



# POZOSTAŁOŚCI SUBSTANCJI FARMAKOLOGICZNIE CZYNNYCH JAKO ZANIECZYSZCZENIE ŚRODOWISKA I ROLA GRZYBÓW BIAŁEJ ZGNILIZNY W ICH USUWANIU

Bartosz Kózka<sup>1\*</sup>, Karolina Bębas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Bioanalizy i Analizy Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

\*autor korespondujący, e-mail: [bkozka@wum.edu.pl](mailto:bkozka@wum.edu.pl)

Otrzymany 13.09.2021, zaakceptowany 10.11.2021, zamieszczony 05.12.2021

## STRESZCZENIE

Obecność substancji czynnych leków w środowisku stanowi poważny problem dotyczący całego świata. Wśród związków o zastosowaniu terapeutycznym zanieczyszczających otoczenie można znaleźć przedstawicieli różnych grup substancji farmakologicznych, a w szczególności: niesteroidowych leków przeciwzapalnych, antybiotyków i innych związków biobójczych, steroidów oraz związków stosowanych w terapii schorzeń ośrodkowego układu nerwowego lub układu krwionośnego. Zanieczyszczenie takimi substancjami wynika z nieprzystosowania konwencjonalnych oczyszczalni ścieków do ich usuwania. Związki te wraz z oczyszczonymi ściekami trafiają do środowiska, gdzie stanowią zagrożenie dla organizmów (w tym człowieka), zaburzając jednocześnie ekosystemy. Z tego powodu poszukiwane są nowe metody usuwania substancji czynnych leków ze ścieków komunalnych. Jednym z nich jest zastosowanie nietaksonomicznej grupy grzybów białej zgnilizny, których zdolności do rozkładu różnych związków zostały potwierdzone w licznych badaniach.

Niniejsza praca stanowi przegląd przyczyn obecności substancji czynnych leków w środowisku, związków obecnych w ściekach, ich toksycznego wpływu na organizmy, regulacji prawnych dotyczących obecności związków farmakologicznych w środowisku oraz zdolności grzybów białej zgnilizny do rozkładu substancji o znaczeniu terapeutycznym.

**SŁOWA KLUCZOWE:** substancje czynne leków, zanieczyszczenie środowiska, grzyby białej zgnilizny.

## ABSTRACT

RESIDUES OF ACTIVE PHARMACEUTICAL COMPOUNDS AS ENVIRONMENT CONTAMINATION AND ROLE OF WHITE ROT FUNGI IN THEIR REMOVAL

The presence of active pharmaceutical ingredients (API) in the environment is a serious global problem. Among the API contaminating the environment representatives of various therapeutic groups can be found, including: nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antibiotics and other biocidal compounds, steroids, compounds for therapy of central nervous system or circulatory system. That is caused by inefficient decontamination of wastewater in the wastewater treatment plants. As a result, residues of API drift into the environment, what is toxic for various organisms (including human) and disrupts the ecosystem balance. This is the reason of researching for new wastewater decontamination methods. One of them is the application of non-taxonomical group of white-rot fungi able to degrade various chemical compounds, what is confirmed by numerous experiments.

This paper constitutes a review focusing on: the sources of API in the environment, presence of API in the municipal wastewater, their toxic effect on organisms, law regulations on the presence of API in the environment, abilities of white-rot fungi to degrade API.

**KEYWORDS:** active pharmaceutical ingredients, environment contamination, white-rot fungi.

## 1. Wprowadzenie

Rosnąca populacja świata i inwestycje w sektorze opieki zdrowotnej, postępy w badaniach naukowych, dostępność na rynku globalnym, a także starzejące się społeczeństwa przyczyniają się do znacznego wzrostu popytu na leki w ciągu ostatnich dziesięcioleci [1]. Ocenia się, że obecnie na całym świecie, zarówno w medycynie, jak i w weterynarii, stosuje się ok. 4000 produktów farmaceutycznych. Jest z tym związana ogromna skala produkcji substancji farmakologicznie czynnych (ang. *active pharmaceutical ingredients*, API), która rocznie przekracza 100 000 ton [2]. Ważne jest, że jest ona zwiększana przez nowo opracowane i wyprodukowane związki o zastosowaniu

terapeutycznym. Prosty przykładem mogą być dane dla 2015 r., według których w samych Stanach Zjednoczonych opracowano 43 nowe substancje biologicznie aktywne [3]. Szybki rozwój przemysłu farmaceutycznego implikuje jednak wzrost zanieczyszczenia środowiska związkami o zastosowaniu terapeutycznym. Już w latach 90. XX wieku odkryto, że niektóre substancje farmakologicznie aktywne mają zdolność ingerowania w ekosystemy już w bardzo niskich stężeniach - rzędu kilku ng·l<sup>-1</sup> [4]. Chociaż stężenie wielu zanieczyszczeń w wodzie pitnej jest ograniczone na mocy obowiązujących przepisów, monitorowanie i regulowanie obecności związków farmakologicznie czynnych nie jest jeszcze powszechne, nawet jeśli związki

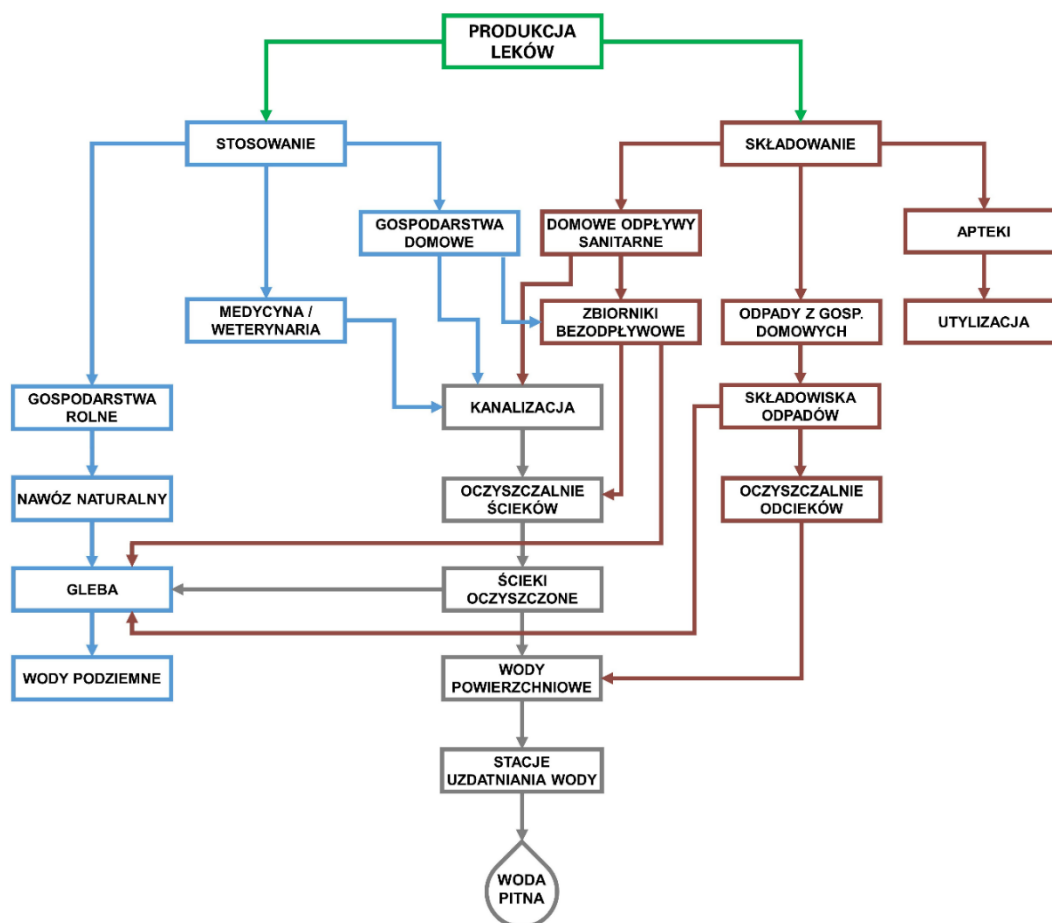
te mają potencjalnie niekorzystny wpływ na zdrowie ludzi i stan ekosystemów [5].

Z powodu powszechnego zanieczyszczenia środowiska substancjami o zastosowaniu farmakologicznym poszukiwane są wydajne i bezpieczne metody jego oczyszczania. W trakcie weryfikacji użyteczności wielu metod w procesie oczyszczania ścieków, zwrócono uwagę na możliwość wykorzystania nietaksonomicznej grupy grzybów - grzybów białej zgnilizny (ang. *white-rot fungi*, WRF). Posiadają one wiele zalet w aspekcie ich zastosowania, do których zalicza się przede wszystkim zdolność przekształcania i mineralizowania szerokiej gamy zanieczyszczeń, możliwa dzięki wytwarzaniu enzymów ligninolitycznych o niskiej specyficzności substratowej [6].

## 2. Drogi przedostawania się substancji farmakologicznie czynnych do środowiska

Dotychczasowe badania pokazały, że związki farmakologiczne czynne zostały wykryte w wielu obszarach otaczającego środowiska, do których należą: ścieki, wody powierzchniowe (jeziora, rzeki), wody gruntowe, wody morskie, woda pitna, gleba i nawozy stosowane do jej użyzniania, osady, organizmy wodne i lądowe [7]. Tak powszechne występowanie związków czynnych w środowisku jest spowodowane licznymi drogami ich przedostawania się. Istotnym źródłem substancji o zastosowaniu farmakologicznym są gospodarstwa domowe. Wynika to z faktu, że większość API pochodzących

z przyjmowanych leków nie jest całkowicie metabolizowana w organizmach pacjentów i w rezultacie wydalone są w postaci niezmienionej. Problemem są także leki przeterminowane, które bywają nieprawidłowo utylizowane lub nie są utylizowane wcale - często są wyrzucane do odpływów sanitarnych obecnych w domu (umywalka, zlew, WC), skąd dostają się do ścieków komunalnych i dalej do oczyszczalni. Przeterminowane leki w dużej mierze trafiają również na wysypiska śmieci, skąd odcieki także mogą zanieczyszczać środowisko substancjami aktywnymi biologicznie. Istotnym źródłem API w środowisku są również ścieki z farmaceutycznych zakładów produkcyjnych, szpitali oraz gospodarstw rolnych [8]. Podobnie jak w przypadku ludzi, także zwierzęta hodowlane przyjmujące leki mogą wydalać farmaceutyki w formie niezmienionej wprost do środowiska (np. do gleby, rzeki). Dodatkowo odchody takich zwierząt mogą posłużyć do produkcji nawozu naturalnego (obornika), a to powoduje zanieczyszczenie gleb i wód podziemnych [8]. Jako przyczynę obecności pozostałości leków w środowisku należy także wskazać ścieki z oczyszczalni pracujących w układach konwencjonalnych, a konkretnie brak ich przystosowania do usuwania związków farmakologicznie czynnych [9]. Obrazuje to przykładowo analiza odpływów dwóch miejskich oczyszczalni ścieków w USA, gdzie średnia skuteczność usuwania leków przeciwdepresyjnych wahała się od 0,3 do 87% w zależności od substancji aktywnej [10]. Opisane powyżej źródła i losy substancji farmakologicznie czynnych w środowisku zaprezentowano na ryc. 1.



Ryc. 1. Drogi przedostawania się substancji farmakologicznie czynnych do środowiska [9].

### 3. Obecność substancji farmakologicznie czynnych w środowisku

#### 3.1. Uwagi ogólne

Dotychczas w środowisku wykryto wiele związków farmakologicznie czynnych, o czym świadczy m.in. ogólnodostępna i okresowo aktualizowana baza danych prowadzona przez niemiecki Związkowy Urząd ds. Środowiska (niem. *Umwelt Bundesamt*, UBA). Baza ta uwzględnia także związki pochodne, powstałe w metabolizmie lub na skutek przemian chemicznych zachodzących pod wpływem abiotycznych czynników środowiskowych [11,12].

Pierwsze doniesienie o występowaniu substancji czynnych leków w środowisku zostało opublikowane w 1976 r. i dotyczyło obecności kwasu kłofibrowego w zakresie stężeń  $0,8-2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  w oczyszczonych ściekach jednej z oczyszczalni w Stanach Zjednoczonych [13,14]. W 2016 r. najczęściej wykrywaną w próbkach środowiskowych substancją farmakologicznie aktywną był diklofenak, którego obecność została potwierdzona w wodach powierzchniowych, wodach gruntowych i wodzie pitnej aż w 50 krajach. Obok diklofenaku, do pięciu najczęściej wykrywanych związków należały wówczas także: karbamazepina, sulfametoksazol, ibuprofen i naproksen [1]. Według najnowszych danych z 2019 r. substancje te nadal należą do najczęściej wykrywanych API w środowisku, przy czym ich kolejność według malejącej wykrywalności zmieniła się na następującą: diklofenak, ibuprofen, karbamazepina, sulfametoksazol i naproksen [11].

Problem obecności szerokiej gamy API na całym świecie został zaprezentowany w 2014 r. przez Reńsko-Westfalski Instytut Wody (niem. *Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser*, IWW) w globalnym przeglądzie substancji aktywnych zanieczyszczających środowisko. Do takiej analizy skłoniła Rezolucja Organizacji Narodów Zjednoczonych „Strategiczne Podejście do Międzynarodowego Zarządzania Chemikaliami” (ang. *Strategic Approach to International Chemicals Management*, SAICM), która została przyjęta w celu opracowania odpowiedniego sposobu zarządzania substancjami aktywnymi przez cały ich cykl trwania tak, aby do 2020 r. były wytwarzane i stosowane w sposób minimalizujący ich znaczący oraz negatywny wpływ na środowisko i ludzkie zdrowie. W przeglądzie z 2014 r. IWW potwierdził obecność 631 związków czynnych spośród 731 testowanych próbek środowiskowych zebranych w 71 krajach świata, pochodzących m.in. z: wód powierzchniowych, wód gruntowych, wody pitnej, gleby oraz obornika [5]. Ważne informacje wynikają także z pracy wspomnianego wcześniej UBA, którego najnowsze podsumowanie pochodzi z 2019 r. Wnioski z opublikowanego wykazu mogą być na wiele sposobów przeanalizowane, a jedna z możliwości została graficznie zaprezentowana na ryc. 2. Wyraźnie ilustruje i potwierdza ona, że obecność substancji czynnych w środowisku jest problemem na skalę światową.

Sprawa zanieczyszczenia wód została zauważona także przez Radę Unii Europejskiej. W ramach rozwiązania tego problemu dnia 21.05.1991r. powstała Dyrektywa Komisji 91/271/EWG [15], która dotyczy zbierania, przetwarzania i odprowadzania ścieków komunalnych oraz ich oczyszczania i odprowadzania z niektórych sektorów przemysłowych. Celem tej dyrektywy jest ochrona środowiska przed wszelkimi niekorzystnymi skutkami potencjalnie powodowanymi przez ścieki. W 2000 r. utworzono listę obejmującą 33 tzw. substancje priorytetowe, które należy

monitorować w wodach UE w ramach Europejskiej Ramowej Dyrektywy Wodnej 2000/60/EC. Dzięki wprowadzonym zmianom zauważono znaczącą poprawę jakości wód powierzchniowych. Ważnym krokiem było umieszczenie przez Komisję UE w 2013 r. na liście obserwacyjnej (po raz pierwszy) substancji farmakologicznie czynnych. Obejmowały one związki, których stężenia występujące w środowisku mogą być dla niego niebezpieczne, a ponadto o których nie ma wystarczających danych. Znalazły się tam: diklofenak, 17 $\beta$ -estradiol i 17 $\alpha$ -etynyloestradiol [16,17]. W aktualnie obowiązującej liście obserwacyjnej decyzji wykonawczej 2018/840 z racji wystarczającej ilości danych nie znajduje się już diklofenak, a zamiast niego uwzględniono amoksycylinę, ciprofloksacynę, antybiotyki makrolidowe (erytromycynę, klarytromycynę), azytromycynę oraz estron [18]. W 2019 r. Komisja w ramach swoich prac wydała Komunikat do Parlamentu Europejskiego, Rady i Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego o Strategicznym Podejściu Unii Europejskiej do substancji farmaceutycznych w środowisku. W Komunikacie tym podsumowano dotychczasowe działania Komisji oraz zaprezentowano prognozy i cele na najbliższe lata. Dodatkowo w dokumencie tym podkreślono potrzebę rozszerzenia spektrum monitorowanych API w środowisku, m.in. o substancje cytotoksyczne oraz rentgenowskie środki kontrastujące [19].

#### 3.2. Obecność API w ściekach i miejscach ich ujścia

Jak sugeruje ryc. 1, ścieki są jednym z głównych elementów środowiska odpowiedzialnych za rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń. Z tego powodu warto zwrócić szczególną uwagę, jakie substancje farmakologicznie czynne są w nich obecne. Wybrane przykłady identyfikacji API występujących głównie w ściekach przedstawiono w tabeli 1.

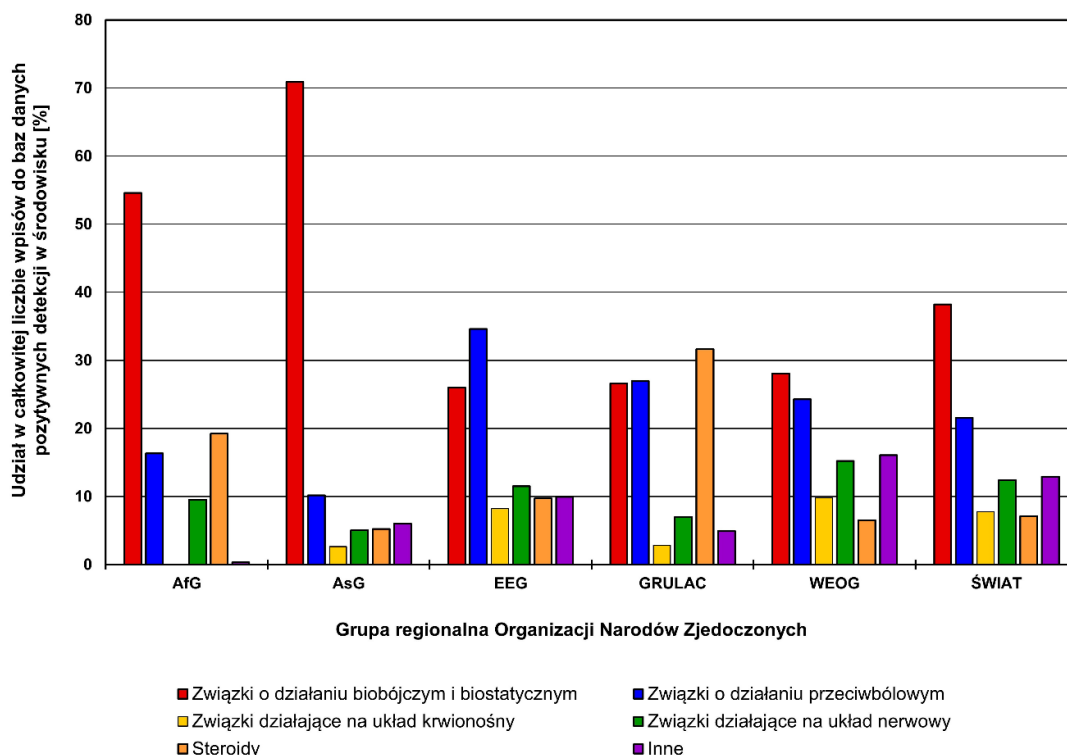
##### 3.2.1. Afryka

Jednym z krajów afrykańskich, w którym przeprowadzono badania obecności substancji czynnych leków, była Kenia, gdzie analizowano występowanie API w rzece Nairobi. Najwyższe stężenia osiągnęły związki o działaniu przeciwbólowym i przeciwzapalnym ( $30 - 35 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), a także antybiotyki i leki przeciwmalaryczne ( $30 - 35 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) oraz leki przeciwwirusowe ( $10 - 15 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [20].

Wysokie stężenie ibuprofenu zostało stwierdzone także w południowoafrykańskiej rzece Msunduzi, które w ściekach oczyszczonych wynosiło średnio  $58,71 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , zaś w wodzie powierzchniowej  $85 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Analizie poddano także zawartość antybiotyków, przy czym najwyższe stężenie w surowych ściekach wynoszące  $34,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  dotyczyło sulfametoksazolu [21]. Kolejną grupą substancji aktywnych, której obecność została potwierdzona w RPA, są naturalne i syntetyczne steroidy. W badaniu wody powierzchniowej przeprowadzonym w mieście Pietermaritzburg w RPA oraz próbek ze ścieków surowych i oczyszczonych z miejskiej oczyszczalni, potwierdzono obecność 17 $\beta$ -estradiolu, estronu, estriolu, 17 $\alpha$ -etynyloestradiolu, testosteronu i progesteronu. Progesteron, testosteron i 17 $\beta$ -estradiol stanowiły związki, które osiągnęły najwyższe stężenia w ściekach surowych (odpowiednio:  $408 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $343 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $119 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), podczas gdy w ściekach już oczyszczonych zarejestrowano najwyższe stężenia 17 $\beta$ -estradiolu ( $20 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) i testosteronu ( $11 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Pozytywnym aspektem jest stosunkowo wysoka wydajność usuwania przez oczyszczalnie estrogenów ze ścieków, wynosząca 92% [22].

Jako ostatni przykład państwa afrykańskiego, w którym analizowano obecność API w ściekach, można podać Tanzanię. W odpływie ścieków jednej z oczyszczalni

potwierdzono obecność antybiotyków: amoksycyliny ( $2,2 - 25,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) i ampicyliny ( $0,42 - 4,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [23].



Ryc. 2. Grupy związków czynnych, wykryte w środowisku na podstawie globalnego przeglądu substancji aktywnych UBA z 2019 r. [11]: AfG (ang. *African Group*) - Grupa Afrykańska, AsG (ang. *Asian Group*) - Grupa Azjatycka, EEG (ang. *Eastern Europe Group*) - Grupa Europy Wschodniej, GRULAC (ang. *Group of Latin American and Caribbean States*) - Grupa Ameryki Łacińskiej i Państw Karaibskich, WEOG (ang. *Western Europe and Others Group*) - Grupa Europy Zachodniej i innych państw, włączając Amerykę Północną, Australię i Nową Zelandię. Nie uwzględniono pochodnych API powstałych w środowisku i w przemianach metabolicznych.

### 3.2.2. Ameryka Północna i Południowa

Analizy ścieków dokonano także w kilku państwach Ameryki Północnej i Południowej. Jednym z nich były Stany Zjednoczone. W obrębie całego kraju przeanalizowano stężenia 56 API w próbkach pochodzących z odpływów 50 oczyszczalni ścieków. W każdej próbce wykryto obecność hydrochlorotiazidu, którego średnie stężenie przy uwzględnieniu wszystkich 50 próbek wynosiło  $1100 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ . Oprócz niego w 90% wszystkich próbek stwierdzono obecność metoprololu i karbamazepiny, gdzie średnie stężenia tych związków wynosiły odpowiednio:  $410 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $97 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ . Najwyższe stężenie maksymalne wynoszące  $5300 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  stwierdzono dla walsartanu, który wykazał także najwyższe stężenie średnie, wynoszące  $1600 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  [24].

Innym przykładem jest Kanada, gdzie oznaczano diklofenak, kwas mefenamowy, trimetoprim, karbamazepinę i gemfibrozyl. Związki te wykryto we wszystkich próbkach pobieranych w ciągu roku z dwóch oczyszczalni ścieków. Co więcej, diklofenak i kwas mefenamowy w jednej z oczyszczalni osiągnęły stężenia, które mogą stanowić zagrożenie dla środowiska, mianowicie odpowiednio  $2,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $2,8 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . W drugiej oczyszczalni najwyższe zmierzone stężenie ( $3,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) osiągnęła karbamazepina [25].

Podobną analizę chemiczną przeprowadzono w Meksyku wobec ścieków, stosowanych w tym kraju do nawadniania doliny rzeki Tula. Chociaż jest to dobrze znana praktyka wykorzystywana do nawadniania gruntów rolnych, wprowadza ona wiele zanieczyszczeń do środowiska

ładowego, w tym substancje o zastosowaniu farmakologicznym i produkty higieny osobistej. W ściekach poddanych analizie wykryto relatywnie wysokie stężenia ibuprofenu ( $0,74 - 1,4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), naproksenu ( $7,3 - 14 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) oraz diklofenaku ( $2,1 - 4,8 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [26].

W Brazylii, wyniki otrzymane na podstawie badań próbek z dwóch oczyszczalni w Rio de Janeiro potwierdziły małą efektywność tamtejszego systemu oczyszczania względem API. Dla przykładu, ibuprofen był wykryty we wszystkich analizowanych próbkach, zarówno w ściekach surowych, jak i oczyszczonych [27]. Ponadto w próbkach wody z rzeki Guandu, która jest odbiornikiem odpływów z oczyszczalni w Rio de Janeiro, potwierdzono obecność benzodiazepin: bromazepamu (maks. stęż.  $42 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), klonazepamu (maks. stęż.  $198 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) i diazepam (maks. stęż.  $335 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [28].

### 3.2.3. Australia

W Australii przeprowadzono badanie sprawdzające wydajność oczyszczania ścieków ze związków, do których wliczały się: karbamazepina, wenlafaksyna, sertralina, fluoksetyna, atenolol, sotalol, metoprolol, propranolol, chlorfeniramina, difenhydramina, triklosan. Chociaż najwyższe stężenie ( $3,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) w ściekach surowych osiągnął ten ostatni, był on usuwany ze ścieków niemalże całkowicie, o czym świadczyło jego niskie stężenie w ściekach oczyszczonych ( $5,4 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Pozostałe substancje były usuwane z wyraźnie mniejszą skutecznością, przy czym szczególnie małą wydajność oczyszczania i najwyższe stężenia w ściekach oczyszczonych osiągnęły:

karbamazepina ( $702 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), wenlafaksyna ( $736 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) i sotalol ( $760 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [29].

### 3.2.4. Azja

Analizę ścieków przeprowadzono także w Szanghaju, gdzie pod kątem obecności 15 związków psychoaktywnych badano próbki z wody pitnej, wody z rzeki Huangpu oraz próbki ze ścieków surowych i oczyszczonych z miejskiej oczyszczalni. Uwzględniając ścieki oczyszczone, najwyższe stężenie osiągnęła karbamazepina ( $34,5 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ). W zakresie od  $1,2 - 9,7 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  zostały zidentyfikowane wymienione według wzrastającego stężenia: amitryptylina, fluoksetyna, temazepam, estazolam, bromazepam, alprazolam, doksepina, oksazepam oraz diazepam. Warto zaznaczyć, że w samej rzece diazepam i karbamazepina występowały w wyróżniających się stężeniach, które wynosiły odpowiednio  $24,3$  oraz  $25,3 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  [30]. Należy zwrócić uwagę na diazepam, którego stężenie w rzece Huangpu było ponad 3-krotnie wyższe od tego w ściekach oczyszczonych, co wskazuje na dodatkowe ujścia ścieków bezpośrednio do rzeki.

Co więcej, w jeziorze Dongting w południowo-wschodniej części Chin oprócz kofeiny, która była najczęściej wykrywanym związkiem biologicznie czynnym, dodatkowo stwierdzono obecność: diklofenaku, kwasu mefenamowego, fluoksetyny, ibuprofenu i karbamazepiny. Średnie stężenia tych substancji farmakologicznie czynnych wahały się między  $2,0$  a  $80,8 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  w zależności od analizowanej próbki [31]. Ponadto pozostałości 10 antydepresantów wykryto także w dopływach ścieków do trzech pekińskich miejskich oczyszczalni. Najwyższe stężenie w ściekach surowych, które wynosiło  $416 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ , osiągnął metabolit wenlafaksyny - demetylowenlafaksyna, podczas gdy na najniższym stężeniu ( $4,0 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) została wykryta demetylowa pochodna mirtazapiny [32].

W ściekach oczyszczonych pochodzących z oczyszczalni w północnej części Tajwanu stwierdzono pozostałości kwasu kłofibrowego ( $95 - 102 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), diklofenaku ( $100 - 131 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), ibuprofenu ( $552 - 1600 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) oraz ketoprofenu ( $68 - 128 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ). W ściekach surowych zaś, stężenia tych substancji wynosiły odpowiednio:  $104 - 109 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $152 - 185 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $724 - 2200 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $128 - 184 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ . Choć ketoprofen był najefektywniej usuwany ze ścieków, to wydajność tego procesu oceniono jedynie na  $30 - 46\%$ . W najmniejszym stopniu, wynoszącym  $10\%$ , usuwany był natomiast kwas kłofibrowy [33].

Mimo, że Indie są jednym z największych producentów i konsumentów leków, to rzadko kontroluje się tam zanieczyszczenie środowiska substancjami leczniczymi. Z tego względu przeprowadzono badania pod kątem obecności 29 substancji czynnych leków w ściekach z dwóch oczyszczalni. W zależności od pobranej próbki, stężenia oznaczanych substancji wahały się w zakresie  $12 - 61 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  w oczyszczalni w Udipi i  $5 - 31 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  w oczyszczalni w Mangalore. W odpływach z oczyszczalni w Udipi, gdzie zawartość związków o zastosowaniu farmakologicznym w ściekach oczyszczonych jest w większości przypadków wyższa niż w Mangalore, w relatywnie wysokich stężeniach wystąpiły: aripiprazol, karbamazepina, atenolol, triklorkarban, sulfametoksazol, linkomycyna, tiabendazol, ibuprofen, paracetamol, kwas mefenamowy, atorwastatyna oraz kodeina [34].

### 3.2.5. Europa

Pierwszym z przykładów badań składu chemicznego ścieków w Europie może być analiza próbek ścieków z 90

miejskich oczyszczalni z 18 krajów europejskich. Ostatecznie spośród 156 oznaczanych substancji wykryto 125, a ich stężenia wahały się w rzędach wielkości  $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1} - \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Wśród nich znalazły się m.in.: klomipramina (śr.  $0,3 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ , maks.  $3,0 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), fluoksetyna (śr.  $2,1 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ , maks.  $22 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), mianseryna (śr.  $1,5 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ , maks.  $62 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) i sertralina (śr.  $2,1 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ , maks.  $38 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [35].

Kolejnym przykładem są badania w Czechach, gdzie analizowano roczne zmiany stężeń 21 substancji czynnych leków, zarówno w ściekach surowych, jak i oczyszczonych z miejskiej oczyszczalni. W badaniu uwzględniono antybiotyki, antydepresanty, substancje przeciwdrgawkowe, substancje przeciwhistaminowe oraz regulatory poziomu lipidów. Analiza próbek wykazała, że ich średnie stężenia w zależności od związku wahały się w zakresie  $0,006 - 1,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  w ściekach surowych oraz  $0,003 - 0,93 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  w ściekach oczyszczonych. Warto nadmienić, że najwyższe maksymalne stężenie w nieoczyszczonych ściekach osiągnęła klarytromycyna, która w ściekach oczyszczonych była obecna w niższym stężeniu. Co ciekawe, omawiane badania pokazały, że stężenia większości substancji w ściekach po procesie oczyszczania były wyższe zimą. Przyczynę takiego stanu upatruje się w obniżonej o tej porze roku, ze względu na niższą temperaturę, aktywności mikroorganizmów stosowanych w oczyszczalni [36].

W Wielkiej Brytanii analizie poddano pobierane comiesięcznie przez rok próbki ścieków surowych i oczyszczonych pochodzących z 7 oczyszczalni. Najwyższe stężenia osiągnęła kofeina ( $1,7 - 2,4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Oprócz niej w większości próbek wykryto obecność antydepresantów, takich jak: dosulepina ( $17,2 - 673,3 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), fluoksetyna ( $4,9 - 180 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), wenlafaksyna ( $29 - 450 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) oraz metabolity nortryptyliny i norfluoksetyny. Ważnym aspektem przeprowadzonych badań była identyfikacja kokainy ( $5,1 - 209 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) i jej metabolitu benzoiloeogoniny ( $16 - 570 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [37].

Analiza próbek z 5 portugalskich oczyszczalni ścieków ujawniła obecność 65 API, przy czym najwyższe stężenia osiągnęły substancje aktywne z grupy NLPZ. Średnie stężenia oznaczonych związków były relatywnie wysokie, wynosiły bowiem: w dopływach  $0,050 - 100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , w odpływach do  $50 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , co świadczy o nieefektywnej pracy tych oczyszczalni [38].

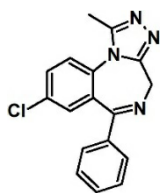
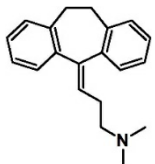
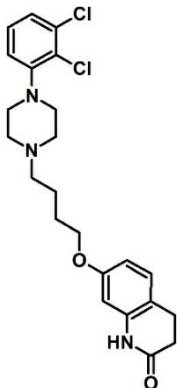

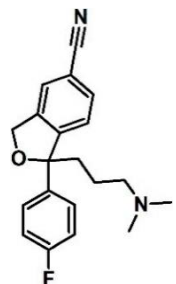
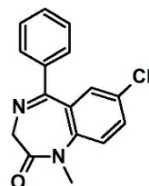
Analizę ścieków przeprowadzono także w Finlandii, gdzie monitorowano sezonowe zmiany stężeń 15 substancji czynnych w rzece Rakkolanjoki i jeziorze Haapajärvi. Analiza wykazała, że maksymalne całkowite stężenie przekraczały nawet  $5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Uwzględniona w niej karbamazepina była obecna we wszystkich próbkach przez cały okres ich pobierania [39]. Warto przytoczyć też wyniki badań ścieków z oczyszczalni w Turku, w których comiesięcznie przez rok analizowano obecność związków przeciwhistaminowych. Spośród 6 rozpatrywanych związków w ściekach oczyszczonych wykryto cetyryzynę, akrywastynę i feksofenadynę w średnich stężeniach równych odpowiednio  $110$ ,  $65$  i  $37 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  [40].

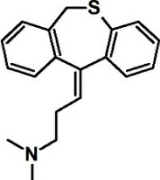
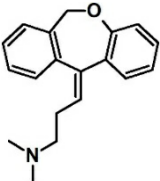
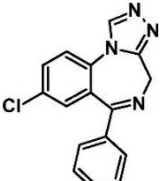
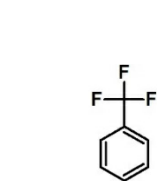
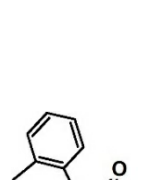
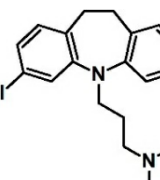
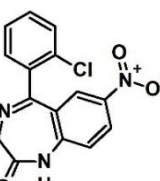
Na uwagę zasługuje także Polska. Analiza obecności 21 antydepresantów w próbkach z Wisły i Utraty w okolicach Warszawy wykazała najwyższe stężenie wenlafaksyny ( $140 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Badaniom poddano także wodę kranową, w której wykryto śladowe ilości citalopramu ( $1,5 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), mianseryny ( $1,5 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ), moklobemidu ( $0,3 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) oraz wenlafaksyny ( $1,9 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [41]. Oprócz antydepresantów w Wiśle i Utracie stwierdzono obecność kwasu

mykofenolowego (MPA), którego maksymalne stężenie wynosiło  $180 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ . Pozytywnym rezultatem okazał się brak wykrytych w wodzie kranowej pozostałości leków immunosupresyjnych, takich jak MPA i takrolimus [42]. Obszerne badania zawartości API w ściekach oraz w rzece wykonano także dla próbek pochodzących z Małopolski.

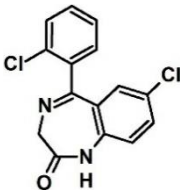
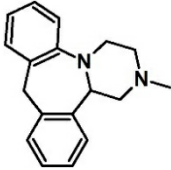
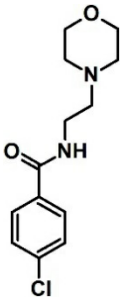
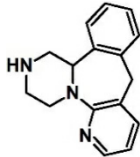
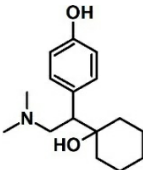
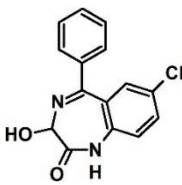
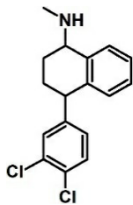
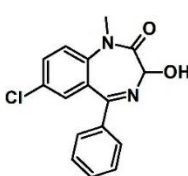
Wśród związków zidentyfikowanych w odpływie z oczyszczalni „Płaszów” na uwagę zasługują według wzrastającego stężenia w zakresie  $0,2 - 140 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ : kodeina, parametoksamfetamina, temazepam, ibuprofen,

Tabela 1. Substancje farmakologicznie czynne wykryte głównie w ściekach w różnych państwach świata.

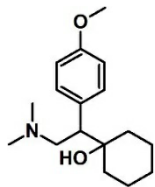
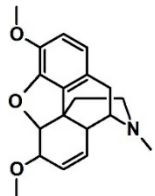
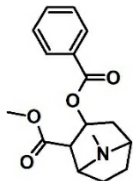
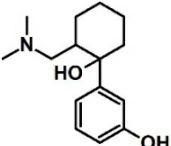
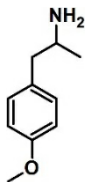
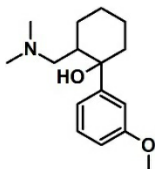
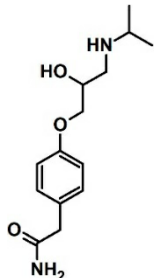
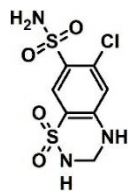
Substancja farmakologicznie czynna	Struktura chemiczna	Kraj	Miejsce wykrycia	Stężenie średnie [ $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ]	Stężenie maks. [ $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ]	Lit.
Substancje stosowane w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego						
Alprazolam		Chiny	Odpływ z oczyszczalni ścieków	4,9	—	[30]
Amitryptylina		Chiny	Odpływ z oczyszczalni ścieków	1,2	—	[30]
Aryiprazol		Indie	Odpływ z oczyszczalni ścieków	0,4 - 71	0,4 - 150	[34]
Bromazepam		Brazylia	Odpływ z oczyszczalni ścieków	—	42	[28]
		Chiny	Odpływ z oczyszczalni ścieków	4,2	—	[30]
Citalopram		Polska	Woda z kranu	—	1,5	[41]
Diazepam		Brazylia	Odpływ z oczyszczalni ścieków	—	335	[28]
		Chiny	Odpływ z oczyszczalni ścieków	9,7	—	[30]

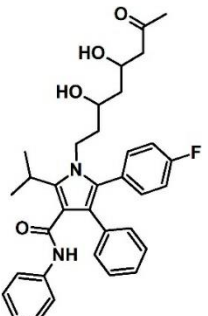
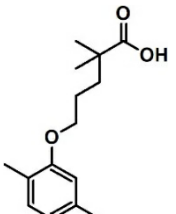
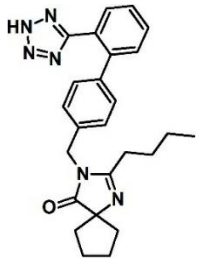
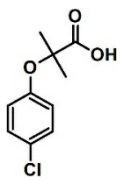
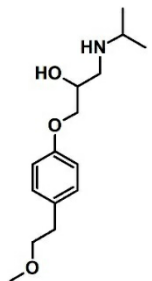
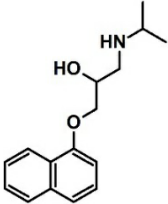
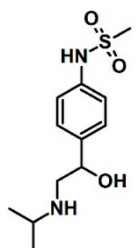
Dosulepina		Wielka Brytania	Odptyw z oczyszczalni ścieków	17,2 - 673,3	—	[37]
Doksepina		Chiny	Odptyw z oczyszczalni ścieków	5,0	—	[30]
Estazolam		Chiny	Odptyw z oczyszczalni ścieków	2,9	—	[30]
Fluoksetyna		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	16,2	[29]
		Chiny	Jezioro	5,3	40,2	[31]
			Odptyw z oczyszczalni ścieków	1,4	—	[30]
		UE (wybrane państwa)	Oczyszczalnia ścieków	2,1	22	[35]
		Wielka Brytania	Odptyw z oczyszczalni ścieków	4,9 - 180	—	[37]
Karbamazepina		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	702	[29]
		Chiny	Jezioro	2,3	6,4	[31]
			Odptyw z oczyszczalni ścieków	34,5	—	[30]
		Finlandia	Rzeka, jezioro	—	—	[39]
		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	480 - 580	710 - 770	[34]
		Kanada	Oczyszczalnia ścieków	3200	—	[25]
		Stany Zjednoczone	Odptyw z oczyszczalni ścieków	97	—	[24]
Klomipramina		UE (wybrane państwa)	Oczyszczalnia ścieków	0,3	3,0	[35]
Klonazepam		Brazylia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	198	[28]

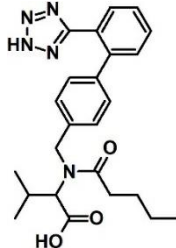
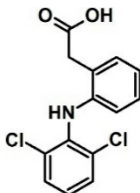
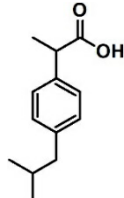
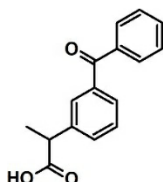
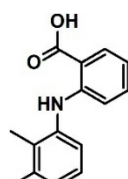


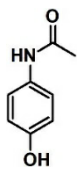
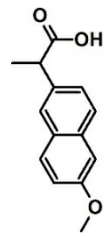
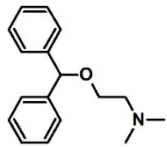
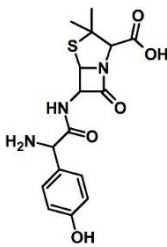
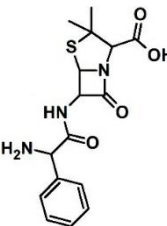
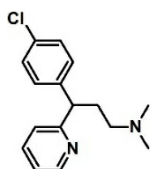
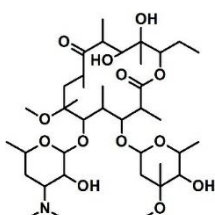
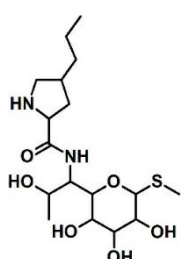
Lorazepam		Chiny	Dopływ do oczyszczalni ścieków	35,8	—	[30]
Mianseryna		Polska	Woda z kranu	—	1,5	[41]
		UE (wybrane państwa)	Oczyszczalnia ścieków	1,5	62	[35]
Moklobemid		Polska	Woda z kranu	—	0,3	[41]
N-demetylo-mirtazapina		Chiny	Dopływ do oczyszczalni ścieków	416	—	[32]
O-demetylo-wenlafaksyna				4,0	—	[32]
Oksazepam		Chiny	Odptyw z oczyszczalni ścieków	6,8	—	[30]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	650	—	[43]
			Rzeka	100	—	[43]
Sertralina		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	36,7	[29]
		UE (wybrane państwa)	Oczyszczalnia ścieków	2,1	38	[35]
Temazepam		Chiny	Odptyw z oczyszczalni ścieków	2,3	—	[30]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	200	—	[43]
			Rzeka	80	—	[43]
Wenlafaksyna		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	736	[29]
		Polska	Woda z kranu	—	1,9	[41]

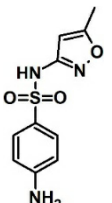
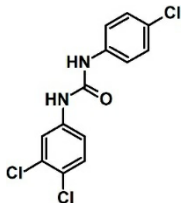
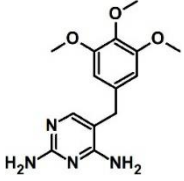
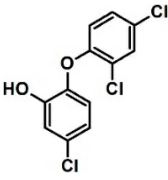
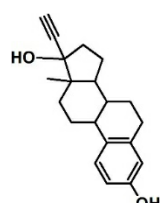
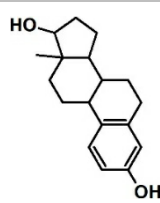
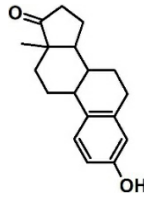
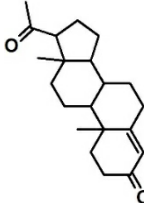


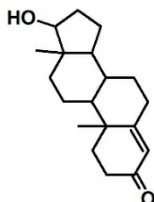
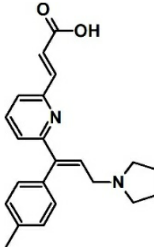
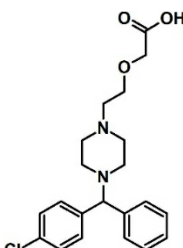
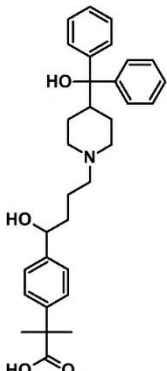
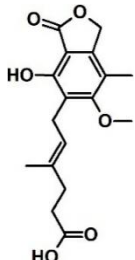
			Rzeka	125	—	[43]
		Wielka Brytania	Odptyw z oczyszczalni ścieków	29 - 450	—	[37]
<b>Opioidy i stymulanty OUN</b>						
Kodeina		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	25 - 82	52 - 120	[34]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	200	—	[43]
Kokaina		Wielka Brytania	Oczyszczalnia ścieków	—	209	[37]
O-Demetylotramadol		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	1600	—	[43]
			Rzeka	150	—	[43]
PMA		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	200	—	
Tramadol		Polska	Rzeka	100	—	[43]
<b>Substancje stosowane w leczeniu chorób układu krwionośnego</b>						
Atenolol		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	135	[29]
		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	590 - 1500	500 - 7100	[34]
Hydrochlorotiazyd		Stany Zjednoczone	Odptyw z oczyszczalni ścieków	1100	—	[24]

Atorwastatyna		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	280 - 340	500 - 510	[34]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	500	—	[43]
			Rzeka	115	—	[43]
Gemfibrozyl		Kanada	Odptyw z oczyszczalni ścieków	490 - 1120	650 - 1570	[25]
Irbesartan		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	$4,5 \cdot 10^4$	—	[43]
			Rzeka	400	—	[43]
Kwas klofibrowy		Tajwan	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	102	[33]
Metoprolol		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	178	[29]
		Stany Zjednoczone	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	410	[24]
Propranolol		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	75,8	[29]
Sotalol		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	760	[29]
Walsartan		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	$1,4 \cdot 10^5$	—	[43]

			Rzeka	8·10 <sup>4</sup>	—	[43]
		Stany Zjednoczone	Odptyw z oczyszczalni ścieków	1600	5300	[24]
Nieopiodowe substancje o działaniu przeciwbólowym						
Diklofenak		Chiny	Jezioro	40,4	230,5	[31]
		Kanada	Oczyszczalnia ścieków	2600	—	[25]
		Meksyk	Oczyszczalnia ścieków	2100 - 4800	—	[26]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	5·10 <sup>4</sup>	—	[43]
			Rzeka	300	—	[43]
		Tajwan	Oczyszczalnia ścieków	—	131	[33]
Ibuprofen		Brazylia	Oczyszczalnia ścieków	1,49·10 <sup>4</sup> - 2,07·10 <sup>4</sup>	2,74·10 <sup>4</sup> - 3,98·10 <sup>4</sup>	[27]
		Chiny	Jezioro	4,2	19,8	[31]
		Indie	Oczyszczalnia ścieków	630 - 980	710 - 1940	[34]
		Meksyk	Oczyszczalnia ścieków	740 - 1400	—	[26]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	250		[43]
			Rzeka	3000		[43]
		RPA	Odptyw z oczyszczalni ścieków	-	5,871·10 <sup>4</sup>	[21]
		Tajwan	Odptyw z oczyszczalni ścieków	552 - 1600	1600	[33]
Ketoprofen		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	5000	—	[43]
			Rzeka	95	—	[43]
		Tajwan	Odptyw z oczyszczalni ścieków	68 - 128	128	[33]
Kwas mefenamowy		Chiny	Jezioro	4,7	11,4	[31]
		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	440 - 570	750	[34]
		Kanada	Oczyszczalnia ścieków	2800	-	[25]

Paracetamol		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	340 - 690	490 - 1200	[34]
Naprosken		Meksyk	Oczyszczalnia ścieków	7300 - 1,4·10 <sup>4</sup>	-	[26]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	250	-	[43]
			Rzeka	60	-	[43]
Antybiotyki i inne substancje biobójcze						
Difenhydramina		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	-	29,8	[29]
Amoksycylina		Tanzania	Odptyw z oczyszczalni ścieków	-	2,55·10 <sup>4</sup>	[23]
Ampicylina		Tanzania	Odptyw z oczyszczalni ścieków	-	4200	[23]
Chlorfeniramina		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	-	20,7	[29]
Klarytromycyna		Czechy	Odptyw z oczyszczalni ścieków	930	2310	[36]
Linkomycyna		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	130 - 430	310 - 510	[34]

Sulfametoksazol		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	25 - 260	25 - 420	[34]
		RPA	Dopływ do oczyszczalni ścieków	—	34500	[21]
Triklokarban		Indie	Odptyw z oczyszczalni ścieków	260 - 540	358 - 860	[34]
Trimetoprim		Kanada	Odptyw z oczyszczalni ścieków	600 - 910	1170 - 1190	[25]
Triklosan		Australia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	5,4	[29]
<b>Hormony steroidowe</b>						
17α-etynioestradiol		RPA	Odptyw z oczyszczalni ścieków	3	8	[22]
17β-estradiol		RPA	Odptyw z oczyszczalni ścieków	20	107	[22]
Estron		RPA	Odptyw z oczyszczalni ścieków	23	78	[22]
Progesteron		RPA	Odptyw z oczyszczalni ścieków	9	25	[22]

Testosteron		RPA	Odptyw z oczyszczalni ścieków	11	26	[22]
Substancje o działaniu przeciwhistaminowym						
Akrywastyna		Finlandia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	65	—	[40]
Cetyryzyna		Finlandia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	110	—	[40]
Feksofenadyna		Finlandia	Odptyw z oczyszczalni ścieków	37	—	[40]
		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	1450	—	[43]
			Rzeka	100	—	[43]
Immunosupresanty						
MPA		Polska	Odptyw z oczyszczalni ścieków	—	180	[42]

atorwastatyna, oksazepam, feksofenadyna, O-demetylotramadol, ketoprofen, naproksen, irbesartan, diklofenak oraz walsartan. Zbadano również stężenie rozpatrywanych związków w rzece Drwinie, odbierającej ścieki oczyszczone ze wspomnianej oczyszczalni. Szczególnie wysokie stężenia, w zakresie 60 - 3000 ng·l<sup>-1</sup>, zostały zaobserwowane według rosnącej wartości dla: naproksenu, kodeiny, temazepamu, walsartanu, ketoprofenu, feksofenadyny, tramadolu, oksazepamu, atorwastatyny, wenlafaksyny, O-demetylotramadolu, diklofenaku, irbesartanu oraz ibuprofenu [43].

#### 4. Wpływ pozostałości substancji farmakologicznie czynnych na organizmy

Mimo, że długotrwała ekspozycja organizmów środowiska wodnego (najbardziej narażonego na pozostałości API) na niskie stężenia substancji farmaceutycznych nie powoduje z reguły ich śmierci, to może ona wpływać na ich wzrost, płodność, stosunek płci w populacji czy zachowania reprodukcyjne w środowisku wodnym [44]. Należy podkreślić, że toksyczne efekty wywołane przez związki o zastosowaniu terapeutycznym dotyczą nie tylko zwierząt, ale także przedstawicieli

pozostałych królestw organizmów. Uogólnione efekty toksyczne powodowane przez wybrane grupy związków o zastosowaniu terapeutycznym zaprezentowano w tabeli 2.

Tabela 2. Wpływ pozostałości substancji farmakologicznie czynnych na organizmy.

Grupa leków	Wywoływany efekt	Lit.
Steroidy	feminizacja zwierząt; negatywny wpływ na wzrost, metabolizm organizmów	[45-48]
Leki przeciwdrobnoustrojowe	selekcja szczepów opornych (np. na antybiotyki)	[49]
Leki przeciwhistaminowe	negatywny wpływ na wzrost, metabolizm, płodność, poruszanie się	[50,51]
Cytostatyki	działanie mutagenne, teratogenne, rakotwórcze	[52]
Niesteroidowe leki przeciwzapalne	negatywny wpływ na wzrost i wykluwanie jaj	[53,54]
Beta-blokery	możliwy spowolniony wzrost (niskie ryzyko działania toksycznego)	[55,56]
Leki przeciwdepresyjne	negatywny wpływ na wzrost, metabolizm, płodność	[57-62]

Szczegółowe przykłady ujęte w sekcjach 4.1-4.8 potwierdzają, że obecność substancji czynnych leków ma negatywny wpływ na środowisko i organizmy je zamieszkujące. Należy ponownie podkreślić, że powszechne występowanie API może stanowić zagrożenie pośrednio także dla człowieka, dlatego powinny zostać opracowane i wdrożone efektywne metody usuwania pozostałości tych związków ze ścieków.

#### 4.1. Steroidy

Znaczącym przykładem wpływu API na środowisko jest efekt feminizacji ryb, żab i krokodyli pod wpływem składników czynnych leków antykoniecznych, takich jak 17 $\alpha$ -etynyloestradiol czy 17 $\beta$ -estradiol. Dodatkowo, podwyższone stężenia naturalnych i syntetycznych estrogenów mogą zmniejszać sprawność reprodukcyjną organizmów, a w przypadku samców dodatkowo następuje ich feminizacja poprzez obniżanie liczby plemników i indukowanie produkcji witellogeniny [45]. Co więcej, zespół badawczy Hallgren i wsp. (2014) zaobserwował, że 17 $\alpha$ -etynyloestradiol w stężeniach wykrywanych w środowisku zmniejsza biomasę ryb i zakłóca wodny łańcuch pokarmowy [46]. W innym badaniu wobec japońskiego okonia morskiego *Lateolabrax japonicus* 17 $\beta$ -estradiol w stężeniach subletalnych (0,2 i 20  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) zwiększył aktywność oddechową i spowodował wzrost poziomu immunoglobulin w porównaniu z grupą kontrolną [47]. Negatywny wpływ obecności steroidowych hormonów estrogenowych i ich prekursorów w wykrywanych stężeniach środowiskowych jest także możliwy do zaobserwowania w przypadku rozwoju korzeni i pędów, kwitnieniu oraz kiełkowaniu roślin [48].

#### 4.2. Antybiotyki

Główną negatywną konsekwencją obecności antybiotyków w środowisku jest możliwość rozwoju lekooporności bakterii na stosowane związki, co wymusza poszukiwania nowych substancji przeciwdrobnoustrojowych. Co więcej, efekty toksyczne antybiotyków dotyczą nie tylko mikroorganizmów. W badaniu przeprowadzonym przez zespół Bielen i wsp. (2017) zbadano wpływ ścieków z fabryki produkującej azytromycynę na zarodki ryby *Danio rerio* (danio pręgowane). Mimo stosowania nawet 4-krotnego rozcieńczenia ścieków zaobserwowano wysoki poziom śmiertelności organizmów, która przy 72-godzinnej ekspozycji wyniosła 40% [49].

#### 4.3. Substancje o działaniu przeciwhistaminowym

Negatywny wpływ związków o działaniu przeciwhistaminowym został potwierdzony wobec wybranych gatunków bakterii, bezkręgowców i ryb, u których zaburzeniom w funkcjonowaniu uległy metabolizm, wzrost, płodność i poruszanie się [50]. Dodatkowo toksyczne działanie na bakterie luminescencyjne *Vibrio fischeri* (obecnie *Aliivibrio fischeri*) wykazała ranitydyna (8  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), gdzie wyraźny był spadek luminescencji w porównaniu do prób kontrolnych [51].

#### 4.4. Cytostatyki

Substancje przeciwnowotworowe pośrednio lub bezpośrednio niszczą strukturę DNA i zakłócają jego funkcje, co ma wpływ także na te komórki i tkanki, które nie są celem leczenia. W efekcie wiele związków stosowanych jako cytostatyki jest mutagennych, rakotwórczych, teratogennych i toksycznych dla układu rozrodczego. Potwierdza to m.in. badanie wobec organizmów wodnych (*Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Brachionus calyciflorus* i *Thamnocephalus platyurus*), w którym sprawdzano ostrą i przewlekłą toksyczność sześciu cytostatyków (5-fluorouracyl, kapecytabina, cisplatyna, doksorubicyna, etopozyd i imatynib). Pozytywnym aspektem było to, że efekty ostrej toksyczności zostały stwierdzone dopiero przy stężeniach rzędu  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , czyli wyższych niż te wykrywane w środowisku. Najbardziej toksyczne okazały się: cisplatyna i doksorubicyna. Cisplatyna wykazała także najwyższą toksyczność przewlekłą, podczas gdy nieco mniej toksyczny okazał się 5-fluorouracyl, powodując 50%-owe zahamowanie reprodukcji u skorupiaków w stężeniach rzędu  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  [52].

#### 4.5. NLPZ

Substancje aktywne biologicznie z grupy NLPZ także wykazują działanie toksyczne. Stwierdzono, że przewlekła ekspozycja na diklofenak, który jest najczęściej wykrywanym środowiskowym zanieczyszczeniem chemicznym z grupy NLPZ, może wywołać negatywne efekty już przy stężeniach wykrywanych w środowisku rzędu  $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ . Potwierdzają to także zaburzenia rozwoju ryby ryżanki japońskiej (*Oryzias latipes*), wobec której stężenie diklofenaku wynoszące 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  spowodowało spowolnienie rozwoju jaj oraz redukcję i opóźnienie wykluwania się ryb [53]. Należy zaznaczyć, że spowolniony proces wykluwania wiąże się z ryzykiem ataku przez drapieżnika [54].



#### 4.6. Beta-bloker

Związki o aktywności  $\beta$ -adrenolitycznej także nie są obojętne wobec organizmów wodnych, choć dzięki ich podatności na sorpcję nie są uznawane za niebezpieczne [56]. Mimo to spowalniają wzrost alg *Scenedesmus vacuolatus* [56]. Dodatkowo Ericson i wsp. (2010) zauważyli, że roztwór zawierający oprócz diklofenaku i ibuprofenu propranolol powoduje mniejsze rozmiary osobników i mniej rozwinięty bisior u omutka jadalnego *Mytilus edulis*, co utrudnia przyczep do podłoża w porównaniu do próby kontrolnej [55].

#### 4.7. Antydepresanty

Istotną grupą związków mających wpływ na organizmy już w niskich stężeniach są antydepresanty. Przykładem są badania dotyczące fluoksetyny, w których analizowano wpływ tego związku na męskich przedstawicieli złotej rybki *Carassius auratus*. Przy stężeniu  $0,54 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $54 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  zauważono spadek objętości spermy i poziomu testosteronu, a także wzrost produkcji estradiolu i witellogeniny, co przyczyniło się do feminizacji tych zwierząt [57]. W innym badaniu sprawdzano wpływ tej samej substancji czynnej na młode mątwy *Sepia officinalis*, gdzie przy w stężeniu wykrywanych w środowisku ( $1$  i  $100 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) zaobserwowano negatywny wpływ fluoksetyny na efektywność zachowań maskujących (mimikry), aktywność ruchową i pracę mózgu u młodych osobników tego mięczaka. Jest to dlatego istotne, że spostrzeżone anomalie mogą się przyczyniać do zmniejszenia szans na przeżycie młodych mątów w warunkach naturalnych [58]. W innym badaniu 30-dniowa ekspozycja młodych osobników karpia *Cyprinus carpio* na działanie amitryptyliny, nortryptyliny i kłomipraminy w stężeniach  $10$ ,  $100$  i  $500 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  skutkowała wzrostem śmiertelności, opóźnionym rozwojem, zaburzeniami morfologicznymi oraz patologicznymi zmianami w mózgu, sercu i nerkach [59]. Toksyczność analizowano także w przypadku mianseryny, wobec embrionów *Danio rerio*. Narażenie ryby na kontakt z tą substancją dało wyraźne efekty w postaci hamowania wzrostu. Mianseryna wpłynęła także na zmianę parametrów fizjologicznych i biochemicznych ważnych dla homeostazy całego organizmu. Należał do nich wzrost aktywności pomp jonowych:  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP i  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP przy zastosowaniu najwyższych stężeń ( $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) oraz zahamowanie aktywności pompy  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP przy stężeniu  $10 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  [60]. W innym eksperymencie sprawdzano wpływ sertraliny na bezkręgowce *Amphibalanus amphitrite*, *Brachionus plicatilis* i *Mytilus galloprovincialis*. Spostrzeżono, że analizowany związek powodował zmniejszenie szybkości pływania organizmów w stężeniach wyższych niż te wykrywane w środowisku ( $< 100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [61]. Negatywne działanie paroksetyny, choć w stężeniach wyższych niż te wykrywane w środowisku, zostało potwierdzone z wykorzystaniem przedstawicieli małża *Dreissena polymorpha*. Zauważono, że antydepresant ten wpływa na ich rozmnażanie, bowiem przy stężeniach  $3,29 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $329 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  powodował spadek liczby składanej ikry, odpowiednio o  $50\%$  i  $40\%$  [62].

### 5. Grzyby białej zgnilizny

#### 5.1. Ogólna charakterystyka

Grzyby białej zgnilizny (ang. *white-rot fungi*, WRF) stanowią niesystematyczną grupę grzybów, charakteryzujących się zdolnością rozkładu lignin dzięki

produkcji tzw. enzymów ligninolitycznych [63]. Są organizmami, które jako jedyne potrafią rozłożyć wszystkie komponenty drewna, tj. ligninę, celulozę i hemicelulozę, stosując w tym procesie zarówno mechanizmy enzymatyczne, jak i nieenzymatyczne. Grzyby białej zgnilizny występują powszechnie w środowisku [6]. Obejmują różne gatunki, dlatego mogą różnić się między sobą zarówno ubarwieniem, jak i strukturą wewnętrzną (gąbczastą, włóknistą lub warstwową). Do głównych przedstawicieli grzybów białej zgnilizny zaliczana jest szeroka grupa podstawczaków (*Basidiomycota*), m.in.: *Armillaria mellea*, *Bjerkandera adusta*, *Botrytis cinerea*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Cerrena unicolor*, *Dichomitium squaleus*, *Fomitiporia mediterranea*, *Heterobasidion annosum*, *Lentinula edodes*, *Phanerochaete carnosa*, *Phanerochaete chrysosporium* (aktualna nazwa: *Phanerochaete chrysosporium*), *Phlebia brevispora*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Punctularia strigosozonata*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Stereum hirsutum*, *Trametes* sp. (*T. gallica*, *T. hirsuta*, *T. versicolor*, *T. versicolor*, *T. villosa*) [64,65], a także nieliczne workowce (*Ascomycota*), m.in. *Daldinia concentrica*, *Xylaria polymorpha* [66], *Xylaria feejeensis* [67], *Xylaria hypoxylon* [68].

#### 5.2. Enzymy produkowane przez grzyby białej zgnilizny

Grzyby białej zgnilizny produkują zestaw enzymów modyfikujących ligninę, w którym znajdują się: peroksydaza ligninowa, peroksydaza manganowa, peroksydaza uniwersalna i lakaza. Peroksydaza ligninowa to enzym o niskiej specyficzności substratowej, redukujący  $\text{H}_2\text{O}_2$ , utleniając przy tym substraty organiczne, co umożliwia rozerwanie wiązań węgiel-węgiel lub otwarcie pierścienia aromatycznego. Dzięki temu możliwy jest rozkład m.in. polichlorowanych bifenyli i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Peroksydaza manganowa charakteryzuje się szerszym zakresem degradowanych związków w porównaniu do peroksydazy ligninowej. Ważną jej cechą jest to, że dzięki generowaniu wolnych rodników fenolowych jest zdolna do depolimeryzacji różnego typu związków. Peroksydaza uniwersalna stanowi strukturalną hybrydę peroksydazy ligninowej i manganowej, potrafiącą niezależnie od jonów  $\text{Mn}^{2+}$  utleniać proste aminy, związki fenolowe oraz barwniki o wysokim potencjale redoks. Istotnym enzymem ligninolitycznym jest lakaza, określana „niebieską oksydoreduktazą” z racji obecnych w swej strukturze jonów  $\text{Cu}^{2+}$ . Dzięki wysokiemu potencjałowi redoks może utleniać szeroki zakres związków aromatycznych (np. fenole, polifenole, aromatyczne aminy, benzenotiole), redukując jednocześnie cząsteczkowy tlen. Warto dodać, że związki poddane działaniu lakazy ulegają często dalszej dekarboksylacji lub demetylacji [69]. Ważnym enzymem mogącym brać udział w degradacji ligniny jest także wewnątrzkomórkowy system cytochromu P450. Chociaż nie jest to typowy enzym ligninolityczny, to jego rola w degradacji polimeru ligninowego związana jest z wewnątrzkomórkowym wyczerpaniem metabolitów uwalnianych po depolimeryzacji ligniny przez zewnątrzkomórkowe peroksydazy. Monooksygenazy cytochromu P450 mają większe znaczenie w przypadku rozkładu zanieczyszczeń organicznych, katalizując reakcje ich hydroksylacji, utleniania heteroatomów, dealkilacji, redukcji oraz dehalogenacji [70].

### 5.3. Związki farmakologicznie czynne rozkładane i usuwane przez WRF

#### 5.3.1. NLPZ

Pierwszym przykładem API podatnego na działanie WRF jest ibuprofen, przedstawiciel grupy NLPZ, należącej do najczęściej wykrywanych w środowisku grupy farmaceutyków. Mianowicie, przy początkowym stężeniu w medium hodowlanym  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  po 7 dniach został on całkowicie zdegradowany przez grzyby: *T. versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Irpex lacteus* i *P. chrysosporium* [71]. *T. versicolor* jest zdolny do wydajnego rozkładu także diklofenaku, usuwając w ciągu pierwszej godziny inkubacji minimum 94% początkowej ilości tego związku, wynoszącej w jednym przypadku  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , w drugim zaś  $45 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  [72]. Nieco mniej efektywne od *T. versicolor* w rozkładzie diklofenaku okazały się grzyby: *B. adusta* i *P. chrysosporium*, które rozłożyły go całkowicie w ciągu 7 dni. W przytoczonym badaniu uznano, że za degradację przez *B. adusta* była odpowiedzialna peroksydaza uniwersalna, a przez *P. chrysosporium* - peroksydaza ligninowa [71]. W przypadku naproksenu o początkowym stężeniu wynoszącym  $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  zaobserwowano trwającą 4 dni jego degradację w obecności *P. chrysosporium* oraz 7 dni w obecności *B. adusta*. Do usuwania diklofenaku oraz ketoprofenu o stężeniu  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  ze ścieków szpitalnych wykorzystano także grzyba *P. ostreatus*. Diklofenak został całkowicie usunięty w czasie krótszym niż 24 h, a ketoprofen niemalże do połowy początkowej zawartości w ciągu 5 dni. Analiza produktów wykazała, że w trakcie tego procesu doszło do hydroksylacji aromatycznego pierścienia obu związków i redukcji grupy ketonowej, w efekcie czego powstały pochodne hydroksylowe [73]. Uogólniając, substancje z grupy NLPZ są stosunkowo szybko rozkładane przez WRF, wykorzystujące różne układy enzymatyczne. Zasadniczo pierwszym etapem jest wytworzenie hydroksylowych metabolitów, często ulegających dalszej degradacji [71].

#### 5.3.2. Związki stosowane w chorobach ośrodkowego układu nerwowego

Substancjami farmakologicznie czynnymi, które wymagają dłuższego czasu degradacji są związki stosowane w leczeniu zaburzeń psychicznych. Jednym z przykładów jest szeroko stosowana w leczeniu epilepsji karbamazepina, której obecność w środowisku została potwierdzona przez liczne badania. W jednym z eksperymentów zaobserwowano, że gatunki *Bjerkandera* sp. R1, *B. adusta* i *P. chrysosporium* są zdolne do całkowitej degradacji tego związku w ciągu 14 dni przy stężeniu wyjściowym wynoszącym  $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  [71]. W innym badaniu użyteczne w rozkładzie karbamazepiny okazały się również gatunki: *T. versicolor* oraz *P. ostreatus*. Warto dodać, że w pierwszym etapie jej rozkładu kluczową rolę wydaje się odgrywać typowy układ enzymatyczny cytochromu P450, a w przypadku niektórych gatunków peroksydaza manganowa i peroksydaza uniwersalna [74]. *P. ostreatus* przekształca karbamazepinę do 10,11-epoksykarmamazepiny, a następnie przy wykorzystaniu cytochromu P450 i peroksydazy manganowej do dostępnego dla biodegradacji przez mikroorganizmy odpowiedniego 10,11-trans-diolu. Potwierdza to ważność synergistycznego podejścia do procesów bioremediacji, wykorzystujących różne gatunki organizmów [75]. Wspomniane wcześniej gatunki: *B. adusta*, *Bjerkandera* sp. R1 oraz *P. chrysosporium* są

zdolne także do częściowego rozkładu diazepam. Po 14 dniach inkubacji przy początkowym stężeniu tego związku wynoszącym  $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  stopnie rozkładu przez wymienione WRF wynosiły odpowiednio: 56%, 40% oraz 52% [71].

Ważną grupą substancji o zastosowaniu terapeutycznym, która jest rozkładana przez WRF stanowią związki przeciwdepresyjne. Do najpowszechniej stosowanych można zaliczyć citalopram i fluoksetynę. Zaobserwowano, że gatunki *B. adusta*, *P. chrysosporium* oraz *Bjerkandera* sp. R1 są zdolne do degradacji obu tych związków. *B. adusta* po 4 dniach rozłożył 58% citalopramu o stężeniu początkowym  $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , podczas gdy pozostałe grzyby zdegradowały mniej niż 10% tego antydepresanta. Całkowity rozkład citalopramu nastąpił po 14 dniach. W przypadku fluoksetyny nie zaobserwowano całkowitej degradacji. Proces zatrzymał się na poziomie rozkładu 23 - 46% po okresie inkubacji wynoszącym 14 dni [71]. W innym badaniu zauważono, że do usuwania fluoksetyny i citalopramu może okazać się użyteczny *T. versicolor*, który po 5 dniach zredukował początkową ilość citalopramu o 80%, a po 8 dniach całkowicie rozłożył fluoksetynę (przy stężeniach początkowych tych związków wynoszących odpowiednio  $0,25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  i  $0,10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ). W ramach omawianego eksperymentu potwierdzono również, że *T. versicolor* może usuwać także paroksetynę, sertralinę i częściowo wenlafaksynę [76]. Istotne znaczenie ma także *P. ostreatus*, który już w ciągu 4 h efektywnie wyeliminował ze środowiska sertralinę, paroksetynę, klomipraminę oraz fluoksetynę występujące w stężeniu  $100 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$  dla pojedynczego związku, gdzie stopień degradacji wyniósł odpowiednio: 91,2%, 92,8%, 86,1% oraz 86,2%. Mianseryna, występująca początkowo w tym samym stężeniu, co poprzednio wymienione API, z niemalże maksymalną wydajnością (94,0%) została usunięta po 24 h [77].

#### 5.3.3. Regulatory gospodarki lipidowej

Niektóre gatunki WRF, takie, jak *T. versicolor* i *G. lucidum*, w czasie nie dłuższym niż 7 dni okazały się być zdolne do całkowitego usunięcia gemfibrozylu oraz kwasu kłofibrowego w 20%, przy czym stężenie początkowe tych związków wynosiło  $50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Warto wspomnieć, że biodegradacja kwasu kłofibrowego przez *T. versicolor* i *G. lucidum* wynosiła odpowiednio 10 i 3%, podczas gdy pozostały udział w usuwaniu tych związków miała sorpcja [74].

#### 5.3.4. Beta-blokery

W jednym z przeprowadzonych badań wykazano, że *T. versicolor* jest zdolny do usuwania atenololu i propranololu, gdzie po upływie 6 h grzyb zredukował początkowe stężenie związku ( $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) o 80%. Dodatkowa analiza jakościowa produktów rozkładu pozwoliła zidentyfikować hydroksylowe pochodne obu substancji [74].

#### 5.3.5. Steroidy

WRF okazują się być przydatne także przy degradacji estrogenów. Pierwszym przykładem jest  $17\alpha$ -etynyloestradiol o stężeniu początkowym  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , całkowicie rozkładany w czasie nie dłuższym niż: 3 dni przez gatunki: *Pycnoporus cinnabarinus*, *Irpex lactus* i *P. ostreatus*, 7 dni przez grzyb *T. versicolor* oraz 14 dni przez gatunki: *B. adusta* i *Dichomitus squalens* [78]. W tym miejscu należy też wspomnieć o zastosowaniu enzymów izolowanych z WRF. Bardzo efektywna okazała się

peroksydaza uniwersalna z *B. adusta*, która w ciągu 10 minut całkowicie usunęła 17 $\beta$ -estradiol i 17 $\alpha$ -etynyloestradiol znajdujące się w początkowym stężeniu 10 mg·l<sup>-1</sup> [79]. Analogiczne badanie przeprowadzili także Eibes i wsp. (2011), w którym 17 $\beta$ -estradiol występujący początkowo w stężeniu 2,5 mg·l<sup>-1</sup> uległ całkowitemu rozkładowi już po 5 minutach [80]. W innym eksperymencie, gdzie stężenie początkowe każdego estrogeny wynosiło 5 mg·l<sup>-1</sup>, lakaza z *Myceliophthora thermophila* rozłożyła 60% estronu i 17 $\beta$ -estradiolu 17 $\alpha$ -etynyloestradiol, zaś taką samą ilość 17 $\alpha$ -etynyloestradiolu w ciągu 5 h. Warto dodać, że dodatkowo 20% 17 $\alpha$ -etynyloestradiolu i 17 $\alpha$ -etynyloestradiolu oraz 10% estronu zostało usunięte przez lakazę poprzez adsorpcję na cząsteczkach enzymu [81].

### 5.3.6. Antybiotyki

Wśród chemioterapeutyków, które są rozkładane przez WRF, można wskazać sulfonamidy. Całkowite usunięcie sulfametazyny (stężenie początkowe 9 mg·l<sup>-1</sup>) przez *T. versicolor* po 20 h zostało potwierdzone w badaniu przeprowadzonym przez Garcia-Galan i wsp. (2011) [82]. *T. versicolor* jest także zdolny do rozkładu innych sulfonamidów - sulfapiridyny i sulfatiazolu. Przykładem na to jest badanie rozkładu tych substancji, przy ich początkowych stężeniach w medium hodowlanym wynoszących 10 mg·l<sup>-1</sup>. Sulfapiridyna uległa całkowitemu rozkładowi już po 48 h, sulfatiazol zaś po upływie 72 h był

jeszcze wykrywalny na poziomie 20% początkowej ilości [83]. W innym eksperymencie zauważono również, że do rozkładu związków z grupy sulfonamidów mogą okazać się przydatni także przedstawiciele gatunków *B. adusta* i *P. chrysosporium*. Grzyby te usunęły po 4 dniach 32% sulfametoksazolu znajdującego się na początku w stężeniu 1 mg·l<sup>-1</sup>, a po 14 dniach już nie zidentyfikowano obecności antybiotyku w próbce [71]. Ważną grupą antybiotyków degradowanych przez WRF są fluorochinolony. Dla przykładu warto zaprezentować wyniki badania przeprowadzonego przez Prieto i wsp. (2011), w którym po 7 dniach zaobserwowano, że grzyb *T. versicolor* usunął 90% norfloksacynu o początkowym stężeniu 2 mg·l<sup>-1</sup> [84].

### 5.3.7. Immunosupresanty

Omawiając zdolność WRF do usuwania pozostałości API, należy wspomnieć badania przeprowadzone na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, które potwierdziły zdolność grzyba *P. ostreatus* do usuwania z medium hodowlanego kwasu mykofenolowego o początkowym stężeniu 100 ng·ml<sup>-1</sup>. Warto zwrócić uwagę na bardzo dobrą efektywność tego procesu, ponieważ już po 4 h związek ten był niewykrywalny [77].

Podsumowanie substancji aktywnych rozkładanych i usuwanych przez poszczególne gatunki grzybów zostało zebrane w tabeli 3.

Tabela 3. API rozkładane i usuwane przez WRF.

Gatunek WRF	Grupa związków	Substancja farmakologicznie czynna	Stopień rozkładu	Zastosowany układ biologiczny	Lit.
<i>Bjerkandera adusta</i>	Antybiotyki	Sulfametoksazol	100%	Grzybnia	[71]
	Antydepresanty	Citalopram	100%	Grzybnia	[71]
		Fluoksetyna	23%	Grzybnia	[71]
	NLPZ	Diklofenak	100%	Grzybnia	[71]
		Naprosken	100%	Grzybnia	[71]
	Steroidy	17 $\alpha$ -etynyloestradiol	100%	Grzybnia	[78]
				Układ enzymatyczny	[79]
		17 $\beta$ -estradiol	100%	Układ enzymatyczny	[79,80]
	Substancje o działaniu przeciwdrgawkowym	Karbamazepina	100%	Grzybnia	[71]
	Substancje o działaniu uspokajającym	Diazepam	40%	Grzybnia	[71]
<i>Dichomitus squalens</i>	Steroidy	17 $\alpha$ -etynyloestradiol	100%	Grzybnia	[78]
<i>Ganoderma lucidum</i>	NLPZ	Ibuprofen	100%	Grzybnia	[71]
	Regulatory gospodarki lipidowej	Gemfibrozyl	100%	Grzybnia	[74]
		Kwas kłofibrowy	20%	Grzybnia	[74]
<i>Irpex lacteus</i>	NLPZ	Ibuprofen	100%	Grzybnia	[71]
	Steroidy	17 $\alpha$ -etynyloestradiol	100%	Grzybnia	[78]
<i>Myceliophthora thermophila</i>	Steroidy	17 $\alpha$ -etynyloestradiol	80%	Układ enzymatyczny	[81]
		17 $\beta$ -estradiol	80%	Układ enzymatyczny	[81]
		Estron	70%	Układ enzymatyczny	[81]

<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Antybiotyki	Sulfametoksazol	100%	Grzybnia	[71]
	Antydepresanty	Citalopram	100%	Grzybnia	[71]
		Fluoksetyna	30%	Grzybnia	[71]
	NLPZ	Diklofenak	100%	Grzybnia	[71]
		Ibuprofen	100%	Grzybnia	[71]
		Naproksen	100%	Grzybnia	[71]
	Substancje o działaniu przeciwdrgawkowym	Karbamazepina	100%	Grzybnia	[71]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Substancje o działaniu uspokajającym	Diazepam	48%	Grzybnia	[71]
	Antydepresanty	Fluoksetyna	86%	Grzybnia	[77]
		Klomipramina	98%	Grzybnia	[77]
		Mianseryna	94%	Grzybnia	[77]
		Paroksetyna	94%	Grzybnia	[77]
		Sertralina	93%	Grzybnia	[77]
	Immunosupresanty	MPA	100%	Grzybnia	[77]
	NLPZ	Diklofenak	100%	Grzybnia	[73]
		Ketoprofen	100%	Grzybnia	[73]
	Steroidy	17 $\alpha$ -etynyloestradiol	100%	Grzybnia	[78]
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	Substancje o działaniu przeciwdrgawkowym	Karbamazepina	100%	Grzybnia	[74]
	Steroidy	17 $\alpha$ -etynyloestradiol	100%	Grzybnia	[78]
<i>Trametes versicolor</i>	Antybiotyki	Norfloksacyna	90%	Grzybnia	[84]
		Sulfametazyna	100%	Grzybnia	[82]
		Sulfapirydyna	100%	Grzybnia	[83]
		Sulfatiazol	80%	Grzybnia	[83]
	Antydepresanty	Citalopram	80%	Grzybnia	[76]
		Fluoksetyna	100%	Grzybnia	[76]
		Paroksetyna	100%	Grzybnia	[76]
		Sertralina	100%	Grzybnia	[76]
		Wenlafaksyna	90%	Grzybnia	[76]
	Beta-blokery	Atenolol	80%	Grzybnia	[74]
		Propranolol	80%	Grzybnia	[74]
	NLPZ	Diklofenak	$\geq 94\%$	Grzybnia	[72]
		Ibuprofen	100%	Grzybnia	[71]
	Regulatory gospodarki lipidowej	Gemfibrozyl	100%	Grzybnia	[74]
		Kwas kłofibrowy	20%	Grzybnia	[74]
	Steroidy	17 $\alpha$ -etynyloestradiol	100%	Grzybnia	[78]
	Substancje o działaniu przeciwdrgawkowym	Karbamazepina	100%	Grzybnia	[74]

## 6. Podsumowanie

Substancje czynne leków obecne w środowisku obejmują związki, które mogą być skategoryzowane do wielu różnych grup, w zależności od kryterium (grupy terapeutyczne, budowa chemiczna, działanie na poziomie molekularnym lub komórkowym). Główną przyczyną przedostawania się API do środowiska są ścieki, także te oczyszczone z oczyszczalni. Sumarycznie najczęściej identyfikowane są związki o działaniu biobójczym lub biostatycznym (m.in. przeciwbakteryjnym, przeciwpierwotniaczym, przeciwoznaczającym, cytostatycznym), choć najczęściej wykrywaną substancją farmakologicznie czynną jest diklofenak należący do niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Najrzadziej identyfikowane są steroidy, zarówno te hormonalne, jak i przeciwzapalne. Substancje o zastosowaniu farmakologicznym wykazują wiele toksycznych efektów wobec organizmów, do których zalicza się głównie zaburzenia wzrostu i rozwoju oraz procesy związane z rozrodem. Regulacji obecności API w środowisku podjęto się nie tylko ONZ w swoim dokumencie SAICM, ale także Unia Europejska, o czym świadczy Dyrektywa 2008/105/EC oraz związana z nią Decyzja Wykonawcza 2018/105/WE zawierająca listę związków (w tym API), których obecność w środowisku musi być obserwowana. Jednym z rozwiązań problemu nieefektywnego usuwania pozostałości API ze ścieków komunalnych przez oczyszczalnie jest zastosowanie grzybów z grupy WRF. Głównie dzięki swojemu aparatowi enzymatycznemu grzyby o aktywności ligninolitycznej potrafią rozkładać wiele typów związków, także tych o zastosowaniu terapeutycznym. Należy uwzględnić jednak, że większość badań to potwierdzających było prowadzonych w warunkach, które nie panują w oczyszczalni ścieków. W związku z tym niezbędne są dalsze badania nad aplikacyjnością WRF w procesie oczyszczania ścieków w dużej skali.

## 7. Wykaz skrótów

API	substancja czynna leków (ang. <i>active pharmaceutical ingredient</i> )
IWW	Reńsko-Westfalski Instytut Wody (niem. <i>Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser</i> )
MPA	kwas mykofenolowy (ang. <i>mycophenolic acid</i> )
NLPZ	niesteroidowe leki przeciwzapalne
OUN	ośrodkowy układ nerwowy
PMA	parametoksyamfetamina
SAICM	Strategiczne Podejście Organizacji Narodów Zjednoczonych do Międzynarodowego Zarządzania Chemikaliami (ang. <i>Strategic Approach to International Chemicals Management</i> )
UBA	Związkowy Urząd ds. Środowiska (niem. <i>Umwelt Bundesamt</i> )
WRF	grzyby białej zgnilizny (ang. <i>white-rot fungi</i> )

## 8. Bibliografia

1. aus der Beek, T., Weber, F.A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., Küster, A., Pharmaceuticals in the environment—Global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016, 35, 823-835.
2. Boxall, A.B., Rudd, M.A., Brooks, B.W., Caldwell, D.J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapik, K., Staveley, J.P., Verslycke, T., Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions? *Environmental Health Perspectives*, 2012, 120, 1221-1229.

3. Medicines use and spending in the US: A review of 2015 and outlook to 2020. 2016, Institute for Healthcare Informatics: Parsippany, New Jersey.
4. Halling-Sørensen, B., Nielsen, S.N., Lanzky, P., Ingerslev, F., Lützhøft, H.H., Jørgensen, S., Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—A review. *Chemosphere*, 1998, 36, 357-393.
5. Pharmaceuticals in the environment - the global perspective. Occurrence, effects, and potential cooperative action under SAICM. 2014, Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser.
6. Rodríguez-Couto, S., Industrial and environmental applications of white-rot fungi. *Mycosphere*, 2017, 8, 456-466.
7. Burns, E.E., Thomas-Oates, J., Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Boxall, A.B., Are exposure predictions, used for the prioritization of pharmaceuticals in the environment, fit for purpose? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2017, 36, 2823-2832.
8. Szymonik, A., Lach, J., Zagrożenie środowiska wodnego obecnością środków farmaceutycznych. *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 2012, 15, 249-263.
9. Wontorska, K., Wąsowski, J., Problematyka usuwania farmaceutyków w procesach oczyszczania ścieków. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna*, 2018, 1, 36-42.
10. Subedi, B., Kannan, K., Occurrence and fate of select psychoactive pharmaceuticals and antihypertensives in two wastewater treatment plants in New York State, USA. *Science of the Total Environment*, 2015, 514, 273-280.
11. Dusi, E., Rybicki, M., Jungmann, D., The Database "Pharmaceuticals in the Environment"—Update and New Analysis. 2019: Umweltbundesamt.
12. Umwelt Bundesamt, Database "Pharmaceuticals in the environment", 26.06.2019, <https://www.umweltbundesamt.de/en/database-pharmaceuticals-in-the-environment-0>, [dostęp: 27.08.2021].
13. Nikolaou, A., Meric, S., Fatta, D., Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 387, 1225-1234.
14. Garrison, A., GC/MS analysis of organic compounds in domestic wastewaters. Identification and analysis of organic pollutants in water, 1976.
15. Dyrektywa Rady z dnia 21 maja 1991 r. dotycząca oczyszczania ścieków komunalnych (91/271/EWG).
16. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2013/39/UE z dnia 12 sierpnia 2013 r. zmieniająca dyrektywę 2000/60/WE i 2008/105/WE w zakresie substancji priorytetowych w dziedzinie polityki wodnej, in Dz. Urz. UE L'226/1 24.8.2013 2013.
17. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej z dnia 20 marca 2015r. ustanawiająca listę obserwacyjną substancji do celów monitorowania obejmującego całą Unię w zakresie polityki wodnej na podstawie dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2008/105/WE., in Dz. Urz. UE L'78/40, 24.3.2015.
18. Decyzja Wykonawcza Komisji (UE) 2018/840 z dnia 5 czerwca 2018 r. ustanawiająca listę obserwacyjną substancji do celów monitorowania obejmującego całą Unię w zakresie polityki wodnej na podstawie dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2008/105/WE i uchylającą decyzję wykonawczą Komisji (UE) 2015/495 (notyfikowana jako dokument nr C(2018) 3362) Dz.U. UE L 141, 2018, 7.6.2018, 9-12.
19. Komunikat Komisji Do Parlamentu Europejskiego, Rady i Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-społecznego Strategiczne podejście Unii Europejskiej do substancji farmaceutycznych w środowisku.
20. Koreje, K.O., Demeestere, K., De Wispelaere, P., Vergenst, L., Dewulf, J., Van Langenhove, H., From multi-residue screening to target analysis of pharmaceuticals in water: development of a new approach based on magnetic sector mass spectrometry and application in the Nairobi River basin, Kenya. *Science of the Total Environment*, 2012, 437, 153-164.
21. Matongo, S., Birungi, G., Moodley, B., Ndungu, P., Pharmaceutical residues in water and sediment of Msunduzi River, kwazulu-natal, South Africa. *Chemosphere*, 2015, 134, 133-140.
22. Manickum, T., John, W., Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater

- treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). *Science of the Total Environment*, 2014, 468, 584-597.
23. Mburu, N., Tebitendwa, S.M., van Bruggen, J.J., Rousseau, D.P., Lens, P.N., Performance comparison and economics analysis of waste stabilization ponds and horizontal subsurface flow constructed wetlands treating domestic wastewater: A case study of the Juja sewage treatment works. *Journal of Environmental Management*, 2013, 128, 220-225.
  24. Kostich, M.S., Batt, A.L., Lazorchak, J.M., Concentrations of prioritized pharmaceuticals in effluents from 50 large wastewater treatment plants in the US and implications for risk estimation. *Environmental Pollution*, 2014, 184, 354-359.
  25. McEneff, G., Barron, L., Kelleher, B., Paull, B., Quinn, B., A year-long study of the spatial occurrence and relative distribution of pharmaceutical residues in sewage effluent, receiving marine waters and marine bivalves. *Science of the Total Environment*, 2014, 476-477, 317-26.
  26. Gibson, R., Durán-Álvarez, J.C., Estrada, K.L., Chávez, A., Cisneros, B.J., Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere*, 2010, 81, 1437-1445.
  27. Ferreira, A.P., Identification and quantification of ibuprofen in conventional wastewater treatment plants in Rio de Janeiro, Brazil, and their discharge to the aquatic environment. *Journal of Advances in Biology*, 2014, 4, 305-313.
  28. Pacheco Ferreira, A., Environmental Investigation of Psychiatric Pharmaceuticals: Guandu River, Rio De Janeiro State, Southeast Brazil. *Journal of Chemical Health Risks*, 2018, 4,
  29. Roberts, J., Kumar, A., Du, J., Hepplewhite, C., Ellis, D.J., Christy, A.G., Beavis, S.G., Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Australia's largest inland sewage treatment plant, and its contribution to a major Australian river during high and low flow. *Science of the Total Environment*, 2016, 541, 1625-1637.
  30. Wu, M., Xiang, J., Que, C., Chen, F., Xu, G., Occurrence and fate of psychiatric pharmaceuticals in the urban water system of Shanghai, China. *Chemosphere*, 2015, 138, 486-493.
  31. Ma, R., Wang, B., Lu, S., Zhang, Y., Yin, L., Huang, J., Deng, S., Wang, Y., Yu, G., Characterization of pharmaceutically active compounds in Dongting Lake, China: occurrence, chiral profiling and environmental risk. *Science of the Total Environment*, 2016, 557, 268-275.
  32. Sheng, L.-H., Chen, H.-R., Huo, Y.-B., Wang, J., Zhang, Y., Yang, M., Zhang, H.-X., Simultaneous determination of 24 antidepressant drugs and their metabolites in wastewater by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Molecules*, 2014, 19, 1212-1222.
  33. Fang, T.-H., Nan, F.-H., Chin, T.-S., Feng, H.-M., The occurrence and distribution of pharmaceutical compounds in the effluents of a major sewage treatment plant in Northern Taiwan and the receiving coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 2012, 64, 1435-1444.
  34. Subedi, B., Balakrishna, K., Joshua, D.I., Kannan, K., Mass loading and removal of pharmaceuticals and personal care products including psychoactives, antihypertensives, and antibiotics in two sewage treatment plants in southern India. *Chemosphere*, 2017, 167, 429-437.
  35. Loos, R., Carvalho, R., António, D.C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., Ghiani, M., Lettieri, T., Blaha, L., EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research*, 2013, 47, 6475-6487.
  36. Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T., Grabic, R., Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 2014, 111, 418-426.
  37. Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: new developments. *Science of the Total Environment*, 2013, 454-455, 442-56.
  38. Salgado, R., Noronha, J., Oehmen, A., Carvalho, G., Reis, M., Analysis of 65 pharmaceuticals and personal care products in 5 wastewater treatment plants in Portugal using a simplified analytical methodology. *Water Science and Technology*, 2010, 62, 2862-2871.
  39. Meierjohann, A., Brozinski, J.-M., Kronberg, L., Seasonal variation of pharmaceutical concentrations in a river/lake system in Eastern Finland. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 2016, 18, 342-349.
  40. Kosonen, J., Kronberg, L., The occurrence of antihistamines in sewage waters and in recipient rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 2009, 16, 555-564.
  41. Giebułtowicz, J., Nalecz-Jawecki, G., Occurrence of antidepressant residues in the sewage-impacted Vistula and Utrata rivers and in tap water in Warsaw (Poland). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 104, 103-109.
  42. Giebułtowicz, J., Nalecz-Jawecki, G., Occurrence of immunosuppressive drugs and their metabolites in the sewage-impacted Vistula and Utrata Rivers and in tap water from the Warsaw region (Poland). *Chemosphere*, 2016, 148, 137-147.
  43. Styszko, K., Proctor, K., Castrignanò, E., Kasprzyk-Hordern, B., Occurrence of pharmaceutical residues, personal care products, lifestyle chemicals, illicit drugs and metabolites in wastewater and receiving surface waters of Krakow agglomeration in South Poland. *Science of the Total Environment*, 2021, 768, 1-18.
  44. Vasquez, M.I., Lambrianides, A., Schneider, M., Kümmerer, K., Fatta-Kassinos, D., Environmental side effects of pharmaceutical cocktails: what we know and what we should know. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 279, 169-189.
  45. Fabbri, E., Pharmaceuticals in the environment: expected and unexpected effects on aquatic fauna. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2015, 1340, 20-28.
  46. Hallgren, P., Nicolle, A., Hansson, L.A., Brönmark, C., Nikoleris, L., Hyder, M., Persson, A., Synthetic estrogen directly affects fish biomass and may indirectly disrupt aquatic food webs. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2014, 33, 930-936.
  47. Thilagam, H., Gopalakrishnan, S., Bo, J., Wang, K.J., Effect of 17β-estradiol on the immunocompetence of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 2009, 28, 1722-1731.
  48. Adeel, M., Song, X., Wang, Y., Francis, D., Yang, Y., Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review. *Environment International*, 2017, 99, 107-119.
  49. Bielen, A., Šimatović, A., Kosić-Vukšić, J., Senta, I., Ahel, M., Babić, S., Jurina, T., Plaza, J.J.G., Milaković, M., Udiković-Kolić, N., Negative environmental impacts of antibiotic-contaminated effluents from pharmaceutical industries. *Water Research*, 2017, 126, 79-87.
  50. Kristofco, L.A., Brooks, B.W., Global scanning of antihistamines in the environment: Analysis of occurrence and hazards in aquatic systems. *Science of the Total Environment*, 2017, 592, 477-487.
  51. Bergheim, M., Gminski, R., Spangenberg, B., Dębiak, M., Bürkle, A., Mersch-Sundermann, V., Kümmerer, K., Gieré, R., Recalcitrant pharmaceuticals in the aquatic environment: a comparative screening study of their occurrence, formation of phototransformation products and their *in vitro* toxicity. *Environmental Chemistry*, 2014, 11, 431-444.
  52. Parrella, A., Lavorgna, M., Criscuolo, E., Russo, C., Fiumano, V., Isidori, M., Acute and chronic toxicity of six anticancer drugs on rotifers and crustaceans. *Chemosphere*, 2014, 115, 59-66.
  53. Lee, J., Ji, K., Kho, Y.L., Kim, P., Choi, K., Chronic exposure to diclofenac on two freshwater cladocerans and Japanese medaka. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74, 1216-1225.
  54. Heath, E., Filipič, M., Kosjek, T., Isidori, M., Fate and effects of the residues of anticancer drugs in the environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23, 14687-14691.
  55. Ericson, H., Thorsén, G., Kumblad, L., Physiological effects of diclofenac, ibuprofen and propranolol on Baltic Sea blue mussels. *Aquatic Toxicology*, 2010, 99, 223-231.
  56. Maszkowska, J., Stolte, S., Kumirska, J., Łukaszewicz, P., Mioduszevska, K., Puckowski, A., Caban, M., Wagil, M., Stepnowski, P., Białk-Bielińska, A., Beta-blockers in the environment: Part II. Ecotoxicity study. *Science of the Total Environment*, 2014, 493, 1122-1126.
  57. Mennigen, J.A., Lado, W.E., Zamora, J.M., Duarte-Guterman, P., Langlois, V.S., Metcalfe, C.D., Chang, J.P., Moon, T.W., Trudeau, V.L., Waterborne fluoxetine disrupts the reproductive axis in

- sexually mature male goldfish, *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology*, 2010, 100, 354-364.
58. Coppola, F., Almeida, Â., Henriques, B., Soares, A.M., Figueira, E., Pereira, E., Freitas, R., Biochemical impacts of Hg in *Mytilus galloprovincialis* under present and predicted warming scenarios. *Science of the Total Environment*, 2017, 601, 1129-1138.
  59. Sehonova, P., Plhalova, L., Blahova, J., Doubkova, V., Marsalek, P., Prokes, M., Tichy, F., Skladana, M., Fiorino, E., Mikula, P., Effects of selected tricyclic antidepressants on early-life stages of common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 2017, 185, 1072-1080.
  60. Yang, M., Liu, S., Hu, L., Zhan, J., Lei, P., Wu, M., Effects of the antidepressant, mianserin, on early development of fish embryos at low environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 150, 144-151.
  61. Estévez-Calvar, N., Canesi, L., Montagna, M., Faimali, M., Piazza, V., Garaventa, F., Adverse effects of the SSRI antidepressant sertraline on early life stages of marine invertebrates. *Marine Environmental Research*, 2017, 128, 88-97.
  62. Henry, T.B., Kwon, J.W., Armbrust, K.L., Black, M.C., Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 23, 2229-33.
  63. Hassett, B., Gradinger, R., Chytrids dominate arctic marine fungal communities. *Environmental Microbiology*, 2016, 18, 2001-2009.
  64. Sista Kameshwar, A.K., Qin, W., Comparative study of genome-wide plant biomass-degrading CAZymes in white rot, brown rot and soft rot fungi. *Mycology*, 2018, 9, 93-105.
  65. Kotwzan, B., Adamiak, W., Dziubek, A., Możliwości zastosowania grzybów w technologiach oczyszczania i remediacji wybranych elementów środowiska. *Ochrona Środowiska*, 2018, 40, 3-20.
  66. Bankole, P.O., Adekunle, A.A., Govindwar, S.P., Biodegradation of a monochlorotriazine dye, cibacron brilliant red 3B-A in solid state fermentation by wood-rot fungal consortium, *Daldinia concentrica* and *Xylaria polymorpha*: Co-biomass decolorization of cibacron brilliant red 3B-A dye. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 120, 19-27.
  67. Fernando, M., Wijesundera, R., Soysa, S., de Silva, E., Nanayakkara, C., Antioxidant potential and content of the polyphenolic secondary metabolites of white rot macrofungi; *Flavodon flavus* (Klotzsch.) and *Xylaria feejeensis* (Berk.). *SDRP Journal of Plant Science*, 2016, 1,
  68. Koyani, R.D., Pramod, S., Patel, H.R., Vasava, A.M., Rao, K.S., Rajput, K.S. Anatomical characterisation and *in vitro* laboratory decay test of different woods decayed by *Xylaria hypoxylon*. 2017. Singapore: Springer Singapore.
  69. Asif, M.B., Hai, F.I., Singh, L., Price, W.E., Nghiem, L.D., Degradation of pharmaceuticals and personal care products by white-rot fungi—a critical review. *Current Pollution Reports*, 2017, 3, 88-103.
  70. Krzyżewska, I., Kozarska, A., Biodegradacja wybranych związków organicznych przy użyciu organizmów White Rot Fungi. Cz. 1. LAB: Laboratoria, Aparatura, Badania, 2016, 21,
  71. Rodarte-Morales, A., Feijoo, G., Moreira, M., Lema, J., Degradation of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27, 1839-1846.
  72. Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Cruz-Morató, C., Caminal, G., Vicent, T., Degradation of the drug sodium diclofenac by *Trametes versicolor* pellets and identification of some intermediates by NMR. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 176, 836-842.
  73. Palli, L., Castellet-Rovira, F., Perez-Trujillo, M., Caniani, D., Sarra-Adroguer, M., Gori, R., Preliminary evaluation of *Pleurotus ostreatus* for the removal of selected pharmaceuticals from hospital wastewater. *Biotechnology Progress*, 2017, 33, 1529-1537.
  74. Vasiliadou, I., Sánchez-Vázquez, R., Molina, R., Martínez, F., Melero, J., Bautista, L., Iglesias, J., Morales, G., Biological removal of pharmaceutical compounds using white-rot fungi with concomitant FAME production of the residual biomass. *Journal of Environmental Management*, 2016, 180, 228-237.
  75. Golan-Rozen, N., Chefetz, B., Ben-Ari, J., Geva, J., Hadar, Y., Transformation of the recalcitrant pharmaceutical compound carbamazepine by *Pleurotus ostreatus*: role of cytochrome P450 monooxygenase and manganese peroxidase. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45, 6800-6805.
  76. Cruz-Morató, C., Lucas, D., Llorca, M., Rodríguez-Mozaz, S., Gorga, M., Petrovic, M., Barceló, D., Vicent, T., Sarrà, M., Marco-Urrea, E., Hospital wastewater treatment by fungal bioreactor: removal efficiency for pharmaceuticals and endocrine disruptor compounds. *Science of the Total Environment*, 2014, 493, 365-376.
  77. Kózka, B., Nałęcz-Jawecki, G., Turto, J., Giebuttowicz, J., Application of *Pleurotus ostreatus* to efficient removal of selected antidepressants and immunosuppressant. *Journal of Environmental Management*, 2020, 273, 1-8.
  78. Cajthaml, T., Kresinova, Z., Svobodova, K., Moder, M., Biodegradation of endocrine-disrupting compounds and suppression of estrogenic activity by ligninolytic fungi. *Chemosphere*, 2009, 75, 745-750.
  79. Taboada-Puig, R., Junghanns, C., Demarche, P., Moreira, M.T., Feijoo, G., Lema, J.M., Agathos, S.N., Combined cross-linked enzyme aggregates from versatile peroxidase and glucose oxidase: Production, partial characterization and application for the elimination of endocrine disruptors. *Bioresource Technology*, 2011, 102, 6593-6599.
  80. Eibes, G., Debernardi, G., Feijoo, G., Moreira, M.T., Lema, J.M., Oxidation of pharmaceutically active compounds by a ligninolytic fungal peroxidase. *Biodegradation*, 2011, 22, 539-550.
  81. Lloret, L., Hollmann, F., Eibes, G., Feijoo, G., Moreira, M.T., Lema, J.M., Immobilisation of laccase on Eupergit supports and its application for the removal of endocrine disrupting chemicals in a packed-bed reactor. *Biodegradation*, 2012, 23, 373-386.
  82. García-Galán, M.J., Rodríguez-Rodríguez, C.E., Vicent, T., Caminal, G., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., Biodegradation of sulfamethazine by *Trametes versicolor*: Removal from sewage sludge and identification of intermediate products by UPLC-QqTOF-MS. *Science of the Total Environment*, 2011, 409, 5505-5512.
  83. Rodríguez-Rodríguez, C.E., García-Galán, M.J., Blázquez, P., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., Caminal, G., Vicent, T., Continuous degradation of a mixture of sulfonamides by *Trametes versicolor* and identification of metabolites from sulfapyridine and sulfathiazole. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 213, 347-354.
  84. Prieto, A., Möder, M., Rodil, R., Adrian, L., Marco-Urrea, E., Degradation of the antibiotics norfloxacin and ciprofloxacin by a white-rot fungus and identification of degradation products. *Bioresource Technology*, 2011, 102, 10987-10995.