

# Bioremedijacija farmaceutske otpadne vode

M. Vuković Domanovac,\* M. Šabić Runjavec, N. Janton i D. Kučić Grgić

Ovo djelo je dano na korištenje pod  
Creative Commons Attribution 4.0  
International License



Zavod za industrijsku ekologiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije,  
Sveučilište u Zagrebu, Marulićev trg 19, Zagreb

## Sažetak

Onečišćenje okoliša jedan je od glavnih izazova današnje civilizacije. Porast broja svjetskog stanovništva i urbanizacija, posebice u zemljama u razvoju, dovodi do nastajanja većih količina otpadnih voda. U današnje vrijeme, emisije industrijskih otpadnih voda predstavljaju sve veći problem uz moguće negativne učinke na zdravlje ljudi i okoliš. Farmaceutске otpadne vode mogu biti visoko opterećene organskim i anorganskim tvarima te toksične za ekosustav. Prije nego li se otpadna voda ispusti u okoliš, potrebno ju je obraditi kako bi se zadovoljili zakonom propisani uvjeti. Biološka obrada široko je zastupljena jer je učinkovita, ekonomična i okolišno prihvatljiva. Bioremedijacijom iskorištava se mikrobn metabolizam u optimalnim okolišnim uvjetima za uklanjanje onečišćujućih tvari te se dodatno može poboljšati bioaugmentacijom.

## Ključne riječi

Farmaceutске otpadne vode, bioremedijacija, bioaugmentacija

## 1. Uvod

Voda je esencijalni resurs koji ima veliku važnost za život ljudske populacije. Porastom broja stanovnika, urbanizacijom i promjenom standarda življenja smanjuju se kapaciteti dostupne pitke vode te njezina kvaliteta postaje upitna.<sup>1</sup> Doprinos u narušavanju njezine kvalitete imaju i otpadne vode s visokim koncentracijama organskih i anorganskih onečišćujućih tvari.<sup>2,3</sup> Posljednjih dvadesetak godina mnoga znanstvena istraživanja navode pojavu "novih onečišćujućih tvari" u okolišu čije djelovanje na ljudsko zdravlje nije u potpunosti poznato.<sup>4</sup> U tu skupinu ubrajaju se i farmaceutske djelatne tvari iz različitih skupina lijekova. Njihova prisutnost u vodenim površinama, posebice u vodi za piće, postaje zabrinjavajuća zbog mogućeg negativnog utjecaja na ekosustav i kroničnog djelovanja na ljudsko zdravlje.<sup>5,6</sup> Kao jedan od većih izvora farmaceutika u okolišu navodi se farmaceutska industrija koja se, zbog velike potražnje za lijekovima, sve više razvija.<sup>7</sup>

Farmaceutске otpadne vode nastale u proizvodnji sadrže specifična onečišćenja poput neizreagiranih reaktanata, organskih otapala, međuprodukata te ostataka pomoćnih i farmaceutskih djelatnih tvari.<sup>8</sup> Proizvodnja različitih farmaceutika generira otpadne tokove različitog sastava koji su promjenjivi ovisno o polaznoj sirovini te proizvodnim operacijama i tehnološkom procesu.<sup>9</sup> Kako bi se zadovoljile zakonom propisane granične vrijednosti emisija, otpadne vode se moraju prije ispuštanja obraditi biološkim i fizikalno-kemijskim postupcima. Poznavanje sastava farmaceutskih otpadnih voda omogućuje njihovu ciljanu obradu.<sup>10</sup> Konvencionalna biološka obrada je aerobna obrada s aktivnim muljem, koja je učinkovita, ekonomski isplativa te okolišno prihvatljiva.<sup>7-11</sup> Negativna strana navedene obrade očitava se u nemogućnosti učinkovitog uklanjanja onečišćujućih tvari koje su otporne na biološku razgradnju, kao što su farmaceutici.<sup>12,13</sup> U težnji za pronalaskom najboljeg mogućeg rješenja sve se veći naglasak stavlja na proces bioremedijacije koji uključuje iskorištavanje metaboličkog potencijala mikroorganizama za uklanjanje širokog spektra ksenobiotika u kontroliranim uvjetima.<sup>10,14</sup> Mogućnost utjecaja na procesne uvjete razlikuje navedeni proces od procesa biorazgradnje u okolišu.<sup>10</sup>

Za dodatno poboljšanje učinkovitosti obrade farmaceutskih otpadnih voda može se primijeniti postupak bioaugmentacije. Bioaugmentacija podrazumijeva inokulaciju selektivnih mikroorganizama za koje su istraživanja pokazala da imaju sposobnost biorazgradnje ciljanih onečišćujućih tvari. Sve češće nalazi primjenu u obradi otpadnih voda opterećenih teže razgradljivim spojevima kako bi se biorazgradnja dodatno ubrzala.<sup>15-18</sup>

Za dodatno poboljšanje učinkovitosti obrade farmaceutskih otpadnih voda može se primijeniti postupak bioaugmentacije. Bioaugmentacija podrazumijeva inokulaciju selektivnih mikroorganizama za koje su istraživanja pokazala da imaju sposobnost biorazgradnje ciljanih onečišćujućih tvari. Sve češće nalazi primjenu u obradi otpadnih voda opterećenih teže razgradljivim spojevima kako bi se biorazgradnja dodatno ubrzala.<sup>15-18</sup>

## 2. Otpadne vode

Kvaliteta voda predstavlja jedan od najvećih problema i izazova današnjice. Rastom broja stanovnika te sve većom industrijalizacijom pitka voda postaje vrijednim prirodnim resursom. Poznato je kako su prirodni resursi neravnomjerno raspoređeni, pa su i količine vode različite u pojedinim dijelovima svijeta.<sup>2,3</sup>

Jedan od najvećih izvora onečišćujućih tvari koje mogu narušiti kvalitetu vode jesu otpadne vode. Prema Zakonu o vodama,<sup>19</sup> otpadne vode se definiraju kao sve potencijalno onečišćene industrijske, sanitarne, oborinske i druge vode. Oborinske otpadne vode koje nastaju ispiranjem oborinama površina prometnica, parkirališta ili drugih manipulativnih površina, postupno otapajući onečišćenja, otječu u sustave javne odvodnje ili izravno u površinske vode. Kao primjer mogu se navesti kisele kiše koje ugrožavaju šume,

\* Autor za dopisivanje: prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac  
e-pošta: [mvukovic@fkit.hr](mailto:mvukovic@fkit.hr)

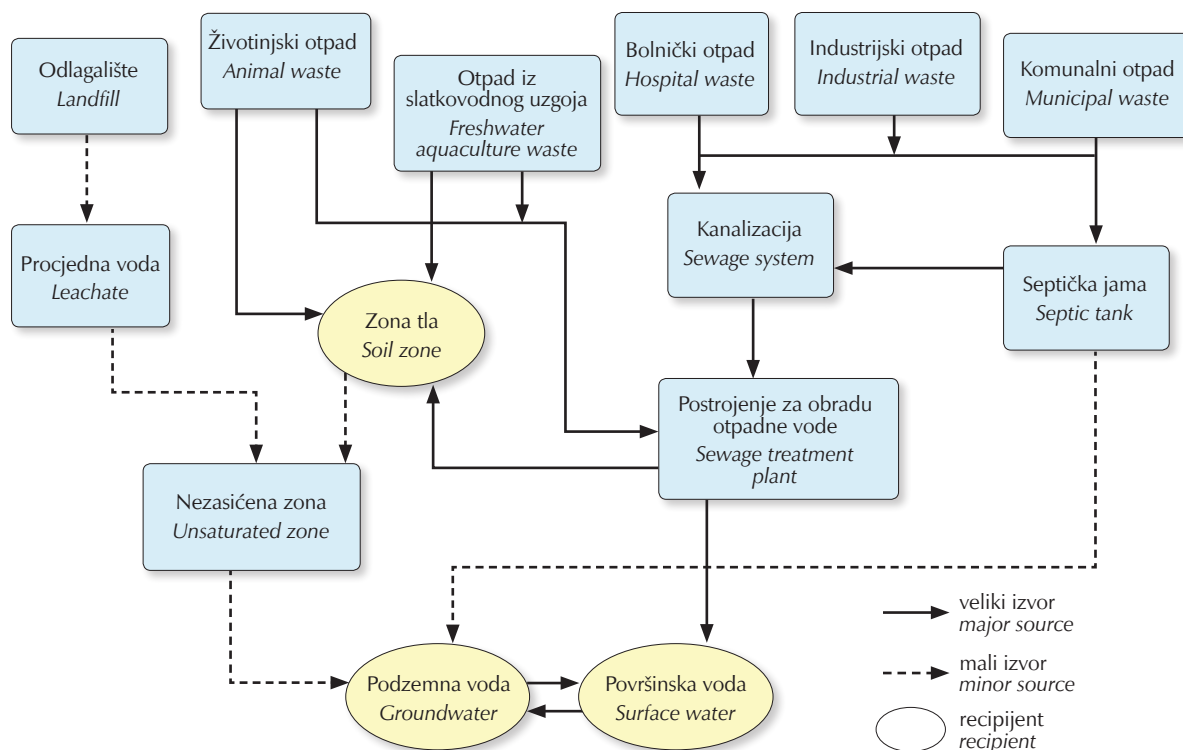
građevine i slično, te crvene ili žute kiše koje nastaju kao posljedica ispiranja pustinjske prašine.<sup>20</sup> Industrijske otpadne vode su sve otpadne vode, osim sanitarnih otpadnih voda i oborinskih voda koje se ispuštaju iz prostora rabljenih za obavljanje trgovine ili industrijske djelatnosti. Od ukupne potrošnje dostupnih resursa slatkovodnih voda čak 20 % rabi se u industrijskim procesima. Povećanje svjetske populacije zahtijeva veću proizvodnju potrošačkih dobara, što doprinosi trendu rasta nestašice pitke vode.<sup>2,21</sup> Sanitarne otpadne vode su otpadne vode koje se nakon uporabe ispuštaju iz stambenih i uslužnih objekata te uglavnom potječu iz ljudskog metabolizma i aktivnosti kućanstava. Njihova količina se s godinama povećava zbog konstantne urbanizacije. Shodno tome mijenja se i životni standard ljudi zbog čega je i sastav komunalnih otpadnih voda promjenjiv.<sup>2</sup> Strogi zakonski propisi nalažu da se otpadne vode prije ispuštanja moraju obraditi u svrhu sprječavanja štetnog utjecaja na okoliš.<sup>22</sup> Osim same obrade sve poželjnija je i ponovna uporaba obrađene vode u poljoprivredne svrhe ili u različitim industrijskim procesima kako bi se smanjila uporaba zaliha vode za ljudsku potrošnju.

### 3. Farmaceutici

Proizvodi farmaceutske industrije danas su široko rasprostranjeni i često upotrebljavani. Farmaceutici su dio ljudske svakodnevnice te općenito predstavljaju kemijske tvari sa specifičnim djelovanjem na biološke sustave. Upotrebljiva

vaju se u svrhu liječenja, dijagnosticiranja i sprječavanja nastanka bolesti kod ljudi, ali i životinja. Kontinuirano se proizvode te je potražnja za njima sve veća. U drugoj polovici dvadesetog stoljeća dokazana je i njihova prisutnost u okolišu<sup>8,23</sup> u koncentracijama od nekoliko ng dm<sup>-3</sup> do nekoliko µg dm<sup>-3</sup>, što dodatno otežava dokazivanje njihove prisutnosti.<sup>5</sup> Jednom kada dospiju u okoliš, farmaceutici mogu biti akumulirani u tlu<sup>24</sup> ili prenošeni površinskim i podzemnim vodama do krajnjih korisnika, ljudi i životinja. Prisutnost različitih analgetika, antibiotika te citostatika lijekova u površinskim vodama diljem Europe i svijeta uzrokovalo je negativne učinke na okolišne organizme, što je potaknulo zabrinutost znanstvenika diljem svijeta.<sup>8</sup> Jedan od poznatijih negativnih učinaka jest smanjenje populacije iz roda supova (lat. *Gyps*) na području Indije neizravnim utjecajem diklofenaka.<sup>25</sup> Nadalje, poznato je i njihovo djelovanje na druge organizme, kao što su i oni u vodenim ekosustavima.<sup>26,27</sup> Nedavna istraživanja<sup>9</sup> otkrivaju da farmaceutski proizvodi mogu uzrokovati štetne učinke poput feminizacije riba i aligatora te utjecati na ponašanje i migracijske rute lososa. Također, na smanjenje populacije vodenih kukaca i na mriještenje školjaka utječu lijekovi poput antiepileptika i antidepresiva.<sup>7</sup> Osim što usporavaju razvoj vodenih organizama, mogu izazvati i malformacije kod nekih riba.<sup>26</sup>

Farmaceutici iz različitih izvora mogu dospjeti u okoliš kao što su odlagališta otpada, industrija, komunalni otpad te bolnički otpad.<sup>27,28</sup> Slika 1 prikazuje kako s odlagališta otpada u okoliš dospijeva manje farmaceutskih tvari u odno-



Slika 1 – Izvori i putevi dospijuća farmaceutika u okoliš<sup>27</sup>

Fig. 1 – Sources and pathways of pharmaceuticals into the environment<sup>27</sup>

su na druge izvore, što je rezultat podizanja razine svijesti stanovništva o važnosti zbrinjavanja lijekova koji su izvan upotrebe. Problem se pojavljuje upravo u njihovim svojstvima fotostabilnosti, dobre topljivosti u vodi i sposobnosti adsorpcije što im omogućuje postojanost u okolišu. Akutno i kronično su toksični za neciljane organizme, što dodatno povećava razinu zabrinutosti.<sup>13</sup> Zbog toga je potrebno spriječiti njihovo dospijanje u okoliš djelovanjem na samom izvoru.

#### 4. Farmaceutske otpadne vode

Farmaceutska industrija čini složen sustav unutar kojeg se proizvode visoko vrijedni proizvodi u više različitih proizvodnih jedinica. U takvom sustavu za proizvodnju se upotrebljava širok spektar različitih reaktanata, katalizatora i otapala, a kao važna ulazna sirovina ubraja se voda koja se rabi prilikom obrade, formuliranja i proizvodnje lijekova, djelatnih tvari te intermedijara. Tako dolazi do nastanka otpadnih voda čiji sastav i količina ovise o vrsti procesne jedinice iz koje dolazi te ulaznim sirovinama.<sup>7,9</sup> Većina proizvodnje odvija se u šaržnim reaktorima, a tijekom proizvodnje može biti promjenjiv, što uvelike utječe na sastav izlaznih otpadnih tokova.<sup>8</sup> Otpadne vode mogu nastati pranjem međuprodukata, konačnog produkta, nakon pranja opreme te površina tijekom određenih procesa proizvodnje farmaceutika. U svojem sastavu najčešće sadrže neizreagirane reaktante, međuprodukte, ostatke djelatnih tvari, katalizatore te različite aditive u organskom otapalu. Okarakterizirane su kao opterećene organskim tvarima što pokazuju visoke vrijednosti kemijske i biokemijske potrošnje kisika, ukupnog organskog ugljika te ukupnih otopljenih tvari i promjenjiva vrijednost pH. Rasponi vrijednosti karakterističnih parametara za farmaceutske otpadne vode prikazani su u tablici 1.<sup>7,8,29</sup>

Tablica 1 – Karakterizacija farmaceutske otpadne vode

Table 1 – Characterization of pharmaceutical wastewater

Parametri Parameters	Vrijednosti Values
kemijska potrošnja kisika, mg dm <sup>-3</sup> chemical oxygen demand, mg dm <sup>-3</sup>	250 – 60 000
biokemijska potrošnja kisika, mg dm <sup>-3</sup> biochemical oxygen demand, mg dm <sup>-3</sup>	1,3 – 21 000
pH, – pH, –	3,6 – 11,5
ukupni organski ugljik, mg dm <sup>-3</sup> total organic carbon, mg dm <sup>-3</sup>	29,7 – 1202
ukupne otopljene tvari, mg dm <sup>-3</sup> total dissolved solids, mg dm <sup>-3</sup>	136 – 26 880
ukupni dušik, mg dm <sup>-3</sup> total nitrogen, mg dm <sup>-3</sup>	49 – 370
ukupni fosfor, mg dm <sup>-3</sup> total phosphorus, mg dm <sup>-3</sup>	1 – 250

Specifičan sastav farmaceutskih otpadnih voda omogućuje ciljanu obradu u svrhu uklanjanja karakterističnih onečišćenja. Zbog sve strožih zakonskih propisa i mogućih negativnih utjecaja na okoliš potrebno ju je obraditi na odgovarajući način.<sup>10,22</sup>

#### 5. Obrada farmaceutske otpadne vode

Pojava farmaceutika u okolišu pokrenula je niz istraživanja s ciljem njihovog uklanjanja. Ulazak farmaceutika u okoliš može uzrokovati negativne učinke na organizme koji tamo obitavaju kao i na samog čovjeka. U tu svrhu razvijaju se različiti postupci i uvode poboljšanja u tehnologije za obradu farmaceutskih otpadnih voda koje predstavljaju jedan od izvora farmaceutika u okolišu.<sup>6,7</sup>

Najčešće se primjenjuju fizikalno-kemijski i biološki postupci obrade farmaceutske otpadne vode. S obzirom na njihovu složenost i sadržaj teže razgradljivih komponenata, u sklopu fizikalno-kemijskih postupaka primjenjuju se membranski procesi, adsorpcija i napredni oksidacijski procesi.<sup>30</sup> Membranski procesi uključuju upotrebu polupropusnih membrana različitih veličina pora čijim se pravilnim odabirom može ukloniti širok spektar onečišćenja različitih veličina čestica.<sup>7,31</sup> Membrane s manjom veličinom pora, kao što su nanofiltracijske i reverzno osmotske membrane, zahtijevaju veće financijske izdatke. One se upotrebljavaju kod tercijarne obrade otpadnih voda. Poznato je kako se reverzno osmotskim membranama mogu ukloniti neke vrste antibiotika, hormona, analgetika i antiepileptika iz vodenih medija.<sup>11</sup>

S obzirom na to da farmaceutici imaju i dobra sorpcijska svojstva, njihovo se uklanjanje postiže vezanjem na aktivni ugljen, glinu, zeolite i sintetičke polimere. Aktivni ugljen često se upotrebljava zbog svojstva visoke poroznosti. Može se primijeniti u praškastom i granuliranom obliku. Granulirani se upotrebljava kao zamjena za antracitni medij u uobičajenim filtrima, osiguravajući adsorpciju i filtriranje.<sup>11</sup> Učinkovitost adsorpcije uvelike ovisi o površinskom afinitetu adsorbensa i adsorbata, strukturi adsorbensa te pH-vrijednosti i temperaturi vode koja se obrađuje. Problemi se stvaraju pri odabiru postupka izdvajanja obrađene vode od čvrstog adsorbensa, kako bi se izbjegla desorpcija onečišćujućih tvari.<sup>7,23</sup>

Napredni oksidacijski procesi pogodni su za obradu pri blagim procesnim uvjetima sobne temperature i atmosferskog tlaka. Organska tvar prisutna u otpadnoj vodi oksidira se djelomično ili potpuno uz pomoć hidroksil radikala (\*OH). Radikal \*OH je snažan i neselektivan kemijski oksidans i reagira 10<sup>6</sup> – 10<sup>12</sup> puta brže od oksidansa kao što je O<sub>3</sub>. Agresivno napada gotovo sve organske molekule i u kratkom vremenu dovodi do mineralizacije. Napredni oksidacijski procesi predstavljaju učinkovit odabir za obradu voda onečišćenih aromatskim spojevima, halogeniranim ugljikovodicima, nitrofenolima i pesticidima.<sup>31,32</sup> Fizikalno-kemijski postupci su učinkoviti, no zahtijevaju investicije u posebnu opremu, reagense i energetski su zahtjevni, što ih čini ekonomski manje isplativima.<sup>11,33</sup> Biološki postupci, najčešće obrada s aktivnim muljem, ekonomični su

i učinkoviti procesi čijim se konstantnim unaprjeđenjem nadilaze ograničenja biorazgradnje složenijih i teže biorazgradljivih organskih molekula.<sup>34</sup> Međutim, s obzirom na to da je velik broj farmaceutika biološki nerazgradljiv<sup>13</sup> i neke tvari djeluju inhibitory na metabolizam mikroorganizama,<sup>31</sup> može doći do smanjenja učinkovitosti obrade.

## 6. Biološka obrada farmaceutske otpadne vode

Biološka obrada otpadnih voda temelji se na biokemijskoj aktivnosti mikroorganizama u svrhu uklanjanja otopljenih organskih onečišćujućih tvari.<sup>35</sup> Može se provoditi u uvjetima bez kisika, anaerobno te u uvjetima uz prisutnost kisika, aerobno. Anaerobna obrada je manje zastupljena za navedeni sustav zbog osjetljivosti procesa na promjene nekih parametara, poput pH-vrijednosti i temperature.<sup>7,36</sup> Konvencionalni postupak obrade farmaceutske otpadne vode provodi se aktivnim muljem. Kao što je ranije navedeno, sastav otpadnih voda je promjenjiv, znatno ovisi o vrsti proizvodnje te osim farmaceutika sadrži i druge tvari poput različitih međuprodukata i otapala. Aktivni mulj kao zajednica mikroorganizama omogućava proizvodnju više različitih enzima za uklanjanje šireg spektra onečišćujućih tvari iz složenog sustava poput farmaceutske otpadne vode. Upravo je to najveća prednost biološke obrade nad ostalim postupcima.

Obrada se provodi u bioreaktoru uz aeraciju sustava s aktivnim muljem i otpadnom vodom te miješanje kako bi se omogućila dostupnost otopljenog kisika mikrobnom zajednici.<sup>37</sup> S obzirom na to da tijekom procesa biorazgradnje dolazi do stvaranja ugljikova dioksida, vode i povećanja biomase, višak aktivnog mulja se nakon taloženja odvodi na zbrinjavanje.<sup>38</sup> Kao tehnološki napredniji sustav upotrebljava se membranski bioreaktor odnosno kombinacija bioreaktora i membranske separacijske tehnologije, kao što su mikrofiltracija, ultrafiltracija, nanofiltracija i reverzna osmoza.<sup>39,40</sup> Membranski bioreaktor je učinkovit za uklanjanje većine farmaceutske spojeve te se samim odabirom membrane određene veličine pora može regulirati učinkovitost procesa. Integrirana membranska jedinica unutar reaktora sprječava prolaz aktivnom mulju te omogućava izlaz obrađenoj otpadnoj vodi.<sup>41,42</sup> Njegova glavna prednost je postizanje visoke koncentracije biomase, niska proizvodnja mulja, zauzimanje manje radnog prostora te mogućnost obrade otpadne vode različitog sastava.<sup>29</sup>

### 6.1. Proces s aktivnim muljem

Aktivni mulj se sastoji od mikroorganizama te različitih organskih i anorganskih tvari.<sup>35</sup> Suha tvar aktivnog mulja sastoji se od kompleksa mineralne i organske tvari. Mineralni dio (10 – 30 %) sastoji se uglavnom od fosfora i kalcija. Najveći udio u organskoj tvari čine proteini (oko 70 %) čija količina ovisi o vrsti mikroorganizama, starosti aktivnog mulja i sastavu otpadnih voda. Također sadrži i znatne količine lipida i ugljikohidrata. Aktivni mulj čine mikroorganizmi čija se aktivnost može prikazati kao biološki proces za čiju je uspješnu kontrolu potrebno nadzirati njih

hov rast, odnosno kontrolirati čimbenike koji na njih utječu. Različite vrste mikroorganizama razgrađuju otopljene sastojke u otpadnoj vodi koji im služe kao izvor hranjivih tvari, odnosno energije. Kako bi se razgradnja otopljenih sastojaka iz otpadne vode provodila istodobno i učinkovito, mikroorganizmi trebaju djelovati kao mješovite mikrobnе zajednice temeljene na različitim zakonitostima njihova međudjelovanja.<sup>37,41</sup>

Tablica 2 – Raspodjela bakterija u aktivnom mulju<sup>41</sup>

Table 2 – Distribution of bacteria in activated sludge<sup>41</sup>

Rod ili grupa Genus or group	Ukupni izolati / % Total isolates / %
<i>Aeromonas</i>	1,9
<i>Alcaligenes</i>	5,8
<i>Arthrobacter</i>	1,9
<i>Aureobacterium-Microbacterium</i>	1,9
<i>Bacillus</i>	1,9
<i>Comamonas-Pseudomonas</i>	50,0
<i>Corynebacterium</i>	1,9
<i>Flavobacterium-Cytophaga</i>	13,5
<i>Micrococcus</i>	1,9
<i>Paracoccus</i>	11,5
<i>Pseudomonas</i>	1,9
Neidentificirane (gram-negativni rod) Unidentified (gram-negative genus)	1,9

U provedbi bioloških procesa obrade otpadne vode najveću biokemijsku aktivnost imaju bakterije, zbog njihova brzog rasta i raznolikog enzimskog potencijala za razgradnju sastojaka različitih kemijskih struktura u otpadnoj vodi. Tablica 2 prikazuje izolirane bakterijske rodove zastupljene u aktivnom mulju.<sup>41</sup> Uz navedene kulture mogu biti prisutni različiti nitasti oblici kao što su *Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Geotrichum*. Bakterije su većinom gram-negativne i odgovorne su za oksidaciju ili transformaciju većine organskih tvari. Proizvode ekstracelularnu polimernu tvar koja omogućava stvaranje pahuljica, a sastoji se od ugljikohidrata, proteina, lipida, uronske kiseline i manje količine nukleinske kiseline.<sup>42</sup>

U mješovitoj mikrobnom zajednici, osim bakterija, prisutne su i druge vrste organizama poput plijesni, kvasaca, algi, protozoa i metazoa. Međusobnim povezivanjem mikroorganizama te suspendiranih tvari nastaje aktivni mulj. Veće ili manje nakupine aktivnog mulja nazivaju se pahuljice čija se veličina kreće od nekoliko desetaka do nekoliko tisuća mikrometara. Pahuljica aktivnog mulja sastoji se od tri sloja, pri čemu je vanjski sloj dobro opskrbljen kisikom i supstratom, srednji aerobni sloj dobro je opskrbljen kisikom, ali manje hranjivim tvarima, dok je unutarnji anaerobni sloj slabije opskrbljen i hranjivim tvarima i kisikom. Na vanjske slojeve pahuljica vezane su protozoe. Osim vezanih, prisutne su puzeće i slobodno plivajuće protozoe te ostali viši mikroorganizmi. Pahuljice aktivnog mulja naj-



važniji su element u procesu obrade otpadne vode. Nastajanje pahuljica ovisi o kakvoći otpadne vode, koncentraciji otopljenog kisika, sposobnosti mikroorganizama da stvaraju pahuljice te hidrodinamičkim uvjetima sustava.<sup>10,37,41-43</sup>

Proces s aktivnim muljem za obradu otpadne vode iz farmaceutske proizvodnje ima niže početne troškove ulaganja nego li napredniji procesi obrade, ograničene operacijske uvjete te je prihvatljiv za okoliš. Nedostatak su povećan utrošak energije te proizvodnja velikih količina otpadnog mulja koji je naknadno potrebno zbrinuti. Također, prilikom vođenja procesa mogu se pojaviti problemi kao što su obojenje, pjenjenje te povećan rast nitastih bakterija.<sup>32,34</sup>

## 7. Bioremedijacija

Remedijacija općenito označava uklanjanje onečišćujućih tvari u okolišu, odnosno obnavljanje onečišćenog okoliša. Vraćanje okoliša u prvobitno stanje ponekad je nemoguće postići jer postojeće tehnologije ne uklanjaju u potpunosti opasne komponente, već ih najčešće koncentriraju na određeno mjesto ili djelomično razgrade. Također, javlja se problem što napraviti s nastalim otpadom nakon postupka remedijacije.<sup>14,43</sup>

Bioremedijacija<sup>43-45</sup> je skup postupaka za remedijaciju uz pomoć mikroorganizama. Podrazumijeva upotrebu metaboličkog potencijala mikroorganizama u svrhu uklanjanja širokog spektra onečišćujućih tvari, ksenobiotika, u kontroliranim uvjetima. S obzirom na mjesto obrade bioremedijacija se može provoditi *in situ*, na mjestu samog onečišćenja, te *ex situ*, izvan onečišćenog područja. Odabir ovisi isključivo o specifičnosti situacije, dometu onečišćenja i raspoloživim financijskim sredstvima. Provedena istraživanja,<sup>43-46</sup> koja opisuju uklanjanje ksenobiotika poput farmaceutika u otpadnim vodama iz industrijske proizvodnje lijekova, ukazuju na to da je u većini slučajeva moguća potpuna mineralizacija ksenobiotika te da se složenije tvari biotransformacijom prevode u druge netoksične ili manje toksične spojeve.

Biorazgradnja ksenobiotika ne ovisi samo o vrsti enzima koje stvara određeni mikroorganizam, već je proces složeniji i ovisi o različitim čimbenicima. Prije nego što se onečišćujuća tvar razgradi, stanica je treba metabolizirati. Navedeno svojstvo naziva se biorasploživost. Ako se radi o tvarima koje su topljive u vodi, kao što je većina farmaceutika, stanici je olakšan unos određene tvari u metabolizam u svrhu razgradnje. Ako se bioremedijacija provodi bakterijskim kulturama, bitan čimbenik je pH-vrijednost, čije izrazito visoke ili niske vrijednosti izvan optimalnih (od 5 do 9) mogu uvelike utjecati na učinkovitost procesa. U rasponu od 20 do 30 °C postiže se optimalna aktivnost enzima i najveća učinkovitost biorazgradnje. Osim toga, toksičnost onečišćujućih tvari može također smanjiti djelotvornost bioremedijacije što se može spriječiti prilagođavanjem mikroorganizama na takav supstrat.<sup>48</sup> Mikroorganizmi visokog genetskog potencijala uspješno će se prilagoditi.<sup>14,43-48</sup>

Optimizacijom navedenih čimbenika dodatno se potiče rast mikroorganizama radi učinkovitije biorazgradnje te se

taj proces naziva biostimulacijom.<sup>16</sup> Rast mikroorganizama može se stimulirati dodavanjem minerala, hranjivih tvari, kisika (ubrizgavanjem zraka ili dodavanjem kisika u otopljenom obliku) i/ili promjenom već ranije navedenih vrijednosti pH i temperature. Onečišćujuću tvar mogu razgraditi enzimi mikroorganizama ili se ona razgrađuje neizravno, kometaboličkim procesima u kojima enzimi nastali za primarni supstrat razgrađuju i ostale prisutne supstrate.<sup>12,49</sup> Ukoliko aktivnost mikroorganizama nije zadovoljavajuća, može se primijeniti postupak bioaugmentacije.

### 7.1. Bioaugmentacija

Bioaugmentacija je postupak dodavanja mikroorganizama za koje su istraživanja pokazala da imaju sposobnost biorazgradnje ciljane onečišćujuće tvari. Primjenjuje se u slučajevima bioremedijacije onečišćenog tla, ali sve češće i pri obradi otpadnih voda, posebice onih koje su opterećene spojevima otpornim na biorazgradnju, kako bi se ona dodatno ubrzala.<sup>12,16,48</sup> Učinkovitost procesa ovisi o aktivnosti i stabilnosti izoliranih mikroorganizama kada su inokulirani u onečišćeno područje.<sup>15</sup>

Bioaugmentaciju možemo podijeliti prema specifičnosti<sup>50</sup> na nespecifičnu, gdje su mikroorganizmi dodani u obliku aktivnog mulja, komposta ili tla bez prethodnog ispitivanja mikrobioloških karakteristika, i visokospecifičnu, gdje se mikroorganizmi dodaju kao čiste kulture ili definirana mikrobiološka zajednica za koje se zna da imaju sposobnost razgradnje određene onečišćujuće tvari. Visokospecifična bioaugmentacija često daje bolje rezultate. Prema podrijetlu, kultura mikroorganizama može biti autohtona i alohtona. Autohtoni mikroorganizmi su izolirani iz onečišćenog tla ili vode, ali uzgojeni u povoljnijim uvjetima te ponovno uneseni u onečišćeni okoliš. Alohtona kultura predstavlja mikroorganizme koji su izolirani iz drugog okoliša te inokulirani u onečišćeno područje kao i bioaugmentaciju s genetički modificiranim organizmima.<sup>51</sup>

Bitan čimbenik bioaugmentacije je kemijski sastav i koncentracija prisutnih onečišćujućih tvari te enzimatski potencijal mikroorganizama.<sup>38-46</sup> Mikrobnu proizvodnju specifičnih enzima omogućuje uspješno uklanjanje ksenobiotika iz onečišćenih područja. U tablici 3 vidljivo je kako se jedan enzim može upotrijebiti u više različitih industrija među kojima je i farmaceutska, bilo u proizvodnji ili za potrebe bioremedijacije; a samim time veći je i broj supstrata na koje djeluje. Često upotrebljavane bakterijske kulture u svrhu bioaugmentacije za uklanjanje onečišćenja različitih vrsta među koje se ubrajaju i farmaceutici su iz roda *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Streptomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* i *Klebsiella*.<sup>52-54</sup>

Bakterije iz roda *Pseudomonas* dosta su poznate po svojoj metaboličkoj aktivnosti zbog čega se upotrebljavaju za istraživanja u laboratorijske svrhe. Zbog bogatog enzimskog sustava mogu preživjeti u okolišu u kojem su prisutna teže razgradljiva onečišćenja, kao što je farmaceutska otpadna voda.<sup>54,57</sup> Njihove brojne vrste upotrebljavaju se u bioremedijaciji za uklanjanje onečišćujućih tvari<sup>54-56</sup> kao što su različiti aromatski, policiklički ugljikovodici: ksilen, toluen, fenol, naftalen i antracen te specifični farmaceutici. *P. putida* učinkovita je u razgradnji ciljane tvari kao što je

Tablica 3 – Primjena enzima<sup>46</sup>Table 3 – Application of enzymes<sup>46</sup>

Enzimi Enzymes	Supstrat Substrate	Primjena Application
Deoksigenaze Dioxygenase	Aromatski spojevi Aromatic compounds	Kemijska sinteza, farmaceutska industrija, bioremedijacija Synthetic chemistry, pharmaceutical industry, bioremediation
Lakaze Laccase	Orto i paradifenoli, aminofenoli, polifenoli, lignini, poliamini Ortho and paradiphenols, aminophenols, polyphenols, lignins, polyamines,	Prehrambena industrija, proizvodnja papira, tekstilna industrija, nanotehnologija, kozmetika, bioremedijacija Food industry, paper industry, textile industry, nanotechnology, synthetic chemistry, cosmetics, bioremediation
Lignin peroksidaze Lignin peroxidase	Halogenirani fenoli, policiklički aromatski spojevi Halogenated phenolic compounds, polycyclic aromatic compounds	Prehrambena industrija, proizvodnja, tekstilna industrija, farmaceutska industrija, bioremedijacija Food industry, paper industry, textile industry, pharmaceutical industry, bioremediation
Mangan peroksidaze Manganese peroxidase	Lignin i fenolni spojevi Lignin and phenolic compounds	Prehrambena industrija, proizvodnja papira, tekstilna industrija, farmaceutska industrija, bioremedijacija Food industry, paper industry, textile industry, pharmaceutical industry, bioremediation
Lipaze Lipase	Organska onečišćenja Organic pollutants	Proizvodnja detergenata, proizvodnja papira, proizvodi za osobnu njegu, bioremedijacija Detergent production, paper industry, personal care products, bioremediation

piren do 96,6 %, <sup>57</sup> ali i mješavine ksenobiotika kao što je realna farmaceutska otpadna voda do 71,4 %. <sup>54</sup> Također je poznato kako izlučuje enzim deoksigenazu za razgradnju naftalena do cis-1,2-dihidrodiola. <sup>58</sup> Navedeni enzim upotrebljava se i u farmaceutskoj industriji (tablica 3), te se time ukazuje na potencijal bakterije za bioremedijaciju farmaceutskih otpadnih voda. Sve veću važnost u farmaceutskoj industriji dobiva enzim esteraza. <sup>59</sup> Zbog svojstva stereoselektivnog katalizatora upotrebljava se u sintezi optički čistih molekula. Katalitički mehanizam esteraza vrlo je sličan onome serinskog proteaza koji uključuje nukleofilni napad katalitičnog serinskog hidroksila na karbonilni ugljik. <sup>59</sup> Esteraze su široko rasprostranjene kod bakterija roda *Pseudomonas*. One izolirane iz bakterijske vrste *P. putida* mogu katalizirati stereoselektivnu hidrolizu DL-MATI (metil DL-acetiltoisobutirat) za proizvodnju DAT kiseline (D-β-acetiltoisobutirična kiselina) visoke optičke čistoće. DAT kiselina ima veliku važnost u procesu sinteze kaptoprila za liječenje hipertenzije i kongestivnog zatajenja srca. <sup>59,60</sup> Osim u biotehnologiji, esteraze se upotrebljavaju u procesu bioremedijacije područja onečišćenim pesticidima. S obzirom na to da su pesticidi većinom organske molekule, enzim se potencijalno može upotrebljavati i u bioremedijaciji farmaceutskih otpadnih voda. <sup>61,62</sup>

Bioaugmentacija se navodi kao obećavajuća zbog brojnih prednosti poput jednostavne primjene te mogućnosti mineralizacije i detoksikacije različitih onečišćujućih tvari. Mikroorganizmi koji se upotrebljavaju za bioaugmentaciju moraju biti aktivni, kompatibilni i otporni na određenu vrstu onečišćenja. <sup>16,41</sup> Karakteristike otpadnih voda igraju ključnu ulogu u izboru biološke obrade. Nadalje, hidrauličko vrijeme zadržavanja, temperatura, pH-vrijednost, koncentracija otopljenog kisika, organsko opterećenje, mikroba zajednica, prisutnost toksičnih i teže razgradljivih tvari kao i način farmaceutske proizvodnje neki su od čimbenika koji zahtijevaju modifikacije kako bi se povećala

učinkovitost biorazgradnje i sposobnost mineralizacije biološkim procesima pri obradi farmaceutske otpadne vode. Biološkom obradom farmaceutske otpadne vode postiže se učinkovitost uklanjanja do 90 %, <sup>54</sup> a u naprednijim biološkim sustavima od 95 do 99 %. <sup>50,52</sup>

Onečišćenje tla i vode kemijskim spojevima te naftnim ugljikovodicima ozbiljan je problem današnjice. Zbog njihove široke upotrebe nalaze se u brojnim vodenim i kopnenim ekosustavima. Primjena bioremedijacije za uklanjanje onečišćenja osigurava sigurnu i ekonomičnu alternativu uobičajenoj fizikalno-kemijskoj obradi. Mikrobnog djelovanje i aktivnost enzima ključni je korak u razgradnji organskih tvari. <sup>46,50</sup> Upotrebom genetički modificiranih organizama proces se može odvijati u prisutnosti toksičnih tvari bez pojave inhibicije, jer se enzimi mogu proizvesti u većim koncentracijama nego u živim stanicama, što bi povećalo učinkovitost bioremedijacije. Primjena genetičkog inženjerstva nad mikroorganizmima može uvelike poboljšati proces uklanjanja onečišćujućih tvari iz okoliša. Stoga je prije upotrebe od velike važnosti detaljno ispitati ponašanje takvih organizama u okolišu. <sup>51</sup>

## 8. Zaključak

Kvaliteta života neraskidivo je povezana s kvalitetom okoliša. Zbog sve većeg pritiska na vodne resurse istražuju se načini njegova očuvanja. Biološki postupci tradicionalno se primjenjuju za obradu farmaceutskih otpadnih voda. Bioremedijacija je tehnologija budućnosti, jer gotovo da ne proizvodi otpad. U kombinaciji s različitim fizikalno-kemijskim i naprednim oksidacijskim procesima može se osigurati učinkovitija obrada farmaceutskih otpadnih voda te tako doprinijeti uporabi raspoloživih vodnih resursa na održiv način. Prednost bioremedijacije, koja bi mogla

postati jedna od najprihvatljivijih tehnologija u obnovi i zaštiti okoliša, je što se može prilagoditi raznolikim vrstama onečišćenja, okolišnim uvjetima i veličini onečišćenog područja, operativno je jednostavnija, niži su troškovi i visoko je učinkovita. Primjenom bioaugmentacije, odnosno inokulacijom mikroorganizama koji imaju sposobnost razgradnje specifičnih molekula, dodatno se može ubrzati biorazgradnja onečišćujućih tvari u otpadnoj vodi farmaceutske industrije.

## Literatura References

1. D. Samantaray, S. Mohapatra, *Microbial Bioremediation of Industrial Effluents*, u S. Das (ur.), *Microbial biodegradation and bioremediation*, Elsevier, New York, 2014., str. 325–340.
2. G. R. Mohan, T. F. Speth, D. Murray, J. L. Garland, *Municipal Wastewater: A rediscovered resource for sustainable water reuse*, u T. Yunos and C. A. Grady (ur.), *Potable Water – Emerging Global Problems and Solutions, The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 30, Springer, London, 2014., str. 153–179.
3. R. Choukr-Allah, R. Ragab, R. Rodriguez-Clemente, *Integrated water resources management in the Mediterranean region, Dialogue Towards New Strategy*, Springer, London, 2012., str. 347–351.
4. T. Deblonde, C. Cossu-Leguille, P. Hartemann, *Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature*, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* **214** (6) (2011) 442–448, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.08.002>.
5. T. Azuma, Y. Mino, *Determination of pharmaceutical pollutants in river environment by the SPELC-MS/MS method: A mini review*, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2** (125) (2015) 1–5, doi: <https://doi.org/10.4172/JREAC.1000125>.
6. S. H. Zyoud, S. H. Zyoud, S. W. Al-Jabi, W. M. Sweileh, R. Awang, *Contribution of Arab countries to pharmaceutical wastewater literature: A bibliometric and comparative analysis of research output*, *Ann. Occup. Environ. Med.* **28** (1) (2016) 1–28, doi: <https://doi.org/10.1186/s40557-016-0117-0>.
7. S. Zrnčević, *Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije*, *Hrvatske vode* **24** (96) (2016) 119–136, url: <https://hrcak.srce.hr/160338>.
8. M. Doble, A. Kumar, *Biotreatment of industrial effluents: Pharmaceuticals*, Elsevier, London, 2005., str. 217–224.
9. C. Gadipelly, A. Perez-Gonzalez, D. G. Yadav, I. Ortiz, R. Ibanez, K. V. Rathod, V. K. Marathe, *Pharmaceutical industry wastewater: Review of the technologies for water treatment and reuse*, *Ind. Eng. Chem. Res.* **53** (29) (2014) 1157–11592, doi: <https://doi.org/10.1021/ie501210j>.
10. M. Šabić, M. Vuković Domanovac, Z. Findrik Blažević, E. Meštrović, *Kinetika bioremedijacije farmaceutske industrijske otpadne vode*, *Kem. Ind.* **64** (5-6) (2015) 229–236, doi: <https://doi.org/10.15255/KUI.2014.014>.
11. M. Deegan, B. Shaik, K. Nolan, K. Urell, M. Oelgemoller, J. Tobin, A. Morrissey, *Treatment options for wastewater effluents from pharmaceutical companies*, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **8** (3) (2011) 649–666, doi: <https://doi.org/10.1007/BF03326250>.
12. M. L. B. da Silva, P. J. J. Alvarez, K.N. Timmis, *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*, Springer, Berlin, 2010., str. 4531–4544.
13. J. L. Zhou, Z. L. Zhang, E. Banks, D. Grover, J. Q. Jiang, *Pharmaceutical residues in wastewater treatment works effluents and their impact on receiving river water*, *J. Hazard. Mater.* **166** (2-3) (2009) 655–661, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.11.070>.
14. G. M. Evans, J. C. Furlong, *contaminated land and bio-remediation, u environmental biotechnology: Theory and Application*, Second Edition, Wiley-Blackwell, 2011., str. 91–113.
15. F. Ma, J. Guo, L. Zhao, C. Chang, D. Cui, *Application of bioaugmentation to improve the activated sludge system into the contact oxidation system treating petrochemical wastewater*, *Bioresource Technol.* **100** (2) (2009) 597–602, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.066>.
16. M. Tyagi, M. M. da Fonseca, C. C. de Carvalho, *Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes*, *Biodegradation* **22** (2) (2011) 231–241, doi: <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4>.
17. G. O. Adams, P. T. Fufeyin, S. E. Okoro, I. Ehinome., *Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation, A review*. *Intern. J. Environ. Biorem. Biodegrad.* **3** (1) (2015) 28–39, doi: <https://doi.org/10.12691/ijebb-3-1-5>.
18. S. Semrany, L. Favier, H. Djelal, S. Taha, A. Amrane, *Bioaugmentation: Possible solution in the treatment of bio-refractory organic compounds (Bio-ROCs)*, *Biochem. Eng. J.* **69** (2012) 75–86, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.08.017>.
19. URL: <https://www.zakon.hr/z/124/Zakon-o-vodama> (10. 7. 2019.)
20. B. Tušar, *Pročišćavanje otpadnih voda*, Kigen, Zagreb, 2009., str. 51–69, 73–121.
21. M. Gutterres, P. M. de Aquim, *Wastewater reuse focused on industrial applications*, u S. K. Sharma, R. Sanghi (ur.), *Wastewater Reuse and Management*, Springer, 2013., str. 127–164.
22. URL: <http://www.propisi.hr/print.php?id=8402> (10. 7. 2019.)
23. K. Kümmerner, *Pharmaceuticals in the environment: Sources, fate, effects and risks*, Springer, 2008., str. 35–44.
24. M. S. Diaz-Cruz, M. J. Lopez de Alda, D. Barcelo, *Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge*, *Trends Analyt. Chem.* **22** (6) (2003) 340–351, doi: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)00603-4](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00603-4).
25. M. A. Taggart, R. Cuthbert, D. Das, C. Sashikumar, D. J. Pain, R. E. Green, Y. Feltrer, S. Shultz, A. A. Cunningham, A. A. Meharg, *Diclofenac disposition in Indian cow and goat with reference to Gyps vulture population declines*, *Environ. Pollut.* **147** (1) (2007) 60–65, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.017>.
26. Pery, M. Gust, B. Vollat, R. Mons, M. Ramil, G. Fink, T. A. Ternes, J. Garric, *Fluoxetine effects assessment on the life cycle of aquatic invertebrates*, *Chemosphere* **73** (3) (2008) 300–304, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.029>.
27. W. C. Li, *Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil*, *Environ. Pollut.* **187** (2014) 193–201, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.01.015>.
28. P. Bottoni, S. Caroli, A. B. Caracciolo, *Pharmaceuticals as priority water contaminants*, *Toxicol. Environ. Chem.* **92** (3) (2016) 549–565, doi: <https://doi.org/10.1080/02772241003614320>.
29. M. C. Collivignarelli, A. Abba, G. Bertanza, *Treatment of high strength pharmaceutical wastewaters in a thermophilic aerobic membrane reactor (TAMR)*, *Water Res.* **63** (2014) 1–9, doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.06.018>.
30. D. Gerrity, S. Snyder, *Wastewater and drinking water treat-*



- ment technologies, u B. W. Brooks and D. B. Huggett (ur.), *Human Pharmaceuticals in the Environment: Current and Future Perspectives*, Vol. 4, Springer, 2012., str. 225–255.
31. W. Qin, Y. Song, Y. Dai, G. Qiu, M. Ren, P. Zeng, Treatment of berberine hydrochloride pharmaceutical wastewater by O<sub>3</sub>/UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation process, *Environ. Earth Sci.* **73** (9) (2015) 4939–4946, doi: <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4192-2>.
  32. C. Sirtori, A. Zapata, I. Oller, W. Gernjak, A. Agu, Decontamination industrial pharmaceutical wastewater by combining solar photo-Fenton and biological treatment, *Water Res.* **43** (3) (2009) 661–668, doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.013>.
  33. M. Deegan, B. Shaik, K. Nolan, K. Urell, M. Oelgemöller, J. Tobin, A. Morrissey, Treatment options for wastewater effluents from pharmaceutical companies, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **8** (3) (2011) 649–666, doi: <https://doi.org/10.1007/BF03326250>.
  34. G. Mascolo, L. Balest, D. Cassano, G. Laera, A. Lopez, A. Pollice, C. Salerno, Biodegradability of pharmaceutical industrial wastewater and formation of recalcitrant organic compounds during aerobic biological treatment, *Biore-source Technol.* **101** (8) (2010) 2585–2591, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.057>.
  35. D. Orhon, F. G. Babuna, O. Karahan, *Industrial wastewater treatment by activated sludge*, IWA Publishing, New York, 2009., str. 11–30.
  36. M. Z. H. Khan, M. G. Mostafa, Aerobic treatment of pharmaceutical wastewater in a biological reactor, *Int. J. Environ. Sci.* **1** (2011) 1797–1805, doi: <https://doi.org/10.6088/ijesi.00107020037>.
  37. W. Pauli, K. Jax, S. Berger, Protozoa in wastewater treatment: Function and importance, u B. Beek (ur.), *Biodegradation and Persistence*, The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2, Springer, Berlin, Heidelberg, 2001, str. 203–252.
  38. D. A. Vallero, *Applied microbial ecology: bioremediation, u Environmental Biotechnology: A Biosystems Approach*, Elsevier, New York, 2010., str. 325–333.
  39. J. Radjenović, M. Petrović, D. Barcelo, Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor, *Anal. Bioanal. Chem.* **387** (4) (2007) 1365–1377, doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0883-6>.
  40. M. De Cazes, R. Abejon, M. P. Belleville, J. Sanchez-Marcano, Membrane bioprocesses for pharmaceutical micropollutant removal from waters, *Membranes* **4** (4) (2014) 692–729, doi: <https://doi.org/10.3390/membranes4040692>.
  41. G. Bitton, *Wastewater microbiology*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, New Jersey, 2010, str. 281–289.
  42. G. H. Yu, P. J. He, L. M. Shao, D. J. Lee, Enzyme activities in activated sludge flocs, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77** (3) (2007) 605–612, doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1204-5>.
  43. A. Singh, R. C. Kuhad, O. P. Ward, *Soil biology*, u *Advances in Applied Bioremediation*, Vol. 17, Springer, 2009., str. 1–16.
  44. M. M. Amro, Factors affecting chemical remediation of oil contaminated water-wetted soil, *Chem. Eng. Technol.* **27** (8) (2004) 890–894, doi: <https://doi.org/10.1002/ceat.200401977>.
  45. R. M. Maier, *Microorganisms and organic pollutants*, u R. M. Maier, I. L. Pepper and C. P. Gerba (ur.), *Environmental Microbiology*, Elsevier, 2009., str. 387–420.
  46. C. S. Karigar, S. S. Rao, Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: A review, *Enzyme Res.* **2011** (2011) 1–11, doi: <https://doi.org/10.4061/2011/805187>.
  47. G. Dahal, J. Holcomb, D. Socci, Surfactant-oxidation co-application for soil and groundwater remediation, *Remed. J.* **26** (2) (2011) 101–108, doi: <https://doi.org/10.1002/rem.21461>.
  48. D. Wen, J. Zhang, R. Xiong, R. Liu, L. Chen, Bioaugmentation with a pyridine-degrading bacterium in a membrane bioreactor treating pharmaceutical wastewater, *J. Environ. Sci. (China)* **25** (11) (2013) 2265–2271, doi: [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60278-2](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60278-2).
  49. K. Fischer, M. Majewsky, Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **98** (15) (2014) 6583–6597, doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5826-0>.
  50. S. Semrany, L. Favier, H. Djelal, S. Taha, A. Amrane, Bioaugmentation: Possible solution in the treatment of bio-refractory organic compounds (Bio-ROCs), *Biochem. Eng. J.* **69** (2012) 75–86, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.08.017>.
  51. M. Česnik, Z. Findrik Blažević, M. Vuković Domanovac, Povećanje učinkovitosti bioremedijacije na razini gena, *Kem. Ind.* **68** (2019) 23–30, doi: <https://doi.org/10.15255/KUI.2018.031>.
  52. S. R. Rana, P. Singh, V. Kandari, R. Singh, R. Dobhal, S. Gupta, A review on characterization and bioremediation of pharmaceutical industries wastewater: an Indian perspective, *Appl. Water Sci.* **7** (1) (2017) 1–12, doi: <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0225-3>.
  53. M. E. Fawzy, I. Abdelfatta, M. E. Abuarab, E. Mostafa, K. M. Aboelghait, M. H. El-Awady, Sustainable approach for pharmaceutical wastewater treatment and reuse: Case study, *J. Environ. Sci. Technol.* **11** (4) (2018) 209–219, doi: <https://doi.org/10.3923/jest.2018.209.219>.
  54. M. Vuković Domanovac, M. Šabić Runjavec, E. Meštrović, Bioaugmentation effect of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas putida* on kinetics of activated sludge process in treating pharmaceutical industrial wastewater, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **94** (2019) 2721–2728, doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.6085>.
  55. K. W. Tsang, P. Ng, P. L. Ho, S. Chan, G. Tipoe, R. Leung, J. Sun, J. C. Ho, M. S. Ip, W. K. Lam, Effects of erythromycin on *Pseudomonas aeruginosa* adherence to collagen and morphology *in vitro*, *Eur. Respir. J.* **21** (2003) 401–406, doi: <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00050903>.
  56. N. Das, P. Chandran, Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview, *Biotechnol. Res. Int.* **2011** (2011) 1–13, doi: <https://doi.org/10.4061/2011/941810>.
  57. D. Singh, M. H. Fulekar, Biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas putida* strain MHF 7109, *CLEAN* **38** (8) (2010) 781–786, doi: <https://doi.org/10.1002/clen.200900239>.
  58. M. M. O'Mahony, A. D. W. Dobson, J. D. Barnes, I. Singleton, The use of ozone in the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil, *Chemosphere* **63** (2) (2006) 307–314, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.07.018>.
  59. F. Elmi, H. T. Lee, J. Y. Huang, Y. C. Hsieh, Y. L. Wang, Y. J. Chen, S. Y. Shaw, C. J. Chen, Stereoselective esterase from *Pseudomonas putida* ifo12996 reveals  $\alpha/\beta$  hydrolase folds for D- $\beta$ -acetylthioisobutyric acid synthesis, *J. Bacteriol.* **187** (2005) 8470–8476, doi: <https://doi.org/10.1128/JB.187.24.8470-8476.2005>.
  60. E. Ozaki, A. Sakimae, R. Numazawa, Cloning and expression of *Pseudomonas putida* esterase gene in *Escherichia coli* and its use in enzymatic production of d- $\beta$ -acetylthioisobutyric acid, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **58** (9) (1994) 1745–1746, doi: <https://doi.org/10.1271/bbb.58.1745>.



61. Y. H. Kim, C. J. Cha, C. E. Cerniglia, Purification and characterization of an erythromycin esterase from an erythromycin-resistant *Pseudomonas* sp., *Microb. Lett.* **210** (2002) 239–244, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11187.x>.
62. M. Šabić, L. Čižmek, M. Vuković Domanovac, E. Meštrović, Biodegradation of erythromycin with environmental microorganism *Pseudomonas aeruginosa* 3011, *Chem. Biochem. Eng. Q.* **29** (2015) 367–373, doi: <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2015.2171>.
63. R. S. Rana, P. Singh, V. Kandari, R. Singh, R. Dobhal, S. Gupta, A Review on characterization and bioremediation of pharmaceutical industries wastewater: an Indian perspective, *Appl. Water Sci.* **7** (1) (2014) 1–12, doi: <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0225-3>.

## SUMMARY

### Bioremediation of Pharmaceutical Wastewater

Marija Vuković Domanovac,\* Monika Šabić Runjavec, Nikolina Janton, and Dajana Kučić Grgić

Environmental pollution is one of the major challenges of today's civilization. The increase in world population and urbanization, especially in developing countries, leads to the production of greater amounts of wastewater. Nowadays, industrial wastewater emissions are an increasing problem and may have adverse effects on human health and the environment. Pharmaceutical wastewater can be highly loaded with organic and inorganic substances as well as toxic for the ecosystem. Before the wastewater is discharged into the environment, it must be treated to meet the legal requirements. Biological treatment is widely applied as an effective, economical and environmentally friendly solution. Bioremediation uses microbial metabolism in optimal environmental conditions for the removal of pollutants and can be further enhanced by bioaugmentation.

#### Keywords

*Pharmaceutical wastewater, bioremediation, bioaugmentation*

*Department of Industrial Ecology  
Faculty of Chemical Engineering and Technology  
University of Zagreb  
Marulićev trg 19, Zagreb, Croatia*

Review  
Received July 15, 2019  
Accepted August 23, 2019