
Ravimijäätid keskkonnas

Karin Kipper

Ettekandes

- Analüütiline keemia
 - Analüütilise keemia meetodid
- Ravimid keskkonnas
 - Normid
- Antibiootikumide määramine
 - Proovid
 - Proovide ekstraheerimine
 - Proovide kontsentreerimine
 - Proovide analüüs
- Antibiootikumide kontsentratsioonid

Analüütiline keemia

- Eesmärk – mitmesuguste objektide keemilise koostise määramine (millised ained?; kui palju?)



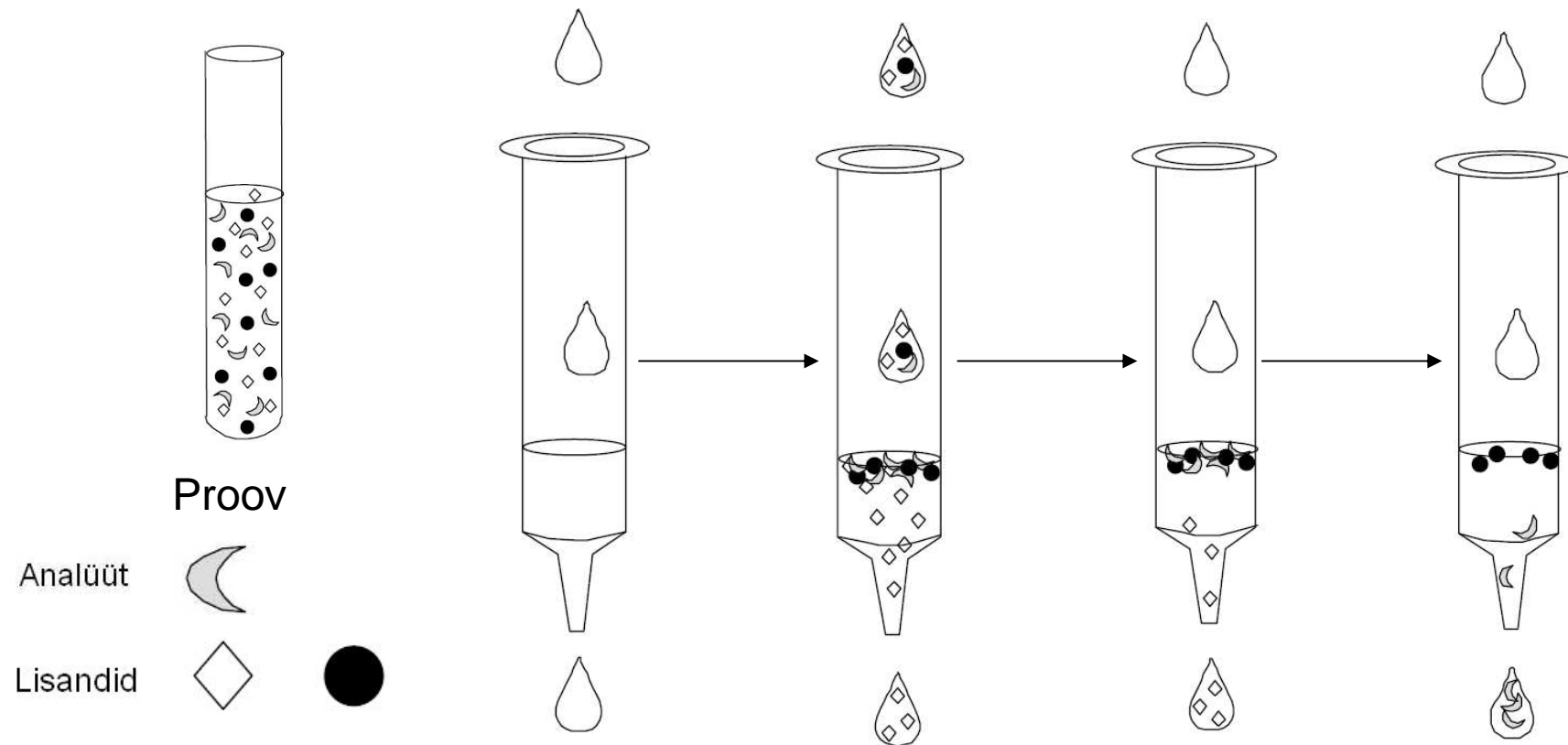
Analüütilise keemia meetodid

- Proovide ettevalmistus
 - Sõltub proovist
 - Enamasti vajalik proovi lahustamine

- **Ekstraktsioon** on füüsikalis-keemiline meetod ainete eraldamiseks segudest või lahustest, mis baseerub ainete erineval lahustuvusel mittesegunevates faasides
 - Vedelik-vedelik ekstraktsioon
 - Tahke faasi ekstraktsioon
 - Kiirendatud vedelikekstraktsioon

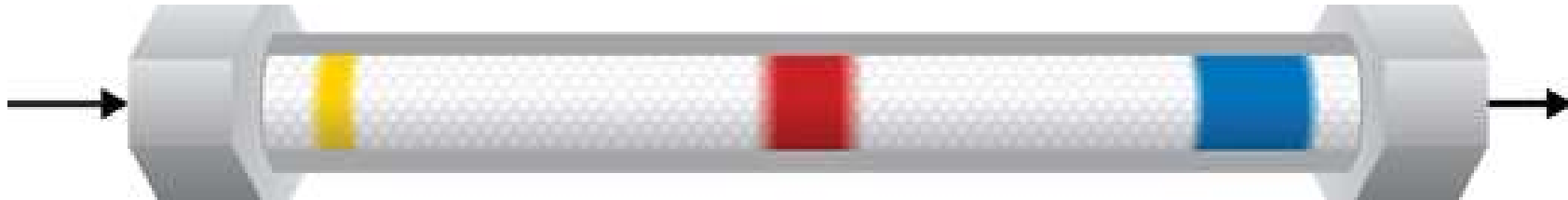
Analüütilise keemia meetodid

■ Tahke faasi ekstraktsioon (SPE)



Analüütilise keemia meetodid

- Proovide analüüsiks
 - Vedelikkromatograafia (LC)
 - Meetod komponentide lahutamiseks segudest
 - Kolonn



Proovide analüüs

- LC-MS



Ravimid keskkonnas

- Ravimid satuvad keskkonda kanalisatsiooni kaudu
- Reoveemuda ja loomasõnniku kasutamisel põlluväetisena tuleb eelnevalt kindlaks teha nende ohutus loomade ja inimeste tervisele
- Antibiootikumid reoveemudas ja sõnnikust võivad sattuda lõpuks inimeste ja loomade toitu



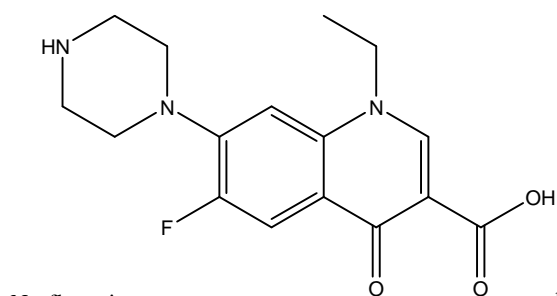
Ravimijääkide määramine

Ravimid

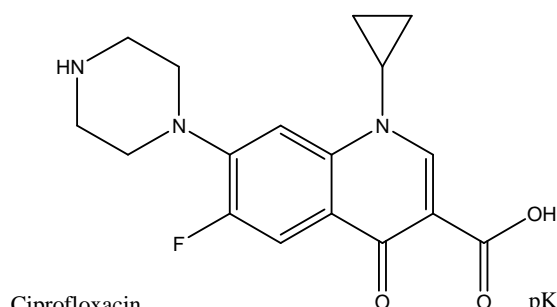
- Uuritavate ravimite valiku tingis:
 - Stabiilsus keskkonnas,
 - Potentsiaalne akumulatsioon taimedes,
 - Tarvitamine Eestis
- Fookuses antibiootikumid, mis kuuluvad kolme klassi – fluorokinoloonid, tetratsükliinid, sulfoonamiidid.

Ravimid

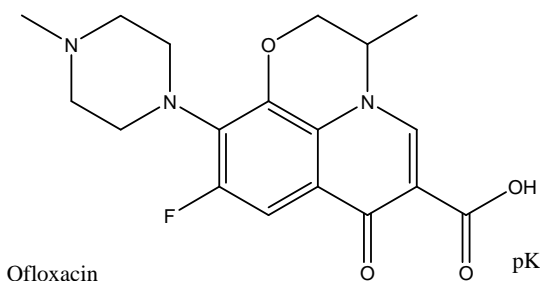
□ Fluorokinolonid



$pK_{a1}=6.28$
 $pK_{a2}=8.85$



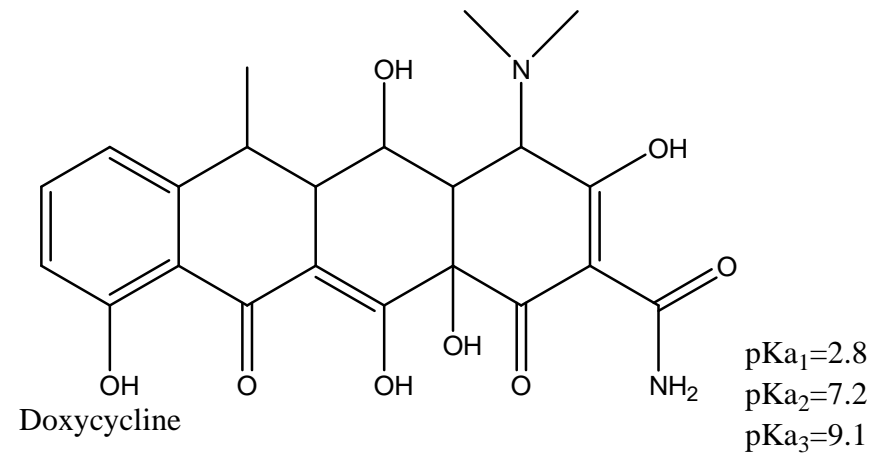
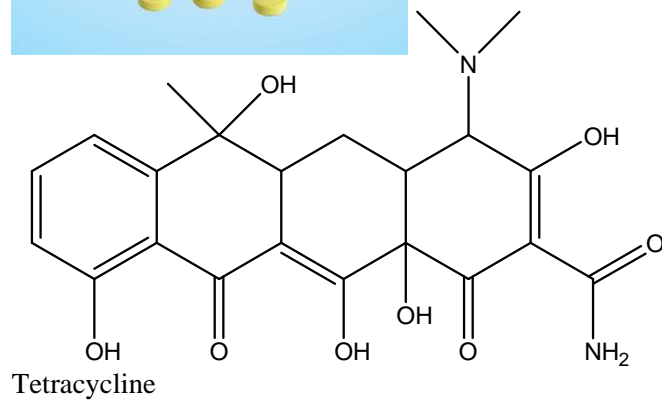
$pK_{a1}=6.27$
 $pK_{a2}=8.87$



$pK_{a1}=5.97$
 $pK_{a2}=7.65$

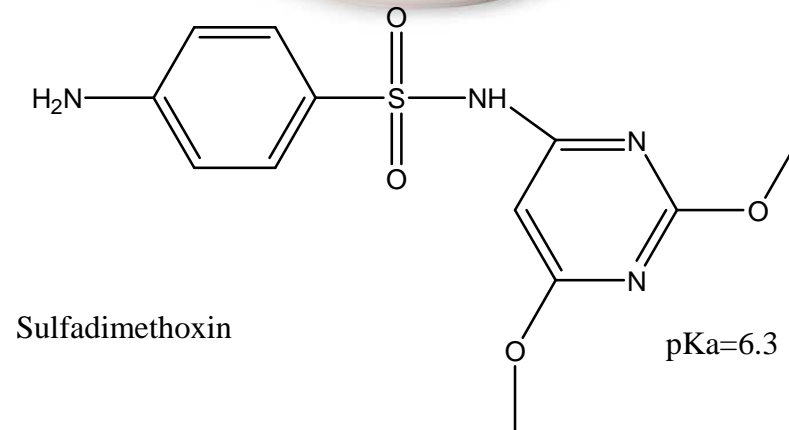
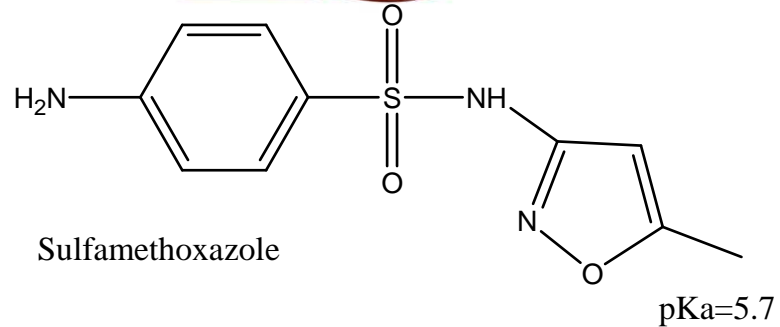
Ravimid

▣ Tetratsükliinid



Ravimid

□ Sulfoonamiidid



Normid

- Loomasõnnikule veterinaarravimite piirmäär - 100 µg/kg (EMEA/CVMP/055/96)
- Mullas on ravimite piirmääraks 10 µg/kg (EMEA/CVMP/055/96)

Antibiootikumide määramine

- Proovid
 - Tallinna ja Tartu reoveemuda
 - Tallinna ja Tartu kompost
 - Reovesi

Proovid

- Proovide võtmine:
 - Igas kuus 3 proovi toormuda Tallinnast ja Tartust
 - 2, 6 ja 12 kuud vanad kompostiproovid kompostiauna pindkihist ja 50 cm sügavuselt auna seest
- Proovid – 200 g muda või komposti; 500 mL purki. Kuivaine sisaldus 28 % Tallinna mudas ja 25 % Tartu mudas.

Proovid



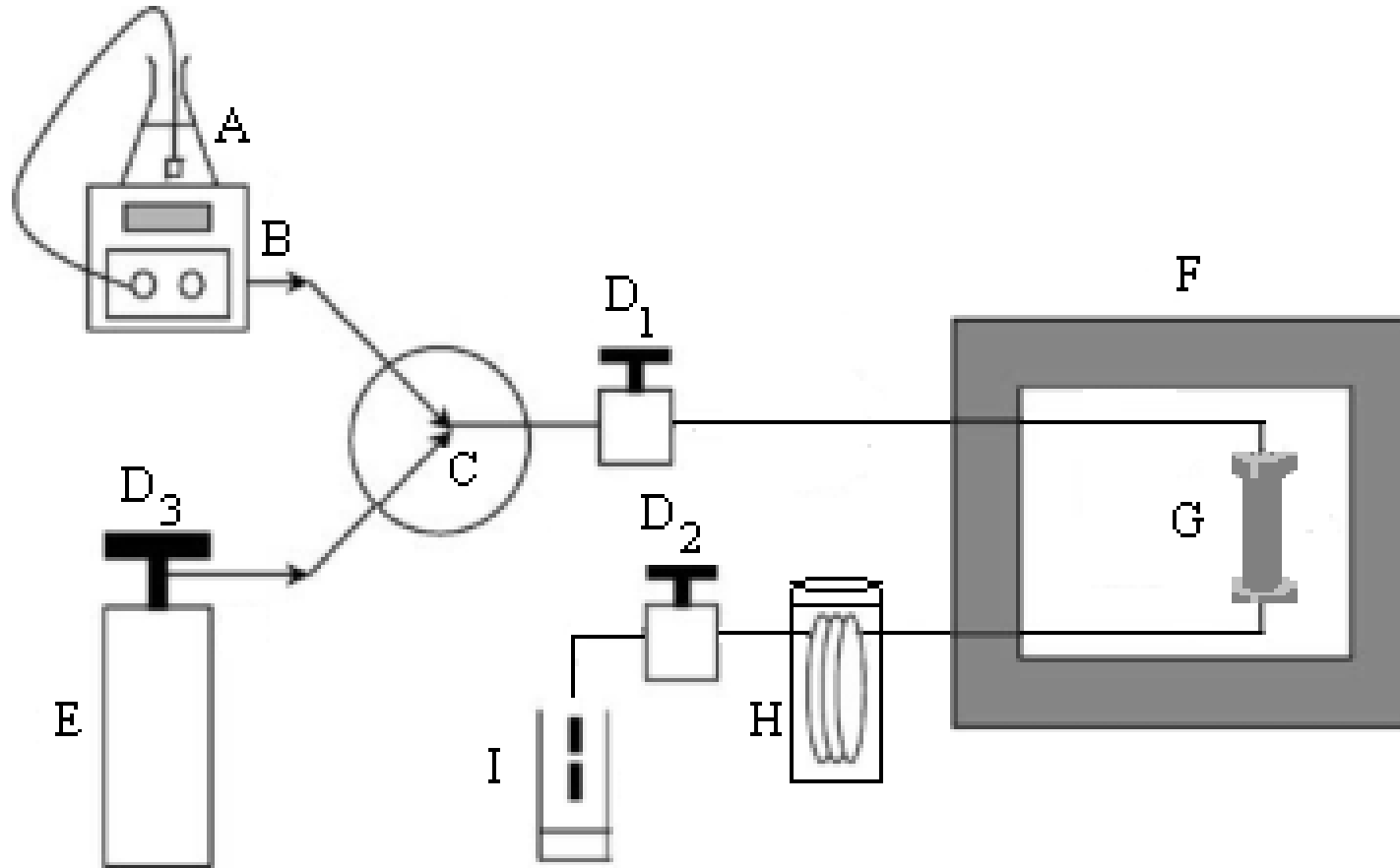
Muda
komposteerimine,
Tallinn

Foto: Merike Lillenberg

Proovide ekstraheerimine

- Kiirendatud vedelikekstraktsioon (PLE - *pressurized liquid extraction*)
- 9 ± 1 g muda + 9 ± 1 g liiva \rightarrow 9 ± 1 g muda/liiva segu
- Solvendina 0.35% fosforhappe, MeCN lahus (1/1), pH=2.5 (0.01 M sidrunhape).
- Temp. 100-110 °C, 100-110 atm. 150-160 mL ekstrakti.

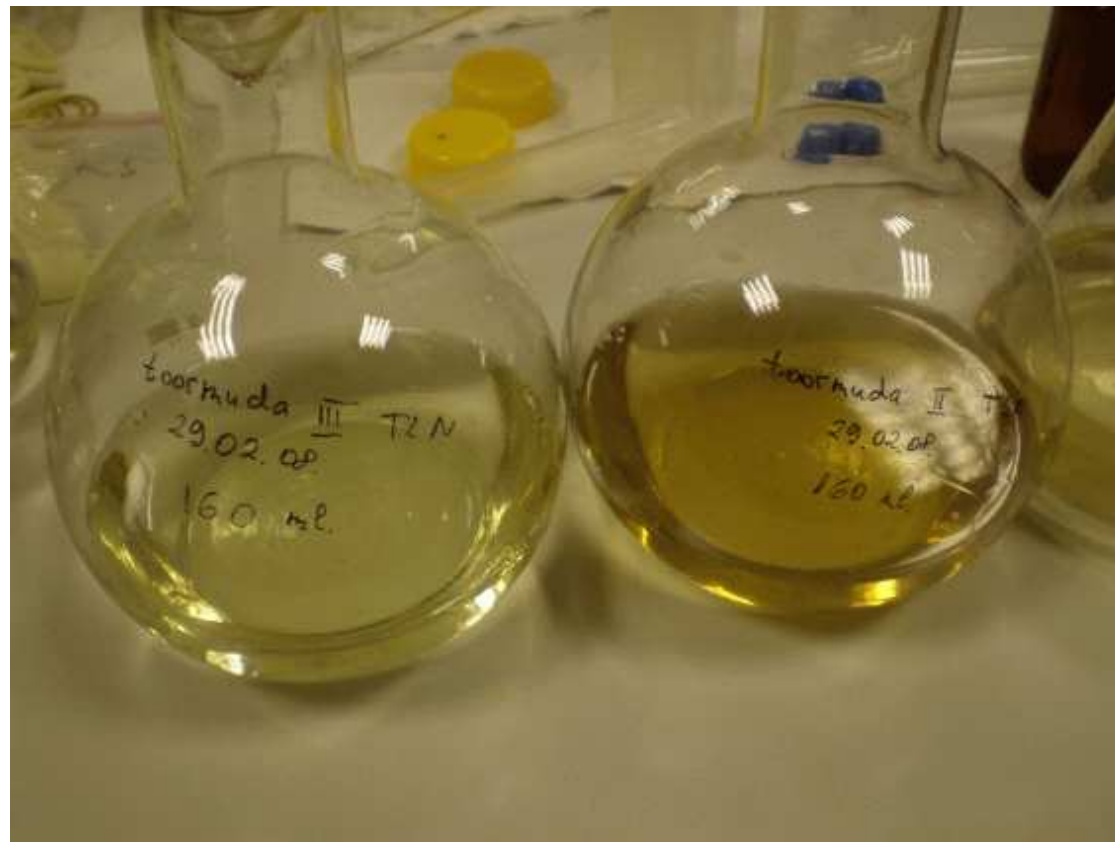
Proovide ekstraheerimine



A – solvent, B – pump, C – kraan, D – kraanid, E – argooni balloon,
F – ahi, G – rakk, H - jahuti, I – viaal.

Proovide ekstraheerimine

- Ekstrakt

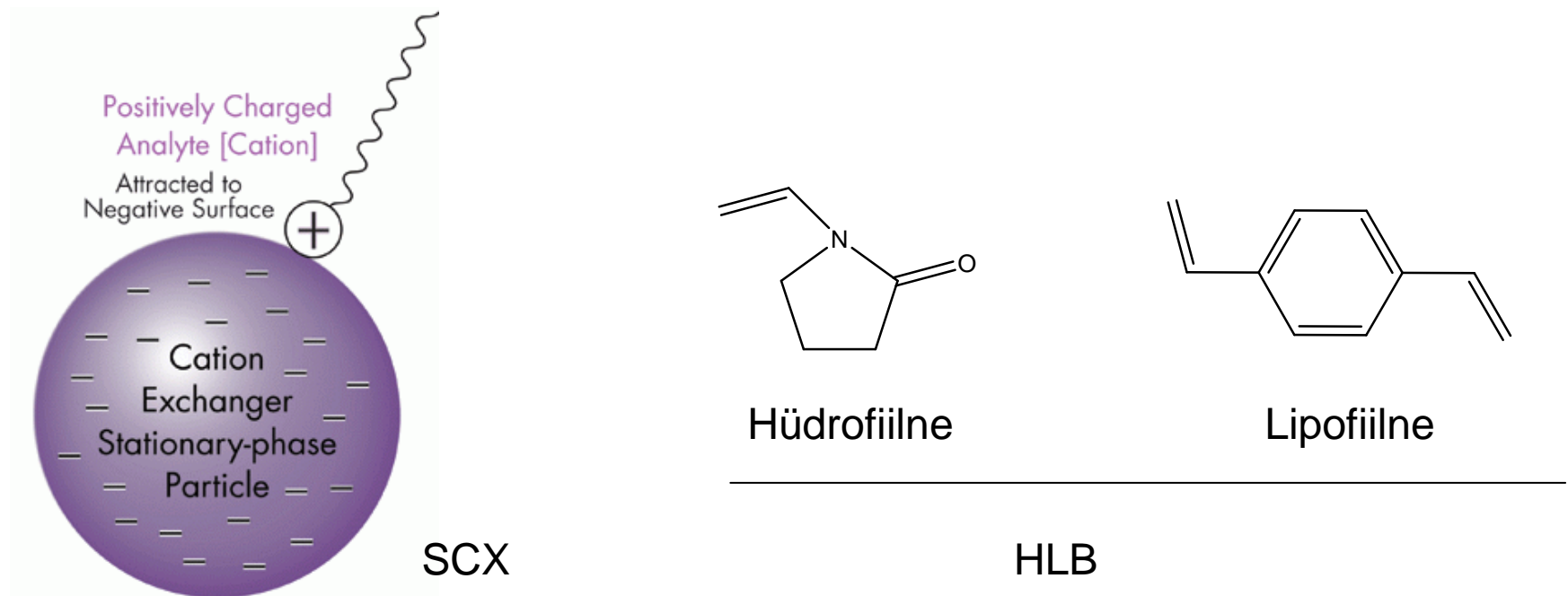


Proovide kontsentreerimine



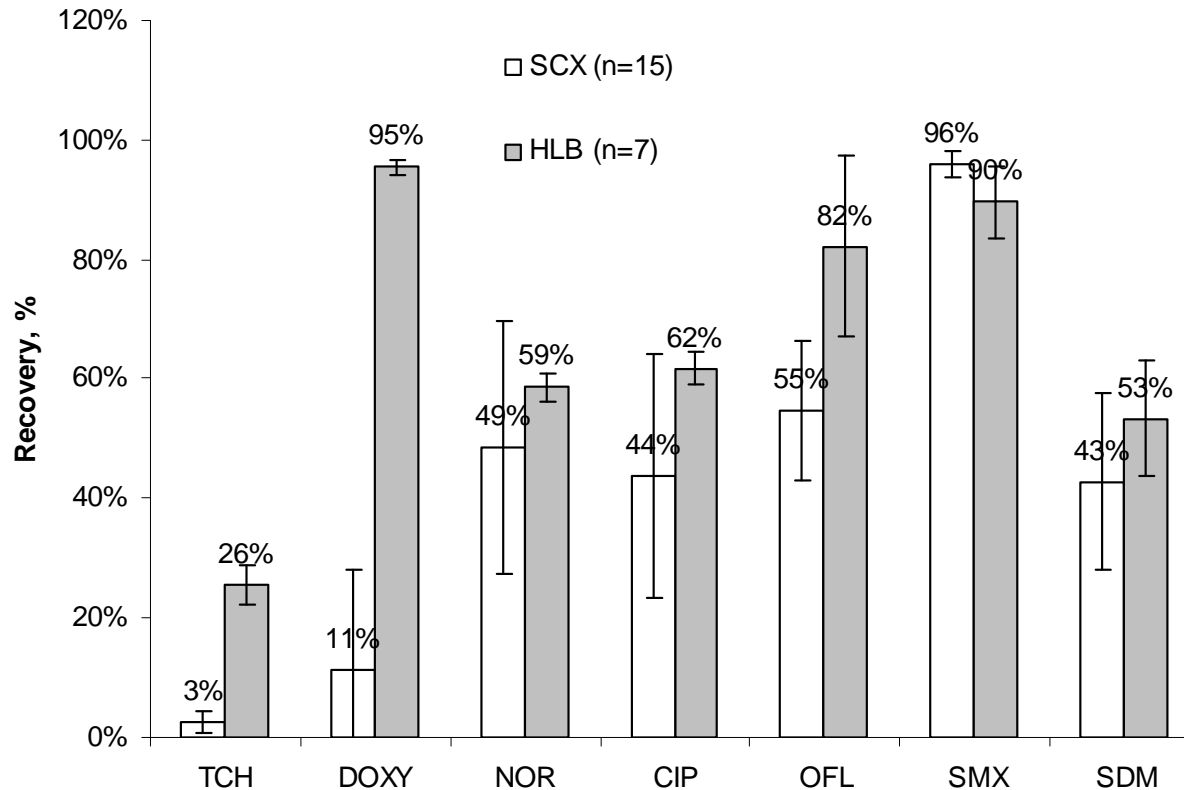
Proovide kontsentreerimine

- SPE padrunite sorbendid - kasutati tugevat kationvahetit (SCX) ja tasakaalustatud hüdrofiilset-lipofiilset sorbenti (HLB)



Proovide kontsentreerimine

■ Erinevad saagised



Proovide analüüs

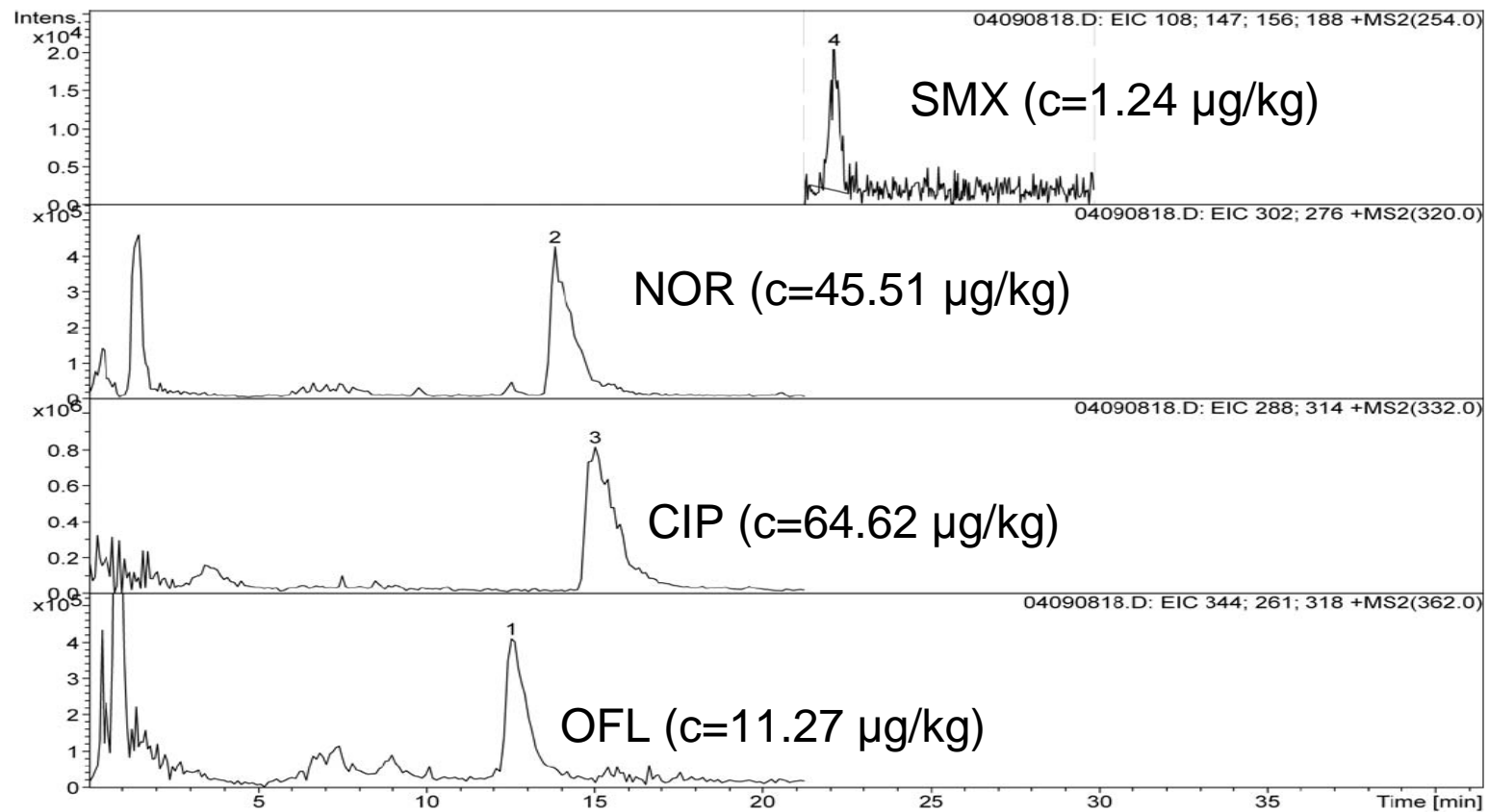


Proovide analüüs

- Proovide analüüs vedelikkromatograaf-massispektromeetrilisel meetodil (LC-MS)
- Kolonn: Phenomenex Synergi, Hydro-RP (250 mm x 4.6 mm, 4 μ m), eelkolonniga
- Eluendi gradient 0.4 mL/min 1 mM ammooniumatsetaat, 0.1 % sipelghape 35% MeOH kuni 80% MeOH

Proovide analüüs

■ Tallinn muda juuni 1



Antibiootikumide kontsentratsioonid

Kontsentratsioonide maksimumväärtused reoveemudas aastaringelt

		Antibiootikumide kontsentratsioonid, µg/kg				
Koht	Aeg	NOR	CIP	OFL	SMX	SDM
	Aug-Nov	7.3	11.8	2.6	1.0	0.7
	Dets-Märts	162.3	425.5	37.6	6.1	20.5
TALLINN	Aprill-juuli	60.2	57.5	4.8	1.3	0.1
	Aug-Nov	109.8	110.6	39.2	2.8	22.2
	Dets-Märts	65.7	105.7	21.6	1.7	7.9
TARTU	Aprill-juuli	66.0	66.2	11.8	3.9	0.2

Antibiootikumide kontsentratsioonid

- Antibiootikumide kontsentratsioonid reovees
 - Märtsi Tartu reovesi

	Antibiootikumide kontsentratsioon reovees (µg/L)						
	TCH	DOX	NOR	CIP	OFL	SMX	SDM
Keskmine	0.37	-	0.07	-	-	0.42	0.01
Vahemik	0-0.69	-	-	-	-	0.41-0.42	0.01

Antibiootikumide kontsentratsioonid

■ Antibiootikumide kontsentratsioonid kompostis

Antibiootikumide kontsentratsioon kompostis (µg/kg)

Kompost	Proov	Antibiootikumide kontsentratsioon kompostis (µg/kg)					
		NOR	CIP	OFL	SMX	SDM	
TARTU	2 kuud	Pinnalt	-	-	0-3.2	0-0.8	0-0.8
		Seest	0-6.2	-	0-2.1	0-1.0	0-4.2
	6 kuud	Pinnalt	0-21.8	0-17,9	0-2.8	0-0.6	0-0,2
		Seest	0-10.8	0-10.6	0-2.3	0-0.5	0-0.4
	12 kuud	Pinnalt	14.3-15.2	15.7-20.4	0-0.7	1.9-2.4	-
		Seest	6.1-11.5	7.8-11.5	1.0-1.3	0-0.6	-
TALLINN	2 kuud	Pinnalt	0-5.4	0-7.3	-	0-0.3	0-0.2
		Seest	-	-	-	-	-
	6 kuud	Pinnalt	2.0-6.6	1.6-4.3	0.8-3.0	-	-
		Seest	1.5-1.9	1.3-3.3	0.3-0.9	-	-
	12 kuud	Pinnalt	0-0.1	0-0.1	-	-	-
		Seest	0-0.1	0-0.1	-	-	-

Antibiootikumide kontsentratsioonid

Antibiootikumide kontsentratsioonid, µg/kg

Koht	Proov	NOR	CIP	OFL	SMX	SMD
Tartu	Reovesi (µg/mL)	0.07	-	-	0.42	0.01
	Muda	0.0-110	2.6-111	0.5-39	0.0-2.8	0.0-7.9
	Kompost	0.0-22	0.0-20	0.0-3.2	0.0-0.9	0.0-4.2
Tallinn	Muda	0.0-162	0.0-426	0.0-38	0.0-6.0	0.0-20
	Kompost	0.0-5.4	0.0-7.1	0.0-0.5	0.0-0.3	0.0-0.2

Antibiootikumide kontsentratsioonid



40 päeva vanune lehtsalat.

Foto: Merike Lillenberg

Kokkuvõte

- Määratud on 7 erinevat antibiootikumi Tallinna ja Tartu reoveest, reoveemudast ning kompostist
 - Reoveemuda komposteerimine vajalik
 - Edasised uuringud salati, juur- ja teraviljadega vajalikud

Täna tähelepanu eest!