

OCENA OBREMENITVE SLOVENSКИH VOD S HORMONI IN IZBRANIMI HORMONSKIMI MOTILCI

ASSESSMENT OF SLOVENIAN WATERS' BURDEN WITH HORMONES AND SELECTED ENDOCRINE DISRUPTORS

AVTORJI / AUTHORS:

asist. dr. Andrej Grobin, mag. farm.

prof. dr. Robert Roškar, mag. farm.

doc. dr. Jurij Trontelj, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: andrej.grobin@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Hormoni in nekatere zdravilne učinkovine v okolju delujejo kot kemični motilci endokrinega sistema (KMES), ki imajo lahko resne učinke na vodne organizme in človeka. Zaradi pomanjkljivih podatkov o njihovi pojavnosti in tveganjih smo razvili in validirali ultra občutljivo analizo metodo za kvantitativno določanje prisotnosti 25 različnih KMES. Z njo smo analizirali 36 vzorcev odpadnih in 33 rečnih vod in pri tem uspešno kvantificirali 16 KMES, z najvišjimi koncentracijami bisfenolov (BP) S, A in F, estriola in klormadinona ter koncentracijami nad varnimi za estradiol in etinil estradiol. Določili smo, da so čistilne naprave v splošnem uspešne pri odstranjevanju večine KMES, a so trenutno preobremenjene. Prisotnost BPA, estradiola, BPS in estrona predstavlja veliko tveganje v večini, prisotnost sinteznih steroidov pa v desetini vzorcev rečnih vod, pri čemer so varne meje v več vzorcih presežene tudi za dva velikostna razreda.

KLJUČNE BESEDE:

čistilne naprave, kemični motilci endokrinega sistema, ocena tveganja, površinska voda

ABSTRACT

Hormones and some active pharmaceutical ingredients can act as endocrine disruptors (EDs) in the environment, which can have serious effects on aquatic organisms and humans. Due to insufficient data on their occurrence and risks, we developed and validated an ultra-sensitive analytical method for quantitative determination of the occurrence of 25 different EDs. With it, we analyzed 36 wastewater and 33 river water samples and successfully quantified 16 EDs, with the highest concentrations of bisphenols (BPs) S, A and F, estriol and chlormadinone, and with concentrations above safe levels for estradiol and ethinyl estradiol. We determined that wastewater treatment plants are generally successful in the removal of most EDs but are currently overburdened. The presence of BPA, estradiol, BPS and estrone represents high risk in the majority, and the presence of synthetic steroids in a tenth of the river water samples, with the safe limits exceeded by two orders of magnitude in several samples.

KEY WORDS:

endocrine disruptors, risk assessment, surface water, wastewater treatment plants



ALI STE VEDELI?

- Tudi zdravilne učinkovine lahko delujejo kot kemični motilci endokrinega sistema.
- Podatki o prisotnosti problematičnih spojin v okolju so trenutno izrazito pomanjkljivi.
- Koncentracije nad priporočenimi varnimi vrednostmi v okolju smo določili za štiri spojine.
- Čistilne naprave so v splošnem uspešne v odstranjevanju bremena spojin, a so preobremenjene.

1 UVOD

Spojine, ki delujejo kot kemični motilci endokrinega sistema (KMES), so ena najpomembnejših skupin onesnaževal v vodnem okolju. To je še posebej pomembno za spojine, ki delujejo na estrogenske receptorje (ER), saj so učinkovite že v zelo nizkih koncentracijah. Tako smo v okviru naših raziskav kot osnovno farmakološko skupino obravnave izbrali estrogene hormone in zdravilne učinkovine, ki izkazujejo podobne učinke na ER. Ob tem so pomembna tudi onesnaževala s podobnimi učinki, s katerimi smo stalno v stiku, kot so npr. bisfenoli (BP), še posebej če upoštevamo njihovo razširjenost in obseg proizvodnje (1). Na trg, in posledično v okolje, stalno vstopajo vedno nove spojine, katerih uporaba sprva ni dovolj dobro regulirana (2). Tako so podatki o pojavnosti in netarčnih učinkih na organizme za nekatere skupine spojin še vedno pomanjkljivi, kar velja tudi za spojine, ki jih uporabljamo v manjšem, a vseeno pomembnem obsegu, npr. nekatera zdravila (3).

Večina zdravil, namenjenih uporabi v humani medicini, konča v odtokih komunalnega sistema. V veliki večini se estrogene spojine izločijo iz telesa po metabolizmu, manjši delež zdravilnih učinkovin se v odtočnih sistemih znajde tudi kot posledica nepravilnega odstranjevanja neuporabljenih zdravil. Voda iz odtokov se v večinskem deležu steka v čistilne naprave.

Problematika visokih koncentracij v odpadnih vodah in tveganja, povezana s tem, so še posebej pomembna, saj tudi do 10 % pretoka odpadnih vod pušča v okolje (4, 5). Tako KMES v visokih koncentracijah vstopajo v tla, kjer lahko sčasoma končajo v podzemni vodi in pitni vodi. Združeni narodi ocenjujejo, da do 80 % odpadnih vod po vsem svetu neobdelanih izpustimo v okolje, v razponu od 30 % v razvitih državah do 92 % v nerazvitih regijah (6). Poleg tega pa se globalno kot tudi v EU ob slabšanjih vremenskih

razmer in posledično vedno obsežnejših in intenzivnih sušnih obdobjih povečuje tudi ponovna uporaba obdelanih odpadnih vod v kmetijstvu za zalivanje rastlin (7).

Pojavnost KMES v vodnem okolju so potrdili v mnogih raziskavah po svetu, s koncentracijami od tistih pod 1 ng/L do velikostnega razreda $\mu\text{g/L}$ (8–11). Te koncentracije so relativno nizke v primerjavi s tistimi, ki bi jih v okolju pričakovali ob tipičnih odmerkih zdravil (12), a je mnogo KMES zaradi svojega vpliva na delovanje hormonskega sistema učinkovitih že v zelo nizkih koncentracijah in pri teh koncentracijah v okolju predstavljajo tveganje za vodne organizme in človeka. Netarčni učinki KMES so lahko zelo problematični, saj lahko zaradi njih potencialno pride do razvoja rakavih obolenj in motenj imunskega, neuroendokrinega in reprodukativnega sistema (13, 14). Motnja slednjega predstavlja veliko breme sodobnih zdravstvenih sistemov, saj je povezan z negativnimi vplivi na plodnost (15, 16).

V literaturi je premalo metod, ki bi omogočale verodostojno opredelitev tveganja za določanje pojavnosti KMES v okolju, saj so večinoma osredotočene zgolj na majhen nabor spojin (17, 18). Dodatna omejitev večine že objavljenih metod pa je v tem, da je njihova sposobnost zanesljive določitve pojavnosti KMES v okoljskih koncentracijah določena zelo pavšalno s teoretičnimi izračuni vrednosti meje določljivosti (LOQ).

Zaradi pomanjkljivosti objavljenih analiznih metod in pomanjkljivih podatkov o pojavnosti določenih KMES v literaturi v prispevku predstavljamo validirano analizo metodo, primerno za spremljanje pojavnosti 25 KMES z največjim naborom naravnih hormonov (NH) in sinteznih steroidov (SS) do sedaj v različnih vrstah vod, ter zbrane rezultate njihove pojavnosti v vzorcih slovenskih rečnih in odpadnih vod. Pripravili smo tudi oceno tveganja, ki jih spojine v vodah predstavljajo.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 VZORCI ODPADNIH VOD

V predhodno očiščene steklene 1-litrške vsebnike smo vzorčili vtoke in iztoke iz 18 različnih čistilnih naprav po Sloveniji. Najmanjša čistilna naprava je bila velikosti zgolj 400 in največja 360.000 populacijskih ekvivalentov. Za ekstrakcijo vzorcev odpadnih vod smo 250 mL alikvotom dodali enak volumen 25 mM fosfatnega pufrs s pH 7,0 in

jih ekstrahirali na polavtomatskem ekstrakcijskem sistemu Horizon Technologies SPE-DEX 4790 z uporabo ekstrakcijskih diskov Atlantic HLB H.

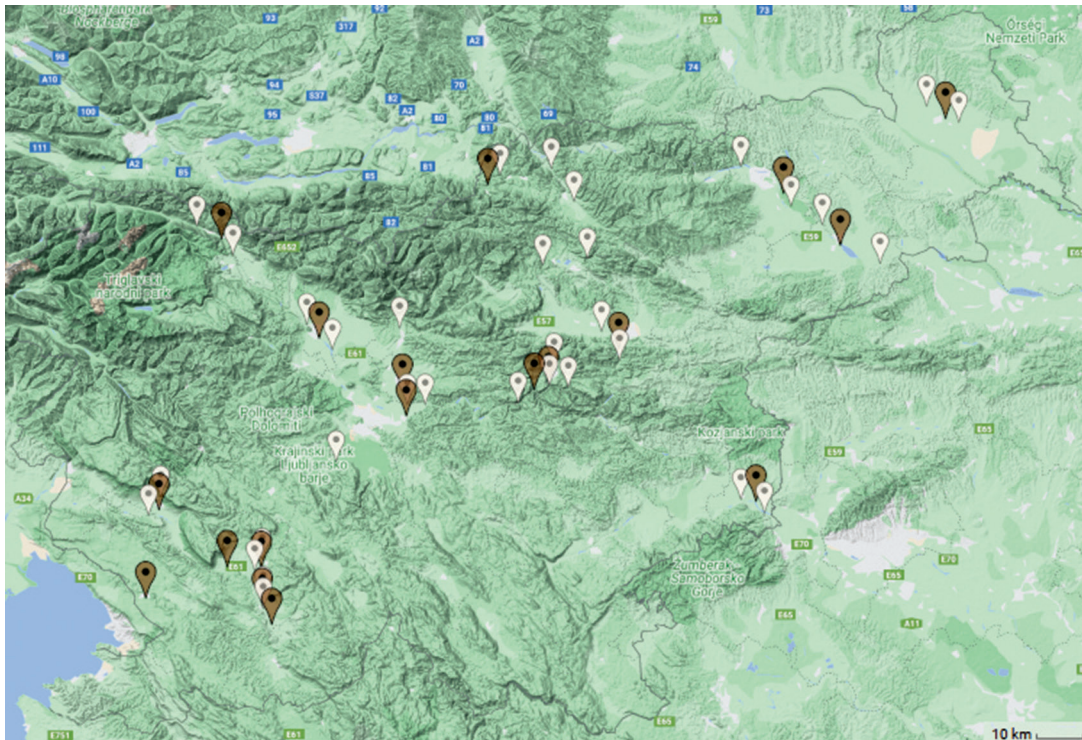
2.2 VZORCI POVRŠINSKIH VOD

V predhodno očiščene steklene 1-litrške vsebnike smo na globini 1 metra s pomočjo teleskopske palice za vzorčenje zbrali 33 vzorcev rečnih vod iz 15 rek, v katere so speljani iztoki iz obravnavanih čistilnih naprav. Lokacije vzorčenja so prikazane na sliki 1. Za ekstrakcijo vzorcev rečnih vod smo uporabili ekstrakcijo na trdnem nosilcu s kartušami Phenomenex Strata X s polimerno reverzno fazo. Na predhodno aktivirano kartušo smo nanесли 200 mL vzorca vode s prilagojeno vrednostjo pH 4, nato smo sorbent posušili in ekstrakte eluirali z 2 mL ekstrakcijskega topila, jih posušili v vodni kopeli s prepihanjem z dušikom in jih nato ponovno raztopili v 200 μ L rekonstitucijskega topila. 50-mikrolitrski alikvot tega smo nato v posebnem postopku še derivatizirali z danzil kloridom, preostanek vzorca pa smo analizirali neposredno (18).

2.3 INSTRUMENTALNA ANALIZA

Obe vrsti vzorcev smo analizirali s tekočinskim kromatografom Agilent 1290 Infinity, sklopljenim z masnim detektorjem vrste trojni kvadrupol Agilent 6460 (18). V vzorcih smo določali koncentracije 25 KMES z visokim tveganjem v njihovih ekološko relevantnih koncentracijah iz skupin NH (estradiol (E2), estron (E1), estriol (E3), testosteron, kortikosteron, progesteron), SS, ki jih uporabljamo za kontracepcijo in zdravljenje simptomov menopavze (etinil estradiol (EE2), drospirenon, klormadinon acetat, norgestrel, gestoden, tibolon, noretindron, dienogest, ciproteron) in bisfenolov (BPS, BPA, BPF, BPE, BPAF, BPAP, BPB, BPC, BPG in BPZ).

Metodo smo v celoti validirali v smislu selektivnosti (signali brez presluhov), delovnega območja (R^2 nad 0,999 za večino analitov v širini območja treh velikostnih razredov), večparametrične določitve dejanskih mej določljivosti (od 60 μ g/L do 2,8 ng/L), točnosti (81–117 %), natančnosti (RSD < 20 %), izkoristka (73–118 %), učinka ozadja (–20,6 do 23,4 %) in stabilnosti (> 90 % v 48 urah). Za še dodatno



Slika 1: Lokacije vzorčenja površinskih vod, predstavljene na zemljevidu. Bele oznake predstavljajo lokacije vzorčenja rečnih vod, rjave pa predstavljajo čistilne naprave. Slike zemljevida pridobljene na maps.co.

Figure 1: Surface water sampling locations presented on a geographical map. White pins represent surface water sampling locations while brown pins represent wastewater treatment plants. Map image courtesy of maps.co.



potrditev točnosti izmerjenih koncentracij smo izvedli tudi standardni dodatek za oceno relativnega učinka ozadja, ki je pokazal, da metoda tudi brez dodatka daje ustrezne rezultate.

2.4 OCENA TVEGANJA IN SPEARMANOVA KORELACIJSKA ANALIZA

Ocene tveganja spojin smo izvedli s tristopenjskim sistemom, ki razvršča snovi v skladu z njihovim potencialom za strupenost za vodne organizme. Izračunali smo količnik tveganja (*risk quotient*, RQ), delež preseganja vrednosti predvidene koncentracije brez učinka (Fq) in prioritetni indeks (PI). Dodatno smo v okviru ocene tveganja izračunali še estradiolske ekvivalente.

Za določitev povezav med različnimi družbeno-ekonomskimi dejavniki, povezanimi z onesnaženostjo vode, smo izvedli Spearmanovo korelacijsko analizo z vtičnikom Real Statistics v programu Microsoft Excel (19). Za izračune smo uporabili podatke Statističnega urada RS.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 POJAVNOST KMES V VODAH

V odpadnih vodah v vtokih čistilnih naprav smo določili koncentracije bisfenolov A, F in S v koncentracijah, višjih od 1 µg/L, s 100-odstotno frekvenco zaznavanja, BPE pa v koncentracijah pod 1 µg/L v 44 % vzorcev.

Koncentracije večine bisfenolov so v iztokih (v primerjavi z vtoki) izrazito nižje, razen BPA. Koncentracije NH v vtokih so tudi do 1 µg/L, v iztokih pa so izrazito nižje. Izjema je E2, kjer so koncentracije v obeh vrstah vzorcev odpadnih vod primerljive.

Od 9 SS, ki smo jih vključili v raziskavo, smo jih določili 7, čeprav EE2 le v 27 % vzorcev rečnih vod. Vse izmerjene koncentracije SS so primerljive ali celo višje od koncentracij NH tudi v iztokih iz čistilnih naprav, kar poudarja pomen njihovega spremljanja v okolju. V iztokih smo zaznali drospirenon v več kot 25 % vzorcev in v nižjih koncentracijah kot v vtokih.

V rečnih vodah so koncentracije BPA, BPS in NH višje v vzorcih, odvzetih po čistilni napravi v primerjavi s tistimi,

odvzetimi pred čistilno napravo. Pogostosti zaznave so v obeh vrstah vzorcev rečnih vod primerljive, medtem ko so pri NH pogostnosti še višje v vzorcih, odvzetih po čistilnih napravah, za E1 in E3. Zanimivo je, da je na primer faktor redčenja rečnih vod v čistilni napravi 9 s povprečnim vtočnim pretokom 1,2 m³/s in rečnim pretokom 74,2 m³/s približno 62. Vsota koncentracij KMES v vzorcih rečnih vod pred in po čistilni napravi 9 je 13 oziroma 55 ng/L. Razliko pripisujemo prispevku čistilne naprave. Ker je vsota koncentracij v iztoku čistilne naprave 9 357 ng/L s faktorjem redčenja 62, bi pričakovali skupno povečanje koncentracije v rečni vodi za 5,8 ng/L. Temu pa ni tako, saj se le-ta poveča za 42 ng/L, kar pomeni, da je prisotnost KMES v vodi za več kot 7-krat večja, kot bi pričakovali zgolj na podlagi redčenja iztokov iz čistilne naprave. To nakazuje na to, da so KMES bolj obstojni v okolju, kot bi pričakovali zgolj iz prispevka iztokov iz čistilne naprave in njihovega redčenja v rekah, kar se sklada z ugotovitvami drugih raziskovalcev, ki so proučevali sorodne hormone spojine (20). Pomembno je omeniti, da bi lahko prispevek drugih virov, ki vstopajo v rečne vode mimo čistilnih naprav, ter povratna pretvorba konjugatov v osnovne molekule estrogenov nekoliko izkrivljala te rezultate, in tudi, da pretok iz čistilne ni popolnoma enak vtoku v čistilno napravo, a sta primerljiva, zato smo računali s slednjim, ker podatki o iztoku iz čistilnih naprav niso bili dostopni.

Podobno kot za NH so tudi za predstavnika SS noretindron in drospirenon frekvence zaznavanja in koncentracije primerljive tako v vzorcih rečnih kot odpadnih vod. Vendar pa smo EE2, norgestrel in klornadinon zaznali v merljivih (čeprav nizkih) povprečnih koncentracijah od 0,2 do 11 ng/L v nekaj vzorcih rečnih vod, čeprav jih nismo zaznali v iztokih iz čistilnih naprav, kar kaže na druge vire onesnaženja. V primeru KMES, vključenih v našo raziskavo, bi lahko drugi viri prispevali do 50 % prisotnega onesnaženja nekaterih onesnaževal, saj se na primer pogostost zaznavanja poveča z 29 % na 53 % za BPF in s 36 % na 67 % za E3 v vzorcih rečnih vod pred in po čistilnih napravah. Možno je, da se KMES sproščajo v okolje v vodah, ki v reke vstopajo neobdelane in iz kompaktnih domačih čistilnih naprav (vzdolž 3,5 km dolgega odseka rek pred našimi nizvodnimi vzorčnimi mesti), saj se je že izkazalo, da so le-te manj učinkovite v zmanjšanju parametrov biološkega onesnaženja kot komunalne čistilne naprave (21). Del neskladij lahko pripišemo tudi časovnemu nihanju koncentracij in vzorčenju, ki kljub dobremu načrtovanju in izdatnemu trudu ni moglo zagotoviti popolnoma reprezentativne slike sistema.

3.2 ODSTRANJEVANJE KMES V ČISTILNIH NAPRAVAH IN KORELACIJSKA ANALIZA

Izračuni učinkovitosti odstranjanja KMES v čistilnih napravah kažejo, da je le-ta zelo dobra (poteče v večinskem obsegu) za večino KMES, z izjemo E2 in BPA, kar je za slednjega tudi v skladu z ugotovitvami drugih raziskovalcev (22). Stopnja odstranjanja za E2 je od 0 do 44 % (v kompozitnih vzorcih). To je morda povezano s prisotnostjo konjugatov E2, ki lahko opazno zmanjšajo stopnjo odstranitve estrogenov (23). Samo v treh čistilnih napravah je bila odstranitev E2 skoraj popolna. Rezultati kažejo, da bi lahko bile manjše čistilne naprave učinkovitejše pri odstranjanju KMES, ki se v čistilnih napravah težje odstranjujejo. A ker smo te tri meritve izvedli v trenutnih vzorcih in ne kompozitnih, so potrebne nadaljnje raziskave, da potrdimo to domnevo. Po drugi strani pa je treba omeniti, da so vse vključene čistilne naprave mehansko-biološkega tipa, kot določa zakonodaja EU (24). Imajo zelo podobne metode delovanja, zato menimo, da so razlike v obsegu uporabljenih tehnologij odstranjanja zelo majhne in zato niso ključni razlog za razlike v učinkovitosti odstranjanja E2 in BPA med posameznimi čistilnimi napravami.

Rezultati Spearmanove korelacijske analize kažejo, da prisotnost različnih bisfenolov (BPS, BPA, BPF in BPE) in estrogenov (E3, E2, E1 in progesteron) v vtokih v čistilne naprave močno pozitivno korelira med seboj in s parametri, ki nakazujejo na večjo gostoto človeške populacije in s tem posledično tudi obremenitve vtokov čistilnih naprav (večje število prebivalcev in velikost čistilne naprave, skupni zaslužek podjetij v regiji in povprečna količina zbranih smeti na osebo). Pojavnost drospirenona, SS z najvišjo pogostostjo zaznave v vtokih, izrazito pozitivno korelira s pojavom BP in NH, ostali SS pa imajo v tem odnosu negativne korelacije. Posledično opazimo tudi močne negativne korelacije med stopnjo učinkovitosti odstranjanja in parametri, ki so povezani z višjo obremenitvijo vtokov, kot so seštevki koncentracij KMES v vtokih in pretok odpadnih vod v čistilne naprave ter ostalih socialno-ekonomskih parametrov, ki vplivajo na učinkovitost odstranjanja.

Rezultati kažejo, da se zelo visoke koncentracije KMES v vtokih v čistilne naprave v kombinaciji z visokimi pretoki tudi pri visokih učinkovitostih odstranjanja še vedno prevedejo v relativno visoke koncentracije KMES v iztokih in posledično do velikih količin KMES, ki vstopajo v sprejemne reke, kar vodi do velike okoljske obremenitve. Dodatno ugotovimo tudi, da je stopnja učinkovitosti odstranjanja,

izračunana iz znižanja estrogenske aktivnosti vzorcev odpadnih vod, v povprečju 61%, kar je posledica zlasti slabega odstranjanja E2.

Poleg tega lahko velika obremenitev z onesnaževali, ki vstopajo v čistilne naprave, povzroči zmanjšane stopnje odstranjanja, kar dodatno poveča koncentracije v odpadnih vodah, kot je že bilo prikazano pri odstranjanju organske snovi (25). To je v našem primeru še posebej očitno pri bisfenolih in NH, saj obe skupini KMES pomembno prispevata k večjim obremenitvam čistilnih naprav v večjih mestih in posledično povzročata njihovo večjo pojavnost v rečnih vodah.

3.3 OCENA TVEGANJA KMES

Tveganja, določena za nekatere KMES v naši raziskavi, so v vzorcih rečnih vod alarmantno visoka. RQ, določeni za BPS in BPA, so zelo visoki v obeh vrstah vzorcev rečnih vod. Slednje še posebej velja za BPA, ki ima določeno vrednost RQ več kot 350 in razpon RQ z najvišjo vrednostjo nad 2500. Za BPS je več kot trikrat višja vrednost RQ opažena v vzorcih rečnih vod, odvzetih po čistilni napravi. To kaže, da v večini vzorcev rečnih vod prisotnost BPA in BPS predstavlja zelo veliko tveganje za vodne organizme, kar je zaskrbljujoče.

Podobno lahko opazimo med NH. Vrednosti ocene tveganja, določene za testosteron, progesteron in E3, določajo nizko do zanemarljivo tveganje, medtem ko so tveganja, povezana s prisotnostjo E1 in E2, v večini vzorcev visoka. Vrednosti RQ, izračunane iz mediane za več geografsko različno zajetih vzorcev SS so nič za obe vrsti vzorcev rečnih vod zaradi njihove nizke stopnje zaznave v vzorcih. Posledično ocena tveganja kaže, da pojav SS v večini vzorcev ne predstavlja tveganja, kar pa seveda ni nujno res, saj le-ti predstavljajo visoka, a pomembna tveganja v desetini vzorcev.

Zavedati se moramo tudi tveganj, povezanih s prisotnostjo tistih KMES v odpadnih vodah, ki imajo vrednosti RQ precej nad 1000 v vtokih v čistilne naprave (testosteron, BPA, BPS, E3, E2) in v iztokih (BPA in E2). Ugotovljene visoke koncentracije in pojavnost teh spojin v odpadnih vodah predstavljajo dejanska tveganja za človeka zaradi puščajočih kanalizacijskih cevi na poti do čistilnih naprav in na njihovih vtokih v čistilne naprave ter uporabe obdelane vode v kmetijstvu (26, 27).

Ker smo v drugih raziskavah pokazali, da so estrogenski učinki različnih KMES aditivni, smo izračunali tudi celokupen estradiolski ekvivalent vseh 25 KMES v vodnih vzorcih. Njihove vrednosti so predstavljene na sliki 2. Vrednosti





Slika 2: Skupni estradiolski ekvivalenti v ng/L po izbranih spojinah (na y osi) in skupinah v a) vtokih čistilnih naprav, b) iztokih čistilnih naprav in vzorcih rečnih vod, odvzetih c) pred in d) za čistilnimi napravami v posameznih vzorcih (x os).

Figure 2: Total estradiol equivalents in ng/L by substances and substance groups (y axis) in wastewater treatment plant (WWTP) a) influents, b) effluents and surface water samples taken c) before and d) after WWTPs in individual samples (x axis).

estradiolskega ekvivalenta v dotokih so zgolj nekoliko višje od tistih v iztokih, medtem ko so vrednosti v rečnih vodah bistveno nižje. Vseeno pa so te vrednosti v razponu od 0,0039 do 1,9 ng/L v posameznih vzorcih rečnih vod. Povprečne vrednosti ekvivalenta za vse vzorce rečnih vod so 0,89 ng/L pred čistilno napravo in 0,87 ng/L po čistilni napravi. Ti vrednosti sta izrazito višji od trenutno varno postavljene meje pri 0,009 ng/L, ob tem pa je opazen tudi doprinos čistilnih naprav k povišanju vrednosti v vzorcih rečnih vod po iztokih iz čistilnih naprav (28). Največji prispevek k vrednosti ekvivalenta v testiranih vzorcih predstavlja prisotnost E2 in EE2. Če to pretvorimo v skupno estrogensko vrednost RQ v posameznih vzorcih, dobimo vrednosti 99 oziroma 96, v rekah pred in po čistilnih napravah. To kaže, da so tveganja, povezana z estrogensko aktivnimi snovmi, vključenimi v našo raziskavo, zaskrbljujoče visoka, saj je vrednost višja od 1 (predstavlja visoko tveganje) za dva velikostna razreda.

4 SKLEP

V okviru naših raziskav smo celovito obravnavali problematiko obremenitve slovenskih vod s hormoni in drugimi pomembnimi KMES. Ugotovili smo, da so podatki o prisotnosti najbolj problematičnih spojin v okolju, še posebej SS, izrazito pomanjkljivi. Zato smo za njihovo vrednotenje razvili ultra občutljivo analizo metodo, ki kot prva v literaturi omogoča kvantitativno določanje prisotnosti kar 25 različnih KMES iz skupin NH, SS ter bisfenolov v površinskih vodah, validirana in uporabljena pa je bila tudi za analizo v odpadnih in pitnih vodah.

Nadalje smo z metodo uspešno analizirali večje število vzorcev odpadnih in povezanih površinskih vod iz cele Slovenije. V vzorcih odpadnih in rečnih vod smo uspešno določili koncentracije 16 KMES, pri čemer so bile najvišje koncentracije bisfenolov S, A in F ter E3 in klormadinona v vzorcih odpadnih do 35 µg/L in rečnih vod do 400 ng/L. Koncentracije nad priporočenimi varnimi vrednostmi v okolju smo določili tudi za E2 in EE2. Pri tem smo pokazali, da so čistilne naprave v splošnem uspešne v odstranjevanju večjega dela bremena KMES. Kljub temu pa njihove velike obremenitve in neuspešno odstranjevanje nekaterih bisfenolov in estrogenov povzročata opazno povišanje koncentracij teh KMES v rečnih vodah, v katere so speljani izpusti iz čistilnih naprav. Ocena tveganja spojin v vzorcih je po-

kazala, da prisotnost BPA, E2, BPS in E1 predstavlja veliko tveganje v rečnih vodah s kvocientom tveganja tudi do 450. Tveganje, ki ga predstavlja prisotnost SS v rečnih vodah, je prav tako visoko v skoraj desetini vzorcev.

Tako smo s pomočjo širokega nabora podatkov iz meritev 25 izbranih KMES v vodah ovrednotili njihovo pojavnost v rekah, ocenili doprinos čistilnih naprav in kot prvi razjasnili povezave med človeško dejavnostjo in obremenitvijo čistilnih naprav s KMES. Rezultati kažejo na to, da so čistilne naprave trenutno preobremenjene, zato je nujno zmanjševati količino KMES v odpadnih vodah in nadaljevati z raziskavami o njihovi pojavnosti ter predlagati izboljšavo obstoječih ali razvoj novih tehnik razgradnje v čistilnih napravah.

5 LITERATURA

1. Wells EM. Bisphenol A. In: Nriagu J, editor. *Encyclopedia of Environmental Health (Second Edition)* [Internet]. Oxford: Elsevier; 2019 [cited 2023 Jul 30]. p. 424–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095489106438>
2. Wang Z, Walker GW, Muir DCG, Nagatani-Yoshida K. Toward a Global Understanding of Chemical Pollution: A First Comprehensive Analysis of National and Regional Chemical Inventories. *Environ Sci Technol*. 2020 Mar 3;54(5):2575–84.
3. Rocha MJ, Rocha E. Synthetic Progestins in Waste and Surface Waters: Concentrations, Impacts and Ecological Risk. *Toxics*. 2022 Apr;10(4):163.
4. Nguyen HH, Venohr M. Harmonized assessment of nutrient pollution from urban systems including losses from sewer exfiltration: a case study in Germany. *Environ Sci Pollut Res*. 2021 Dec 1;28(45):63878–93.
5. Rueedi J, Cronin AA, Morris BL. Estimation of sewer leakage to urban groundwater using depth-specific hydrochemistry. *Water Environ J*. 2009;23(2):134–44.
6. Koncagül E, Tran M, Connor R, Uhlenbrook S, Cordeiro Ortigara AR. *The United Nations world water development report 2017: wastewater: the untapped resource; facts and figures* [Internet]. United Nations World Water Assessment Programme; 2017 [cited 2022 Dec 21]. Available from: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247553>
7. Directorate-General for Environment. *Water reuse: New EU rules to improve access to safe irrigation* [Internet]. 2023 [cited 2023 Aug 2]. Available from: https://environment.ec.europa.eu/news/water-reuse-new-eu-rules-improve-access-safe-irrigation-2023-06-26_en
8. Casado J, Brigden K, Santillo D, Johnston P. Screening of pesticides and veterinary drugs in small streams in the European Union by liquid chromatography high resolution mass spectrometry. *Sci Total Environ*. 2019 Jun 20;670:1204–25.
9. Chen H, Jing L, Teng Y, Wang J. Characterization of antibiotics in a large-scale river system of China: Occurrence pattern, spatiotemporal distribution and environmental risks. *Sci Total Environ*. 2018 Mar 15;618:409–18.

10. Pan Y, Zhang H, Cui Q, Sheng N, Yeung LWY, Sun Y, et al. Worldwide Distribution of Novel Perfluoroether Carboxylic and Sulfonic Acids in Surface Water. *Environ Sci Technol*. 2018 Jul 17;52(14):7621–9.
11. Yao B, Li R, Yan S, Chan SA, Song W. Occurrence and estrogenic activity of steroid hormones in Chinese streams: A nationwide study based on a combination of chemical and biological tools. *Environ Int*. 2018;118:1–8.
12. MSD. MSD Manual Professional Edition. 2021 [cited 2021 Mar 3]. Table: Usual Dosages of Commonly Prescribed Antibiotics[a]. Available from: <https://www.msdmanuals.com/professional/multimedia/table/v1000272>
13. Marmugi A, Lasserre F, Beuzelin D, Ducheix S, Huc L, Polizzi A, et al. Adverse effects of long-term exposure to bisphenol A during adulthood leading to hyperglycaemia and hypercholesterolemia in mice. *Toxicology*. 2014 Nov 5;325:133–43.
14. Richmond EK, Grace MR, Kelly JJ, Reisinger AJ, Rosi EJ, Walters DM. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) are ecological disrupting compounds (EcoDC). *Elem Sci Anth*. 2017 Nov 13;5(0):66.
15. Marques-Pinto A, Carvalho D. Human infertility: are endocrine disruptors to blame? *Endocr Connect*. 2013 Sep 17;2(3):R15–29.
16. Rattan S, Zhou C, Chiang C, Mahalingam S, Brehm E, Flaws JA. Exposure to endocrine disruptors during adulthood: Consequences for female fertility. *J Endocrinol*. 2017 Jun;233(3):R109–29.
17. Fang TY, Praveena SM, deBurbure C, Aris AZ, Ismail SNS, Rasdi I. Analytical techniques for steroid estrogens in water samples - A review. *Chemosphere*. 2016 Dec 1;165:358–68.
18. Grobin A, Roškar R, Trontelj J. A robust multi-residue method for the monitoring of 25 endocrine disruptors at ultra-trace levels in surface waters by SPE-LC-MS/MS. *Anal Methods*. 2023 Jun 1;15(21):2606–21.
19. Zaintz C. Real Statistics Using Excel [Internet]. 2023 [cited 2022 Dec 7]. Available from: <https://www.real-statistics.com/>
20. Writer JH, Ryan JN, Keefe SH, Barber LB. Fate of 4-Nonylphenol and 17 β -Estradiol in the Redwood River of Minnesota. *Environ Sci Technol*. 2012 Jan 17;46(2):860–8.
21. Karczmarczyk A, Bus A, Baryła A. Assessment of the Efficiency, Environmental and Economic Effects of Compact Type On-Site Wastewater Treatment Plants—Results from Random Testing. *Sustainability*. 2021 Jan;13(2):982.
22. Kovačič A, Česen M, Laimou-Geraniou M, Lambropoulou D, Kosjek T, Heath D, et al. Stability, biological treatment and UV photolysis of 18 bisphenols under laboratory conditions. *Environ Res*. 2019 Dec 1;179:108738.
23. Liu Z hua, Lu G ning, Dang Z, Rittman B. Removal of Natural Estrogens and Their Conjugates in Municipal Wastewater Treatment Plants: A Critical Review. *Environ Sci Technol*. 2015 Apr 6;49(9):5288–300.
24. Steichen R. Council Directive of 21 May 1991 concerning urban waste water treatment (91/271/EEC) [Internet]. OJ L, 01991L0271 Jan 1, 2014 p. 40. Available from: <http://data.europa.eu/eli/dir/1991/271/2014-01-01/eng>
25. Wang T, Xiao L, Lu H, Lu S, Zhao X, Liu F. Effect of the Influent Substrate Concentration on Nitrogen Removal from Summer to Winter in Field Pilot-Scale Multistage Constructed Wetland-Pond Systems for Treating Low-C/N River Water. *Sustainability*. 2021 Jan;13(22):12456.
26. Wear SL, Acuña V, McDonald R, Font C. Sewage pollution, declining ecosystem health, and cross-sector collaboration. *Biol Conserv*. 2021 Mar 1;255:109010.
27. Helmecke M, Fries E, Schulte C. Regulating water reuse for agricultural irrigation: risks related to organic micro-contaminants. *Environ Sci Eur*. 2020 Jan 18;32(1):4.
28. SCHEER. Scientific Opinion on 'Draft Environmental Quality Standards for Priority Substances under the Water Framework Directive' 17-Alpha-Ethinylestradiol (EE2), Beta-Estradiol (E2) and Estrone (E1) [Internet]. European Commission; 2022 Jan. Available from: https://health.ec.europa.eu/publications/scientific-opinion-draft-environmental-quality-standards-priority-substances-under-wfd-17-alpha_en