

Progresívne metódy odstraňovania mikropolutantov z odpadových vôd

Abstrakt

V tejto práci sme sa zaoberali metódami, ktorými by sme mohli byť schopní odstrániť mikropolutanty, ako napríklad drogy a liečivá, z odpadových vôd. Jednou zo skúmaných metód bola schopnosť vodných rastlín odstraňovať xenobiotiká zo životného prostredia pomocou koreňovej sústavy. Pomocou laboratórnych testov sme sa snažili potvrdiť, že naše zvolené vodné rastliny sú schopné absorbovať kontrastné médium (iohexol) z vody. Taktiež sme sledovali vplyv vybraných rastlín na koncentráciu mikropolutantov v reálnej odpadovej vode z odtoku čistiarne odpadových vôd. Druhou metódou bolo použitie bórom dopovaných diamantových elektród, schopných generovať vysoko reaktívny hydroxylový radikál. Sledovali sme vplyv elektródy na koncentráciu kontrastného média (iohexol) v čistej vode ale aj v odpadovej vode.

Dokázali sme, že vodné rastliny sú schopné absorbovať kontrastnú látku za vzniku rôznych metabolitov detegovaných v listoch aj koreňoch. Experimenty na odpadovej vode môžeme považovať za úspešné. Značné zníženie koncentrácie mikropolutantov nastalo už po 46 hodinách od začatia experimentu.

Bórom dopované diamantové elektródy boli schopné kontrastnú látku čiastočne zdegradovať avšak najvyššia dosiahnutá účinnosť bola 57 %. Čo sa týka poklesu koncentrácie mikropolutantov v odpadovej vode, môžeme potvrdiť schopnosť elektródy pracovať rýchlo a efektívne hlavne pri látke *venlafaxin* a *oxazepam*.

Teoretická časť

Typy drog a liečiv

Medzi najznámejšie mikropolutanty vyskytujúce sa v odpadových vodách sú drogy a liečivá. Po konzumácii drogy či liečiva, sa zvyšok vylúči z tela v podobe moču a exkrementov ako zmes pôvodnej látky a jej metabolitov. Okrem pôvodných zlúčenín a metabolitov sa v prostredí častokrát nachádzajú aj degradačné produkty týchto látok, ktorých vplyv na životné prostredie mnoho krát nie je známy. Niektoré metabolity a degradačné produkty dokonca môžu vplývať na životné prostredie negatívnejšie ako pôvodná látka. Môžu vznikáť dvomi spôsobmi a to z in vivo reakcií ako redukcia, biochemická oxidácia či hydrolýza. Druhým spôsobom vzniku metabolitov je biochemickou reakciou pri ktorej dochádza k adícii na pôvodnú látku. Vo vode sa veľa z nich rozpadne na pôvodnú látku a sú detegované aj v povrchových vodách [1].

Patria sem:

- Antibiotiká
- Regulátory lipidov
- Analgetiká
- Antidepresíva
- Beta blokátori
- Statíny
- Antidiabetiká
- Anestetiká
- Antivirotiká
- Lieky proti rakovine
- Kontrastné látky
- Stimulanty
- Estrogény
- PCPs
- Ilegálne drogy
- a mnoho iných

Zdroje drog a liečiv

Najčastejším zdrojom mikropolutantov v komunálnych odpadových vodách sú ľudia. Jedná sa najmä o konzumentov liečiv ale aj o užívateľov ilegálnych drog. Vysoké koncentrácie mikropolutantov pribúdajú hlavne z nemocničných či zdravotníckych zariadení, kde sa liečivá konzumujú vo väčšom množstve. Toxicita odpadovej vody z nemocnice môže byť až 15-krát vyššia ako v komunálnej odpadovej vode [2]. V období festivalov a koncertov sledujeme nárazové zvýšenie koncentrácie tanečných drog. Zvýšená koncentrácia antibiotík v odpadových vodách je hlavne počas chrípkových epidémií. K znečisteniu prispievajú v značnej miere aj domovy dôchodcov, kde sa užívajú rôzne typy liečiv aj 3-krát denne [1].

Dôsledky znečistenia mikropolutantami

- **Rezistencia baktérií:** Prítomnosť viacerých antibiotík v odpadovej vode môže vyvolať vznik multi-rezistentných baktérií. Túto novonadobudnutú schopnosť si potom baktérie medzi sebou vymieňajú a stávajú sa pre nás nebezpečnejšími. Pacient musí užiť viacero rôznych typov antibiotík a to práve z toho dôvodu, že baktéria už interagovala s danou látkou a vybudovala si voči nej imunitu. Napríklad rod *Aeromonas*, ktorý žil vo vodnom prostredí, kde sa chovali ryby a elektrické úhory vykazoval zvýšenú rezistenciu voči viacerým antibiotikám a ťažkým kovom [3].
- **Toxicita:** Pod pojmom toxicita rozumieme potenciál látky otráviť organizmus. V našom prípade sa jedná o vodné organizmy. Testy sa robia najmä na baktériách (*Vibrio fischeri*), dafniách, rybách aj riasách. Toto je ale len prvý indikačný stupeň toxicity, nedostávame informácie o genotoxicite, neurotoxicite a podobne. U ilegálnych drog je zdrojom toxicity ich chiralita. Kokaín má cyto-genotoxický efekt a poškodzuje primárnu DNA. Diklofenak má tiež toxické účinky a to hlavne na pečeň, obličky, žiabre a vajíčka rýb. Niektoré rybky sa rodia bez schopnosti plávať nahor a sú odsúdené na smrť. Táto látka tiež pôsobí toxicky na mušle, tie strácajú schopnosť prichytiť sa na povrch [1].
- **Estrogénna aktivita:** cudzorodé látky vykazujúce estrogénnu aktivitu, nazývané tiež endokrinné disruptory, sú schopné narúšať prirodzenú funkciu hormónov v tele. Existuje niekoľko rôznych mechanizmov účinku. Niektoré xenoestrogény pôsobia na hormonálne receptory chemicky tak, že ich aktivujú, iné ich inaktivujú a ďalšie narúšajú metabolizmus hormónov. Zo skupiny antropogénnych chemikálií vykazujú endokrinný účinok mnohé pesticídy, ako napríklad eldrin, lindan, dieldrin a DDT (dichlorodifenyltrichloroetán), taktiež kontaminanty z chemického priemyslu ako polychlórované dioxíny (PCDD) a látky im podobné [1].
- **Mutácie:** Lieky proti rakovine sú známe tým, že sú schopné vyvolať rôzne mutácie. Dokonca aj samotný kokaín je schopný vyvolať mutagénne zmeny v organizme. Ryby z rodu *Danio rerio* trpeli defektom génov, ktoré ovplyvňujú dopaminergické signalizovanie na očnej sietnici a mozgu [4].

Metódy degradácie mikropolutantov

Dodnes sa nevynašla technológia, ktorá by vyriešila všeobecne problém so znečistením odpadových vôd. Každá odpadová voda tečúca do riek má iné zloženie a obsahuje koncentrácie rôznych látok. Práve toto je dôvod prečo sa vedci snažia vynájsť nové a efektívnejšie metódy čistenia. Najviac skúmané sú metódy založené na chemickej reakcii a biodegradácii pomocou rôznych rastlín, siníc či baktérií.

- **Bórom dopované diamantové elektródy:** BDD elektródy pozostávajú z termicky stabilného nosiča – kvôli dostupnosti je často využívaný kremík - väčšinou v tvare pliešku, na ktorom je niekoľko nanometrov hrubá vrstva bórom dopovaného diamantu. Dopovanie diamantu bórom zabezpečuje vodivosť materiálu zmenšovaním valenčných vodivostných pásov, čím sa dokonalý izolant mení na vodič. BDD elektródy sú po takejto úprave schopné na svojom povrchu rozkladať molekuly vody na radikály, peroxid vodíka a ozón [5,6]. Vznikajúce reaktívne produkty sú schopné rozkladať takmer všetky organické molekuly až na konečné produkty – oxid uhličitý a vodu. Vznikajúce reaktívne častice sú navyše schopné narúšať cytoplazmatickú membránu baktérii a tým nielen eliminujú baktérie žijúce vo vodnom prostredí, ale aj zabraňujú vzniku a šíreniu rôznych druhov rezistencie na antimikrobiálne prípravky.
- **Železany:** Železo sa nachádza voľne v prírode väčšinou v oxidačnom čísle +3, no v prípade železanov má oxidačné číslo až +6. V kyslom prostredí sa ich oxidačný potenciál zvyšuje, čiže oxidujú nežiadúce látky rýchlejšie. Vysoký oxidačný potenciál má však aj negatíva: železany sú nestabilné a veľmi zle sa skladujú. Jednou z metód skladovania sú vzduchotesné kapsule, ktoré keď sa dostanú do kontaktu s vodou sa rozpustia a železany môžu vykonať svoju prácu [7].
- **Fentonova reakcia:** Niektoré kovy sú schopné generovať hydroxylové radikály. Katalýza peroxidu vodíka železom je jeden z príkladov. Táto reakcia sa nazýva Fentonova reakcia. Reakcia prebieha najlepšie pri pH 3 až 5. Ak je pH vyššie dochádza k uvoľneniu kyslíka a tvorbe oxidu železitého. Fentonovou reakciou sa najčastejšie odstraňujú fenoly, formaldehydy a pesticídy [8].
- **Ozonizácia:** Ozón sa vyskytuje najčastejšie v plynnom skupenstve. Degradáciou získavame molekulu kyslíka a kyslíková radikál. Oproti chlóru sa vo vode rozpúšťa slabšie a je potrebné pridať rôzne prímеси na zvýšenie rozpustnosti. Táto metóda je finančne náročná a taktiež je potrebné mať dobre zaškolený personál [9].
- **Biodegradácia:** Vodné rastliny sú schopné nasávať rôzne látky z vody pomocou koreňového systému, ktorý je v nej ponorený. Na ich rozhraní dochádza k difúzií a dochádza k prieniku mikropolutantov do koreňa odkiaľ sú distribuované do celého tela rastliny. Rastlinám však často chýba katabolická dráha na úplný rozklad xenobiotík a teda dochádza k akumulácií v častiach tela rastliny [10]. Čo sa týka rias, tie sú schopné rásť na niektorých látkach obsahujúcich organický uhlík. Pri riasách je veľmi podstatná prítomnosť kyslíka a svetla. Často sa používajú na odstránenie azofarbív, fenolov či konkrétnych liečiv. Na zvýšenie efektivity sa používa aj viac druhov rias naraz [11].

Experimentálna časť

Ciele práce

Naším cieľom bolo poukázať na potrebu odstraňovania mikropolutantov zo životného prostredia, konkrétne z vodného ekosystému. Popísať ich účinky na faunu a flóru, ktorá je im vystavená v značnej miere. Tiež sme chceli priblížiť metodiku využívanú na degradáciu a odstránenie mikropolutantov z odpadových vôd.

Hlavným cieľom bolo dokázať, že bórom dopované diamantové elektródy a rastliny *Iris pseudacorus*, *Pistia stratiotes* a *Hygrophila siamensis* sú schopné odstraňovať kontrastné médium z vody za laboratórnych podmienok. Ďalším cieľom bolo zistiť vplyv elektród a vodných rastlín *Iris pseudacorus*, *Egeria najas* a *Cabomba caroliniana* na koncentráciu liečiv vo vode na odtoku z ČOV.

Materiály a metódy

- **Analýza vzoriek metódou HPLC**

Chemická analýza vzorky sa vykonávala na prístroji HPLC s PDA detektorom (YoungLin 9100). Mobilná fáza použitá na analýzu bola metanol : voda , pričom pomer týchto dvoch fáz sa postupne v priebehu analýzy menil z počiatočného pomeru 10:90 až na 90:10 v 16. minúte na konci analýzy. Teplota vzorky bola 25 °C. Použitá kolóna: GraceSmart,RP-18, dĺžka 150 mm, ID 4.6 mm, prietok mobilnej fázy: 1 ml/min, vlnová dĺžka PDA detektora bola 222, 210, 200, 235 nm.

- V našej práci bol následne realizovaný aj monitoring reálnej odpadovej vody Teplota pritekajúcej vody sa pohybuje v rozsahu 12 až 15 °C a analýza na viaceré mikropolutanty bola získaná z bodovej vzorky a z 24 hodinovej zlievanej vzorky. Získané vzorky boli zamrazené pri teplote -4°C a následne prevezené do laboratória na rozbor. Analýzy vzoriek boli realizované za pomoci systému LC MS/MS. Použitý postup popisuje podrobne štúdia Fedorová a kolektív [12].

- **Omnipaque®**

Pri degradačných experimentoch sa použila komerčná kontrastná látka Omnipaque 300. V medicíne sa používa ako RTG-kontrastná látka, na vizualizáciu ciev a mäkkých tkanív. Účinnou látkou tohto prípravku je iohexol, IUPAC: N,N'- Bis (2,3-dihydroxypropyl) -5- [N-(2,3-dihydroxypropyl)-acetamido] -2,4,6- triiodoizo-ftalamid.

Laboratórne testy na kontrastnej látke Omnipaque®

Najskôr sa pripravil roztok iohexolu. Jeden mililiter liečiva Omnipaque® sa doplnil na objem jeden liter pitnou vodou z vodovodu. 1 ml injekčného roztoku obsahuje: **647 mg iohexolu** a pomocné látky. Následne sa zmeral retenčný čas iohexolu a plocha píku pre známu koncentráciu (647 mg/L) metódou HPLC.

Degradácia pomocou vodných rastlín prebiehala v troch sklenených nádobach, pričom v každej bol zásobný roztok. Do nádob sme následne vložili očistené rastliny. Po 12-tich dňoch sme prešli k extrakcii iohexolu z rastlín. Extrahovali sme korene aj listy. Na extrakciu sme použili metanol, ktorý je schopný dobre naviazať organické látky. Získaný extrakt sa následne prefiltraval a testoval na HPLC. Porovnaním plochy píkov sme získali informácie o koncentrácií iohexolu v danej časti tela rastliny.

Na degradáciu pomocou BDD elektród sa použil najskôr rovnaký roztok. V ďalšom kroku sa pripravili nové roztoky, ktoré obsahovali rovnaké množstvo kontrastnej látky avšak v prvom bol pridaný chlorid sodný, v druhom síran sodný a v treťom bola ako médium použitá odpadová voda. Samotná degradácia prebiehala v odmernom valci (200 ml roztoku), za stáleho miešania, pričom BDD elektróda bola zapojená ako katóda aj ako anóda. Na elektródy sa vkladalo napätie 10 až 30 V.

Testy na odpadovej vode z ČOV

Zlievanie vzorky trvalo od siedmej rána do siedmej rána nasledujúceho dňa. Pre rastliny *Cabomba caroliniana* a *Egeria najas* sme použili reaktor o objeme 5 litrov do ktorého sme naliali 1 liter odpadovej vody. Experimenty prebiehajú paralelne 72 hodín. Pre rastlinu *Iris pseudacorus* sme použili desať litrový reaktor do ktorého sme naliali 5 litrov odpadovej vody. Zloženie odpadovej vody sa analyzovalo po 48 a 96 hodinách. Zloženie odpadovej vody sme merali na LC-MS/MS.

Na degradáciu pomocou BDD elektród sa použila bodová vzorka z odtoku psychiatrickej liečebne na severe Slovenska. Odobraná reálna vzorka z odtoku psychiatrickej liečebne bola analyzovaná pomocou LC MS/MS. Na degradáciu nájdených mikropolutantov sa použilo 200 ml roztoku a napätie 30 V. V prvom kroku sa použilo usporiadanie ako v predchádzajúcich experimentoch, teda BDD elektróda bola použitá ako katóda aj anóda. V druhom experimente sa ako anóda použila taktiež BDD elektróda a ako katóda sa použila uhlíková elektróda. Doba experimentu bola v oboch prípadoch 60 minút.

Výsledky a diskusia

- degradácia roztokov iohexolu

Tabuľka 1: porovnanie plochy píkov degradačného produktu v koreňoch rastlín

Koreň	Plocha píku / mV.s
<i>Hygrophila siamensis</i>	17300
<i>Pistia stratiotes</i>	446
<i>Iris pseudacorus</i>	1287

Tabuľka 2: roztok iohexolu vo vode

trvanie exp. [min]	napätie [V]	koncentrácia [mg.l ⁻¹]	účinnosť [%]
-	-	647	-
60	10	561,07	13,28
30	20	573,73	11,32
60	20	608,81	5,90
30	30	541,57	16,30
60	30	580,46	10,28

Tabuľka 3: roztok iohexolu vo vode + 0,1g NaCl

trvanie exp. [min]	napätie [V]	koncentrácia [mg.l ⁻¹]	účinnosť [%]
-	-	647	-
30	30	833,97	-
60	30	1148,17	-

Tabuľka 4: roztok iohexolu vo vode + 0,1g Na₂SO₄

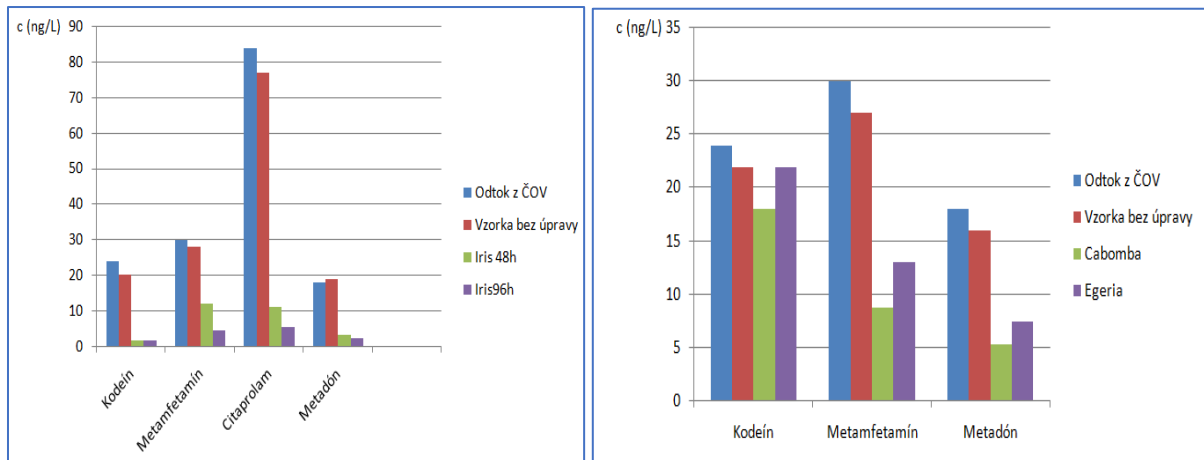
trvanie exp. [min]	napätie [V]	koncentrácia [mg.l ⁻¹]	účinnosť [%]
-	-	647	-
30	20	584,69	9,63
60	20	525,29	18,81

Tabuľka 5: roztok iohexolu v odpadovej vode

trvanie exp. [min]	napätie [V]	koncentrácia [mg.l ⁻¹]	účinnosť [%]
-	-	647	-
30	10	488,80	24,45
60	10	361,67	44,10
30	20	385,78	40,37
60	20	280,12	56,70

- Analýza reálnej vzorky

Graf 1 a 2: zníženie koncentrácie polutantov vplyvom vodných rastlín



Tabuľka 6: analýza reálnej vzorky

Mikropolutant	Pôvodná koncentrácia [ng/L]	BDD+BDD 60 min. [ng/L]	Účinnosť [%]	BDD+C 60 min. [ng/L]	Účinnosť [%]
2-oxy-3-OH-LSD	< 6,3	< 4,2	-	< 4,2	-
Benzoylcognón	< 7,2	< 5,0	-	< 5,9	-
Kofeín	42400	28000	34,0	31000	26,9
Katinón	< 8,1	< 3,8	-	< 4,6	-
Kokaín	< 8,4	< 4,5	-	< 5,7	-
Kodeín	< 16	< 5,9	-	< 7,1	-
Kotinín	248	164	33,9	191	23,0
Ketamín	< 5,0	< 4,5	-	< 5,0	-
MDA	< 11	< 6,1	-	< 6,7	-
MDEA	< 8,1	< 5,0	-	< 5,9	-
MDMA	< 13	< 8,5	-	< 9,5	-
Meklozín	< 8,7	< 3,1	-	18	-
Metadód	< 3,0	< 3,4	-	< 4,2	-
Metamfetamín	< 10	< 6,8	-	< 6,7	-
Norketamín	< 8,3	< 5,6	-	< 6,2	-
Oxazepam	1180	905	23,3	301	74,5
Oxykodon	< 12	< 6,6	-	< 7,1	-
Risperidon	< 13	< 7,5	-	< 9,3	-
THC –COOH	< 2,0	< 1,0	-	< 1,1	-
Tramadol	< 7,9	11	-	11	-
Venlafaxin	1030	509	50,5	126	87,8

Na laboratórnych testoch s kontrastnou látkou sme dokázali, že vybrané vodné rastliny sú schopné absorbovať mikropolutanty do svojho tela pomocou koreňovej sústavy. Iohexol však v žiadnej rastline nebol detegovaný, zato jeho metabolity a degradačné produkty áno. Spoločný metabolit bol nájdený v koreňoch rastlín. V koreni rastliny *Hygrophila siamensis* bolo až 13-krát viac tejto látky ako v koreni *Iris pseudacorus* a 40-krát viac ako v koreni *Pistia stratiotes* (viď. Tabuľka 1). V listoch sme však našli iný metabolit, ktorý bol tiež spoločný pre viaceré rastliny. V tomto prípade bolo metabolitu 4-krát viac v rastline *Iris pseudacorus* oproti *Pistia stratiotes*. Z dosiahnutých výsledkov môžeme tvrdiť, že dochádza k bioakumulácii metabolitov degradačných produktov kontrastnej látky a teda sú vhodné na odstraňovanie tejto látky z vodného ekosystému.

Testy na odpadovej vode z ČOV môžeme považovať tiež za úspešné. *Iris pseudacorus* si poradil so všetkými testovanými liečivami: citalopram, metamfetamín, kodeín, metadón, venlafaxín a tramadol (viď. Graf 1). Úspešnosť degradácie po 96 hodinách testovania bola minimálne 70%, čo je veľmi dobrý výsledok. Za zmienku stojí aj *Cabomba caroliniana*, ktorá odstránila 71% metamfetamínu. Sklamaním bola *Egeria najas*, ktorá nebola schopná odstrániť žiadne liečivo s účinnosťou nad 60% (viď. Graf 2).

Degradácia iohexolu vo vode pomocou BDD elektród bola veľmi málo účinná (viď. Tabuľka 2), koncentrácia poklesla v priemere o 10% len s malými rozdielmi v závislosti od napätia. Dôvodom zrejme bola veľmi nízka vodivosť roztoku.

V roztoku s NaCl došlo ku zdanlivému nárastu koncentrácie iohexolu. Po analýze výsledkov sa meranie zopakovalo pre 30 V s rovnakým výsledkom (viď. Tabuľka 3). Dôvodom tejto anomálie mohlo byť viacero, mohlo dôjsť ku zníženiu rozpustnosti iohexolu v dôsledku pridania NaCl a počas elektrolýzy sa mohla rozpustnosť zvyšovať. Taktiež mohlo dôjsť ku vytvoreniu komplexu, ktorý sa v dôsledku degradácie rozpadal a uvoľňovala sa pôvodná zlúčenina. Toto vysvetlenie však nie je natoľko pravdepodobné vzhľadom k nízkej reaktivite iohexolu aj iných kontrastných látok. Stanovenie koncentrácie mohlo byť taktiež rušené prítomným jódom v soli. V druhom pokuse o zvýšenie iónovej sily roztoku sa teda použil síran sodný. Po hodine experimentu pri 20 V bola dosiahnutá účinnosť takmer 20% (viď. Tabuľka 4). Táto účinnosť ešte nie je postačujúca, ale podarilo sa nám aspoň čiastočne preukázať, že po zvýšení vodivosti roztoku neostáva iohexol indiferentný voči degradácii. Tento fakt bol preukázaný aj pri degradácii roztoku iohexolu v odpadovej vode. Vodivosť tohto roztoku bola rádovo vyššia a tvrdenie podporujú aj účinnosti. Napríklad už pri 20 V bola po hodine dosiahnutá účinnosť 57% (viď. Tabuľka 5).

Podarilo sa nám teda preukázať, že BDD elektródy môžu byť použité na degradáciu aj tak perzistentných polutantov ako sú kontrastné látky. Problémom však naďalej ostávajú degradačné produkty, ktoré neboli identifikované a ako naznačujú zdroje mohlo ísť len o transformáciu bočných reťazcov.

Pri analýze reálnej vzorky bolo identifikovaných množstvo liečiv ale aj kofeín, dokonca metabolit THC-COOH (viď. Tabuľka 6). Pri použití BDD elektród ako katódy aj anódy bola degradácia najúčinnnejšia pre venlafaxín (nad 50%). Pri použití uhlíkovej elektródy ako katódy bola dosiahnutá najvyššia účinnosť taktiež pre venlafaxín (88%).

Záver

Vedcov aj širokú verejnosť dnes trápí výskyt mikropolutantov vo vode. Preto sa vedci snažia nájsť efektívne a lacné riešenie tohto celosvetového problému. My sme sa zaoberali práve touto problematikou. Robili sme testy na kontrastnej látke aj na často sa vyskytujúcich liečivách v našich vodách. Skúšali sme vodné rastliny aj bórom dopované diamantové elektródy. Vodná rastlina *Iris pseudacorus* dosiahla výborné výsledky v oboch prípadoch. Výhodou vodných rastlín je to, že nepotrebujeme dodávať žiadnu energiu do siete a taktiež nie sú žiadne potrebné náklady na ich prevádzku. Problémom je však potrebná dlhá doba pôsobenia rastliny na mikropolutanty. Tento problém však môžu vyriešiť bórom dopované diamantové elektródy, ktoré sú schopné za krátky čas zdegradovať veľké množstvá polutantov. Veríme, že kombináciou týchto dvoch metód by sa dala odstrániť z vodného ekosystému drvivá väčšina mikropolutantov tak, aby bol opäť obývateľný pre organizmy bez fatalných následkov na ich zdraví.

Podakovanie

Radi by sme poďakovali Doc. Ing. Tomášovi Mackuľakovi PhD. za odborné vedenie a cenné rady.

Použitá literatura:

1. EVGENIDOU E. – KONSTANTINOOU L. – LAMBROPOLOU L. Occurance and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review. In *Science of the Total Environment* 2015, vol. 505, 905-926 s.
2. EMMANUEL, E. a i.. Groundwater contamination by microbiological and chemical substances released from hospital wastewater: Health risk assessment for drinking water consumers. *Environment International* 2009, vol. 35,718–726 s.
3. MIRANDA, C. – CASTILLO G. a i. Resistance to antibiotic and heavy metals of motile aeromonads from Chilean freshwater in *Science of the Total Environment* 1998, vol. 224(1-3): 167-76 s
4. DARLAND, T. – DOWLING, JE. a i. Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenized zebrafish. *PNAS* 2001, vol. 98, 11691-6 s.
5. MACKUĽAK T. – MOSNÝ M. – GRABIC R. a i. Fenton-like reacton: A possible way to efficiently remove illicit drugs and pharmaceuticals from wastewater. In *Environmental Toxicology and pharmacology* 2015, vol. 36, 483-486 s.
6. YUNLONG L. – WENSHAN G. – HUU HAO N. a i. A review on the occurrence of micropolutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment In *Science of the Total Environment* 2014, vol. 473-474, 619-641
7. http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2015_09_714-717.pdf
8. WANG, S. A comparative study of Fenton and Fenton-like reaction kinetics in decolourisation of wastewater in *Dyes and Pigments* 2008, vol. 76, 714-720 s.
9. <https://www3.epa.gov/npdes/pubs/ozon.pdf>
10. MACKUĽAK, T. – MOSNÝ, CH. a i. Fate of psychoactive compounds in wastewater treatment plant and the possibility of their degradation using aquatic plants in *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2015, vol. 39, 969-973 s.
11. CHAN, S. – LUAN, T. Removal ad biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Selenastrum capricornutum* in *Environmental Toxicology and Chemistry* 2006, vol. 25, 1772-1779 s.
12. FEDOROVA G. a i. Comparison of the quantitative performance of a Q-Exactive high resolution mass spectrometer with that of a triple quadrupole tandem mass spectrometer for the analysis of illicit drugs in wastewater. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2013, vol. 27, 1751–1762 s.