréstorzító hatása (a,) és dóziszfüggő koncentrációja desztilláltvízben, gyorsított elektronok, illetve γ -sugárzás hatására (b, [216]).

12. táblázat A besugárzások (0,5, 1, 2 és 4 kGy) során képződő hidrogén-peroxid mennyisége és az okozott adaptációs idő eltolódás, illetve BOI érték csökkenés

[H ₂ O ₂]	ADAPTÁCIÓS IDŐ ELTOLÓDÁS	BOI CSÖKKENÉS	
		(mg dm ⁻³)	(%)
2,5 mg dm ⁻³	2160-1600 = 560 perc = 9,3 óra = 0,39 nap	192,3 (GG standard) – 181,0 (2,5 mg dm ⁻³ H ₂ O ₂) = 11,3	5,9
10 mg dm ⁻³	4720-1600 = 3120 perc = 52 óra = 2,17 nap	192,3 (GG standard) – 171,7 (10 mg dm ⁻³ H ₂ O ₂) = 20,6	10,7



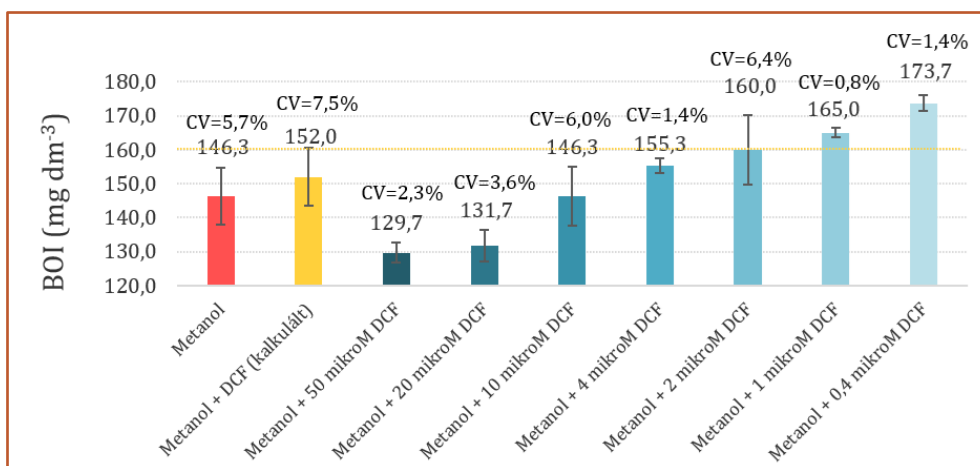
41. ábra Oxacillin BOI eredményeinek változása különböző dózisu (1; 2; 4 kGy) γ -besugárzás hatására a H₂O₂ eltávolítással és anélkül.

7.2.2. A kometabolizmus vizsgálatához tartozó mérések

A kometabolizmus felmérése során 160 mg dm⁻³ KOI értékű oltott-hígított metanololdatból 164 cm³-es bemérésekkel állítottunk össze méréssorozatot oly módon, hogy az DCF csökkenő koncentrációját tartalmazta: 14,8 mg dm⁻³ (50 μ M) – 5,9 mg dm⁻³ (20 μ M) – 2,9 mg dm⁻³ (0,01 mM) – 1,2 mg dm⁻³ (4 μ M) – 592 μ g dm⁻³ (2 μ M) – 296 μ g dm⁻³ (1 μ M) – 118 μ g dm⁻³ (0,4 μ M). A metanol biológiai bonthatóságát negatívan befolyásolja a gyógyszer inhibíció (gátlás) esetében és pozitívan a kometabolizmusnál. Vakmintán (csak oltó-hígítóvíz) felül a gyógyszer (2 μ M) és a metanol önálló oxigénigényét is mértük, külön-külön. A gyógyszer és a metanol összegzett BOI-értéke (152 mg dm⁻³) volt a viszonyítási pont. A kometabolizmus abban az esetben működik, ha az oldatsorozat valamelyik eleme e küszöbérték feletti BOI eredményt mutat. Oltóanyagként a Dp-i SZVTT biofilm kultúráját használtuk.

A tesztorozat eredménye a 42. ábrán követhető, ahol a BOI értékeket oszlopdiagramok segítségével hasonlítjuk össze, amely pontosabb értékelést tesz lehetővé.

A szórásértékek (CV) segítségével megállapíthatjuk, hogy csupán a két legkisebb DCF koncentrációjú oldat (0,4 és 1 μM) teljesíti a meghatározott kritériumot, mivel a küszöbérték szórással kiegészített BOI értékét (sárga vonal a 42. ábrán, $152 + 11,4 = 163,4 \text{ mg dm}^{-3}$) ezek az oldatok haladják meg. A szórásértékek miatt további két oldatot (2 és 4 μM) kizártunk, bár a szórás nélküli küszöbértéket (BOI: 152 mg dm^{-3}) ezek is átlépték (BOI: $155,3 \text{ mg dm}^{-3}$ és 160 mg dm^{-3}). A két legnagyobb koncentráció (20 és 50 μM) már biztosan toxikus, hiszen a tiszta metanolfogyasztás BOI-értékét ($146,3 \text{ mg L}^{-1}$) nem éri el. Tehát legalább két koncentrációnál (0,4 és 1 μM) igazolható a kometabolizmus.



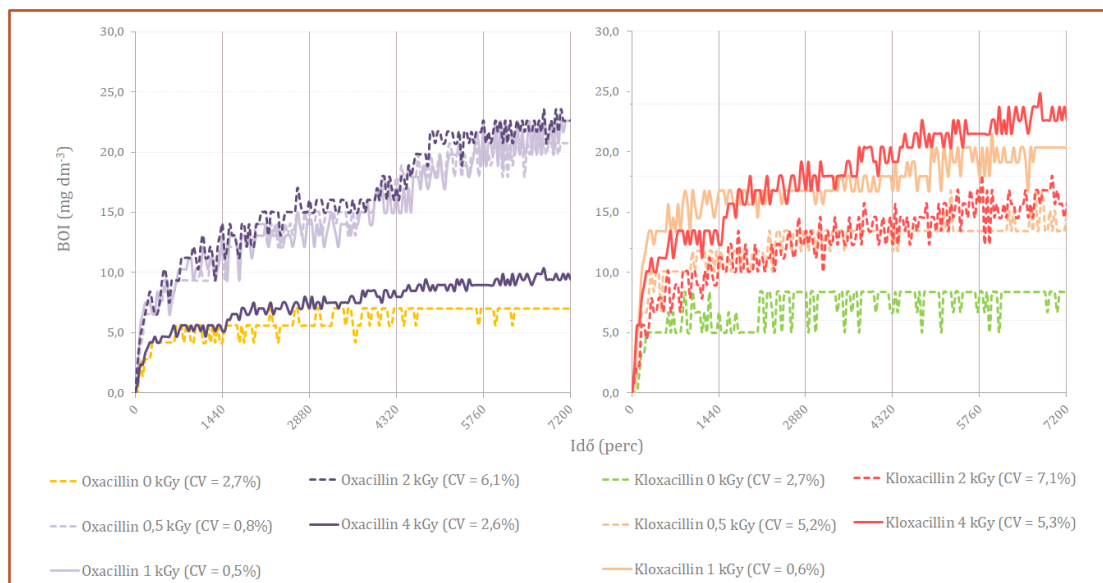
42. ábra A BOI₅ értékek részletes elemzése a szórásértékek (CV) figyelembevételével. Működő kometabolizmus esetén a gyakorlatban kimért BOI értékek nagyobbak az elméleti úton meghatározotnál (DCF + metanol kalkulált).

7.2.3. Az AOP hatásának vizsgálata

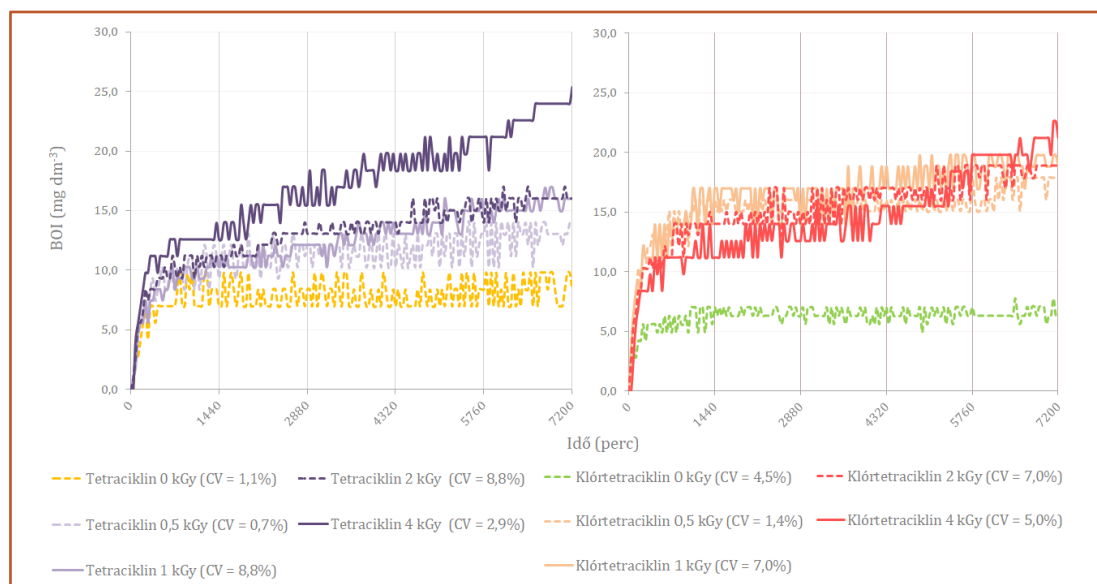
A γ -radiolízis (0, 0,5; 1; 2; 4 kGy) hatását négy antibiotikummal (OXA, CLX, TCN, CTC; 0,1 mM oldat) teszteltük. Kétszeres hígítást készítettünk oltó-hígítóvízzel és BOI változását követtük nyomon a dózis függvényében. Az eredményeket a vakmintához (oltó-hígítóvíz) és a kezeletlen (0 kGy) mintához viszonyítva értékeltük. Az eredményeket a 43. ábrán és a 44. ábrán foglaltuk össze.

A négy antibiotikum nem besugárzott oldatában a BOI₅ értékek és a BOI₅/KOI arányok (13. táblázat) kicsik: 6,3 – 8,4 mg dm^{-3} , illetve 0,10 - 0,14. Ezek alapján az antibiotikumokat a kísérleti körülmények között biológiailag nem lebonthatónak tekintjük. Az oldatok besugárzásakor a BOD₅ nőtt és a KOI csökkent (13. táblázat). A kettő aránya oxacillinnél 0,5, kloxacillinnél 1, tetraciklinnél 4 és klórtetraciklinnél 2 kGy körüli dózisonál 0,40 fölé

emelkedett, jelezve, hogy az oldatok biológiailag bonthatóvá váltak, azaz a bomlástermékek mikrobiológiai oxidációs reakciókban eltávolíthatók voltak.



43. ábra A γ -sugárzással (0, 0,5; 1; 2; 4 kGy) kezelt oxacillin és a kloxacillin oldatok BOI-görbéi eredményei



44. ábra A γ -sugárzással (0, 0,5; 1; 2; 4 kGy) kezelt tetraciklin és a klórtetraciklin oldatok BOI eredményei

A nem besugárzott oxacillin oldat KOI értéke 49, a kloxacillin oldaté 51, a tetracikliné 59 és a klórtetracikliné 61 mg dm^{-3} volt. A KOI az elnyelt dózissal a vizsgált 0-4 kGy tartományban rendre 45, 43, 43 és 46%-kal csökkent, és a dóziszfüggés közel lineáris volt. A TOC vizsgálatok eredményei ugyanezt a trendet követik. A besugárzás nélküli oxacillin oldat TOC értéke 22,16 mg dm^{-3} , a kloxacillin oldaté 22,64 mg dm^{-3} , a tetracikliné 27,14 mg dm^{-3} és a klórtetracikliné 27,89 mg dm^{-3} volt. Az elnyelt dózissal a vizsgált 0-4 kGy tartományban rendre 26,22; 26,28; 26,97 és 31,91%-kal csökkent. Így mind KOI, mind pedig a TOC értékeket tekintve

klórtetraciklin esetében sikerült leginkább roncsolni a molekulákat. A 13. táblázat azt is mutatja, hogy besugárzás hatására a BOI/KOI érték valamennyi vegyületnél 0,4 fölé emelkedett. Az eredetileg nem biodegradálható oldatok tehát a sugárzás hatására biodegradálhatóvá váltak.

13. táblázat Az oxacillin, a kloxacillin, a tetraciklin és a klórtetraciklin oldatok besugárzásának adatsorai. AOS - Average oxidation state.

		KOI ± SD (mg dm ⁻³)	TOC ± SD (mg dm ⁻³)	KOI/ TOC	AOS	BOI (mg dm ⁻³)		BOI/KOI
						$\bar{x} \pm SD$	CV	
OXACILLIN	0 kGy	49,11 ± 0,23	22,16 ± 0,06	2,22	0,68	7,0 ± 0,2	2,7%	0,14
	0,5 kGy	42,03 ± 0,40	21,92 ± 0,21	1,92	1,12	20,7 ± 0,2	0,8%	0,49
	1 kGy	39,30 ± 0,27	21,19 ± 0,07	1,85	1,22	22,6 ± 0,1	0,5%	0,58
	2 kGy	35,81 ± 1,89	19,59 ± 0,10	1,83	1,26	22,6 ± 1,4	6,1%	0,63
	4 kGy	27,18 ± 1,07	16,35 ± 0,09	1,66	1,51	14,0 ± 0,4	2,6%	0,52
KLOXACILLIN	0 kGy	51,47 ± 0,49	22,64 ± 0,06	2,27	0,59	7,0 ± 0,2	2,7%	0,14
	0,5 kGy	45,52 ± 3,29	21,97 ± 0,14	2,07	0,89	12,6 ± 0,7	5,2%	0,28
	1 kGy	37,19 ± 1,15	21,15 ± 0,09	1,76	1,36	17,0 ± 0,1	0,6%	0,46
	2 kGy	35,47± 1,03	19,41 ± 0,10	1,83	1,26	13,1 ± 0,9	7,1%	0,37
	4 kGy	29,56 ± 4,03	16,69 ± 0,03	1,77	1,34	18,9± 1,0	5,3%	0,64
TETRACIKLIN	0 kGy	58,61 ± 0,01	27,14 ± 0,03	2,16	0,76	8,4 ± 0,1	1,1%	0,14
	0,5 kGy	51,17 ± 0,63	25,73 ± 0,42	1,99	1,02	14,0 ± 0,1	0,7%	0,27
	1 kGy	48,31 ± 0,52	24,98 ± 0,21	1,93	1,10	16,0 ± 1,4	8,8%	0,33
	2 kGy	45,35 ± 2,22	23,31 ± 0,05	1,95	1,08	16,0 ± 1,4	8,8%	0,35
	4 kGy	33,26 ± 0,29	19,82 ± 0,17	1,68	1,48	25,4 ± 0,7	2,9%	0,76
KLÓRTETRACIKLIN	0 kGy	60,95 ± 0,15	27,89 ± 0,06	2,19	0,72	6,3 ± 0,3	4,5%	0,10
	0,5 kGy	54,01 ± 0,59	26,53 ± 0,32	2,04	0,95	17,9 ± 0,3	1,4%	0,33
	1 kGy	48,52 ± 0,29	25,72 ± 0,02	1,89	1,17	18,9 ± 1,3	7,0%	0,39
	2 kGy	43,45 ± 0,73	23,88 ± 0,13	1,82	1,27	18,9 ± 1,3	7,0%	0,44
	4 kGy	33,21 ± 0,29	18,99 ± 0,17	1,75	1,38	21,2 ± 1,1	5,0%	0,64

14. táblázat A KOI és TOC dóziszfüggése mg dm⁻³ kGy⁻¹ O₂ és mg dm⁻³ kGy⁻¹ C formában megadva

OXACILLIN		KLOXACILLIN		TETRACIKLIN		KLÓRTETRACIKLIN	
KOI/Dózis	TOC/Dózis	KOI/Dózis	TOC/Dózis	KOI/Dózis	TOC/Dózis	KOI/Dózis	TOC/Dózis
6,7	2,5	5,7	1,9	6,0	2,3	5,7	2,3

A KOI ($\Delta KOI/d\acute{o}zis$) és a TOC ($\Delta TOC/d\acute{o}zis$) dózisfüggő meredekségi értékeit az 14. táblázatban gyűjtöttük össze. A KOI meredeksége a vizsgált antibiotikumok esetében 5,7 és 6,7 között változik, a TOC meredeksége pedig 1,9 és 2,5 között. Minkettő oxacillin esetében érte el maximumát és kloxacillinnél a minimumát. Tehát a szénváz szétesése oxacillinnél indukálható leghatékonyabban γ -radiolízissel, így AOP technológiákkal. Sugártechnológiával gyakorlatilag teljes mineralizáció érhető el, de ez általában költséges és szükségtelen. A gyakorlatban elegendő a visszamaradt vegyületek biodegradálhatóságának javítása, toxicitásának és biológiai aktivitásának csökkentése.

A KOI és a TOC adatok alapján kiszámítottuk a szerves molekulák átlagos oxidációs állapotát (AOS). Minél oxidáltabbak a szerves molekulák, annál magasabb AOS értékeket kapunk eredményül. Hasonlóan beszédes, de jóval egyszerűbben számolható a KOI/TOC arány, amely ugyancsak a szerves molekulák oxidációs állapotát jelzi és értéke az oxidáltsággal csökken. *Mindkét értéket kiszámoltuk és a 13. táblázatban gyűjtöttük össze.*

A formaldehid és az ecetsav AOS értéke 0, a hangyasavé +2, az oxálsavé +3 [199]. A nem besugárzott oldatokban mért AOS értékeink a legtöbb esetben 0,5 és 1 között voltak, majd az értékek az elnyelt dózissal nőttek. A legnagyobb dózisoknál az AOS kisebb lépésekben változott, jelezve, hogy a szerves molekulák kémiai természete nem, vagy csak lassan alakul át. Nagyobb dózisoknál az értékek 1,5-hez közelítettek, ami azt mutatja, hogy ezekben az oldatokban a szerves tartalom erősen oxidálódott, és a szerves molekula spektrumot a kismolekulájú szerves savak, aldehidek uralják.

A KOI/TOC arány hasonló képed ad, de az AOS-sel ellentétesen változik, jelesül a besugárzás során a dózissal csökken. Az erősen oxidált oxálsav KOI/TOC aránya 0,67, a hangyasavé 1,33, az ecetsavé 2,67 [60]. A négy antibiotikum KOI/TOC aránya 2,27 és 2,16 között változik:

$2,16 \text{ (TCN, } C_{22}H_{24}N_2O_8) < 2,19 \text{ (CTC, } C_{22}H_{23}ClN_2O_8) < 2,22 \text{ (OXA, } C_{19}H_{19}N_3O_5S) < 2,27 \text{ (CLX, } C_{19}H_{18}ClN_3O_5S).$

A legnagyobb (4 kGy) dózis hatására az arányszám a következők szerint alakul:

$1,77 \text{ (CLX, } C_{19}H_{18}ClN_3O_5S) > 1,75 \text{ (CTC, } C_{22}H_{23}ClN_2O_8) > 1,68 \text{ (TCN, } C_{22}H_{24}N_2O_8) > 1,66 \text{ (OXA, } C_{19}H_{19}N_3O_5S).$

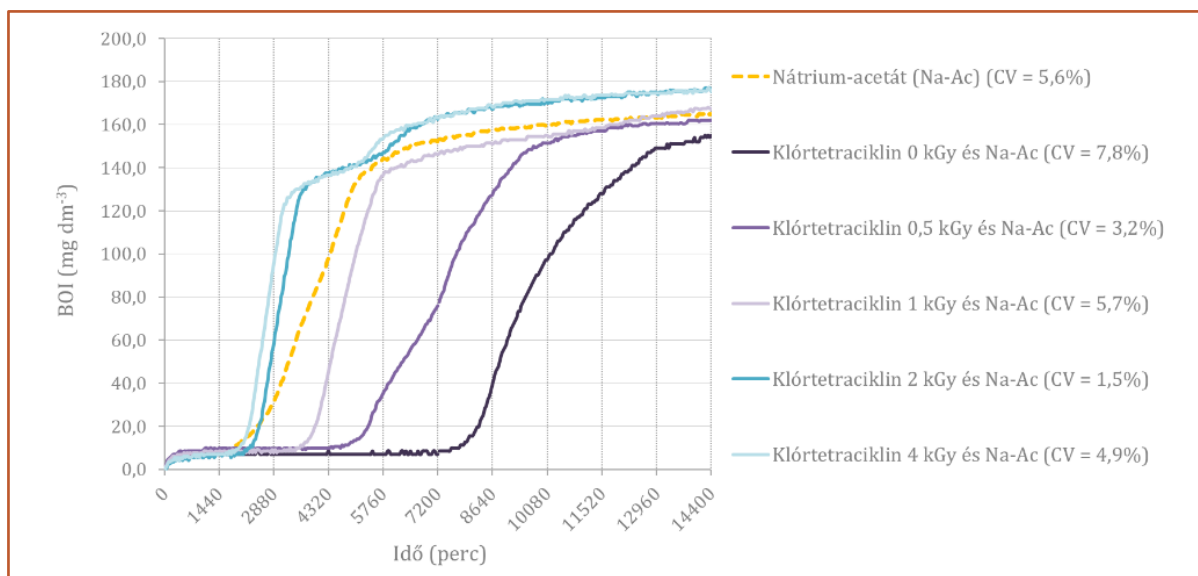
Tehát az oxidáció foka minkét paraméter alapján egyértelműen növekszik a γ -radiolízis hatására.

A kezeletlen és besugárzott minták antibakteriális hatását agar diffúziós tesztekkel vizsgáltuk *S. aureus* törzzsel. Az eredményeket a 15. táblázatban foglaltuk össze. A nem besugárzott antibiotikumoldatok tesztelésekor a lyukak körül 17-30 mm átmérőjű gátlási gyűrűk jelentek meg. A besugárzott oldatok esetében az átmérők kisebbek voltak, és eltűntek, ha a dózis nagyobb volt, mint 1 kGy.

15. táblázat Az agar-diffúziós teszt gátlási gyűrűinek átmérője

DÓZIS	0 kGy	0,5 kGy	1 kGy	2 kGy	4 kGy
<i>Oxacillin (OXA)</i>	30 mm	25 mm	14 mm	-	-
<i>Kloxacillin (CLX)</i>	29 mm	19 mm	8 mm	-	-
<i>Tetraciklin (TCN)</i>	17 mm	14 mm	1 mm	-	-
<i>Klórtetraciklin (CTC)</i>	30 mm	25 mm	17 mm	-	-

Az agar-diffúziós kísérletekkel kapott tendenciát sikerült megerősíteni a klórtetraciklin BOI vizsgálata során, amelynek eredményét a 45. ábra mutatja. 160 mg dm⁻³ KOI-ekvivalens nátrium-acetátot kevertünk klórtetraciklin γ -besugárzással (0, 0,5; 1; 2; 4 kGy) kezelt, és eleveniszapkulturával oltott oldataiba. Az agar diffúziós teszttel 2 kGy alatt mutattuk ki a gátlást (antibakteriális aktivitást) éppúgy, a klórtetraciklin is 2 kGy dózis alatt gátolja az antibiotikum biológiai lebontását. Ezt mutatja az, hogy a 0, a 0,5 és az 1 kGy dózissal kezelt klórtetraciklinnel kevert nátrium-acetát görbéi a gyógyszermentes nátrium-acetát oldat görbéje alatt futnak.

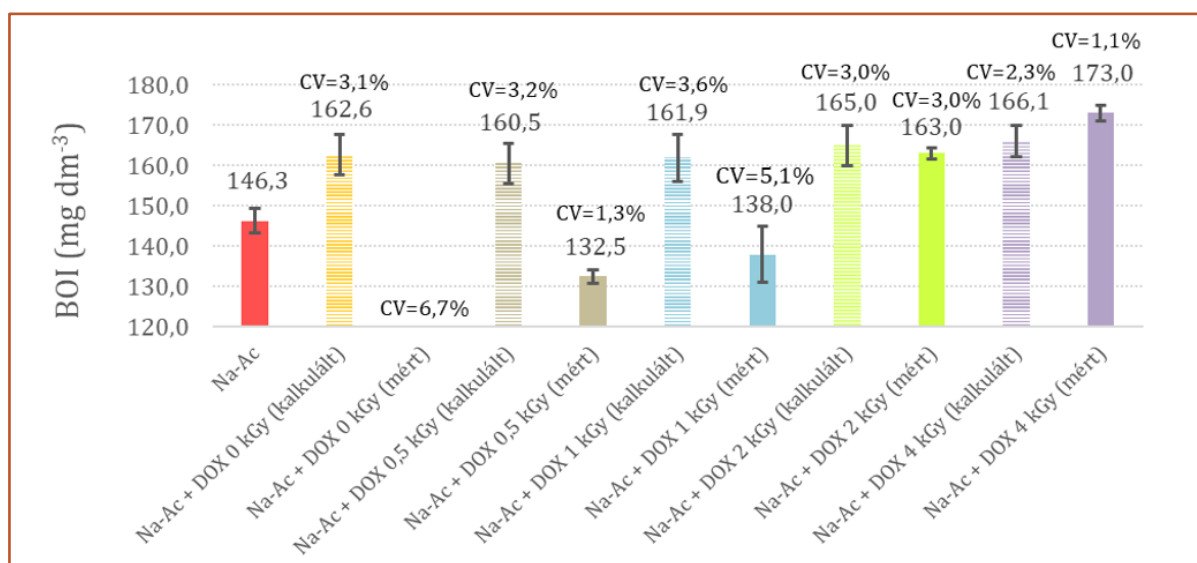


45. ábra Klórtetraciklin antibiotikus hatásának kimutatása BOI vizsgálattal. Az antibiotikus hatás γ -besugárzás (0, 0,5; 1; 2; 4 kGy) jelentősen változik. A nátrium-acetát szubsztát biológiai lebontását gátolja az antibiotikum 2 kGy dózis alatt.

7.2.4. Az AOP és a kometabolizmus együttes hatásának vizsgálata

A kometabolizmus és az AOP együttes hatásának felmérése során 160 mg dm^{-3} KOI-ekvivalens nátrium-acetátot kevertünk DOX γ -besugárzással (0, 0,5; 1; 2; 4 kGy) kezelt oldataiba. A DOX oldatokat (kezelés nélküli és minden dózis) és a nátrium-acetát oldatot önmagukban is vizsgáltuk. A kometabolizmus küszöbértékeit (minden dózishoz külön-külön) úgy kaptuk, hogy a nátrium-acetát gyógyszer nélküli BOI értékéhez hozzáadtuk az adott dózissal kezelt doxiciklin BOI értékét. Ha a nátrium-acetát és az adott dózissal kezelt gyógyszer keverékének BOI értéke meghaladta ezt a küszöbértéket, akkor működött a kometabolizmus.

A teszt sorozat eredménye 46. ábrán követhető, ahol a BOI értékeket oszlopdiagrammok segítségével hasonlítjuk össze. A szórásértékek (CV) segítségével megállapíthatjuk, hogy csupán a legnagyobb dózissal (4 kGy) kezelt doxiciklinoldat teljesíti a meghatározott kritériumot, mivel a küszöbérték szórással kiegészített BOI értékét (46. ábra, $\text{BOI: } 166,1 + 3,8 = 169,9 \text{ mg dm}^{-3}$) ez az oldat haladja meg ($\text{BOI: } 173,0 - 1,9 = 171,1 \text{ mg dm}^{-3}$). Tehát a kometabolizmus igazolható, de csak a legnagyobb dózissal (4 kGy) kezelt doxiciklinoldat esetében. Nyilvánvaló, hogy 2 kGy dózis alatt a DOX antibiotikus hatása érvényesül, esetleg egyéb módon toxikus a vegyület. A kezeletlen, illetve a 0,5-1 kGy dózissal besugárzott oldatok mért értéke messze elmarad a kalkulált értéktől (0 kGy: $162,6$ helyett $0,0 \text{ mg dm}^{-3}$; 0,5 kGy: $160,5$ helyett $132,5 \text{ mg dm}^{-3}$; 1 kGy: $161,9$ helyett $138,0 \text{ mg dm}^{-3}$). 2 kGy-nél megszűnik a gátlóhatás ($165,0$ helyett $163,0 \text{ mg dm}^{-3}$), majd 4 kGy-nél megjelenik a kometabolizmus ($166,1$ helyett $173,0 \text{ mg dm}^{-3}$).



46. ábra A doxiciklin kometabolizmusának változása besugárzás (0, 0,5; 1; 2; 4 kGy) hatására. A BOI_5 értékeket szórások segítségével vizsgáljuk meg részletesen.

8. ÉRTÉKELÉS ÉS DISZKUSSZIÓ

A **kometabolizmus**, illetve az **AOP rövidtávú hatásait** a gyógyszerek biológiai transzformációjára **légzéstesztekkel**, hosszútávú hatásait 5-7 napos **BOI** mérésekkel vizsgáltuk. Ezek eredményeit különböző kémiai, biológiai módszerekkel egészítettük ki, illetve támasztottuk alá. A légzéstesztek 1-3 órán keresztül monitorozzák az oxigénfogyasztást, így a rbKOI frakcióról nyerhetünk információkat. Ilyen rövid idő alatt a baktériumok nem feltétlenül szaporodnak. Ezzel ellentétben a BOI₅ vizsgálatok során bőven van idő a szaporodásra, ha a felkínált szervesanyag – amely az rbKOI mellett már az sbKOI frakciójára is kiterjedhet – megfelelő a baktériumok számára. A légzéstesztek azokról a folyamatokról nyújthatnak információt, amelyek az egyes technológiai egységekben (levegőztető medence, biofilmes denitrifikáló medencék) zajlanak, a BOI vizsgálatok inkább kometabolizmus indukálta változásokat mutatják a gyógyszerek biotranszformációjában.

A kísérletsorozatok megfelelő kivitelezéséhez nélkülözhetetlen volt előtesztek elvégzése is. Az **előtesztek** során:

- a) a **szubsztrátok és a gyógyszervegyületek optimális koncentrációit** kerestük, amelyet felülről a toxicitás, alulról a mérési paraméterek kimutatási határai alakítják (*Légzéstesztek: 150 KOI_{ekv} szubsztrát adagolása üvegenként és 0,05 mM gyógyszerkoncentráció; BOI: 0,01 mM gyógyszeroldat 2x-es hígítása 250 cm³ térfogatú beméréssel, illetve 160 mg dm⁻³ KOI értékű oltott szubsztrátoldat 164 cm³ térfogatú beméréssel*). A légzéstesztek során **hatékony szubsztrátként alkalmazott ecetsavat (eleveniszap) és metanolt (biofilm) használtuk a BOI kísérletek során is.**
- b) kiválasztottuk a **megfelelő oltóanyagot** (*Dp-i SZVTT eleveniszapja és denitrifikáló biofilmje*),
- c) valamint a **hidrogén-peroxidból biotikus és abiotikus úton felszabaduló oxigén hatása** is előzetes vizsgálatokat igényelt (*elkerülhetetlen a H₂O₂ kivonása*).

A két oltóanyag (eleveniszap, biofilm) típus esetében eltér az optimálisan hasznosítható szubsztrátok köre, amellyel a gyógyszerek kometabolizmusa vizsgálható. Az eleveniszap az ecetsavat hasznosította a legjobban (1,35 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹), de a vajsav, a valeriánsav és a kapronsav is kedvező szubsztrát (rendre 1,08; 0,98 és 0,96 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹). Általánosságban elmondható, hogy a szubsztrátlégzés értékek között sokkal kisebb eltérés tapasztalható, mint a biofilm oltóanyag esetében, ahol vagy nagyon jól hasznosul a szubsztrát – metanol, etanol,

etilén-glikol, hangyasav (rendre 4,22; 3,91; 2,07 és 1,19 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹) – vagy szinte egyáltalán nem. Ebben a biofilmkultúrában a metilotróf baktériumok dominálnak, amelyek MMO (metán-monooxigenáz) enzimének kometabolizmusban betöltött jelentős szerepe ismert. A biofilmkultúrát szelektíven tudjuk táplálni metanollal, amelyhez a Dp-i SZVTT-en adaptálódott.

A következő lépcsőben a **kometabolizmust** vizsgáltuk úgy, hogy megmértük a gyógyszer és a szubsztrát által okozott biomasszaaktivitást külön-külön és egyben is. Ha az együttes adagolás során nagyobb aktivitásértéket kapunk, mint a külön mérték összesítésével, akkor a kometabolizmus működik:

$$A_{\text{gyógyszer}} + A_{\text{szubsztrát}} < A_{\text{gyógyszer + szubsztrát}}$$

Ha az együtt mért érték és az összesített között nincs különbség, akkor kometabolizmus nem jellemző az adott gyógyszer esetében:

$$A_{\text{gyógyszer}} + A_{\text{szubsztrát}} = A_{\text{gyógyszer + szubsztrát}}$$

A biomassza aktivitást az oxigénfogyasztás tükrözi mind a légzésteszteknél (OUR, mg O₂ dm⁻³ h⁻¹), mind a BOI méréseknél (BOI, mg dm⁻³).

A légzéstesztek és a BOI mérések során egyaránt igazolható volt a kometabolizmus. Fontos különbség a két vizsgálati típus között az oltóanyaggal szolgáltatott baktériumok mennyiség, amely rendszer terhelhetőségét megszabja. A légzéstesztek kiindulási összcsíraszama (a 22 °C-on növény heterotróf aerob baktériumok száma) 10⁴ nagyságrendet képvisel, míg a BOI₅ vizsgálatok csupán 10² érték körül mozognak. Az öt napos tesztek során az elfogyasztott szerves anyag hatására a baktériumok felszaporodnak és 10⁶ összcsírásszámmal zárul a vizsgálat. Azonban egy-két napig még jól bontható minták esetében sem közelítik meg a légzéstesztek baktériumszámát. Emiatt a két vizsgálati típus esetében jelentős eltérés van a különböző gyógyszerek esetében tapasztalt gátló koncentrációk között. Példaként a **DCF**-ot elemezzük. A **légzéstesztek** során egyöntetűen alkalmazott 0,05 mM koncentráció optimálisnak bizonyult és a kometabolizmus több vizsgálatban is egyértelműen kimutatható volt főként az eleveniszap, de a biofilm oltókultúra alkalmazásával is (SMX esetében hasonló eredmények születtek). A kometabolikus légzés és a szubsztrátlégzés hányadosát tekintve a diclofenák esetében 0 - 18-szoros intenzitásnövekedés tartományban mértünk, szubsztráttól (metanol, etanol, hangyasav, ecetsav, propionsav, vajsav, kapronsav, tejsav, etilén-glikol) függően. Ezzel szemben a kometabolizmus BOI₅ tesztjénél használt koncentráció sorozat (0,05 mM – 0,02 mM

– 0,01 mM – 4 μ M – 2 μ M – 1 μ M – 0,4 μ M) más eredményeket hozott. 160 mg dm⁻³ KOI értékű metanololdathoz kevertünk DCF-ot különböző koncentrációban. Csupán a két legkisebb DCF koncentrációjú oldat (0,4 és 1 μ M) esetében igazoltuk a kometabolizmust, és a két legnagyobb koncentráció (0,02 mM és 0,05 mM) már biztosan toxikus/gátló volt. Tehát az a 0,05 mM koncentráció, amely a légzésteztek során optimálisnak tekinthető, az már toxikus a BOI₅ teszteknel, és 50-100x-osa annak a koncentrációnak, amely a kometabolizmust támogatja a hosszútávú méréseknél. Ettől függetlenül a kometabolizmus hosszútávú hatása is igazolható volt, de a jelentősége az rbKOI felhasználásával együtt van, azaz gyorsan hasznosítható szénforrások megjelenését követő 1-3 órán belül.

A szakirodalomban nem találtunk adatot arra vonatkozóan, hogy a kometabolizmus mennyire elterjedt jelenség, és mennyire hatékony, ezért ehhez is végeztünk légzéstezteszteket. Ez azért is fontos kérdés, mert az AOP-k egy jól működő jelenséget tudnak megfelelően támogatni a képződő, egyszerű szerkezetű, könnyen bontható termékekkel. A **kometabolizmus elterjedtségének** felmérésénél 14 gyógyszervegyületet (ERY, OXA, TPM, PIP, CLX, TCN, OTC, CTC, DOX, SMX, DCF, IBF, CFA, CBZ) és szubsztrátként az előülepített szennyvíz desztillátumát használtuk. A vizsgálatok alapján megállapítható volt, hogy a kometabolizmus **az összes tesztelt gyógyszervegyület esetében működő jelenség**. HPLC vizsgálatokkal kiegészített légzésteztesztekkel metilotróf biofilmen igazoltuk, hogy az oxidáció nem teljes (DCF+metanol: 0,59 az arány, de 2,32 lenne a teljes oxidáció; DCF+etilén-glikol: 0,52 az arány, de 2,34 lenne a teljes oxidáció), ami nem meglepő, mert a kometabolizmus valóban csak részleges bontást jelent. Ugyanez a biofilmkultúra folyamatos levegőztetéssel 420±100 μ g DCF g⁻¹ biomassa nap⁻¹ biotranszformációs hatékonyságot mutatott, miközben szakirodalmi adatok alapján a DCF koncentrációja nyers szennyvizekben 0,001 - 94,2 μ g dm⁻³. Ez azt bizonyítja, hogy a gyakorlatban, a szennyvizekben előforduló koncentrációban a DCF kometabolizmussal, megfelelő szubsztrát jelenlétében maradéktalanul lebontható.

Miután igazoltuk, hogy a kometabolizmus gyakori és akár hatékonyan intenzifikálható jelenség, felmértük a kometabolizmushoz szükséges könnyen bontható szerves szubsztrátok forrásainak körét. **Rendelkezésre állhatnak belső szénforrások (maga az előülepített szennyvíz, csurgalékvizek) jelentős VFA koncentrációval, illetve AOP alkalmazásával (pl. nagyenergiájú ionizáló sugárzások) a szennyvíz nehezen bontható vegyületei is átalakíthatók egyszerűbb szerkezetű szerves molekulákká, amelyek között sokféle szerves sav fordul elő (pl. ecetsav, oxálsav, hangyasav, piroszőlősav, almasav).** Így az AOP kétféle úton fejti ki hatásukat (metabolikus, kometabolikus útvonalak serkentése).

A **belső szénforrások hasznosíthatóságát** öt gyógyszer (SMX, DCF, CBZ, CFA, TMP) esetében igazoltuk. A kétféle csurgalékvíz (GVCS = gravitációs sűrítő csurgalék; CCS = centrifuga csurgalék) és az előülepített szennyvíz (Eü) desztillátuma a VFA tartalmukkal arányosan támogatták a kometabolizmust eleveniszapban. Minden esetben az Eü adagolás eredményezte a legnagyobb légzésintenzitás változást.

A **γ -radiolízis (0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) hatását a biológiai bonthatóságra** légzésteztekkel és BOI vizsgálatokkal is felmértük. SMX, DCF, OXA, CLX, TCN, CTC gyógyszervegyületeknél igazoltuk, hogy a dózis növelésének függvényében javul a biológiai hozzáférhetőség mind az OUR, mind a BOI értékek figyelembevételével. Példaként CLX esetében 0,10 (0 kGy) - 0,33 (0,5 kGy) - 0,41 (1 kGy) - 0,51 (2 kGy) - 0,70 (4 kGy) $\text{mg O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ óra}^{-1}$ oxigénfogyasztást mértünk. A nem besugárzott oldatokban a BOI₅ értékek és a BOI₅/KOI arányok kicsik: 6,3 - 8,4 mg dm^{-3} , illetve 0,10 - 0,14. Ezek alapján az antibiotikumokat a kísérleti körülmények között biológiailag nem bonthatónak tekintjük. Az oldatok besugárzásakor a BOD₅ nőtt és a KOI csökkent. A kettő aránya oxacillinnél 0,5, kloxacillinnél 1, tetraciklinnél 4 és klórtetraciklinnél 2 kGy körüli dózissal 0,40 fölé emelkedett, jelezve, hogy az oldatok biológiailag bonthatóvá váltak. A szerves molekulák a besugárzás hatására egyre oxidáltabbá váltak, amit az átlagos oxidációs állapot (AOS) és a KOI/TOC hányados segítségével igazoltunk. Minél oxidáltabbak a szerves molekulák, annál nagyobb AOS és annál kisebb a KOI/TOC értékeket kapunk eredményül. Nagyobb dózisoknál a szerves molekula spektrumot a kismolekulájú szerves savak, aldehidek uralják. *S. aureus* törzzsel végzett agar diffúziós tesztekkel azt is igazoltuk, hogy a szerkezeti változásokkal az antibiotikumok az antibakteriális hatásukat is elveszítik. Ez minden vizsgált antibiotikum esetében (OXA, CLX, TCN, CTC) bekövetkezett, ha a dózis nagyobb volt, mint 1 kGy. Ez azt jelzi, hogy az antibakteriális aktivitást már ezzel a viszonylag kis dózissal sikerült megszüntetni. Ezt TCN nátrium-acetáttal végzett BOI vizsgálata során megerősítettük. Az agar diffúziós teszttel 2 kGy alatt mutattuk ki a gátlást (antibakteriális aktivitást), és a klórtetraciklin is 2 kGy dózis alatt gátolja az antibiotikum biológiai lebontását a BOI méréseknél.

A kometabolizmus kísérletei során használt szubsztrátok körét leszűkítve (ecetsav, metanol, etilén-glikol) vizsgáltuk a **γ -radiolízis (0; 0,5; 1; 2; 4 kGy) kometabolizmusra gyakorolt hatását**. A könnyen bontható szubsztrátok közül kedvezőnek azt tekintettük, amelyiknél nagy volt a kometabolikus- és a szubsztrátlégzés hányadosa, azaz a leghatékonyabb kometabolizmust eredményezte. Arra voltunk kíváncsiak, hogy melyik szubsztrát esetében érhető el a legnagyobb javulás a besugárzás hatására. Feltételezéseink szerint a γ -besugárzás eredményezhet olyan

változást a gyógyszermolekula szerkezetében, amely hozzáférhetővé teszi az eredetileg kedvezőtlen szubsztrát enzime számára, így a kedvezőtlen szubsztrát kedvezővé, illetve kedvezőbbé válhat. Ily módon a γ -besugárzással modellezett AOP technológiák segíthetik a gyógyszerek kometabolikus biotranszformációját. A biofilm oltóanyaggal végzett légzéstermek során azt tapasztaltuk, hogy a kometabolizmus hatékonyságát a besugárzás 0,5 kGy dózisa képes fokozni, és leginkább a sikertelen szubsztrát hatékonyságát javítja. DCF esetében a kedvező metanol hatékonysága mindössze 16,7%-kal ($3,59 \rightarrow 4,19$) javul, míg az etilén-glikolé háromszorosára nőtt ($0,68 \rightarrow 2,05$), az ecetsavé ($0,33 \rightarrow 0,53$) pedig több mint másfélszeresére. Nagyobb dózisonál nem tapasztaltunk javulást. DOX antibiotikummal, eleveniszappal és nátrium-acetáttal végzett BOI vizsgálatok során is sikerült kimutatni ezt a hatást, de csupán a legnagyobb dózissal (4 kGy) kezelt oldat esetében (BOI: $173,0 \pm 1,9 \text{ mg dm}^{-3}$, amely az $166,1 \pm 3,8 \text{ mg dm}^{-3}$) ez az oldat haladja meg (BOI: $173,0 - 1,9 = 171,1 \text{ mg dm}^{-3}$). Ez 0,71% - 7,76% javulást jelent a BOI értékben. A kometabolizmus ellen hatott a DOX antibiotikus hatása, amely 2 kGy besugárzás hatására szűnt meg. A kísérletek során bebizonyosodott, hogy ugyan a γ -sugárzással végzett kezelés önmagában is képes biológiailag hozzáférhetővé tenni a gyógyszervegyületeket, a kometabolizmussal a biológiai átalakulás fokozható.

9. ÖSSZEFOGLALÁS

A kutatás során a kometabolizmus intenzifikálásának lehetőségeit vizsgáltuk a szennyvíztisztításban. Ennek során felmértük ennek a jelenségnek a rövid- és hosszútávú hatásait a gyógyszermolekulák biotranszformációjában. A biotranszformáció legegyszerűbb és legkézenfekvőbb igazolása az, ha az átalakulási termékeket élő szervezetek képesek elfogyasztani (mikroorganizmusok), szén- vagy energiaforrásként hasznosítani. A kometabolizmus nitrifikáló baktériumok esetében igazolt, és alaposan kutatott terület, ezért mi a mikroorganizmusok másik nagy csoportjára, a szervesanyag fogyasztó baktériumokra fókuszáltunk. A kometabolizmushoz szubsztrátként egyszerű szerves vegyületekre (szerves savak, alkoholok) van szükség. Ezek a szubsztrátok származhatnak belső és külső forrásból egy szennyvíztisztító rendszerben. Belső forrás maga a nyers szennyvíz, illetve a szennyvíztisztító rendszer különböző pontjain képződő csurgalékvizek. Külső forrásként a kereskedelembe kapható tiszta vegyszereken (ecetsav, hangyasav) kívül használhatunk a mezőgazdaságból, vagy az iparból származó melléktermékeket is, ha azok megfelelnek a feltételeknek. Ugyanakkor külső forrásként jelenhet meg az AOP alkalmazása során képződő számtalan melléktermék is, amelyek között sokféle egyszerű sav, aldehid, keton és alkohol szerepel. A nagyenergiájú ionizáló sugárzást, mint AOP-t alkalmazva, a dózis növekedtével egyre oxidáltabb termékek képződnek. A sor végén – a legoxidáltabb állapottal – a glioxálsav és az oxálsav jelenik meg. A toxikus melléktermékekről sem szabad azonban megfeledkeznünk. A γ -radiolízis és a gyorsított elektronok esetében is nagy koncentrációban jelenik meg a hidrogén-peroxid a kezelt oldatokban. A hidrogén-peroxid mérési hibát okoz néhány vizsgálat esetében, amit a szennyvizek jellemzésére használnak, így a légzéstechnikánál, a BOI és a toxicitás méréseknél. Az ilyen mérések előtt a hidrogén-peroxid eltávolítása elkerülhetetlen.

A kutatásaink során igazoltuk, hogy a kometabolizmus valószínűleg nagyon elterjedt jelenség a szennyvíztisztítási technológiában. Ez a jelenség fokozható belső forrásokkal, önmagában a szennyvízzel (mechanikailag tisztított) is, és a különböző eredetű csurgalékvizekkel. A külső forrásként adagolt egyszerű szerves vegyületek (pl. metanol) ugyancsak hatékony eszközei az intenzifikálásnak. Az AOP-k modellezésére gyakran használt γ -radiolízis mind a gyógyszermolekulák biológiai lebontását, mind a kometabolizmus hatékonyságát növelte. Tehát metabolikus és kometabolikus útvonalon is segítette a gyógyszerek biotranszformációját.

Biológiaiilag csupán néhány mikroszennyező, illetve gyógyszermolekula bontható csak metabolikusan, azaz oly módon, hogy az anyagcserében valóban felhasználható (energia

formájában, vagy szénként beépül). Ez ritka jelenség, nem jellemző a szennyvíztisztító rendszerek mikroorganizmus-közösségére. Azonban a gyógyszerek többségének molekulaszervezete valószínűleg véletlenszerű enzimreakciók (kometabolizmus) segítségével hozzáférhető. Ez ugyan csak részleges oxidációt jelent, és nem a molekula teljes lebontását, mégis elindulhat ezeknek a bonyolult szerkezetű molekuláknak a biológiai átalakulása.

Így komoly beruházások nélkül is tudunk tenni a mikroszennyezők eltávolításáért, ha a kometabolizmusban közreműködő baktériumcsoportokat (pl. nitrifikálók, metilotrófok) képesek vagyunk megdolgoztatni. Minél többször végzi el ugyanazt a folyamatot egy enzim, annál nagyobb a véletlenszerű reakciók (kometabolizmus) valószínűsége. A nitrifikáló baktériumokat hosszú tartózkodási idővel, a denitrifikációban is jeleskedő metilotróf baktériumokat pedig metanol adagolással vehetjük rá a kometabolizmusra. Azonban az eleveniszap általánosságban is képes erre egyszerű szerves savakban gazdag vizek (előülepített szennyvíz, csurgalékvizek) hasznosításával.

A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások bevezetése több szempontból kedvező lehet a megemelkedett költségek ellenére is. A biológiailag nem vagy nehezen bontható szerves molekulák szerkezetét képesek megbontani, roncsolni az alkalmazott dózistól függő mértékben. A képződő egyszerű szerves és szervesetlen molekulák már hasznosíthatók a baktériumok számára, mindemellett a kometabolizmust is segítik, mert hajtómotorként szolgálnak olyan enzimek működéséhez, amelyek véletlenszerűen megváltoztathatják a gyógyszer-molekulák szerkezetét.

10.SUMMARY

During my research, I examined the possibilities of intensifying cometabolism in wastewater treatment. I assessed the short- and long-term effects of this phenomenon in the biotransformation of pharmaceuticals. The simplest and most obvious proof of biotransformation is if the transformation products can be consumed by living organisms (microorganisms) and utilized as a source of carbon or energy. Cometabolism is a proven and thoroughly researched area for nitrifying bacteria, so we focused on another large group of microorganisms, bacteria consuming organic matter (heterotrophs/organotrophs). Cometabolism requires simple organic compounds (organic acids, alcohols) as substrates. These substrates can originate from internal and external sources in a wastewater treatment system. An internal source is the raw sewage itself, as well as the sidestreams (supernatants, concentrates, filtrates, decants) formed at various points of the sewage treatment system. As an external source, in addition to commercially available pure chemicals (acetic acid, formic acid), we can also use by-products from agriculture or industry, if they meet the conditions. At the same time, numerous by-products formed during the application of AOP can also appear as external sources, including many simple acids, aldehydes, ketones and alcohols. Using high-energy ionizing radiation as AOP, more and more oxidized products are formed as the dose increases. Glyoxal acid and oxalic acid appear at the end of the row - with the most oxidized state. However, we must not forget about toxic by-products either. In the case of γ -radiolysis and treatment with accelerated electrons, high concentrations of hydrogen peroxide appear in the treated solutions. Hydrogen peroxide causes measurement errors in some tests that are used to characterize wastewater, such as respiration tests, BOD and toxicity measurements. Before such measurements, removal of hydrogen peroxide is unavoidable.

During our research, we proved that cometabolism is probably a very widespread phenomenon in wastewater treatment technology. This phenomenon can be enhanced by internal sources, also by sewage (mechanically treated) itself and sidestreams of various origins. Simple organic compounds added as an external source (e.g. methanol) are also effective means of intensification. γ -radiolysis, which is a type of AOP, increased both the biodegradation of pharmaceuticals and the efficiency of cometabolism. Thus, it helped the biotransformation of pharmaceuticals in both metabolic and cometabolic pathways.

Biologically, only a few pharmaceuticals can be broken down metabolically, where they are used in the form of energy or carbon. This is a rare phenomenon, not typical of the

microorganism community of wastewater treatment systems. However, the molecular structure of most pharmaceuticals is probably accessible through random enzyme reactions (cometabolism). Although this only means partial oxidation and not the complete mineralization of the molecule, the biological transformation of these complex molecules can begin. Thus, we can remove micropollutants without major investments, if we are able to work with groups of bacteria that contribute to cometabolism (e.g. nitrifiers, methylotrophs). The more times an enzyme performs the same process, the greater the probability of random reactions (cometabolism). The nitrifying bacteria can be induced to cometabolism with a long residence time, and the methylotrophic bacteria, which play an important role in denitrification, by methanol dosing. However, activated sludge is also capable of cometabolism in general by utilizing waters rich in simple organic acids (effluent from primary clarification, sidestreams).

Despite the increased cost, the introduction of advanced oxidation processes (AOP) can be favorable from several points of view. They are able to break down and destroy the structure of non-biodegradable or difficult-to-degrade organic molecules to an extent dependent on the dose used. The simple organic and inorganic molecules that are formed can already be used by bacteria, and they also help cometabolism, because they serve as a driving engine for the operation of enzymes that can randomly change the structure of pharmaceuticals. They are able to cleave the structure of organic molecules that cannot or are difficult to break down biologically, or mineralize them depending on the dose used. The simple organic and inorganic molecules that are formed can already be used by bacteria, and they also help cometabolism, because they serve as a driving force for the operation of enzymes that can randomly change the structure of pharmaceuticals.

11. TÉZISEK

1. Kimutattam, hogy a légzéstartesztekben használt mikroorganizmusok száma (10^4 CFU cm^{-3}) körülbelül két nagyságrenddel haladja meg a BOI₅ mérés kezdeti mikroorganizmus számát (10^2 CFU cm^{-3}), és ez a 3 órás vizsgálat során nem változik jelentősen. Ezzel ellentétben az ötnapos BOI mérés végén a mikroorganizmusok száma négy nagyságrenddel nagyobb (10^6 CFU cm^{-3}) a kiindulási állapoténál.

A légzéstartesztek kiindulási baktériumszáma (a 22°C-on nöövő heterotróf aerob baktériumok száma) $6,4 \times 10^4$ CFU cm^{-3} (72000 / 54000 / 66000 cm^{-3} ; szórás 11,7%) nagyságrendet képvisel, amely a 3 órás vizsgálatok alatt kimutathatóan nem változott $6,5 \times 10^4$ CFU cm^{-3} (69000 / 71000 / 56000 cm^{-3} ; szórás 10,2%). A BOI₅ vizsgálatok kiindulási baktériumszáma $6,4 \times 10^2$ CFU cm^{-3} (650 / 690 / 580 cm^{-3} ; szórás: 7,1%). Az 5 napos tesztek során a baktériumok felszaporodtak az elfogyasztott tápanyagon és $4,3 \times 10^6$ CFU cm^{-3} ($3,1 \times 10^6$ / $3,9 \times 10^6$ / $5,9 \times 10^6$ cm^{-3} ; szórás: 27,4%) összcsíraszámmal zárul a vizsgálat. (1. közlemény)

2. Kimutattam, hogy a γ -radiolízis során képződő H_2O_2 a toxicitásán és a felszabaduló oxigénen keresztül torzítja a BOI-értékeket.

H_2O_2 kétféleképpen torzítja a BOI értéket. Egyrészt a toxikus vegyület megnöveli a toleránsabb baktériumcsoportok növekedéséhez szükséges adaptációs időt. Másrészt a BOI érték maximuma csökken, mert a hidrogén-peroxidból felszabaduló oxigén negatív hibát eredményez, mivel az O_2 -fogyasztás ellen hat. (2. közlemény)

3. Igazoltam, hogy az eleveniszapos technológiában a heterotróf kometabolizmus jelentősen hozzájárul a szulfamethoxazol (SMX) és diklofenák (DCF) biológiai lebontáshoz.

Az értékelés alapja a kometabolikus légzés és a szubsztrátlégzés hányadosa, amely 1-nél nagyobb érték esetén a kometabolizmus működését igazolja. Ez a hányados az alkalmazott szubsztráttól függően szulfametoxazolnál 2,41 – 10,75 és diclofenák esetében 1,29 – 18,22 közötti érték volt. (3. közlemény)

4. Igazoltam, hogy a kometabolizmus hatékonysága szulfamethoxazol és diklofenák (mint kosubsztrát) esetében a szubsztrát típusától függ

A kometabolikus légzés és a szubsztrátlégzés hányadosa az alkalmazott szubsztráttól függően változott. Szulfamethoxazol kosubsztráttal végzett kísérletek során ez a hányados a

következőképpen alakult: valeriánsav (10,75) > ecetsav (9,95) > vajsav (7,01) > kapronsav (4,90) > etanol (4,87) > etilén-glikol (3,68) > tejsav (3,39) > metanol (3,29) > propionsav (2,87) > hangyasav (2,41). Diklofenák esetében: hangyasav (18,22) > ecetsav (7,35) > etilén-glikol (6,43) > propionsav (4,31) > valeriánsav (2,67) > tejsav (2,54) > kapronsav (2,05) > vajsav (1,97) > etanol (1,82) > metanol (1,29) (3. közlemény)

5. Igazoltam, hogy kloxacillin, oxacillin, tetraciklin, klórtetracilin és diklofenák esetében a biológiai bonthatósága AOP kezelés (nagyenergiájú ionozáló sugárzás, radiolízis) hatására nagymértékben javul

Minden gyógyszernél jelentős légzésintenzitás (Oxygen Uptake Rate, OUR) növekedést értünk el már 0,5 kGy dózis alkalmazásával (kloxacillin (CLX): 0,33; oxacillin (OXA): 0,24; tetraciklin (TCN): 0,25; klórtetraciklin (CTC): 0,24 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹), majd a dózissal együtt növekedett az oxigénfogyasztás sebesség (OUR) értéke és 4 kGy értéknél érte el a maximumot (CLX: 0,70; OXA: 0,53; TCN: 0,44; CTC: 0,69 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹). DCF esetében a 0,5 kGy dózis nem, csak az 1 kGy jelentett változást: 0,14 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹ oxigénfogyasztás növekedést mértünk. (3., 4. és 5. közlemény)

6. Kimutattam, hogy a szulfametoxazol és a diklofenák biológiai bonthatósága radiolízis és kometabolizmus együttes alkalmazásakor hatékonyabb, mint amikor két módszert külön-külön alkalmazzuk.

A kometabolizmus hatékonyságát a besugárzás fokozza. A besugárzás nélküli mintához viszonyított OUR (oxygen uptake rate) növekmény 0,5 kGy dózis esetében ecetsav, etilén-glikol, metanol sorrendben; SMX: 0,42 (840%) – 0,88 - 2,24 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹; DCF: 0,20 – 1,37 – 0,60 mg O₂ dm⁻³ óra⁻¹). SMX esetében metanol mellett nem szignifikáns a növekmény, tehát a besugárzás nem minden esetben fokozta a kometabolízis hatékonyságát jelentősen. (3. közlemény)

12. THESES OF PHD DISSERTATION

- 1. I determined that the number of microorganisms used in the respiration tests (10^4 CFU cm^{-3}) exceeds the initial number of microorganisms in the BOI₅ measurement (10^2 CFU cm^{-3}) by approximately two orders of magnitude, and this does not change significantly during the 3-hour test. In contrast, at the end of the five-day BOI measurement, the number of microorganisms is four orders of magnitude higher (10^6 CFU cm^{-3}) than at the beginning.**

The starting Heterotrophic Plate Count (HPC) of the respiration tests (the number of heterotrophic aerobic bacteria growing at 22 °C) was 6.4×10^4 CFU cm^{-3} (72000 / 54000 / 66000 cm^{-3} ; standard deviation 11.7%), which during the 3-hour tests did not change detectably 6.5×10^4 CFU cm^{-3} (69000 / 71000 / 56000 cm^{-3} ; standard deviation 10.2%). The initial HPC of BOI₅ tests was 6.4×10^2 CFU cm^{-3} (650 / 690 / 580 cm^{-3} ; standard deviation: 7.1%). During the 5-day tests, the bacteria grew on the consumed nutrients and the test ended with an HPC value 4.3×10^6 CFU cm^{-3} (3.1×10^6 / 3.9×10^6 / 5.9×10^6 cm^{-3} ; standard deviation: 27.4%).
(Publication 1)

- 2. I proved that the H₂O₂ formed during γ -radiolysis distorts the BOD values through its toxicity and the liberated oxygen.**

H₂O₂ distorts the BOD value in two ways. On the one hand, the toxic compound increases the adaptation time required for the growth of more tolerant groups of bacteria. On the other hand, the maximum of the BOI value decreases because the oxygen released from the hydrogen peroxide results in a negative error as it counteracts the O₂ consumption. (Publication 2)

- 3. I verified that in activated sludge technology, heterotrophic cometabolism significantly contributes to the biological degradation of sulfamethoxazole (SMX) and diclofenac (DCF).**

In our studies, we used active pharmaceutical ingredients sulfamethoxazole (SMX) and diclofenac (DCF). The evaluation is based on the quotient of cometabolic respiration and substrate respiration, which in case of a value greater than 1 confirms the functioning of cometabolism. Depending on the substrate used, this ratio ranged from 2.41 to 10.75 for sulfamethoxazole and 1.29 to 18.22 for diclofenac. (Publication 3)

4. I proved that the efficiency of cometabolism in the case of sulfamethoxazole and diclofenac (as co-substrate) depends on the type of substrate.

The ratio of cometabolic respiration to substrate respiration (expressed in OUR) varied depending on the substrate used. During experiments with sulfomethoxazole cosubstrate, this ratio was as follows: valeric acid (10.75) > acetic acid (9.95) > butyric acid (7.01) > caproic acid (4.90) > ethanol (4.87) > ethylene glycol (3.68) > lactic acid (3.39) > methanol (3.29) > propionic acid (2.87) > formic acid (2.41). For diclofenac: formic acid (18.22) > acetic acid (7.35) > ethylene glycol (6.43) > propionic acid (4.31) > valeric acid (2.67) > lactic acid (2.54) > caproic acid (2) .05) > butyric acid (1.97) > ethanol (1.82) > methanol (1.29). (*Publication 3*)

5. I proved that in the case of cloxacillin, oxacillin, tetracycline, chlortetracycline and diclofenac, their biodegradability is greatly improved by AOP treatment (high-energy ionizing radiation, radiolysis).

For all tested pharmaceuticals, a significant increase in respiration intensity (oxygen uptake rate, OUR) was achieved even with a dose of 0.5 kGy (Cloxacillin (CLX): 0.33; Oxacillin (OXA): 0.24; Tetracycline (TCN): 0.25; Chlortetracycline (CTC): 0.24 mg O₂ dm⁻³ hour⁻¹), then the OUR increased with the dose and reached the maximum at 4 kGy (CLX: 0.70; OXA: 0.53; TCN: 0.44; CTC: 0.69 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹). In the case of DCF, the 0.5 kGy dose did not result in any change, but already at 1 kGy an increase in oxygen consumption of 0.14 mg O₂ dm⁻³ h⁻¹ was measured. (*Publication 3, 4 and 5*)

6. I proved that the biodegradability of sulfamethoxazole and diclofenac is more effective when radiolysis and cometabolism are used together than when the two methods are used separately.

The efficiency of cometabolism increases due to irradiation. The increase in OUR (oxygen uptake rate) compared to the non-irradiated sample for a dose of 0.5 kGy, in the order of acetic acid, ethylene glycol, methanol; SMX: 0.42 – 0.88 - 2.24 mg O₂ dm⁻³ h⁻³ our⁻¹; DCF: 0.20 – 1,37 – 0,60 mg O₂ dm⁻³ hour⁻¹) In the case of SMX with methanol, the increase is not significant, so irradiation did not significantly increase the efficiency of cometabolism in all cases. (*Publication 3*)

13.KÖZLEMÉNYEIM

a) A doktori dolgozat alapjául szolgáló közlemények

1) Wojnárovits, L., Homlok, R., Kovács, K., **Bezsenyi, A.**, & Takács, E. (2023). Ionizing radiation induced removal of ofloxacin, abatement of its toxicity and antibacterial activity in various water matrices. *Applied Sciences*, 13(12), 7211.

<https://doi.org/10.3390/app13127211>

IF: 4.5 (Q1)

Hivatkozások száma: 2 (független: 0)

2) **Bezsenyi, A.**, Sági, G., Makó, M., Wojnárovits, L., & Takács, E. (2021). The effect of hydrogen peroxide on the biochemical oxygen demand (BOD) values measured during ionizing radiation treatment of wastewater. *Radiation Physics and Chemistry*, 189, 109773. doi:10.1016/j.radphyschem.2021.109773

IF: 2.776 (Q2)

Hivatkozások száma: 12 (független: 9)

3) **Bezsenyi, A.**, Sági, G., Makó, M., Palkó, G., Tóth, T., Wojnárovits, L., & Takács, E. (2020). The effect of combined cometabolism and gamma irradiation treatment on the biodegradability of diclofenac and sulfamethoxazole. *Radiation Physics and Chemistry*, 170, 108642. doi:10.1016/j.radphyschem.2019.108642

IF: 2,851 (Q2)

Hivatkozások száma: 16 (független: 13)

4) Takács, E., Wang, J., Chu, L., Tóth, T., Kovács, K., **Bezsenyi, A.**, Szabó, L., Homlok, R. & Wojnárovits, L. (2022). Elimination of oxacillin, its toxicity and antibacterial activity by using ionizing radiation. *Chemosphere*, 286, 131467.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131467>

IF: 8,8

Hivatkozások száma: 16 (független: 10)

5) Wojnárovits, L., Wang, J., Chu, L., Tóth, T., Kovács, K., **Bezsenyi, A.**, Szabó, L., Homlok, R., Takács, E., Matrix effect on the hydroxyl radical induced degradation of β -lactam and tetracycline type antibiotics. *Radiation Physics and Chemistry* 193 (2022) 109980. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2022.109980>

IF: 2,776 (Q2)

Hivatkozások száma: 11 (független: 6)

b) Egyéb közlemények

- 6) Kovács, K., Tegze, A., **Bezsényi, A.**, & Wojnárovits, L. (2023). Hydroxyl radical induced degradation of the β -blocker Nadolol and comparison with Propranolol. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 110330. doi: 10.1016/j.jece.2023.110330
- 7) Diószegi, M. B., Rékási, M., Szécsy, O., **Bezsényi, A.**, Nagy-Mezei, C., & Paukó, A. (2023). Mikrohullámú előkezelés hatása a biogázhozamra szennyvíziszap anaerob rothasztása során modellkísérletben. *Biztonságtudományi Szemle*, 5(2), 59-67.
- 8) **Bezsényi A.**, Gyarmati, I., Nagy-Mezei, Cs., Golyán, A.P., Kardos, L., Makó, M. (2023). A biofilterek és a komposzt lebontási folyamatainak (biodegradáció) modellezése. *MASZESZ Hírcsatorna* 2023/3. 38-52. **VITÁLIS SÁNDOR SZAKIRODALMI NÍVÓDÍJ (MHT)**
- 9) **Bezsényi A.**, Nagy-Mezei, Cs., Makó, M. (2023). A rothasztók anaerob lebontási folyamatainak (biodegradáció) modellezése. *MASZESZ Hírcsatorna* 2023/2. 5-20. **VITÁLIS SÁNDOR SZAKIRODALMI NÍVÓDÍJ (Magyar Hidrológiai Társaság)**
- 10) **Bezsényi A.**, Nagy-Mezei, Cs., Makó, M. (2023). Az aerob lebontási folyamatok (biodegradáció) modellezése a vízvonalon. *MASZESZ Hírcsatorna* 2023/1. 5-19. **VITÁLIS SÁNDOR SZAKIRODALMI NÍVÓDÍJ (Magyar Hidrológiai Társaság)**
- 11) Nagy-Mezei, C., **Bezsényi, A.**, Gyarmati, I., & Kardos, L. (2022). A szennyvíziszap nehézfém-tartalma és csökkentésének módszerei. *Journal of Central European Green Innovation*, 10(Suppl 1), 211-223.
- 12) Kardos, L., Erőss, A., Nagy-Mezei, C., **Bezsényi, A.**, Chen, H., & Silva, L. R. B. (2022). A kommunális szennyvíziszap vermikomposztálásának összefoglaló értékelése. *Journal of Central European Green Innovation*, 10(Suppl 1), 197-210.
- 13) **Bezsényi A.**, Nagy-Mezei, Cs., Makó, M. (2022). A biodegradáció modellezése a szennyvíztisztításban. *MASZESZ Hírcsatorna* 2022/4. 54-68. **VITÁLIS SÁNDOR SZAKIRODALMI NÍVÓDÍJ (Magyar Hidrológiai Társaság)**
- 14) **Bezsényi A.**, Nagy-Mezei, Cs., Gyarmati, I., Makó, M. (2022). A fröccsöntött civilizáció ára: mikro- és nanoműanyagok (MNP) a szennyvízben. *Vízmű Panoráma* 2022/02. pp. 37-48. **ÉV CIKKE díj (Vízmű Panoráma szakmai lap, Magyar Víziközmű Szövetség)**

15) **Bezsenyi, A.**, Makó, M., Takács, E. (2021). Mit tehetünk, ha nincs pénzünk negyedik tisztítási fokozat kialakítására? *MASZESZ Hírcsatorna* 2021/4. 5-17. **Magyar Hidrológiai Társaság NÍVÓDÍJ**

16) **Bezsenyi, A.**, Gyarmati, I., Oláh, J., Takács, E., Makó, M. (2021). A Dél-pesti Szennyvíztisztító Telepen üzemelő nitrogéntávolító bioszűrő-fokozat szerepe, teljesítménye és üzemeltetésének tapasztalatai. *Vízmű Panoráma* 2021/03.

17) **Bezsenyi, A.**, Gyarmati, I., Makó, M., Takács, E. (2021). Gyógyszermaradványok a szennyvízben – Csak a holnap kihívása? *Vízmű Panoráma* 2021/06. 4-12.

18) **Bezsenyi A.**, Sági Gy., Bodáné Kendrovics R., Bakosné Diószegi M., Makó M., Palkó Gy., Wojnárovits L., Takács E. Kometabolizmus: mikrobiológiai segítség a gyógyszermaradványok szennyvízből való eltávolításához. *MASZESZ Hírcsatorna* 2019/4. 11-37.

19) Sági, G., **Bezsenyi, A.**, Kovács, K., Klátyik, S., Darvas, B., Székács, A., Mohácsi-Farkas, C., Takács, E., Wojnárovits, L. (2018). Radiolysis of sulfonamide antibiotics in aqueous solution: Degradation efficiency and assessment of antibacterial activity, toxicity and biodegradability of products. *Science of The Total Environment*, 622-623, 1009–1015. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.12.065

20) Sági, G., **Bezsenyi, A.**, Kovács, K., Klátyik, S., Darvas, B., Székács, A., Wojnárovits, L., Takács, E., (2017). The impact of H₂O₂ and the role of mineralization in biodegradation or ecotoxicity assessment of advanced oxidation processes. *Radiation Physics and Chemistry* 144, 361–366. doi:10.1016/j.radphyschem.2017.09.023

21) Sági, Gy., Kovács, K., **Bezsenyi, A.**, Csay, T., Takács, E., Wojnárovits, L., Enhancing the biological degradability of sulfamethoxazole by ionizing radiation treatment in aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry* 124, 179-183 (2016) doi: 10.1016/j.radphyschem.2021.109773

c) Konferenciakiadványok

22) Nagy-Mezei, Cs., Gyarmati, I., **Bezsenyi, A.**, Kardos, L. (2023). A karbidmész hasznosítási lehetőségei kommunális szennyvíztisztító telepeken. In: Kaszás, Gábor (szerk.) A Magyar

Hidrológiai Társaság által rendezett XL. Országos Vándorgyűlés dolgozatai. Budapest, Magyarország : Magyar Hidrológiai Társaság (2023) pp. 1-19., 19 p.

23) Nagy-Mezei, Cs., Gyarmati, I., **Bezsenyi, A.**, Kardos, L. (2023). A víztelenített szennyvíziszap jelentős TPH-tartalmának forrásai. In: Blanka-Végi, Viktória (szerk.) XVIII. Kárpát-medencei Környezettudományi konferencia = XVIII. Carpathian Basin Environmental Science Conference Szeged, Magyarország : Szegedi Tudományegyetem, Geoinformatikai, Természet- és Környezetföldrajzi Tanszék, Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem (2023) 139 p. pp. 41-42., 2 p.

24) Nagy-Mezei, Cs., **Bezsenyi, A.**, Gyarmati, I., Makó, M., Kardos, L. (2022). The role, the performance and the operational experiences of the nitrogen removal fixed-film biological stage operating at the South-Pest Wastewater Treatment Plant. In: Hosam, E.A.F. Bayoumi Hamuda (szerk.) Proceedings Book of 13th ICEEE-2022 International Annual Conference on “Global Environmental Development & Sustainability: Research, Engineering & Management”. Budapest, Magyarország: Óbudai Egyetem (2022) 579 p. pp. 227-243. 17 p.

25) Nagy-Mezei, Cs., **Bezsenyi, A.**, Gyarmati, I., Makó, M., Kardos, L. (2022). The role, the performance and the operational experiences of the nitrogen removal fixed-film biological stage operating at the South-Pest Wastewater Treatment Plant. In: Hosam, E.A.F. Bayoumi Hamuda (szerk.) Proceedings Book of 13th ICEEE-2022 International Annual Conference on “Global Environmental Development & Sustainability: Research, Engineering & Management” Budapest, Magyarország: Óbudai Egyetem (2022) 579 p. p. 95

26) **Bezsenyi, A.**, Sági, Gy., Makó, M., Palkó, Gy., Tóth, T., Wojnárovits, L., Takács, E. (2019). The improvement of the biodegradability of diclofenac and sulfamethoxazole by combined cometabolism and gamma irradiation treatment *In:* Alapi, Tünde; Ilisz, István (szerk.) Proceedings of the 25th International Symposium on Analytical and Environmental Problems. Szeged, Magyarország: University of Szeged (2019) 464 p. pp. 284-288., 5 p.

27) Sági Gy., Kovács K., **Bezsenyi A.**, Csay T., Takács E., Wojnárovits L., 2015. Enhancing the biological degradability of sulfamethoxazol by ionizing radiation treatment in aqueous solution. *In:* Szentmiklósi László (szerk.), Őszi Radiokémiai Napok 2015. Konferencia helye, ideje: Balatonszárszó, Magyarország, 2015.10.19–2015.10.21. Budapest: Magyar Kémikusok Egyesülete (MKE), pp. 47–52. ISBN:978–963–9970–59–5

14.KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Legnagyobb hálát nagyszerű témavezetőm, **Takács Erzsébet** iránt érzem, aki fáradhatatlan türelemmel egyengette utamat. A legképtelenebb időpontban is ellenőrzött bármit. A pszichés hadviselés teljes arzenálját bevetve tuszkolt át a nehézségeken. Soha nem sajnálta csodálatra méltó szaktudását, megbízott és hitt bennem. Rengeteg értékes időt áldozott rám. Valószínűleg soha nem tudom meghálálni, így csak egyszerűen nagyon megköszönöm ezúton.

Köszönöm **Wojnárovits Lászlónak**, aki felbecsülhetetlen értékű tanácsokkal segített és mindig szívélyesen fogadott. Hálás vagyok **Sági Gyurinak**, hogy elindított e rögzös úton a biztatásával, és köszönöm, hogy oly önzetlenül megosztotta velem a témával kapcsolatos meglátásait is. Ugyancsak köszönöm a HUN-REN Energiatudományi Kutatóközpont kedves, okos kutatóhölgyeinek, **Tegze Annának**, **Kovács Krisztinának**, **Homlok Renátának** és **Mandula Petrának**, hogy csapatként működhattunk több kutatásban, hogy osztottak velem publikációkon és közvetlen emberi kapcsolatot ápolhatunk még ma is.

Nagyon hálás vagyok **Makó Magdolnának**, aki a Fővárosi Csatornázási Művek kutatás-fejlesztési projektjeit irányítja, aki meglátta a kutatásaimban a fantáziát és megszerezte hozzá a Cég támogatását is. Mindvégig segítette munkámat, sokat köszönhetek neki. Ugyancsak köszönöm közvetlen kollégáimnak, kutatás-fejlesztési munkákban partnereimnek, **Nagy-Mezei Csengének** és **Gyarmati Imrének**. Nem csak elviselték hullámvázó lelkesedésemet és hangulataimat a hosszú kutatási periódusban, hanem barátként támogattak, segítettek. Pedig higgye el a Kedves Olvasó, nem volt egyszerű dolguk.

Köszönöm **Borsa Judit** tanárnőnek a türelmét és tanácsait, amelyekkel mindig a megfelelő irányban tartott, és hogy mindig készségesen nyújtott hasznos információkat.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm a családomnak, **anyukámnak**, **apukámnak** és **Sándor öcsémnek**, hogy támogattak minden módon. Főleg anyukámnak, aki sok terhet vett le a vállamról ebben az időszakban.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Zenker, A., Cicero, M. R., Prestinaci, F., Bottoni, P., & Carere, M. (2014). Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of Environmental Management*, 133, 378-387.
2. O'Neill J, (Editor) (2016). *Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations*. London, UK: Review on Antimicrobial Resistance; p. 1-84.
3. Méhi, O. (2019). Már egy generáción belül katasztrofális következményei lehetnek az antibiotikum-rezisztenciának. Forrás (2024. július 23.): tudomany.hu/cikkek/mar-egy-generacion-belul-katasztrofalis-kovetkezhmenyei-lehetnek-az-antibiotikum-rezisztencianak-109742
4. Ju, F., Beck, K., Yin, X., Maccagnan, A., McArdell, C. S., Singer, H. P., Johnson, D. R., Zhang, T., & Bürgmann, H. (2018). Wastewater treatment plant resistomes are shaped by bacterial composition, genetic exchange, and upregulated expression in the effluent microbiomes. *The ISME Journal*. doi:10.1038/s41396-018-0277-8
5. Wang, J., Chu, L., Wojnárovits, L., & Takács, E. (2020). Occurrence and fate of antibiotics, antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant: An overview. *Science of the Total Environment*, 140997.
6. Heß, S., Lüddecke, F., & Gallert, C. (2016). Concentration of facultative pathogenic bacteria and antibiotic resistance genes during sewage treatment and in receiving rivers. *Water Science and Technology*, 74(8), 1753–1763.
7. Sorgen, A., Johnson, J., Lambirth, K., Clinton, S. M., Redmond, M., Fodor, A., & Gibas, C. (2021). Characterization of environmental and cultivable antibiotic-resistant microbial communities associated with wastewater treatment. *Antibiotics*, 10(4), 352.
8. Uluseker, C., Kaster, K. M., Thorsen, K., Basiry, D., Shobana, S., Jain, M., Kumar, G., Kommedal, R., & Pala-Ozkok, I. (2021). A review on occurrence and spread of antibiotic resistance in wastewaters and in wastewater treatment plants: mechanisms and perspectives. *Frontiers in microbiology*, 12, 717809.
9. Xu, Y., Yuan, Z., & Ni, B.-J. (2016). Biotransformation of pharmaceuticals by ammonia oxidizing bacteria in wastewater treatment processes. *Science of The Total Environment*, 566-567, 796–805.

10. Margot, J., Kienle, C., Magnet, A., Weil, M., Rossi, L., De Alencastro, L. F., Abegglenh, C., Thonneyci, D., Chèvref, N., Schärerger, M., & Barry, D. A. (2013). Treatment of micropollutants in municipal wastewater: ozone or powdered activated carbon? *Science of the total environment*, 461, 480-498.
11. IAEA 2007. Radiation Processing, Environmental Applications; International Atomic Energy Agency: Vienna, Austria, 2007.
12. Wang, S., Wang, J., Chen, C., He, S., Hu, J., & Zhang, Y., (2022). First full-scale application of electron beam technology for treating dyeing wastewater (30,000 m³/d) in China. *Radiation Physics and Chemistry* 196, 110136
13. Szilágyi, F., & Orbán, V. (2007). Alkalmazott hidrobiológia. Magyar Víziközmű Szövetség. pp. 393-395
14. Barótfi I. (szerk.) (2005). Környezettechnika. Mezőgazda Kiadó. Budapest. pp. 501-552.
15. Kárpáti, Á. (Szerk.) (2007). A szennyvíztisztítás alapjai. Digitális tananyag, Pannon Egyetem, Környezetmérnöki Intézet, Veszprém. pp. 121-124
16. Simándi, P. (2011). Szennyvíztisztítási technológiák I-II. Szent István Egyetem. 31-194. oldal
17. Tchobanoglous, G., Stensel, H. D., Tsuchihashi, R., Burton, F., Abu-Orf, M., Bowden, G., & Pfrang, W. (2014). Wastewater engineering: treatment and resources recovery. Metcalf and Eddy Inc. pp. 848-860, 1661-1667, 1486-1497, 1567-1593
18. Gray, N. F. (2004). Biology of wastewater treatment (Vol. 4). World Scientific. pp. 325-641, 478-483
19. Jenkins, D., Richard, M.G., & Daigger, G.T., 2004. Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking, Foaming, and Other Solids Separation Problems. CRC Press, Boca Raton. IWA Publishing, London. pp. 14-16., 46-49., 61-62.
20. Gerardi, M.H. (2006). Wastewater Bacteria. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. pp. 14, 18, 29-31, 41, 59-64, 65-73, 135-141
21. Schaechter, M. (szerk). (2010). Desk encyclopedia of microbiology. Academic Press. pp. 183-189
22. Knisz, J., & Vadkerti, E. (2021). Szerves mikroszennyezők a környezetben. Ludovika Egyetemi Kiadó, Budapest. pp. 14-16., 49-57.

23. Grady Jr., C.P.L., Daigger, G.T. & Lim, H.C. (1999). *Biological Wastewater Treatment*. 2nd Edition, Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 19-61, 352-357, 389-404
24. Choi, Y. Y., Baek, S. R., Kim, J. I., Choi, J. W., Hur, J., Lee, T. U., Park, C.-J., & Lee, B. J. (2017). Characteristics and biodegradability of wastewater organic matter in municipal wastewater treatment plants collecting domestic wastewater and industrial discharge. *Water*, 9(6), 409.
25. Gerardi, M.H. (2003). *Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process*, 1 edition. New York: Wiley-Interscience p. 37-54, 55-62, 63-75, 81-86, 123-126, 135-143, 149-159
26. Márialigeti, K. (szerk), Borsodi, A., Felföldi T., Jäger, K., Makk, J., Romsics, Cs., Tóth, E., Bánfi, R., & Pohner, Zs. (2013). *Bevezetés a prokarióták világába*. ELTE pp. 7, 22, 58, 68-69, 75, 84-84, 108, 127-161, 204-206, 236-238, 288
27. Szabó, I.M. (1988). *A bioszféra mikrobiológiája I. Első kiadás harmadik, változatlan utánnymás (2001)*. Akadémiai Kiadó, Budapest pp. 216-249., 322-334.
28. Gerardi, M.H. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. John Wiley & Sons, Inc Publication, Hoboken, New Jersey pp. 1-59
29. Reintjes, G., Arnosti, C., Fuchs, B., & Amann, R. (2019). Selfish, sharing and scavenging bacteria in the Atlantic Ocean: a biogeographical study of bacterial substrate utilisation. *The ISME journal*, 13(5), 1119-1132.
30. Gerardi, M. H. (2003). Settleability problems and loss of solids in the activated sludge process. John Wiley & Sons. pp.101-106, 153-156
31. Finlay, B. J. (1977). The dependence of reproductive rate on cell size and temperature in freshwater ciliated protozoa. *Oecologia*, 30, 75-81.
32. Turley, C. M., Newell, R. C., & Robins, D. B. (1986). Survival strategies of two small marine ciliates and their role in regulating bacterial community structure under experimental conditions. *Marine Ecology Progress Series* 33(1), 59-70.
33. Andruschchyshyn, O., Magnusson, A. K., & Williams, D. D. (2003). Ciliate populations in temporary freshwater ponds: seasonal dynamics and influential factors. *Freshwater Biology*, 48(3), 548-564.

34. Eckert, E. M. (2015). Network of interactions between ciliates and phytoplankton during spring. AGRIS - International System for Agricultural Science and Technology, FAO UN Forrás (2024. július 23.):
<https://agris.fao.org/search/en/providers/122436/records/64747a4e425ec3c088f5d669>
35. King, C. E. (1972). Adaptation of rotifers to seasonal variation. *Ecology*, 53(3), 408-418.
36. Gillooly, J. F. (2000). Effect of body size and temperature on generation time in zooplankton. *Journal of plankton research*, 22(2), 241-251.
37. Snell, T. W. (2014). Rotifers as models for the biology of aging. *International review of hydrobiology*, 99(1-2), 84-95.
38. Laybourn, G., & Whyman, L. (1980). The effect of diet and temperature on reproductive rate in *Arcella vulgaris* Ehrenberg (Sarcodina: Testacida). *Oecologia*, 45, 282-284.
39. Vancoppenolle, B., Borgonie, G., & Coomans, A. (1999). Generation times of some free-living nematodes cultured at three temperatures. *Nematology*, 1(1), 15-18.
40. Vuono, D. C., Benecke, J., Henkel, J., Navidi, W. C., Cath, T. Y., Munakata-Marr, J., Spear, J.R., & Drewes, J. E. (2014). Disturbance and temporal partitioning of the activated sludge metacommunity. *The ISME Journal*, 9(2), 425–435. doi:10.1038/ismej.2014.139
41. Wu, L., Ning, D., Zhang, B., Li, Y., Zhang, P., Shan, X., Zhang, Q., Brown, M., Li, Z., Van Nostrand, J.D., Ling, F., Xiao, N., Zhang, Y., Vierheilig, J., Wells, G.F., Jang, Y., Deng, Y., Tu, Q., Wang, A., Global Water Microbiome Consortium, Zhang, T., He, Z., Keller, J., Nielsen, P.H., Alvarez, P.J.J., Criddle, C.S., Wagner, M., Tiedje, J.M., He, Q., Curtis, T.P., Stahl, D.A., Alvarez-Cohen, L., Rittmann, B.E., Wen, X., & Zhou, J. (2019). Global diversity and biogeography of bacterial communities in wastewater treatment plants. *Nature Microbiology*, 4(7), 1183–1195. doi:10.1038/s41564-019-0426-5
42. Sun, C., Zhang, B., Chen, Z., Qin, W., & Wen, X. (2020). Sludge retention time affects the microbial community structure: A large-scale sampling of aeration tanks throughout China. *Environmental Pollution*, 114140. doi:10.1016/j.envpol.2020.114140
43. Davies, P.S. (2005) *The Biological Basis of Wastewater Treatment*. Strathkelvin Instruments Ltd., Glasgow pp. 14-16.
44. Daims, H., Lebedeva, E. V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., Jehmlich, N., Palatinszky, M., Vierheilig, J., Bulaev, A., Kirkegaard, R.H., von Bergen, M., Rattei, T.,

- Bendinger, B., Nielsen, P.H., & Wagner, M. (2015). Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature*, 528(7583), 504-509.
45. Xu, S., Wu, X., & Lu, H. (2021). Overlooked nitrogen-cycling microorganisms in biological wastewater treatment. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 15(6). doi:10.1007/s11783-021-1426-2
 46. Coyne, M. S., & Tiedje, J. M. (1990). Induction of denitrifying enzymes in oxygen-limited *Achromobacter cycloclastes* continuous culture. *FEMS Microbiology Letters*, 73(3), 263–270. doi:10.1111/j.1574-6968.1990.tb03949.x
 47. Moir, J. W. B., Richardson, D. J., & Ferguson, S. J. (1995). The expression of redox proteins of denitrification in *Thiosphaera pantotropha* grown with oxygen, nitrate, and nitrous oxide as electron acceptors. *Archives of Microbiology*, 164(1), 43–49.
 48. Carreira, C., Mestre, O., Nunes, R. F., Moura, I., & Pauleta, S. R. (2018). Genomic organization, gene expression and activity profile of *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* denitrification enzymes. *PeerJ*, 6, e5603.
 49. Song, S. H., Yeom, S. H., Choi, S. S., & Yoo, Y. J. (2002). Effect of aeration on denitrification by *Ochrobactrum anthropi* SY509. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 7, 352-356.
 50. Tardy, G. M., Bakos, V., & Jobbágy, A. (2012). Conditions and technologies of biological wastewater treatment in Hungary. *Water Science and Technology*, 65(9), 1676–1683.
 51. Fukuda, R., Ogawa, H., Nagata, T., & Koike, I. (1998). Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Applied and environmental microbiology*, 64(9), 3352-3358.
 52. Vrede, K., Heldal, M., Norland, S., & Bratbak, G. (2002). Elemental composition (C, N, P) and cell volume of exponentially growing and nutrient-limited bacterioplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6), 2965-2971.
 53. Brust, G. E. (2019). Management strategies for organic vegetable fertility. In *Safety and Practice for Organic Food* (pp. 193-212). Academic Press.
 54. Kirchman, D. L. (2018). *Processes in microbial ecology*. Oxford University Press. p. 22
 55. Karapinar, I., & Kargi, F. (1996). Effect of wastewater composition on treatment performance of a column bioreactor with recycle. *Bioprocess Engineering*, 14, 245-248.

56. Slade, A. H., Thorn, G. J. S., & Dennis, M. A. (2011). The relationship between BOD:N ratio and wastewater treatability in a nitrogen-fixing wastewater treatment system. *Water Science and Technology*, 63(4), 627–632. doi:10.2166/wst.2011.215
57. Fontenot, Q., Bonvillain, C., Kilgen, M., & Boopathy, R. J. B. T. (2007). Effects of temperature, salinity, and carbon: nitrogen ratio on sequencing batch reactor treating shrimp aquaculture wastewater. *Bioresource Technology*, 98(9), 1700-1703.
58. Meng, F., Yang, A., Zhang, G., Li, J., Zou, Z., & Zhang, Y. (2019). Effects of C/N ratio on pollution removal efficiency and cell proliferation during the bioconversion of wastewater by photosynthetic bacteria. *Desalination and Water Treatment* 156, 68-77.
59. Közfoglalkoztatási és Vízügyi Helyettes Államtitkárság (BM) (2022) Tájékoztató Magyarország településeinek szennyvízelvezetési és –tisztítási helyzetéről, a települési szennyvíz kezeléséről szóló 91/271/EGK irányelv Nemzeti Megvalósítási Programjáról
60. van Haandel, A.C., & van der Lubbe, J.G.M. (2012). *Handbook of Biological Wastewater Treatment. Design and Optimisation of Activated Sludge Systems*, 2nd Edition. IWA Publishing pp. 10-12, 65-70, 141-156
61. Sapmaz, T., Manafi, R., Mahboubi, A., Koseoglu-Imer, D. Y., & Taherzadeh, M. J. (2023). The effect of sequential and simultaneous supplementation of waste-derived volatile fatty acids and methanol as alternative carbon source blend for wastewater denitrification. *Sustainability*, 15(8), 6849.
62. Manoharan, R., Liptak, S., Parkinson, P., Mavinic, D., & Randall, C. W. (1989). Denitrification of a high ammonia leachate using an external carbon source. *Environmental Technology Letters*, 10(8), 707–716.
63. She, L. H., He, F., Xu, D., Lin, J. D., & Wu, Z. B. (2009). Nitrogen removal under the condition of carbon source supplement in integrated vertical-flow constructed wetland. *Huan jing ke xue= Huanjing kexue*, 30(11), 3300-3305.
64. Chen, H. B., Wang, D. B., Li, X. M., Yang, Q., & Zeng, G. M. (2015). Enhancement of post-anoxic denitrification for biological nutrient removal: effect of different carbon sources. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 5887-5894.
65. Xu, Z., Dai, X., & Chai, X. (2018). Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes. *Science of the Total Environment*, 634, 195-204.

66. Mielcarek, A., Rodziewicz, J., Janczukowicz, W., Dabrowska, D., Ciesielski, S., Thornton, A., & Struk-Sokołowska, J. (2017). Citric acid application for denitrification process support in biofilm reactor. *Chemosphere*, 171, 512-519.
67. Mielcarek, A., Rodziewicz, J., Janczukowicz, W., & Struk-Sokołowska, J. (2020). The impact of biodegradable carbon sources on nutrients removal in post-denitrification biofilm reactors. *Science of the Total Environment*, 720, 137377.
68. Kłodowska, I., Rodziewicz, J., Janczukowicz, W., Cydzik-Kwiatkowska, A., & Parszuto, K. (2016). Effect of citric acid on the efficiency of the removal of nitrogen and phosphorus compounds during simultaneous heterotrophic-autotrophic denitrification (HAD) and electrocoagulation. *Ecological Engineering*, 95, 30-35.
69. Bodík, I., Blšťáková, A., Sedláček, S., & Hutňan, M. (2009). Biodiesel waste as source of organic carbon for municipal WWTP denitrification. *Bioresource Technology*, 100(8), 2452-2456.
70. Bernat, K., Kulikowska, D., & Żuchniewski, K. (2015). Glycerine as a carbon source in nitrite removal and sludge production. *Chemical Engineering Journal*, 267, 324-331.
71. Schroeder, A., Souza, D. H., Fernandes, M., Rodrigues, E. B., Trevisan, V., & Skoronski, E. (2020). Application of glycerol as carbon source for continuous drinking water denitrification using microorganism from natural biomass. *Journal of Environmental Management*, 256, 109964.
72. Cyplik, P., Marecik, R., Piotrowska-Cyplik, A., Olejnik, A., Drożdżyńska, A., & Chrzanowski, Ł. (2012). Biological denitrification of high nitrate processing wastewaters from explosives production plant. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223, 1791-1800.
73. Fernández-Nava, Y., Marañón, E., Soons, J., & Castrillón, L. (2010). Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources. *Journal of Hazardous Materials*, 173(1-3), 682-688.
74. Sage, M., Daufin, G., & Gésan-Guiziou, G. (2006). Denitrification potential and rates of complex carbon source from dairy effluents in activated sludge system. *Water Research*, 40(14), 2747-2755.
75. Lee, N. M., & Welandar, T. (1996). The effect of different carbon sources on respiratory denitrification in biological wastewater treatment. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82(3), 277-285.

76. Li, H. Y., Yang, D. H., Wu, H. Y., Lu, Q., & Zheng, X. (2011). Comparison and Analysis of Denitrification Effect and Kinetics Regarding Several New Type Carbon Sources. *Advanced Materials Research*, 255, 2695-2699.
77. Godini, H., Rezaee, A., Khavanin, A., Ahmadabadi, A. N., Rastegar, S., & Hossini, H. (2011). Heterotrophic biological denitrification using microbial cellulose as carbon source. *Journal of Polymers and the Environment*, 19, 283-287.
78. Tang, J., Wang, X. C., Hu, Y., Pu, Y., Huang, J., Ngo, H. H., Zeng, Y., & Li, Y. (2018). Nitrogen removal enhancement using lactic acid fermentation products from food waste as external carbon sources: performance and microbial communities. *Bioresource Technology*, 256, 259-268.
79. Xue, Z., Wang, C., Cao, J., Luo, J., Feng, Q., Fang, F., Li, C., & Zhang, Q. (2018). An alternative carbon source withdrawn from anaerobic fermentation of soybean wastewater to improve the deep denitrification of tail water. *Biochemical Engineering Journal*, 132, 217-224.
80. Fudala-Ksiazek, S., Luczkiewicz, A., Fitobór, K., & Olanczuk-Neyman, K. (2014). Nitrogen removal via the nitrite pathway during wastewater co-treatment with ammonia-rich landfill leachates in a sequencing batch reactor. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 7307-7318.
81. Kim, H., Kim, J., Shin, S. G., Hwang, S., & Lee, C. (2016). Continuous fermentation of food waste leachate for the production of volatile fatty acids and potential as a denitrification carbon source. *Bioresource Technology*, 207, 440-445.
82. Zhang, Y., Wang, X. C., Cheng, Z., Li, Y., & Tang, J. (2016). Effects of additional fermented food wastes on nitrogen removal enhancement and sludge characteristics in a sequential batch reactor for wastewater treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 12890-12899.
83. Qi, L., Li, L., Yin, L., & Zhang, W. (2022). Study on the properties of denitrifying carbon sources from cellulose plants and their nitrogen removal mechanisms. *Water Science and Technology*, 85(2), 719-730.
84. Modin, O., Fukushi, K., & Yamamoto, K. (2007). Denitrification with methane as external carbon source. *Water Research*, 41(12), 2726-2738.

85. Brazil, B. L., & Summerfelt, S. T. (2006). Aerobic treatment of gravity thickening tank supernatant. *Aquacultural Engineering*, 34(2), 92-102.
86. Yuan, Q., Sparling, R., & Oleszkiewicz, J. A. (2009). Waste activated sludge fermentation: effect of solids retention time and biomass concentration. *Water Research*, 43(20), 5180-5186.
87. Ucisik, A. S., & Henze, M. (2008). Biological hydrolysis and acidification of sludge under anaerobic conditions: the effect of sludge type and origin on the production and composition of volatile fatty acids. *Water Research*, 42(14), 3729-3738.
88. Yuan, Q., Sparling, R., & Oleszkiewicz, J. A. (2011). VFA generation from waste activated sludge: Effect of temperature and mixing. *Chemosphere*, 82(4), 603-607.
89. Chen, Y., Jiang, S., Yuan, H., Zhou, Q., & Gu, G. (2007). Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs. *Water Research*, 41(3), 683-689.
90. Skalsky, D. S., & Daigger, G. T. (1995). Wastewater solids fermentation for volatile acid production and enhanced biological phosphorus removal. *Water Environment Research*, 67(2), 230-237.
91. Elefsiniotis, P., & Wareham, D. G. (2007). Utilization patterns of volatile fatty acids in the denitrification reaction. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(1-2), 92-97.
92. Patel, M., Kumar, R., Kishor, K., Mlsna, T., Pittman Jr, C. U., & Mohan, D. (2019). Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: chemistry, occurrence, effects, and removal methods. *Chemical Reviews*, 119(6), 3510-3673.
93. Balogh, I., Kappelmayer, J., Tőzsér, J. (2011) Molekuláris diagnosztika. Debreceni Egyetem pp. 40-43.
94. Gyires, K, Fürst, Zs (2011) A farmakológia alapjai. Medicina Könyvkiadó Zrt. 44-71, 88-317, 390-401, 409-425
95. Silva, B., Costa, F., Neves, I. C., & Tavares, T. (2015). Psychiatric Pharmaceuticals as Emerging Contaminants in Wastewater. *Springer Briefs in Molecular Science*. 14. oldal doi:10.1007/978-3-319-20493-2
96. Bound, J. P., & Voulvoulis, N. (2005). Household disposal of pharmaceuticals as a pathway for aquatic contamination in the United Kingdom. *Environmental Health Perspectives*, 113(12), 1705-1711.

97. Jjemba, P. K. (2006). Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63(1), 113-130.
98. IQVIA Institute for Human Data Science (2023). The Global Use of Medicines 2023: Outlook to 2027. Report. p. 18 Forrás (2024. március 22.): <https://www.andi.com.co/Uploads/IQVIA.pdf>
99. Index (2019). Top 15: ezek voltak a legnépszerűbb gyógyszerek tavaly
Forrás (2024. július 23.):
https://index.hu/belfold/2019/02/12/gyogyszer_statisztika_neak_gyogyszerforgalom_be_tegsegek_ertagito_vernyomascsokekento_antibiotikum_d-vitamin/
100. Bottery, M. J., Pitchford, J. W., & Friman, V. P. (2021). Ecology and evolution of antimicrobial resistance in bacterial communities. *The ISME Journal*, 15(4), 939-948.
101. Faigl, F. (szerk.), Szeghy, L., Kovács, E., Mátravölgyi, B. (2011): *Gyógyszerek*. Egyetemi jegyzet. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Typotex Kiadó. pp. 207–210.
102. Kon, K., Rai, M. (Eds.). (2016). *Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches*. Academic press. pp. 20-36
103. Keen, P. L., Fugère, R. (Eds.). (2017). *Antimicrobial Resistance in Wastewater Treatment Processes*. John Wiley & Sons. pp. 1-34, 129-206
104. Furuya, E. Y., Lowy, F. D. (2006). Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. *Nature Reviews Microbiology*, 4(1), 36–45.
105. Baker-Austin, C., Wright, M. S., Stepanauskas, R., & McArthur, J. V. (2006). Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends in Microbiology*, 14(4), 176-182.
106. Meir-Gruber, L., Manor, Y., & Gefen-Halevi, S., Hindiyeh, M. Y., Mileguir, F., Azar, R., Smollan, G., Belausov, N., Rahav, G., Shamiss, A., Mendelson, E., Keller, N. (2016). Population screening using sewage reveals pan-resistant bacteria in hospital and community samples. *PloS one*, 11(10), e0164873.
107. Pommerville, J. C. (2010). *Alcamo's Fundamentals of Microbiology*. Jones & Bartlett Learning; 9th edition. USA. pp. 158-188
108. Tran, N. H., Urase, T., Ngo, H. H., Hu, J., & Ong, S. L. (2013b). Insight into metabolic and cometabolic activities of autotrophic and heterotrophic microorganisms in the

- biodegradation of emerging trace organic contaminants. *Bioresource Technology*, 146, 721–731.
109. Benner, J., Helbling, D. E., Kohler, H.-P. E., Wittebol, J., Kaiser, E., Prasse, C., Teres, T.A., Albers, C.N., Aamand, J., Horemans, B., Springael, D., Walravens, E., & Boon, N. (2013). Is biological treatment a viable alternative for micropollutant removal in drinking water treatment processes? *Water Research*, 47(16), 5955–5976.
 110. Kennes-Veiga, D. M., González-Gil, L., Carballa, M., & Lema, J. M. (2022). Enzymatic cometabolic biotransformation of organic micropollutants in wastewater treatment plants: A review. *Bioresource Technology*, 344, 126291.
 111. De Gussemé, B., Vanhaecke, L., Verstraete, W., & Boon, N. (2011). Degradation of acetaminophen by *Delftia tsuruhatensis* and *Pseudomonas aeruginosa* in a membrane bioreactor. *Water Research*, 45(4), 1829–1837.
 112. Moreira, I. S., Bessa, V. S., Murgolo, S., Piccirillo, C., Mascolo, G., & Castro, P. M. L. (2018). Biodegradation of Diclofenac by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 152, 104–113.
 113. Langenhoff, A., Inderfurth, N., Veuskens, T., Schraa, G., Blokland, M., Kujawa-Roeleveld, K., & Rijnaarts, H. (2013). Microbial Removal of the Pharmaceutical Compounds Ibuprofen and Diclofenac from Wastewater. *BioMed Research International*, 2013, 1–9.
 114. Bessa, V.S., Moreira, I.S., Tiritan, M.E., & Castro, P.M.L., (2017). Enrichment of bacterial strains for the biodegradation of diclofenac and carbamazepine from activated sludge. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 120, 135–142.
 115. Murdoch, R. W., & Hay, A. G. (2005). Formation of catechols via removal of acid side chains from ibuprofen and related aromatic acids. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), 6121–6125.
 116. Moreira, I.S., Ribeiro, A.R., Afonso, C.M., Tiritan, M.E., & Castro, P.M.L., (2014). Enantioselective biodegradation of fluoxetine by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. *Chemosphere* 111, 103–111.
 117. Li, A., Cai, R., Cui, D., Qiu, T., Pang, C., Yang, J., Ma, F., & Ren, N., (2013). Characterization and biodegradation kinetics of a new cold-adapted carbamazepine-

- degrading bacterium, *Pseudomonas* sp. CBZ-4. *Journal of Environmental Science* 25, 2281–2290.
118. Bouju, H., Ricken, B., Beffa, T., Corvini, P. F.-X., & Kolvenbach, B. A. (2011). Isolation of Bacterial Strains Capable of Sulfamethoxazole Mineralization from an Acclimated Membrane Bioreactor. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(1), 277–279.
 119. Jiang, B., Li, A., Cui, D., Cai, R., Ma, F., & Wang, Y. (2014). Biodegradation and metabolic pathway of sulfamethoxazole by *Pseudomonas psychrophila* HA-4, a newly isolated cold-adapted sulfamethoxazole-degrading bacterium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(10), 4671–4681.
 120. Larcher, S., & Yargeau, V. (2011). Biodegradation of sulfamethoxazole by individual and mixed bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(1), 211–218.
 121. Yi, T., & Harper, W. F. (2007). The link between nitrification and biotransformation of 17 α -ethinylestradiol. *Environmental Science & Technology*, 41(12), 4311–4316.
 122. Babbie, A., Tokuriki, N., & Hollfelder, F. (2010). What makes an enzyme promiscuous? *Current Opinion in Chemical Biology*, 14(2), 200–207.
 123. Khunjar, W. O., Mackintosh, S. A., Skotnicka-Pitak, J., Baik, S., Aga, D. S., & Love, N. G. (2011). Elucidating the Relative Roles of Ammonia Oxidizing and Heterotrophic Bacteria during the Biotransformation of 17 α -Ethinylestradiol and Trimethoprim. *Environmental Science & Technology*, 45(8), 3605–3612.
 124. Maeng, S. K., Choi, B. G., Lee, K. T., & Song, K. G. (2013). Influences of solid retention time, nitrification and microbial activity on the attenuation of pharmaceuticals and estrogens in membrane bioreactors. *Water Research*, 47(9), 3151–3162.
 125. Roh, H., Subramanya, N., Zhao, F., Yu, C.-P., Sandt, J., & Chu, K.-H. (2009). Biodegradation potential of wastewater micropollutants by ammonia-oxidizing bacteria. *Chemosphere*, 77(8), 1084–1089.
 126. Sathyamoorthy, S., Chandran, K., & Ramsburg, C. A. (2013). Biodegradation and Cometabolic Modeling of Selected Beta Blockers during Ammonia Oxidation. *Environmental Science & Technology*, 47(22), 12835–12843.
 127. Shi, J. (2004). Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Water Research*, 38(9), 2323–2330.

128. Osorio-Lozada, A., Surapaneni, S., Skiles, G.L., & Subramanian, R. (2008). Biosynthesis of drug metabolites using microbes in hollow fiber cartridge reactors: case study of diclofenac metabolism by actinoplanes species. *Drug Metabolism and Disposition* 36, 234–240.
129. O’Grady, D., Evangelista, S., & Yargeau, V. (2009). Removal of aqueous 17 α -ethinylestradiol by rhodococcus species. *Environmental Engineering Science*, 26(9), 1393–1400.
130. Quintana, J., Weiss, S., & Reemtsma, T. (2005). Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Research*, 39(12), 2654–2664.
131. Hult, K., & Berglund, P. (2007). Enzyme promiscuity: mechanism and applications. *Trends in Biotechnology*, 25(5), 231–238.
132. Dombi A, & Ilisz I. (1999). Nagyhatékonyságú Oxidációs Eljárások a Környezeti Kémiában. Budapest, Magyarország. Akadémiai Kiadó, 141 p.
133. Ilisz, I., Alapi T., Gajdáné Schrantz, K., Ambrus, Z., Balázs, N., Sipos P., & Dombi, A. (2006). Nagyhatékonyságú oxidációs eljárások a környezeti kémiában In: Pernyeszi, Timea (szerk.) II. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia Összefoglalók Pécs, Magyarország. Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar (PTE TTK) (2006) 74 p. pp. 39-39., 1 p.
134. Oturan, M. A., & Aaron, J. J. (2014). Advanced oxidation processes in water/wastewater treatment: principles and applications. A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(23), 2577-2641.
135. Spothem-Maurizot, M., Mostafavi, M., Douki, T., & Belloni, J. (2008). Radiation chemistry. *Edp Sciences*. pp. 3-6, 79-95
136. Le Caër, S. (2011). Water radiolysis: influence of oxide surfaces on H₂ production under ionizing radiation. *Water*, 3(1), 235-253.
137. Swallow, A. J., 1973. Radiation chemistry. Longman Group Limited, London.
138. Wojnárovits, L.: Sugárkémia – Sugárzások kémiai hatásai 2007. Akadémiai Kiadó, Budapest pp.17-58, 91-112

139. Venturi, M., & D'Angelantonio, M. (Eds.). (2017). Applications of radiation chemistry in the fields of industry, biotechnology and environment. Springer. pp. 3-4
140. Glaze, W. H., Kang, J. W., & Chapin, D. H. (1987). The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation.
141. Kumari, P., & Kumar, A. (2023). Advanced oxidation process: A remediation technique for organic and non-biodegradable pollutant. *Results in Surfaces and Interfaces*, 100122.
142. Garcia-Segura, S., & Brillas, E. (2017). Applied photoelectrocatalysis on the degradation of organic pollutants in wastewaters. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 31, 1-35.
143. Wojnárovits, L., Homlok, R., Kovács, K., Bezsenyi, A., & Takács, E. (2023). Ionizing radiation induced removal of ofloxacin, abatement of its toxicity and antibacterial activity in various water matrices. *Applied Sciences*, 13(12), 7211.
144. Shanmugavel, S. P., Kumar, G., & Gunasekaran, M. (2023). Recent progress in mineralization of emerging contaminants by advanced oxidation process: A review. *Environmental Pollution*, 122842.
145. Guerra-Rodríguez, S., Rodríguez, E., Singh, D. N., & Rodríguez-Chueca, J. (2018). Assessment of sulfate radical-based advanced oxidation processes for water and wastewater treatment: a review. *Water*, 10(12), 1828.
146. Wojnárovits, L., Wang, J., Chu, L., Tóth, T., Kovács, K., Bezsenyi, A., Szabó, L., Homlok, R., & Takács, E. (2022). Matrix effect in the hydroxyl radical induced degradation of β -lactam and tetracycline type antibiotics. *Radiation Physics and Chemistry*, 193, 109980.
147. Giannakis, S., Gamarra Vives, F.A., Grandjean, D., Magnet, A., De Alencastro, L.F., & Pulgarin, C., 2015. Effect of advanced oxidation processes on the micropollutants and the effluent organic matter contained in municipal wastewater previously treated by three different secondary methods. *Water Research* 84, 295–306
148. Al Momani, F., Santiago, S., & Esplugas, C., 2004. A comparative study of the advanced oxidation of 2,4-dichlorophenol. *Journal of Hazardous Materials* 107, 123-129.
149. Liu, C., Tang, X., Kim, J., & Korshin, G. V. (2015). Formation of aldehydes and carboxylic acids in ozonated surface water and wastewater: A clear relationship with fluorescence changes. *Chemosphere*, 125, 182–190. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.12.054

150. Agbaba, J., Jazić, J. M., Tubić, A., Watson, M., Maletić, S., Isakovski, M. K., & Dalmacija, B. (2016). Oxidation of natural organic matter with processes involving O₃, H₂O₂ and UV light: formation of oxidation and disinfection by-products. *RSC Advances*, 6(89), 86212–86219. doi:10.1039/c6ra18072h
151. Barndöck, H., Merayo, N., Blanco, L., Hermosilla, D., & Blanco, Á. (2016). Application of on-line FTIR methodology to study the mechanisms of heterogeneous advanced oxidation processes. *Applied Catalysis B: Environmental*, 185, 344–352. doi:10.1016/j.apcatb.2015.12.036
152. Ferreira, C., Sanz, J., Villota, N., de Luis, A., & Lombraña, J. I. (2021). Kinetic modelling for concentration and toxicity changes during the oxidation of 4-chlorophenol by UV/H₂O₂. *Scientific Reports*, 11(1), 15726.
153. Dirany, A., Sirés, I., Oturan, N., Özcan, A., & Oturan, M. A. (2012). Electrochemical treatment of the antibiotic sulfachloropyridazine: kinetics, reaction pathways, and toxicity evolution. *Environmental Science & Technology*, 46(7), 4074–4082. doi:10.1021/es204621q
154. Martini, J., Orge, C. A., Faria, J. L., Pereira, M. F. R., & Soares, O. S. G. P. (2019). Catalytic advanced oxidation processes for sulfamethoxazole degradation. *Applied Sciences*, 9(13), 2652. doi:10.3390/app9132652
155. Mathur, P., Sanyal, D., & Das, R. K. (2021). Treatment of pharmaceutical and personal care products in wastewater. In *The Future of Effluent Treatment Plants* (pp. 451-474). Elsevier.
156. Joseph, C. G., Puma, G. L., Bono, A., & Krishnaiah, D. (2009). Sonophotocatalysis in advanced oxidation process: a short review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(5), 583-589.
157. Patil, A. B., & Bhanage, B. M. (2015). Sonochemistry: A Greener Protocol for Nanoparticles Synthesis. *Handbook of Nanoparticles*, 1–20.
158. Dehghani, M. H., Karri, R. R., Koduru, J. R., Manickam, S., Tyagi, I., & Mubarak, N. M. (2023). Recent trends in the applications of sonochemical reactors as an advanced oxidation process for the remediation of microbial hazards associated with water and wastewater: A critical review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 106302.

159. Sági, G., Kovács, K., Bezsenyi, A., Csay, T., Takács, E., & Wojnárovits, L. (2016). Enhancing the biological degradability of sulfamethoxazole by ionizing radiation treatment in aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry*, 124, 179-183.
160. Kanakaraju, D., Glass, B. D., & Oelgemöller, M. (2018). Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review. *Journal of Environmental Management*, 219, 189-207.
161. Sági, G., Bezsenyi, A., Kovács, K., Klátyik, S., Darvas, B., Székács, A., Mohácsi-Farkas, Cs., Takács, E., & Wojnárovits, L. (2018). Radiolysis of sulfonamide antibiotics in aqueous solution: Degradation efficiency and assessment of antibacterial activity, toxicity and biodegradability of products. *Science of The Total Environment*, 622, 1009-1015.
162. Taoufik, N., Boumya, W., Achak, M., Sillanpää, M., & Barka, N. (2021). Comparative overview of advanced oxidation processes and biological approaches for the removal pharmaceuticals. *Journal of Environmental Management*, 288, 112404.
163. Takács, E., Wang, J., Chu, L., Tóth, T., Kovács, K., Bezsenyi, A., Szabó, L., Homlok, R., & Wojnárovits, L. (2022). Elimination of oxacillin, its toxicity and antibacterial activity by using ionizing radiation. *Chemosphere*, 286, 131467.
164. Stalter, D., Magdeburg, A., Weil, M., Knacker, T., & Oehlmann, J. (2010). Toxication or detoxication? In vivo toxicity assessment of ozonation as advanced wastewater treatment with the rainbow trout. *Water Research*, 44(2), 439-448.
165. Stalter, D., Magdeburg, A., & Oehlmann, J. (2010). Comparative toxicity assessment of ozone and activated carbon treated sewage effluents using an in vivo test battery. *Water Research*, 44(8), 2610-2620.
166. Magdeburg, A., Stalter, D., & Oehlmann, J. (2012). Whole effluent toxicity assessment at a wastewater treatment plant upgraded with a full-scale post-ozonation using aquatic key species. *Chemosphere*, 88(8), 1008-1014.
167. Petala, M., Samaras, P., Zouboulis, A., Kungolos, A., & Sakellaropoulos, G. P. (2008). Influence of ozonation on the in vitro mutagenic and toxic potential of secondary effluents. *Water Research*, 42(20), 4929-4940.
168. Takanashi, H., Mayumi, M., Kato, M., Hirata, M., & Hano, T. (2002). Removal of mutagen precursor from wastewater by activated sludge and oxidation treatment. *Water Science and Technology*, 46(11-12), 389-394.

169. Reungoat, J., Macova, M., Escher, B. I., Carswell, S., Mueller, J. F., & Keller, J. (2010). Removal of micropollutants and reduction of biological activity in a full scale reclamation plant using ozonation and activated carbon filtration. *Water Research*, 44(2), 625-637.
170. Mišík, M., Knasmueller, S., Ferk, F., Cichna-Markl, M., Grummt, T., Schaar, H., & Kreuzinger, N. (2011). Impact of ozonation on the genotoxic activity of tertiary treated municipal wastewater. *Water Research*, 45(12), 3681-3691.
171. Petala, M., Samaras, P., Zouboulis, A., Kungolos, A., & Sakellaropoulos, G. (2006). Ecotoxicological properties of wastewater treated using tertiary methods. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 21(4), 417-424.
172. Nawrocki, J., Świetlik, J., Raczyk-Stanisławiak, U., Dąbrowska, A., Biłozor, S., & Ilecki, W. (2003). Influence of Ozonation Conditions on Aldehyde and Carboxylic Acid. *Ozone Science & Engineering*, 25, 53-62.
173. Rayaroth, M. P., Aravindakumar, C. T., Shah, N. S., & Boczkaj, G. (2022). Advanced oxidation processes (AOPs) based wastewater treatment-unexpected nitration side reactions-a serious environmental issue: A review. *Chemical Engineering Journal*, 430, 133002.
174. Petigara, B. R., Blough, N. V., & Mignerey, A. C. (2002). Mechanisms of hydrogen peroxide decomposition in soils. *Environmental Science & Technology*, 36(4), 639-645.
175. Talinli, I., & Anderson, G. K. (1992). Interference of hydrogen peroxide on the standard COD test. *Water Research*, 26(1), 107-110.
176. Tusseau-Vuillemin, M.-H., Lagarde, F., Chauvière, C., & Héduit, A. (2002). Hydrogen peroxide (H₂O₂) as a source of dissolved oxygen in COD-degradation respirometric experiments. *Water Research* 36, 793–798.
177. Lee, E., Lee, H., Kim, Y. K., Sohn, K., & Lee, K. (2011). Hydrogen peroxide interference in chemical oxygen demand during ozone based advanced oxidation of anaerobically digested livestock wastewater. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8, 381-388.
178. Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., Liang, S., & Wang, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 473-474, 619–641.

179. Saravanan, A., Deivayanai, V. C., Kumar, P. S., Rangasamy, G., Hemavathy, R. V., Harshana, T., Gayathri, N., & Alagumalai, K. (2022). A detailed review on advanced oxidation process in treatment of wastewater: Mechanism, challenges and future outlook. *Chemosphere*, 308, 136524.
180. Atalay, S., & Ersöz, G. (2016). Novel Catalysts in Advanced Oxidation of Organic Pollutants (pp. 23-34). New York, NY, USA: Springer International Publishing. p. 25
181. Götz, C., Bergmann, S., Ort, C., Singer, H., & Kase, R. (2012). Mikroschadstoffe aus kommunalem Abwasser-Stoffflussmodellierung, Situationsanalyse und Reduktionspotenziale für Nordrhein-Westfalen. Studie im Auftrag des Ministeriums für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur-und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (MKULNV), 12. (Abschlussbericht). Envilab AG, Zofingen.

Forrás (2024. július 23.):
https://www.oekotoxzentrum.ch/media/2226/2012_goetz_nrw_stoffflussmodell.pdf
182. Das Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz (MKULNV) (2012). Expertenkommission Programm „Reine Ruhr“ zur Strategie einer nachhaltigen Verbesserung der Gewässer- und Trinkwasserqualität in Nordrhein-Westfalen. Forrás (2024. július 23.):

https://www.umwelt.nrw.de/system/files/media/document/file/programm_reine_ruhr_2012.pdf
183. Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MLV NRW) (2013) Programm Reine Ruhr-Zur Strategie einer nachhaltigen Verbesserung der Gewässer-und Trinkwasserqualität in Nordrhein-Westfalen. 2013-last update. Forrás (2024. július 23.): https://www.wasserwerke-westfalen.de/fileadmin/Wasser/programm_reine_ruhr.pdf
184. Mertsch, V. (2017). Mikroschadstoffe aus kommunalem Abwasser: Konzeption Nordrhein-Westfalen. *Wasser, Energie und Umwelt: Aktuelle Beiträge aus der Zeitschrift Wasser und Abfall I*, 199-207.
185. Landesregierung NRW (27. Januar 2017). Minister Remmel: Höchster technischer Standard für die Sicherung des Trinkwassers aus der Ruhr - Programm „Reine Ruhr“ für Gewässer- und Trinkwasserschutz auf gutem Weg: Bereits 150 Millionen Euro wurden in Wasserwerke investiert

- Forrás (2024. július 23.): <https://www.land.nrw/pressemitteilung/minister-remmel-hoechster-technischer-standard-fuer-die-sicherung-des-trinkwassers>
186. Baur, B., Pinnekamp, J., Niehoff, H. (2020). Umrüstung der Kölner BIOFOR Flockungsfilter auf Spurenstoffelimination (AdOx Köln) – Kurzbericht Phase 2, gerichtet an das Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Natur und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MULNV NRW)
 187. RWTH Aachen University. Umrüstung der Kölner BIOFOR Flockungsfilter auf Spurenstoffelimination (AdOx Köln). (Projektsteckbrief) Forrás (2024. július 23.): <https://www.isa.rwth-aachen.de/cms/ISA/Forschung/abgeschlossene-Projekte/~shha/AdOx-Koeln/>
 188. Loeb, B. L., Thompson, C. M., Drago, J., Takahara, H., & Baig, S. (2012). Worldwide ozone capacity for treatment of drinking water and wastewater: a review. *Ozone: Science & Engineering*, 34(1), 64-77.
 189. Takeuchi, H., & Tanaka, H. (2020). Water reuse and recycling in Japan—History, current situation, and future perspectives. *Water Cycle*, 1, 1-12.
 190. Logar, I., Brouwer, R., Maurer, M., & Ort, C. (2014). Cost-benefit analysis of the Swiss national policy on reducing micropollutants in treated wastewater. *Environmental Science & Technology*, 48(21), 12500-12508.
 191. Aqua Strategy (2016) Switzerland's progress on micropollutants in sewage. Forrás (2024. július 23.): www.aquastrategy.com/article/switzerlands-progress-micropollutants-sewage
 192. Eawag: Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (2019): The Swiss approach in reducing micropollutants in wastewater. STOWA Workshop: Beating micropollutants in WWTPs, Nov. 5 2019, Aquatech Expo RAI, Amsterdam, NL Forrás (2024. július 23.): <https://www.stowa.nl/sites/default/files/assets/AGENDA/Agenda%202019/20191105%20International%20research%20programs%20micropollutants/1.%20Presentation%20Micropollutants%20Switzerland%2C%20Christa%20McArdell.pdf>
 193. Montreal Gazette (2022) Ozonation plant finally coming, six years late and at triple the cost – City will dump wastewater during construction of ozonation plant. Forrás (2024. július 23.): <https://montrealgazette.com/news/local-news/city-will-dump-wastewater-during-construction-of-ozonation-plant>

194. Han, B., Kim, J. K., Kim, Y., Choi, J. S., & Jeong, K. Y. (2012). Operation of industrial-scale electron beam wastewater treatment plant. *Radiation Physics and Chemistry*, 81(9), 1475-1478.
195. Bitton, G. (Ed.), 2002, *Encyclopedia of Environmental Microbiology*, first ed., vols. 1–6. Wiley-Interscience, pp. 713–809.
196. Ogunseitan, O.A., 2004. *Microbial Diversity - Form and Function in Prokaryotes*. Wiley-Blackwell Science. Ltd, p. 251.
197. Collier, R. J., Baumgard, L. H., Zimbelman, R. B., & Xiao, Y. (2019). Heat stress: physiology of acclimation and adaptation. *Animal Frontiers*, 9(1), 12-19.
198. Metcalf, L., Eddy, H. P., Tchobanoglous, G. (1991). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse* (Vol. 4). New York: McGraw-Hill.
199. Al-Momani, F., Touraud, E., Degorce-Dumas, J. R., Roussy, J., & Thomas, O. (2002). Biodegradability enhancement of textile dyes and textile wastewater by VUV photolysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 153(1-3), 191-197.
200. Abbas, A. A., Yousif, Y. T., & Almutter, H. H. (2022). Evaluation of Al-Thagher wastewater treatment plant. *Periodica Polytechnica Civil Engineering*, 66(1), 112-126.
201. World Health Organization (2012). Pharmaceuticals in drinking-water. Forrás (2024. július 23.): https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44630/9789241502085_eng.pdf
202. Umwelt Bundesamt (2024. július 23.): <https://www.umweltbundesamt.de/en/database-pharmaceuticals-in-the-environment-1>
203. MSZ ISO 6060:1991 – A víz kémiai oxigénigényének meghatározása
204. Rice, E. W., Bridgewater, L., & American Public Health Association (Eds.). (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 10). Washington, DC: American Public Health Association. Chapter 5210, 5220, 5310
205. MSZ 260-3:1973 – SZENNYVIZEK VIZSGÁLATA – Oldott és lebegőanyagtartalom meghatározása
206. BÁLINT ANALITIKA Mérnöki Kutató és Szolgáltató Kft. Elérhetőség (2024. március 22.): <http://www.laboratorium.balintanalitika.hu/>
207. WTW: Determination of Biochemical Oxygen Demand (BOD) (BOD primer)

208. MSZE 21420-9:2004 - Hulladékok jellemzése 9. rész: A biokémiai oxigén igény (BOI) meghatározása
209. Eikelboom D.H., 2000. Process Control of Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation. IWA Publishing, London. pp. 23-43., 85-105., 119-127.
210. Gerardi M. H., 2008. Microscopic Examination of the Activated Sludge Process. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, USA. pp. 127-155.
211. Bonev, B., Hooper, J., & Parisot, J. (2008). Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 61(6), 1295-1301.
212. Fidy, J., Makara, G. (2005) Biostatisztika. InforMed 2002 Kft. pp. 21-23, 83-84
213. Obádovics, Cs., Szelényi, L., & Szelezsán, J. (2003) Valószínűségszámítás és matematikai statisztika. Scolar Kiadó pp. 91-85, 195-203, 212-115
214. European Chemicals Agency (ECHA) (2024. július 23.): <https://echa.europa.eu/hu>
215. Bezsenyi, A., Sági, G., Makó, M., Palkó, G., Tóth, T., Wojnárovits, L., & Takács, E. (2019). The effect of combined cometabolism and gamma irradiation treatment on the biodegradability of diclofenac and sulfamethoxazole. *Radiation Physics and Chemistry*, 108642.
216. Illés, E., Tegze, A., Kovács, K., Sági, G., Papp, Z., Takács, E., & Wojnárovits, L. (2017). Hydrogen peroxide formation during radiolysis of aerated aqueous solutions of organic molecules. *Radiation Physics and Chemistry*, 134, 8–13. doi:10.1016/j.radphyschem.2016.12.023
217. Öllös, G., Oláh, J., & Palkó, Gy. (2010). Rothasztás. Magyar Vízközmű Szövetség, Budapest pp. 45-46.
218. Kennes-Veiga, D. M., Vogler, B., Fenner, K., Carballa, M., & Lema, J. M. (2021). Heterotrophic enzymatic biotransformations of organic micropollutants in activated sludge. *Science of the Total Environment*, 780, 146564.
219. Gonzalez-Gil, L., Carballa, M., & Lema, J. M. (2017). Cometabolic enzymatic transformation of organic micropollutants under methanogenic conditions. *Environmental science & technology*, 51(5), 2963-2971.

220. Ghattas, A. K., Fischer, F., Wick, A., & Ternes, T. A. (2017). Anaerobic biodegradation of (emerging) organic contaminants in the aquatic environment. *Water research*, 116, 268-295.
221. Gonzalez-Gil, L., Krah, D., Ghattas, A. K., Carballa, M., Wick, A., Helmholz, L., Lema, J.M., & Ternes, T. A. (2019). Biotransformation of organic micropollutants by anaerobic sludge enzymes. *Water research*, 152, 202-214.
222. Krah, D., Ghattas, A. K., Wick, A., Bröder, K., & Ternes, T. A. (2016). Micropollutant degradation via extracted native enzymes from activated sludge. *Water research*, 95, 348-360.
223. Torresi, E., Gülay, A., Polesel, F., Jensen, M. M., Christensson, M., Smets, B. F., & Plósz, B. G. (2018). Reactor staging influences microbial community composition and diversity of denitrifying MBBRs-Implications on pharmaceutical removal. *Water research*, 138, 333-345.
224. Patel, G. K., Kawale, A. A., & Sharma, A. K. (2012). Purification and physicochemical characterization of a serine protease with fibrinolytic activity from latex of a medicinal herb *Euphorbia hirta*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 52, 104-111.
225. Terzic, S., Udikovic-Kolic, N., Jurina, T., Krizman-Matasic, I., Senta, I., Mihaljevic, I., Loncar, J., Smital, T., & Ahel, M. (2018). Biotransformation of macrolide antibiotics using enriched activated sludge culture: kinetics, transformation routes and ecotoxicological evaluation. *Journal of hazardous materials*, 349, 143-152.
226. Jia, Y., Yin, L., Khanal, S. K., Zhang, H., Oberoi, A. S., & Lu, H. (2020). Biotransformation of ibuprofen in biological sludge systems: Investigation of performance and mechanisms. *Water research*, 170, 115303.
227. Fernandez-Fontaina, E., Gomes, I. B., Aga, D. S., Omil, F., Lema, J. M., & Carballa, M. (2016). Biotransformation of pharmaceuticals under nitrification, nitrataion and heterotrophic conditions. *Science of the total environment*, 541, 1439-1447.
228. Bains, A., Perez-Garcia, O., Lear, G., Greenwood, D., Swift, S., Middleditch, M., Kolodziej, E., & Singhal, N. (2019). Induction of microbial oxidative stress as a new strategy to enhance the enzymatic degradation of organic micropollutants in synthetic wastewater. *Environmental Science & Technology*, 53(16), 9553-9563.

229. Granatto, C. F., Grosseli, G. M., Sakamoto, I. K., Fadini, P. S., & Varesche, M. B. A. (2020). Methanogenic potential of diclofenac and ibuprofen in sanitary sewage using metabolic cosubstrates. *Science of the Total Environment*, 742, 140530.
230. Di Marcantonio, C., Chiavola, A., Bains, A., & Singhal, N. (2020). Effect of oxic/anoxic conditions on the removal of organic micropollutants in the activated sludge process. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101161.
231. Achermann, S., Bianco, V., Mansfeldt, C. B., Vogler, B., Kolvenbach, B. A., Corvini, P. F., & Fenner, K. (2018). Biotransformation of sulfonamide antibiotics in activated sludge: the formation of pterin-conjugates leads to sustained risk. *Environmental science & technology*, 52(11), 6265-6274.
232. Zhou, L. J., Han, P., Yu, Y., Wang, B., Men, Y., Wagner, M., & Wu, Q. L. (2019). Cometabolic biotransformation and microbial-mediated abiotic transformation of sulfonamides by three ammonia oxidizers. *Water research*, 159, 444-453.
233. Mohatt, J. L., Hu, L., Finneran, K. T., & Strathmann, T. J. (2011). Microbially mediated abiotic transformation of the antimicrobial agent sulfamethoxazole under iron-reducing soil conditions. *Environmental science & technology*, 45(11), 4793-4801.
234. Benner, J., De Smet, D., Ho, A., Kerckhof, F. M., Vanhaecke, L., Heylen, K., & Boon, N. (2015). Exploring methane-oxidizing communities for the co-metabolic degradation of organic micropollutants. *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 3609-3618.
235. Khunjar, W. O., Mackintosh, S. A., Skotnicka-Pitak, J., Baik, S., Aga, D. S., & Love, N. G. (2011). Elucidating the relative roles of ammonia oxidizing and heterotrophic bacteria during the biotransformation of 17 α -ethinylestradiol and trimethoprim. *Environmental science & technology*, 45(8), 3605-3612.
236. Martínez-Quintela, M., Arias, A., Alvarino, T., Suarez, S., Garrido, J. M., & Omil, F. (2021). Cometabolic removal of organic micropollutants by enriched nitrite-dependent anaerobic methane oxidizing cultures. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123450.
237. Falås, P., Wick, A., Castronovo, S., Habermacher, J., Ternes, T. A., & Joss, A. (2016). Tracing the limits of organic micropollutant removal in biological wastewater treatment. *Water research*, 95, 240-249. (Fernandez-Fontaina et al., 2016)
238. do Nascimento, J. G. D. S., Silva, E. V. A., Dos Santos, A. B., da Silva, M. E. R., & Firmino, P. I. M. (2021). Microaeration improves the removal/biotransformation of

- organic micropollutants in anaerobic wastewater treatment systems. *Environmental Research*, 198, 111313.
239. Pubchem (2024. július 23.): <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
 240. Das, S, Mitra, N, Wan, J, Khan, A, Chakraborty, T, Ray, MB (2016) Micropollutants in wastewater, fate, and removal processes. In book: Farooq, R, Ahmad, Z (2016) *Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery*. InTech. DOI: 10.5772/65644
 241. Drugbank http://www.drugbank.ca/cgi-bin/show_drug.cgi?CARD=APRD00879
 242. Scheytt, T., Mersmann, P., Lindstädt, R., & Heberer, T. (2005). 1-Octanol/water partition coefficients of 5 pharmaceuticals from human medical care: carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, and propyphenazone. *Water, Air, and Soil Pollution*, 165(1-4), 3–11. doi:10.1007/s11270-005-3539-9
 243. Yalkowsky, S.H., He, Y., & Jain, P. (2010). *Handbook of Aqueous Solubility Data*. CRC Press, Taylor & Francis Group; 2nd edition, p. 1031
 244. Gao, Y., & Deshusses, M. A. (2011). Adsorption of clofibric acid and ketoprofen onto powdered activated carbon: Effect of natural organic matter. *Environmental Technology*, 32(15), 1719–1727. doi:10.1080/09593330.2011.554888
 245. Ray, C., Melin, G., Linsky, R.B. (Eds.) (2003) *Riverbank Filtration: Improving Source-Water Quality*. Springer, 3rd edition 190. oldal

MELLÉKLETEK

M1. táblázat Az anaerob fermentáció legfontosabb szerves termékeinek összefoglaló táblázata [27][28][217]

Név	Képlet	Név	Képlet
aceton	CH ₃ COCH ₃	kapronsav	CH ₃ (CH ₃) ₄ COOH
acetaldehid	CH ₃ CHO	metán	CH ₄
borostyánkősav	COOH(CH ₂) ₂ COOH	metanol	CH ₃ OH
butanol	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ OH	metil-etil-keton	C ₂ H ₅ COCH ₃
butáraldehid	C ₂ H ₅ CHO	propanol	CH ₃ CH ₂ CH ₂ OH
ecetsav	CH ₃ COOH	propionsav	CH ₃ CH ₂ COOH
etanol	CH ₃ CH ₂ OH	tejsav	CH ₃ CH(OH)COOH
formaldehid	CH ₂ O	vajsav	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH
hangyasav	HCOOH	valériánsav	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH
További fermentációs termékek: butanol, fumársav, almasav, ornitin, citrulin, piroszőlőssavak (indol-piroszőlőssav), metil-merkaptán, vajsavak (α-keto-vajsav, α- és β-metil-vajsav), glutaminsav, formamid, δ-amino-valériánsav, acetaldehid, alaninsav, glicin, indol-propionsav, indol, fenol, p-krezol, p-hidroxi-fenil-ecetsav, p-hidroxi-fenil-akrilsav, p-hidroxi-fenil-tejsavak stb.			

M2. táblázat Az iszapkezelés során képződő csurgalékvizek jellemző kémiai karaktere, összetétele [17] (NA = nem áll rendelkezésre adat; TSS = Total Suspended Solid = Összes lebegőanyag-tartalom; BOI = Biokémiai oxigénigény = biológiailag bontható szervesanyag tartalom; TKN = Total Kjeldahl Nitrogen = szerves + ammónia formájában jelen lévő nitrogénmennyiség; NH₄⁺-N = az ammónia formájában jelen lévő nitrogén mennyisége; Össz-P = az összes foszfortartalom foszfor mennyiségben megadva; PO₄³⁻-P = az összes ortofoszfát formában jelen lévő foszformennyiség) [17]

Eljárások		Paraméterek (mg dm ⁻³)					
		TSS	BOI	TKN	NH ₄ ⁺ -N	Össz-P	PO ₄ ³⁻ -P
Sűrítés	Gravitáció	80 – 900	60 – 2500	19 – 120	8 – 100	4 – 20	2 – 15
	Centrifuga	500 – 3000	170 – 3000	40 – 280	0 – 45	8 – 60	0,05 – 8
	Flotáció	100 – 2500	50 – 1200	8 – 250	0 – 45	2 – 50	0,05 – 8
	Szűrés (itt csigaprés)	400 – 500	600 – 1300	120 – 250	10 – 20	6 – 14	<1
Víztelenítés	Centrifuga	200 – 10000	100 – 3000	810 – 2100	800 – 2300	100 – 800	100 – 700
	Szalagszűrő prés	100 – 2000	50 – 500	410 – 730	400 – 650	50 – 200	50 – 180
	Kamrásprés (keretes szűrőprés)	50 – 1000	50 – 250	NA	800 – 1300	NA	100 – 350

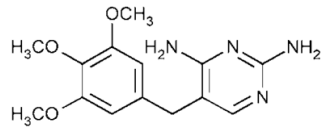
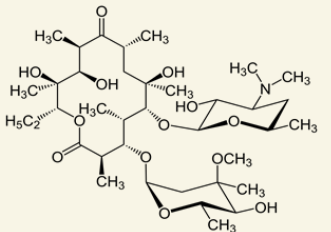
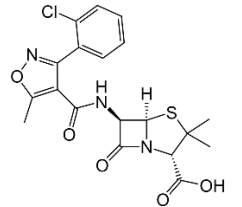
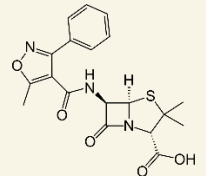
M3. táblázat A mikroszennyezők kometabolikus biotranszformációjában potenciálisan érintett enzimek (aerob heterotróf, aerob nitrifikáló, anoxikus/denitrifikáló, ciklikus aerob/anoxikus és anaerob körülmények között).

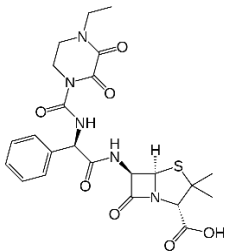
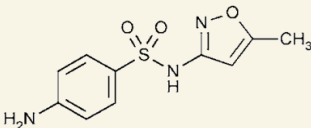
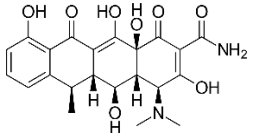
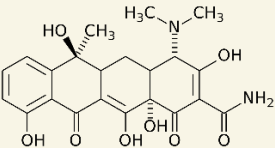
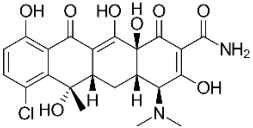
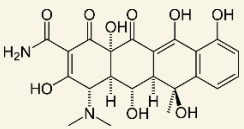
GYÓGYSZER	REAKCIÓ	ENZIM	REFERENCIA
DIKLOFENÁK (DCF)	oxidáció	oxidoreduktázok (EC 1.-)	[218]
	foszforiláció	acetát-kináz (EC 2.7.2.1)	[219]
	dekarboxiláció	dekarboxiláz (EC 4.1.1.-)	[219][220][221]
ERITROMICIN (ERY)	hidrolízis	észterázok (EC 3.1.-)	[222]
	redukció	nitrát-reduktáz, nitrit-reduktáz, dinitrogén-oxid reduktáz (EC 1.7.-)	[223]
	kladinóz hasítása	glikozilázok (EC 3.2.-)	[221][224][225]
	makrolakton gyűrű észter-hidrolízise	észterázok (EC 3.1.-) Szerin proteázok (EC 3.4.21)	
IBUPROFÉN (IBP)	hidroxiláció/ karboxiláció/ dekarboxiláció	oxidoreduktázok (EC 1.-)/ liázok (EC 4.-)/ ligázok (EC 6.-)	[226]
	oxidáció	ammónia-monooxygenáz (AMO) (EC 1.14.99.39)	[227]
	oxidáció	oxidoreduktáz (torma-peroxidáz) (EC 1.11.1.7.)	[228]
	foszforiláció	acetát-kináz (EC 2.7.2.1)	[219]
	aromás gyűrű hasítás	6-oxo-ciklohex-1-én-karbonil-CoA hidroláz (EC 3.7.1.21)	[229]
	β-oxidáció	acetyl-CoA-karboxiláz, reduktáz, dehidrogenázok, szintáz, fumarát-reduktáz	[229]
KARBAMAZEPIN (CBZ)	oxidáció / hidrolízis	oxidoreduktáz (lignin-peroxidáz) (EC 1.11.1.14) és hidroláz (β-glükozidáz) (EC 3.2.1.21)	[230]
	oxidáció	oxidoreduktáz (torma-peroxidáz) (EC 1.11.1.7.)	[228]
SZULFAME- TOXAZOL (SMX)	konjugáció	mono- és dioxigenázok (EC 1.13.- // EC 1.14.-)	[218][231]
	konjugáció	dihidropteroát-szintáz (EC 2.5.1.15)	[231]
	deamináció	deaminázok (EC 3.5.-)	[232]
	hidroxiláció / nitráció	ammónia-monooxygenáz (AMO) (EC 1.14.99.39)	[232]
	redukció	nitrát-reduktáz, nitrit-reduktáz, dinitrogén-oxid reduktáz (EC 1.7.-)	[223]
	oxidáció / hidrolízis	Oxidoreductase (lignin peroxidase) (EC 1.11.1.14) és hidroláz (beta-glucosidase) (EC 3.2.1.21)	[230]
	oxidáció	oxidoreduktáz (torma-peroxidáz) (EC 1.11.1.7.)	[228]
	N-O kötés redukciója az izoxazol gyűrűben	membránfehérjék (pl. citokrom c, ferredoxin- hidrogenáz (EC 1.12.7.2)	[221][233]
	hidroxiláció	metán-monooxygenáz (MMO) (EC 1.14.18.3)	[234]
TRIMETOPRIM (TMP)	oxidáció	mono- és dioxigenázok (EC 1.13.- // EC 1.14.-)	[235]
	hidrolízis	amino-pirimidin aminohidroláz (EC 3.5.99.-)	[218]
	demetiláció	monooxygenázok (EC 1.13.- // EC 1.14.-)	[222][236]
	redukció	nitrát-reduktáz, nitrit-reduktáz, dinitrogén-oxid reduktáz (EC 1.7.-)	[223]
	O-demetiláció	O-metiltranszferázok (EC 2.1.1.-)	[220] [221] [237]
	hidroxiláció	nem-specifikus monooxygenázok (EC 1.13.-, EC 1.14.-)	[238]

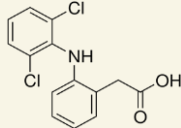
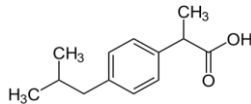
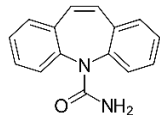
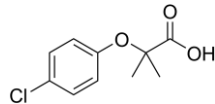
M4. táblázat A kísérletsorozatok felépítése

I. RÖVIDTÁVÚ HATÁSOK (LÉGZÉSTESZTEK)		II. HOSSZÚTÁVÚ HATÁSOK (BOI)
ELŐTESZTEK	A mérésbeállítások meghatározása (koszubsztrát mennyiség, terhelés, gyógyszer toxicitása) (7.1.1.1. fejezet)	A mérésbeállítások meghatározása (7.2.1.1. fejezet)
	Az oltóanyag kiválasztása (mikroszkópos analízis) (7.1.1.2. fejezet)	Az oltóanyag kiválasztása (7.2.1.2. fejezet)
	A hidrogén-peroxid zavaró hatásának felmérése (a γ -radiolízis során képződik) (7.1.1.3. fejezet)	A hidrogén-peroxid zavaró hatásának felmérése (a γ -radiolízis során képződik) (7.2.1.3. fejezet)
A	KOMETABOLIZMUS	A szubsztrátok kiválasztása a kometabolizmushoz (eleveniszap és biofilm) (7.1.2.1. fejezet)
	Kometabolizmus (SMX, DCF, CBZ) (7.1.2.2. fejezet)	Kometabolizmus (DCF metanollal) (7.2.2.2. fejezet)
	Mennyire elterjedt jelenség a kometabolizmus? (10-14 gyógyszer; ülepített szennyvíz és csurgalékvizek; eleveniszap és biofilm) (7.1.2.3. fejezet)	
	Mennyire hatékony a kometabolizmus? (Mini-reaktor kísérletek és HPLC vizsgálatok) (7.1.2.4. fejezet)	
	Belső szénforrások hasznosulása a kometabolizmus során (csurgalékvizek hasznosítása) (7.1.2.5. fejezet)	
B	AOPk	A gyógyszerek biológiai bonthatóságának változása rövidtávon (OXA, CLX, TCN, CTC, SMX, DCF) (6.1.3. fejezet)
		A gyógyszerek biológiai bonthatóságának változása hosszútávon (OXA, CLX, TCN, CTC) (KOI, TOC, agar-diffúziós teszt) (7.2.3. fejezet)
C	AOPk + KOMETABOLIZMUS	0,5; 1; 2; 4 kGy dózisú γ -radiolízissel kezelt gyógyszerek (koszubsztrát) rövidtávú biológiai bonthatósága szubsztrát jelenlétében (SMX, DCF) (7.1.4. fejezet)
		0,5; 1; 2; 4 kGy dózisú γ -radiolízissel kezelt gyógyszerek hosszútávú biológiai bonthatósága szubsztrát jelenlétében (DOX) (7.2.4. fejezet)

M5. táblázat A kísérletekhez használt gyógyszerek kémiai jellemzői [239, biztonsági adatlapok]

GYÓGYSZER	INN*	SZERKEZETI KÉPLET	M (g mol ⁻¹)	CAS-AZONOSÍTÓ	GYÁRTÓ	OLDHATÓSÁG (VÍZ, mg dm ⁻³)	
ANTIBIOTIKUMOK							
Trimetoprim (TMP) (Diaminopirimidinek)	trimethoprim		C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	290,3	738-70-5	Sigma-Aldrich	615 [240];100-1000
Eritromicin (ERY) (Makrolidok)	erythromycin		C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	733,9	114-07-8	Sigma-Aldrich	459 [240]; <10; 528,0 (30°C) [243]
Kloxacillin (CLX) (Penicillinek)	cloxacillin		C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₅ S	435,9	61-72-3	Sigma-Aldrich	53,2; 64,3 [241]; 50,0
Oxacillin (OXA) (Penicillinek)	oxacillin		C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	401,4	66-79-5; 7240-38-2 (Na-só); 1173-88-2 (anhydr. Na-só)	Sigma Aldrich	86,2; 13,9

GYÓGYSZER	INN*	SZERKEZETI KÉPLET	M (g mol ⁻¹)	CAS-AZONOSÍTÓ	GYÁRTÓ	OLDHATÓSÁG (VÍZ, mg dm ⁻³)
Piperacillin (PIP) (Penicillinek)	piperacillin		C ₂₃ H ₂₇ N ₅ O ₇ S	517,6	61477-96-1	Sigma-Aldrich
Szulfametoxazol (SMX) (Szulfonamidok)	sulfamethoxazole		C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253,3	723-46-6	Sigma-Aldrich 459,0 [240]; 281,0; 438,0; 372,0; 500,0 (25°C) [243]
Doxiciklin (DOX) (Tetracklinek)	doxycycline		C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈ · H ₂ O	444,4	564-25-0	Sigma-Aldrich 630,0 (25°C) [243]
Tetraciklin (TCN) (Tetracklinek)	tetracycline		C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	444,4	60-54-8	Sigma-Aldrich 440,0; 231,0; 253,0 (25°C) [243]
Klórtetraciklin (CTC) (Tetracklinek)	chlortetracycline		C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₈	478,9	57-62-5	Sigma-Aldrich 630,0 (25°C) [243]
Oxitertraciklin (OTC) (Tetracklinek)	oxytetracycline		C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉	460,4	79-57-2	Sigma-Aldrich 195,0 (20°C); 460,0; 221,0; 313,0; 230,2 (25°C) [243]

GYÓGYSZER	INN*	SZERKEZETI KÉPLET	M (g mol ⁻¹)	CAS-AZONOSÍTÓ	GYÁRTÓ	OLDHATÓSÁG (VÍZ, mg dm ⁻³)
NEMSZTEROID GYULLADÁSCSÖKKENTŐK ÉS FÁJDALOMCSILLAPÍTÓK						
Diklofenák (DCF)	diclofenac		C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	296,1	15307-86-5	Sigma-Aldrich 4,47 [240]; 2,37 [242][245]; 1,28 (30°C) [243]
Ibuprofén (IBP)	ibuprofen		C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206,3	15687-27-1	Fluka 68,4 [240]; 21,0 [242][245]; 30,1; 15,0 (20°C) [243]
ANTIEPILEPTICUM, GÖRCSOLDÓ, NYUGTATÓ, ANTIDEPRESSZÁNS						
Karbamazepin (CBZ)	carbamazepine		C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236,3	298-46-4	Sigma-Aldrich 152 [240]; 17,66 [242][245]; 110,0; 111,0 (20°C); 150,0 (25°C) [243] 16,8 (25 °C) [95]
LIPIDCSÖKKENTŐ SZEREK						
Klofibrinsav (CFA)	clofibric acid		C ₁₀ H ₁₁ ClO ₃	214,6	882-09-7	Sigma-Aldrich 583 [240][244]; 582,5 [242][245]

*Nemzetközi gyógyszer-szabadvén (International Nonproprietary Name)

***CAS-szám a vegyi anyagok (kémiai elemek, vegyületek) azonosítására használt Chemical Abstracts Service regisztrációs szám. Egy molekula izomerjei különböző regisztrációs számot kapnak.

M6. táblázat A kísérletekhez használt szubsztrátvegyületek (GS = growth substrate) kémiai jellemzői [239]

<i>SZUBSZTRÁT</i>	<i>CAS- AZONOSÍTÓ</i>	<i>GYÁRTÓ</i>	<i>KÉMIAI KÉPLET</i>	<i>M (g mol⁻¹)</i>	<i>KOI_K (mg dm⁻³)</i>	<i>ρ (g cm⁻³)</i>	<i>Oldhatóság (vízben)</i>
<i>Metanol (MeOH) 99,99%</i>	67-56-1	Molar Chemicals Kft.	CH ₃ OH	32,04	1.158.768	0,799	korlátlanul elegyedik
<i>Etanol (EtOH) 99,99%</i>	64-17-5	Molar Chemicals Kft.	C ₂ H ₆ O	46,07	1.584.180	0,790	korlátlanul elegyedik
<i>Hangyasav (C1Ac) 98- 100%</i>	64-18-6	Meck	CH ₂ O ₂	46,03	467.325	1,220	elegyedik
<i>Ecetsav (C2Ac) 100%</i>	64-19-7	VWR Chemicals BDH®	CH ₃ COOH	60,05	1.055.290	1,050	korlátlanul elegyedik
<i>Propionsav (C3Ac) ~99%</i>	79-09-4	Sigma	CH ₃ CH ₂ COOH	74,08	1.618.200	0,993	elegyedik
<i>Vajsav (C4Ac) ≥99%</i>	107-92-6	Aldrich	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	88,11	1.767.000	0,964	korlátlanul elegyedik
<i>Valeriánsav (C5Ac) ≥99%</i>	109-52-4	Aldrich	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	102,13	1.818.150	0,939	4,97 g/100 ml (25 °C)
<i>Kaprónsav (C6Ac) ≥98%</i>	142-62-1	Sigma-Aldrich	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CO OH	116,16	1.966.950	0,927	1.082 g/100 mL
<i>Tejsav (C3OHAc) 90%</i>	50-21-5	Molar Chemicals Kft.	CH ₃ CH(OH)COOH	90,08	1.069.500	1,21 (25 °C)	elegyedik
<i>Etilén-glikol (C2(OH)₂) ≥99,5%</i>	107-21-1	Merck Kft.	HOCH ₂ CH ₂ OH	62,07	1.511.456	1,110	korlátlanul elegyedik
<i>Műszennyvíz (OECD artificial peptone sewage / OECD synthetic sewage)</i>	-	-	-	-	31.396	-	elegyedik

M7. táblázat A kísérletek során alkalmazott fizikai, kémiai vizsgálatok és a melléjük rendelhető szabványos módszerek.

<i>PARAMÉTER</i>	<i>A SZABVÁNY SZÁMA</i>
<i>pH, potenciometria (mérési tartomány: 2 – 12)</i>	<i>MSZ 1484-22:2009 8.1. szakasz Inolab Multi 9310 + SenTix® 980 pH-elektród</i>
<i>Fajlagos elektromos vezetőképesség, konduktometria (alsó méréshatár: 5 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)</i>	<i>MSZ EN 27888:1998 inoLab Multi 9310 IDS + TetraCon925 elektród</i>
<i>Kémiai oxigénigény (KOI_k), térfogatós elemzés, kromatometria (alsó méréshatár: 30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)</i>	<i>MSZ ISO 6060:1991</i>
<i>TOC, elemanalizátorokkal, katalitikus égetéses technikával</i>	-
<i>Szárazanyag-tartalom; izzítási veszteség és maradék</i>	<i>MSZ 260-3:1973 2. fejezet</i>
<i>Összes lebegőanyag tartalom, tömegmérés számítás (alsó méréshatár: 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)</i>	<i>MSZ 260-3:1973 4 és 5. fejezet</i>
<i>Biokémiai oxigénigény (BOI_5) manometrikus módszer alsó méréshatár: 10 mg/L</i>	<i>MSZE 21420-9:2004</i>

M8. táblázat BOI vizsgálatok során alkalmazható mintatérfogatok összefoglaló táblázata. Feltüntettük a nitrifikálók gátlására adagolandó 5 g/L-es N-allil-tiokarbamid (ATU) oldat mennyiségét is. [207]

BOI-méréstartomány (mg/L)	Mintatérfogot (mL)	Adagolt ATU ($\mu\text{L}/\text{üveg}$)
0 – 40	432	450
0 – 80	365	350
0 – 200	250	250
0 – 400	164	150
0 – 800	97	100
0 – 2000	43,5	50
0 – 4000	22,7	50

M9. táblázat Az ökoszisztémát károsan még nem befolyásoló előrejelezhető (Predicted No Effect Concentration, PNEC) szubsztrát koncentrációk összefoglaló táblázata. Az értékek szennyvízre (Sewage Treatment Plant, STP) vonatkoznak. [214]

VEGYÜLET	PNEC_{STP} (mg dm^{-3})	VEGYÜLET	PNEC_{STP} (mg dm^{-3})
Metanol	100	Vajsav	51
Etanol	580	Valeriánsav	-
Hangyasav	7,2	Kaprónsav	-
Ecetsav	85	Tejsav	10
Propionsav	5	Etilén-glikol	199,5