



UPPSALA
UNIVERSITET



UPTEC W 16 032

Examensarbete 30 hp
November 2016

Utvärdering av småskalig rening från läkemedelsrester i källsorterad urin

Amanda Eskebaek

REFERAT

UTVÄRDERING AV SMÅSKALIG RENING FRÅN LÄKEMEDELSRESTER I KÄLLSORTERAD URIN

Amanda Eskebaek

Resistenta bakterier och spridning av läkemedelsrester i miljön har blivit allt mer uppmärksammat. Då våra konventionella reningsverk vanligtvis inte renar dessa substanser kan punktutsläppskällor vara intressanta att studera. Utöver det stora gemensamma bidraget av läkemedelsrester från hushållen kan t.ex. vissa sjukhus bidra till en stor del av avloppets antibiotika. Akademiska sjukhuset i Uppsala är ett av Sveriges största sjukhus som nu växer då både renoveringar och stora utbyggnationer sker. Sjukhuset är miljöcertifierat enligt ISO 14001 vilket betyder att de strukturerat jobbar med miljöfrågor. En expansion av sjukhuset kan komma att kräva större insatser i miljöarbetet och Akademiska sjukhuset önskar att ligga i framkant. Ett av miljömålen som Akademiska sjukhuset strävar mot är minskade utsläpp, varför de nu vill reducera halterna av läkemedelsrester och multiresistenta bakterier i avloppet. Det kan dock vara svårt att hitta en enkel reningsprocess som inte kräver någon för- eller efterbehandling av avloppsvattnet eller som tar upp stora ytor. Att behandla urinen separat kan vara ett motiverat alternativ istället för att behandla hela avloppsfraktionen, då urin innehåller största delen av avloppets läkemedelsrester och dessutom utgör en betydligt mindre volym.

Syftet med det här examensarbetet var att undersöka vilka av metoderna ozonering, behandling med biokol och enzymatisk nedbrytning som lämpar sig bäst för rening av urin från antibiotika. Metoderna studerades både teoretiskt och praktiskt i form av litteraturstudier respektive småskaliga reningsförsök. Ozonering genomfördes på IVL, Stockholm som tillhandahåller en mindre ozongenerator med en maxkapacitet att tillföra 50 mg ozon/l. Reningsförmågan hos ett biokol testades genom skakförsök samt kolonnförsök och enzymatisk rening testades med produkter från företaget Pharem Biotech, också genom kolonnförsök och skakförsök.

Resultaten i examensarbetet visade att biokol har stor potential att adsorbera antibiotika i urin. Under kolonnförsöket uppgick den maximala reduktionen till 55 %, något som tros kunna förbättras med exempelvis mindre partikelstorlek och längre kontakttid. Den högsta reduktionen nåddes vid skaktesten där upp till 96 % av antibiotikan reducerades.

För ozon- och enzymförsöken var resultaten inte lika positiva. Endast en antibiotika visade en nämnvärd reduktion i ett av försöken. Den låga reduktionsgraden för ozonförsöken tros framförallt bero på att ozondosen är för låg och att den tillförda ozondosen inte motsvarar den adsorberade ozondosen. Resultaten av enzymreningen kunde inte visa att enzymer i produkter från företaget Pharem Biotech hade någon reduktionseffekt på antibiotikan. Detta tros bero på att en inaktivering av enzymerna har skett av ämnen i urinen vilket gör att produkten måste anpassas för att bli applicerbar på urin.

SÖKORD:

Läkemedelsrening, antibiotikaresistens, avloppsvattenrening, källsortering av urin

Institutionen för vatten och miljö, Sveriges Lantbruksuniversitet, Box 7050, 75007 Uppsala

ABSTRACT

EVALUATION OF SMALL-SCALE TREATMENT METHODS FOR PHARMACEUTICALS IN SOURCE-SEPARATED URINE

Amanda Eskebaek

Pharmaceuticals in the environment are raising concern and since our municipal wastewater treatment plants normally don't remove pharmaceuticals or resistant bacteria, it could be of interest to study the emissions from potential point sources. In general, households contribute with the greatest amount of pharmaceuticals to the municipal wastewater, but in some regions hospitals are a major point source of for example antibiotics.

One of Sweden's largest hospitals, Akademiska sjukhuset, wants to reduce the amount of pharmaceuticals and resistant bacteria in their waste water, but the treatment process can be long, complicated and may require large areas. Cleaning of source-separated urine can be a more sustainable and efficient solution, since most of the pharmaceuticals are excreted via urine.

The aim of the study was to find out which one of the treatment methods; ozonation, biochar treatment and enzymatic treatment that are most suitable for reducing antibiotics from source separated urine. Ozonation was carried out at IVL, Stockholm, with a small-scale ozone generator, and biochar experiment and enzyme treatment was tested through batch tests and column test at Uppsala University.

The small-scale treatment experiments revealed that biochar treatment was the most promising method for reducing antibiotics in urine. The treatment methods ozonation and enzymatic treatment showed low reduction in this study, but may work better with some sort of pre-treatment.

To be able to develop a cleaning process with biochar (e.g. a filter system or a tank system), further studies on adsorption capacity, EBCT and breakthrough curves must be carried out.

KEYWORDS:

Pharmaceutical treatment, antibiotic resistance, wastewater treatment, source separation, urine treatment

Department of Aquatic Sciences and Assessment, Swedish University of Agricultural science, Box 7050, 75007 Uppsala

FÖRORD

Rapporten *Utvärdering av småskalig rening från läkemedelsrester i källsorterad urin* är ett examensarbete i Civilingenjörsprogrammet i Miljö- och vattenteknik, 300 Hp, vid Uppsala universitet och Sveriges Lantbruksuniversitet.

Intresset för projektet väcktes då jag tillsammans med kurskamrater under höstterminen 2015 gjorde en mindre litteraturstudie för Akademiska sjukhuset som belyste möjligheter och svårigheter med att rena sjukhusets avloppsvatten från läkemedelsrester. Genom detta projektarbete fick jag kontakt med Landstingsservice, Uppsala som sökte en examensarbetare som kunde göra en djupare studie på rening av Akademiska sjukhusets avloppsvatten.

Tillsammans med handledare från Landstingsservice; Jonas C Eriksson och Peter Jonsson (nu Rambøll), utvecklades detta examensarbete som ett parallellprojekt till ett redan befintligt reningsprojekt vid Akademiska sjukhuset.

Jag vill tacka:

Handledarna på Landstingsservice: Jonas C Eriksson och Peter Jonsson som hjälpt mig med utformning och stöd i projektet.

Stephan Köhler, ämnesgranskare, SLU: för utformning av laborativa studier och stöd i skrivande av rapport.

Annika C Nordin forskare inom kretsloppsteknik på Sveriges lantbruksuniversitet, SLU: som försåg examensarbetet med relevant kunskap samt handledde test av hydrolysering.

Sahar Dahlameh, SLU: för biokolen

Ola Svahn, Högskolan i Kristianstad: för en mycket lärorik dag med analys av biokolprover

Roger Herbert: för lånet av labb på Geocentrum

Fritjof Fagerlund: för lånet av kolonnuppsättning

Jörgen Magnér och Ann-Sofie Allard, IVL: för ozonering samt analys av prover och stöd i frågor kring ozonering och kemi

Sofia Schultz, miljösamordnare Akademiska sjukhuset och Josef Järhult, Infektionsläkare Akademiska sjukhuset

Svenskt Vatten: för finansiering

Copyright © Amanda Eskebaek, Institutionen för geovetenskaper, Uppsala universitet och Landstingsservice Uppsala, org. nr. 232100-0024
UPTEC W 16 032, ISSN 1401-5765

Publicerad digitalt vid Institutionen för geovetenskaper, Uppsala universitet, 2016

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Alarmerande rapporter om stora utsläpp av läkemedel, ökande antal resistenta bakterier och påverkade akvatiska ekosystem har gjort att fler intresserar sig för hur vi kan minska spridningen av dessa substanser till vår miljö. De konventionella reningsverken renar vanligtvis inte substanser som t.ex. läkemedel, men tekniken har gått framåt och idag är det fullt möjligt att stoppa spridningen av dessa. Ett reningsverk som har testat läkemedelsrening är Knivsta reningsverk, som under en period 2015 införde ozonering för att reducera skadliga substanser. Så länge läkemedelsrening inte är ett krav hos reningsverken, kan minskning av utsläppen hos punktutsläppskällor vara ett bra alternativ för miljön. Utöver ett stort gemensamt bidrag av läkemedelsrester från hushållen kan exempelvis sjukhus släppa ut betydande mängder av t.ex. antibiotika.

Akademiska sjukhuset är ett av Sveriges största sjukhus som nu vill minska sin spridning av läkemedelsrester till miljön. Att rena läkemedelsrester är dock ingen enkel uppgift, utan kräver ofta flera olika reningssteg och kan därför vara både kostsamt och kräva relativt stora ytor. Akademiska sjukhuset har en önskan om att finna en reningsprocess som kan fungera i mindre skala. Tidigare studier pekar mot att rening av källsorterad urin kan vara ett småskaligt alternativ, eftersom urinen dels innehåller den största andelen av avloppets läkemedel dels utgör en bråkdel av volymen.

I detta examensarbete har rening av antibiotikahaltig urin studerats genom tre metoder; ozonering, enzymbehandling och behandling med biokol. Metoderna har studerats både teoretiskt och praktiskt i form av litteraturstudier respektive småskaliga reningsförsök. I försöken tillsattes olika antibiotika till ren urin, dvs. urin från personer som inte gick på antibiotika.

När urin lagras i ett urinseparerande system sker hydrolys; urea bryts ner och urinen får andra egenskaper som t.ex. högre pH-värde och högre halt ammoniak. Dessa egenskaper kan påverka ozoneringen varför dessa försök genomfördes på både färsk- och hydrolyserad urin. Ozoneringen genomfördes även på utspädd färsk- respektive hydrolyserad urin för att simulera ett mer verkligt scenario, där urinen späds med spolvatten.

Ozon som är ett starkt oxidationsmedel är idag den kanske vanligaste reningsmetoden för reduktion av läkemedel i avloppsvatten. Tidigare försök har visat att ozonering även kan fungera för att reducera läkemedel i urin, även om relativt höga halter verkar behövas. I den här studien genomfördes ozonering hos IVL, Stockholm som tillhandahåller en liten ozongenerator. En nackdel med ozonering är att olika toxiska biprodukter kan bildas. För att kontrollera detta mättes därför även bromathalten i urinen före och efter ozonering.

En mindre känd reningsteknik är enzymatisk rening, en reningsmetod som företaget Pharem Biotech har tillämpat i sina produkter. Enligt företaget har tidigare studier på utgående avloppsvatten från reningsverk visat goda resultat varför det var intressant att studera om enzymerna också kunde fungera på antibiotikahaltig urin. Enzymerna från Pharem Biotech testades genom ett skakförsök där en enzymvätska blandades med antibiotikahaltig urin samt ett filtreringsförsök där antibiotikahaltig urin fick passera ett enzymfilter.

Aktivt kol är en mycket god adsorbent av föroreningar som exempelvis olika läkemedel, och har sedan länge använts inom både dricks- och avloppsvattenrening. En nackdel är att aktiveringsprocessen av kolet kräver mycket energi och därmed blir kostsam. På senare tid

har vanligt kol, även kallat biokol också visats vara en bra adsorbent av läkemedel, vilket är ett både enklare och mer ekonomiskt alternativ. I examensarbetet undersöktes ett biokol dels genom ett kolonnförsök, där antibiotikahaltig urin fick passera en kolonn packad med biokol, dels genom så kallade skaktester, där olika mängder biokol skakades med antibiotikahaltig urin.

Resultaten i examensarbetet visade att den kanske enklaste och troligtvis billigaste metoden; biokol, fungerade bäst. Skaktesten visade att biokolet har stor potential att rena urin från antibiotika varför vidare studier på denna metod kan rekommenderas. Under kolonnförsöken uppgick den maximala reduktion till 55 % (för Trimetoprim), något som tros kunna förbättras med exempelvis mindre partikelstorlek och längre kontakttid. Den högsta reduktionen nåddes hos skaktesten med biokol, där 20 g biokol på 100 ml färsk urin reducerade upp till 96 % av antibiotikan (Ciprofloxacin), under 1 h.

För ozon- och enzymförsöken var resultaten inte lika positiva. En tillförd ozondos på 50 mg/l reducerade inte läkemedelsresterna nämnvärt i den koncentrerade urinen medan samma ozondos hade en viss effekt i den färsk urinen som späddes med 50 % spolvatten. Den bästa reduktionen sågs hos Doxycylin som reducerades till 86 % i färsk utspädd urin. Resultaten av enzymreningen kunde inte visa att enzymer i produkter från företaget Pharem Biotech hade någon reduktionseffekt på antibiotikan. Detta tros bero på att inaktivering av enzymerna har skett och att en anpassning av enzymerna därför är nödvändig för att kunna applicera metoden på urin.

ORDLISTA

AOP – Eng. Advanced Ozonation Process.

ARV – Avloppsreningsverk.

DOC – Eng. Dissolved Organic Carbon. Sv. löst organiskt kol. DOC är en bred klassificering av organiska molekyler. Enligt vissa författare definieras DOC som organiskt kol < 45 µm (Woods Hole, 1981).

DOM – Eng. Dissolved Organic Matter. Sv. löst organiskt material. DOM brukar uttryckas i DOC.

Elektrodialys – En metod som kan separera joner över ett membran, där ett elektriskt fält styr processen istället för tryckskillnad som t.ex. vid osmos.

Enzymer – Proteiner som katalyserar kemiska reaktioner.

GAC – Eng. Granulated Activated Carbon. Sv. granulerat aktivt kol.

HPCL – Eng. High-Performance Liquid Chromatography. Sv. högupplösande vätskekromatografi. HPCL är en analysteknik som används för att separera, identifiera och kvantifiera varje komponent i en blandning (“High-performance liquid chromatography,” 2016). HPLC är en analysteknik som ger ett mått på renhet hos substansen.

Intermediär – En mellanprodukt som bildats i en kemisk reaktion. Ofta är en intermediär starkt reaktionsbenägen.

Nukleofil – Kan vara en negativt laddad- eller neutral jon. När en nukleofil skapar en bindning doneras ett elektronpar till en positivt laddad jon eller atom, en så kallad elektrofil.

PAC – Eng. Powdered Activated Carbon. Sv. Pulveriserat aktivt kol.

Radikaler – Atomer eller molekyler med oparade elektroner.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

REFERAT	I
ABSTRACT	II
FÖRORD	III
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	III
ORDLISTA	VI
INNEHÅLLSFÖRTECKNING	7
1 INLEDNING	1
1.1 SYFTE	2
1.2 UTFÖRANDE OCH AVGRÄNSNINGAR	2
2 BAKGRUND	4
2.1 LÄKEMEDELNS MILJÖPÅVERKAN	4
2.2 LAGSTIFTNING	4
2.3 SPRIDNING AV LÄKEMEDELSRESTER OCH MULTIRESISTENTA BAKTERIER	5
2.3.1 Antibiotika och multiresistenta bakterier	5
2.3.2 Rena punktutsläppskällor av läkemedel?	5
2.3.3 Källsortering för en småskalig lösning?	7
2.4 RENINGSMETODER	7
2.4.1 Kemiska oxidationsprocesser- Ozon	8
2.4.2 Kemiska oxidationsprocesser-Advancerad Oxidations Process (AOP)	10
2.4.3 Ozon och AOP för reduktion av läkemedel	11
2.4.4 Enzymatisk rening	15
2.4.5 Rening med kol	16
3 METODUTVECKLING	18
3.1 VAL AV RENINGSMETOD OCH ANTIBIOTIKA	18
3.2 RENING AV URIN	19
3.2.1 Hydrolys i källsorterande system	20
3.2.2 Hydrolys på konstgjord väg	20
3.2.3 Spikning	21
4 METOD	22
4.1 Försöksuppställning	22
4.1.1 Serie 1	22
4.1.2 Serie 2	22
4.1.3 Serie 3	22
4.2 INSAMLING- OCH PREPARERING AV URIN	23
4.2.1 Hydrolysering	23
4.2.2 Kolonnförsök	23
4.3 FÖRSÖKSSERIE 1.1 – OZONERING AV KONCENTRERAD URIN	24
4.3.1 Provberedning	24
4.3.2 Behandling och analys	25
4.4 FÖRSÖKSSERIE 1.2 – OZONERING AV UTSPÄDD URIN MED TILLSATS AV OLJA	26
4.4.1 Provberedning	26
4.4.2 Behandling och analys	26
4.5 FÖRSÖKSSERIE 2.1 – RENING AV URIN MED PFS-FILTER FRÅN PHAREM BIOTECH	26
4.5.1 Provberedning	26

4.5.2	Behandling.....	26
4.5.3	Analys.....	27
4.6	FÖRSÖKSSERIE 2.2 – RENING AV URIN MED PCURE-LÖSNING FRÅN PHAREM BIOTECH	27
4.6.1	Provberedning.....	27
4.6.2	Behandling.....	27
4.6.3	Analys.....	27
4.7	FÖRSÖKSSERIE 3.1 – KOLONNFÖRSÖK MED BOKOL OCH URIN.....	28
4.7.1	Materialegenskaper	29
4.7.2	Provberedning.....	29
4.7.3	Behandling.....	29
4.7.4	Analys.....	30
4.8	FÖRSÖKSSERIE 3.2 – SKAKTEST MED BOKOL OCH URIN.....	31
4.8.1	Provberedning.....	31
4.8.2	Behandling.....	31
4.8.3	Analys.....	31
4.8.4	Skaktest bokol och vatten.....	32
5	RESULTAT OCH OBSERVATIONER	33
5.1	FÖRSÖKSSERIE 1 – OZONERING AV KONCENTRERAD URIN	33
5.2	FÖRSÖKSSERIE 1.2 – OZONERING AV UTSPÄDD URIN.....	34
5.2.1	FÖRSÖKSSERIE 1.3 – BROMATANALYS AV OZONERADE PROVER.....	36
5.3	FÖRSÖKSSERIE 2 – RENING AV URIN MED PFS-FILTER OCH PCURE-LÖSNING FRÅN PHAREM BIOTECH	38
5.4	FÖRSÖKSSERIE 3.1 – KOLONNFÖRSÖK MED BOKOL OCH URIN.....	39
5.5	FÖRSÖKSSERIE 3.2 – SKAKTEST MED BOKOL OCH URIN.....	41
5.5.1	Skaktest bokol och vatten.....	43
6	DISKUSSION	44
6.1	FÖRSÖKSSERIE 1 – OZONERING AV KONCENTRERAD URIN	44
6.2	FÖRSÖKSSERIE 1.2 – OZONERING AV UTSPÄDD URIN.....	44
6.3	FÖRSÖKSSERIE 2.1 – RENING AV URIN MED PFS-FILTER FRÅN PHAREM BIOTECH	45
6.4	FÖRSÖKSSERIE 3.1 – KOLONNFÖRSÖK MED BOKOL OCH URIN.....	45
6.5	FÖRSÖKSSERIE 3.2 – SKAKTEST MED BOKOL OCH URIN.....	46
7	SLUTSATSER	47
8	REFERENSER.....	48

1 INLEDNING

Resistenta bakterier och spridning av läkemedelsrester i miljön har blivit allt mer uppmärksammat, både lokalt och internationellt. Spridningen av läkemedelsrester har delvis kunnat minskas då det finns bra system för omhändertagande av överblivna läkemedel för både sjukvården och allmänheten, där förbränning är metoden för kvittblivning (Bengtsson et al., 2005). Idag är läkemedel som lämnar kroppen efter användning den största källan för spridning till miljön (Larsson and Lööf, 2015). En stor andel av läkemedel som intas av djur eller människor utsöndras vanligen oförändrade genom så kallad renal utsöndring via njurarna eller i metaboliserad form via levern, men läkemedel kan även transporteras från lever till galla och utsöndras via tarmen (Hammarlund-Udenaes, n.d.). Läkemedlen når sedan miljön genom våra avloppssystem (Fick et al., 2011) som inte är konstruerade för att ta hand om dessa substanser (Naturvårdsverket, 2008). Läkemedel är ofta både potenta, kemiskt resistenta och biologiskt aktiva vilket kan innebära stora konsekvenser för ekosystemen där avloppsvattnet släpps ut.

Läkemedelsavfall utgörs av flera olika avfallsströmmar som avspeglar användning och hantering av läkemedel. Man har identifierat två huvudströmmar förknippade med användning; allmänhetens användning som t.ex. öppenvård, egenvård och djurhållning samt sluten vård vilket inkluderar olika vårdformer och forskningsverksamhet. Den sistnämnda strömmen står för en betydligt mindre andel läkemedel (Läkemedelsverket, 2012), men är inte försumbar då t.ex. avloppsvattnet från svenska sjukhus visats innehålla de högsta koncentrationerna av läkemedel (Läkemedelsverket, 2007; Naturvårdsverket, 2008).

I Uppsala finns ett av Sveriges största sjukhus, Akademiska sjukhuset (Akademiska sjukhuset, 2015a). Tidigare mätningar i Akademiska sjukhusets avloppsvatten har visat att avloppsvattnet från sjukhuset, likt många sjukhus, innehåller höga koncentrationer av vissa läkemedel, som t.ex. olika sorters antibiotika (Landstinget i Uppsala län, 2005). Idag går Akademiska sjukhusets avloppsvatten direkt till det kommunala avloppsreningsverket i Uppsala; Kungsängsverket. Av Akademiska sjukhusets totala avloppsvattenflöde på 700 m³/dygn (Peter Jonsson, 2015), står sjukhuset för ca 1,3 % av 52800 m³ avloppsvatten som behandlas på Kungsängsverket varje dag (Uppsala Vatten, 2010). Tidigare mätningar visar att recipienten Fyrisån årligen tar emot höga halter läkemedelsrester (Landstinget i Uppsala län, 2005), där Akademiska sjukhuset är en punktutsläppskälla.

Akademiska sjukhuset är miljöcertifierade enligt ISO 14001 vilket innebär att de strukturerat arbetar med miljöfrågor och årligen följer upp sitt miljöarbete. En av punkterna som Sjukhuset jobbar med är minskade utsläpp, varför de nu önskar reducera halterna av läkemedelsrester och multiresistenta bakterier i avloppet (Akademiska sjukhuset, 2015b).

Idag har flera lyckade försök gjorts på olika metoder för rening av läkemedelsrester i avloppsvatten både i Sverige och internationellt men många av försöken är gjorda på avloppsvatten som renats i ett befintligt reningsverk (Gottschalk et al., 2009; Karlsson-Ottosson, 2015; Wahlberg et al., 2009). Ett exempel där läkemedelsrening sker i fullskala är Herlev hospital i Danmark, som installerat ett reningsverk designat för att reducera sjukhusets avloppsvatten från läkemedelsrester (Elsevier, 2015). Landstinget i Uppsala har varken plats eller är beredda på att starta upp ett eget reningsverk för att rena sjukhusets avloppsvatten

varför nu småskaliga alternativ söks. Ozonering av källsorterad urin är ett exempel som enligt tidigare studier visat sig vara en metod som kan fungera för att reducera läkemedelsrester från avloppet (Dodd, 2008; Dodd et al., 2008; Escher et al., 2006; Maure et al., 2006). Att behandla urinen separat kan vara ett motiverat alternativ istället för att behandla hela avloppsfraktionen, då urin innehåller största delen av avloppets läkemedelsrester och dessutom utgör en betydligt mindre volym (Larsen et al., 2004).

En annan metod för rening av läkemedelsrester som kan fungera är enzymatisk nedbrytning. Företaget Pharem Biotech är ett företag som bland annat har utvecklat produkten PCure, ett enzymblock som hängs på toalettkanalen. Vid spolning tar vattnet med enzymer från blocket, som bryter ner läkemedelsrester innan de når reningsverket. Pharem Biotech har även utvecklat ett enzymfilter som kan installeras i ARV (avloppsreningsverk) för att behandla utgående avloppsvatten. Filtret skulle kunna utgöra ett alternativ för behandling av källsorterad urin, men har inte testats för detta ändamål tidigare. Reningsresultaten från filtren uppges vara mycket goda varför filtrets applicerbarhet på urin ligger i både Pharem Biotechs och Akademiska sjukhusets intresse att testa (Ryen, 2016).

Akademiska sjukhuset inleder nu två projekt där ozonering och enzymbehandling av helt orenat avloppsvatten ska studeras (Schoultz, 2015). Vissa studier tyder dock på att effekten av ozonering avtar med ökad halt organiskt material (Larsen et al., 2013) och att ozonering av ett helt orenat avloppsvatten enligt vissa källor inte är ett möjligt alternativ (Von Gunten, 2013). Parallellt med Akademiska sjukhusets projekt ska detta examensarbete, som utförs för landstingsservice i Uppsala, undersöka några reningsmetoder för källsorterad urin, som kräver lite eller om möjligt ingen förbehandling.

1.1 SYFTE

Att genom litteraturstudie och laborativa studier undersöka vilka av metoderna ozonering, behandling med biokol och enzymatisk nedbrytning som lämpar sig bäst för rening av urin från antibiotika.

1.2 UTFÖRANDE OCH AVGRÄNSNINGAR

Examensarbetet innefattar både en praktisk del, med provtagning och laborativt arbete, samt en teoretisk del i form av analys av provresultat, litteraturstudie och rapportskrivning.

Metoderna ozonering, enzymatisk nedbrytning och behandling med biokol studerades både teoretiskt och praktiskt. Studien avgränsades till urin, spikad (tillsatt) med några representativa antibiotika (Ciprofloxacin, Doxycyklin, Trimetoprim och Sulfametoxazol) som används i stor omfattning på Akademiska sjukhuset idag.

Analyser för tester med biokol genomfördes på högskolan i Kristianstad. Ozonering och läkemedelsanalyser för ozonerade prover och enzymbehandlade prover genomfördes på IVL, Stockholm och bromatanalys på IVL Malmö.

Alla tester dupliceras inte på grund av begränsad budget. Istället för att endast undersöka en metod beslutades tillsammans med Landstingsservice, Uppsala, att studera flera metoder

ytligare. Examensarbetet kan därmed ses som ett underlag för fortsatta studier inom en av examensarbetaren rekommenderad reningsmetod.

Ozonering

- Ozonering testades två gånger: hydrolyserad- och färsk urin spikad med representativa antibiotika samt utspädd hydrolyserad- och färsk urin spikad med representativa antibiotika

-

Enzymatisk rening

- PFS-filter och enzymlösning testades på färsk urin spikad med representativa antibiotika

Biokolbehandling

- Skaktester och kolonnförsök genomfördes med biokol och färsk urin spikad med representativa antibiotika.

2 BAKGRUND

I detta kapitel beskrivs översiktligt hur läkemedel och resistenta bakterier sprids i miljön och läkemedlens miljöpåverkan. Källsorterande system diskuteras och tidigare studier på reningsmetoder för reduktion av läkemedelsrester presenteras.

2.1 LÄKEMEDLENS MILJÖPÅVERKAN

Olika läkemedel har olika miljöpåverkan som kan mätas med exempelvis *PBT* (Persistens Bioackumulativitet Toxicitet)-*index* eller *miljörisk*. *PBT-index* är ett index på en skala mellan 0 och 9 som anger miljöfarligheten hos en substans. Indexet ges från en summering av P (persistens), B (bioackumulation) och T (toxicitet), som kan anta värden mellan 0 och 3, där högre siffra betyder högre persistens, bioackumulation respektive toxicitet. *Miljörisk* innebär toxisk risk för vattenmiljön och baseras på kvoten PEC/PNEC, där PEC (Predicted Environmental Concentration) är förväntad koncentration av läkemedlet i svenska vattendrag och PNEC (Predicted No Effect Concentration) är en koncentration som förväntas vara ofarlig för vattenlevande djur och växter som lever där (Janus info, 2016). Ett läkemedel med låg *miljörisk* kan dock ha högt *PBT-index*, ("läkemedlet används i låg utsträckning men är mycket miljöfarligt") varför valet av riskbedömningsmetod är väsentlig i dess sammanhang.

För att göra en allmän bedömning om ett läkemedels miljöpåverkan i t.ex. hela Sverige kan *miljörisk* vara en lämplig metod. För läkemedel som har höga PBT-värden är däremot hanteringen väldigt viktig (LIF, n.d.), vilket gör att *PBT-index* kan vara en lämplig metod för bedömning av miljöpåverkan från utsläppen hos punktutsläppskällor som t.ex. sjukhus.

2.2 LAGSTIFTNING

Även om intresset för miljöpåverkan från läkemedelsrester har växt under de senaste åren (LIF, n.d.), har EU ingen lag som kan hindra tillverkning eller användning av ett humanläkemedel kopplade till miljökrav (Naturvårdsverket, 2014). Däremot ställs krav på försiktighet hos den som hanterar läkemedel för att förhindra att läkemedlen skadar människor, egendom eller miljön. För vissa läkemedel som t.ex. radioaktiva substanser kan dock beredning och användning begränsas till sjukhus (Riksdagsförvaltningen, 2015).

År 2012 kom ett förslag från kommissionen om att utöka vattendirektivets lista över prioriterade ämnen. 15 nya ämnen pekades ut och för första gången var 3 av dessa ämnen läkemedel (två östrogener och Diklofenak) (Riksdagsförvaltningen, 2012). År 2017 ska kommissionen ha tagit fram åtgärder för att hantera miljöpåverkan från dessas läkemedel, som ska vidtas på unionsnivå och/eller medlemsstatsnivå (Europeiska unionens officiella tidning, 2013, n.d.). Akademiska sjukhuset tror att det kan komma att bli fortsatt ökade krav på omhändertagande av läkemedelsutsläpp i framtiden, och önskar därför att ligga i framkant.

2.3 SPRIDNING AV LÄKEMEDELSRESTER OCH MULTIRESENTA BAKTERIER

De konventionella reningsverken är konstruerade för att rena organiskt material, flytande material, fasta partiklar och närsalter som exempelvis fosfor, men många ämnen, som kan vara skadliga passerar reningsverket och släpps helt opåverkade ut i recipienten (Sten, 2013). Läkemedelsrester och multiresistenta bakterier är ett sådant exempel (Naturvårdsverket, 2008; Silva et al., 2006). *The Swedish national Screening Programme* gjorde år 2010 en undersökning av läkemedel från tätbebyggda områden i Sverige, med betoning på inkommande och utgående avloppsvatten och deras recipienter. Studien visade att 15 av 101 läkemedel släpptes ut i sådan stor utsträckning att farmakologiska responser kunde förväntas hos fisken i recipienten. Många läkemedel hittades i biotaprover hos fisk, där de största koncentrationerna hittades hos Abborre som fångats i Fyrisån, nära utloppet till Kungsängsverket, Uppsala. De flesta läkemedel som fanns i biota hos fisk kunde också detekteras i ytvattnet, vilket pekar på att det finns ett samband mellan ytvattenförekomst av läkemedel och upptag i fisk (Fick et al., 2011), detta bekräftas även av flera tidigare studier som visat liknande samband (Brooks et al., 2005; Ramirez et al., 2009).

2.3.1 Antibiotika och multiresistenta bakterier

Användandet av antibiotika har visat ge selektion av antibiotikaresistenta bakterier, speciellt användning av s.k. bredspektrumantibiotika (Folkhälsomyndigheten, 2011). Ciprofloxacin är ett sådant exempel, som till följd av stor användning hotas av snabb resistensutveckling (Läkartidningen, 2015). Vissa sjukhus kan vara betydande källor till både utsläpp av antibiotika och resistenta- och multiresistenta bakterier (Korzeniewska et al., 2013; Li et al., 2014), men det är svårt att dra en generell slutsats då vissa studier pekar på att hushållen i snitt bidrar med högre koncentrationer av antibiotika och resistenta bakterier, där det senaste dock kan bero på att vissa sjukhus desinficerar avloppsvattnet (Li et al., 2014). Korrelationen mellan höga koncentrationer av antibiotika i avloppsvattnet och uppkomst av multiresistenta bakterier är heller inte helt fastställd. Studier bekräftar att t.ex. tetracyklinkoncentration och andelen tetracyklinresistenta bakterier har tydlig korrelation (Gao et al., 2012; Li et al., 2014) medan andra antibiotika och motsvarande resistent bakterie har visat låg korrelation (Li et al., 2014). I laboratoriestudier har dock väldigt låga antibiotikakoncentrationer visat ge selektion av resistenta bakterier (Gullberg et al., 2011). Något som många författare är överens om är att reningsverken kan utgöra en reservoar för spridning av antibiotikaresistenta bakterier till miljön (Amos et al., 2014; Korzeniewska et al., 2013; Li et al., 2014). Studier har även visat att antibiotikaresistensgener kan spridas från bakteriekolonier i reningsverken till bakteriekolonier i miljön genom genöverföring (Amos et al., 2014; Coates, 2012).

2.3.2 Rena punktutsläppskällor av läkemedel?

I Naturvårdsverkets rapport *Avloppsreningsverkens förmåga att ta hand om läkemedelsrester och andra farliga ämnen*, framgick att de högsta halterna av läkemedelsrester fanns i sjukhusens avloppsvatten men att andelen läkemedel från sjukhus till totala mängden läkemedel till reningsverken är relativt liten. Om det är motiverat att rena ett sjukhusavloppsvatten råder det därför delade meningar om (Elsevier, 2015; Naturvårdsverket, 2008). Rening av delflöden med höga halter av vissa läkemedel kan dock vara ett motiverat alternativ (Naturvårdsverket, 2008). Fördelen med att rena vid källan är också att reningen är effektivare på höga koncentrationer, enligt första ordningens kinetik.

Tidigare studier på Akademiska sjukhusets avloppsvatten (Landstinget i Uppsala län, 2005) visade att sjukhuset bidrog med relativt stora mängder av vissa läkemedel till stadens totala utsläpp. Sett i mängd visar översiktliga beräkningar från de tidigare mätningarna att ca hälften av sjukhusets utsläpp var antibiotika. I Tabell 1 har data från Landstinget i Uppsala län, 2005 och PBT-index från (Janus info, 2016) sammanställts. Halterna från rapporten (Landstinget i Uppsala län, 2005) har räknats om till mängder, där avloppsvattenflödet från brunn 11 är 542 m³ och avloppsvattenflödet i brunn 12 är 154 m³ (Peter Jonsson, 2015). Beräkningarna baseras även på det totala avloppsvattenflödet till Kungsängsverket: 52800 m³ från 52800 m³ (Uppsala Vatten, 2010). Det totala bidraget av antibiotika från Akademiska sjukhuset till Kungsängsverket var år 2005 ca 10 kg.

Tabell 1. Sammanställd data från (Landstinget i Uppsala län, 2005), (Janus info, 2016) och resultat från beräkningar utifrån från (Landstinget i Uppsala län, 2005).

Antibiotika	[AB** 11] (ng/l)	[AB** 12] (ng/l)	[AB** 11 och 12] (ng/l)	[In ARV] (ng/l)	[ut ARV] (ng/l)	Sjukhusets andel av tot. inflöde av läkemedel till ARV* (%)	Andel av inkommande läkemedel som passerar ARV* oförändrad (%)	P	B	T	PBT - index
<i>Ciprofloxacin</i>	14000	2000	11345	670	9	22%	1	3	0	3	6
<i>Doxycyclin</i>	700	<200	589	<200	<20	4%	10	-	-	-	-
<i>Enrofloxacin</i>	<10	<10	10	<5	<5	3%	100	-	-	-	-
<i>Erytromycin</i>	290	7100	1797	230	130	10%	57	3	0	3	6
<i>Metronidazol</i>	4500	800	3681	110	72	44%	65	3	0	3	6
<i>Norfloxacin</i>	2100	1200	1901	270	7	9%	3	-	-	3	3
<i>Ofloxacin</i>	130	<10	103	<10	5	14%	50	3	3	3	9
<i>Oxi-tetracyklin</i>	1100	130	885	630	<10	2%	2	3	0	3	6
<i>Sulfa-metoxazol</i>	12000	4100	10252	380	28	36%	7	3	0	3	6
<i>Tetracyklin</i>	1300	330	1085	380	<10	4%	3	3	0	3	6
<i>Trimetoprim</i>	8400	2600	7117	630	310	15%	49	3	0	1	4
<i>Tylosin</i>	<10	<10	10	<10	<2	1%	20	-	-	-	-

* Med ARV menas Kungsängsverket avloppsreningsverk.

**AB står för avloppsbrunn.

2.3.3 Källsortering för en småskalig lösning?

Enligt Larsen et al., (2004) kan källsortering av avloppsfraktionen utgöra en miljömässig hållbar lösning som möjliggör omhändertagande av mikroföroreningar som t.ex. läkemedelsrester. Källsortering innebär att avloppet delas upp; antingen separeras urinen för sig (urinsortering) eller tillsammans med spolvattnet (klosettvattnensortering). Det finns även helt torra system (Palm et al., 2002). I snitt produceras ca 1,5 liter urin per person och dag (Kvarnström, 2006) vilket är mindre än 1 % av den totala avloppsvolymen, men urinen innehåller en väldigt stor andel av de biologiskt aktiva substanserna (Von Gunten, 2013). Att rena urinen innan den blandas med det övriga avloppet kan därför vara ett alternativ till en mer småskalig läkemedelsrening. Att bygga om till ett källsorterande avloppssystem är visserligen ingen småskalig process, men om bytet av toaletter och ledningar görs i samband med renoveringar och nybyggnationer blir omställningen mindre märkbar. Generellt är de separerande toalettstolarna något dyrare, där priset ligger på ca 6000 kr per toalettstol (Avloppscenter, 2016), plus ytterligare kostnader för extra avloppsledningar.

Källsorterande system är i regel robusta (Hjelmqvist et al., 2012) och det finns många fördelar med systemen; utöver att spridning av läkemedelsrester kan minskas genom att rena t.ex. urinen, kan närsalter som kväve tas tillvara och recirkuleras. Källsorterande system har dock, liksom många nya tekniker, en del förbättringspotential. En utvärdering har gjorts i Tanums kommun som var först i Sverige inom urinsortering och torrtoaletter. Majoriteten av användarna var nöjda med toaletterna men problem som stopp i urinlåset och lukt tycks vara relativt vanligt (Andersson, 2008). Stopp i urinlåset kan dock enkelt förhindras genom sköljning med en lösning av natriumhydroxid (kaustiksoda) (Hjelmqvist et al., 2012) eller genom att spola med varmvatten med jämna mellanrum (Andersson, 2008).

2.4 RENINGSMETODER

Det finns inga lagar inom avloppshantering som kräver att reningsverk eller punktutsläppskällor som exempelvis sjukhus måste rena läkemedelsrester eller bakterier innan de släpps ut i miljön. Läkemedelsrening har dock väckt stort intresse på senaste tiden och flera projekt pågår nu för att hitta effektiva reningsmetoder för läkemedelsrester (Svenskt Vatten, 2014). De metoder som verkar ha störst potential hos reningsverken är kemisk oxidation med ozon eller klordioxid eller adsorption till aktivt kol (Svenskt Vatten, 2016).

Först ut i Sverige med att installera ett reningssteg för läkemedel var Knivsta reningsverk (Karlsson-Ottosson, 2015), som under en testperiod 2015 installerade ett efterbehandlande ozoneringssteg för att reducera läkemedel. Ozoneringsens effekter utvärderas nu för att ta reda på om metoden kan få en bredare implementering i Sverige (Umeå universitet, 2016). I framkant ligger även Herlev Hospital i Danmark som driver en pilotanläggning i fullskala för att rena sjukhusavloppsvattnet från läkemedelsrester (Elsevier, 2015). Herlev hospital har idag en kapacitet att rena 530 m³/d och använder bland annat membranbioreaktorer (MBR), aktivt kol, ozon och UV-ljus. Reningen med membranbioreaktorerna tillsammans med ett UF-membran resulterar i ett partikelfritt vatten, optimerat för efterbehandling med aktivt kol, ozon och UV-ljus, som tar bort läkemedelsresterna. Slammet från anläggningen torkas på plats och skickas därefter till förbränning för att inte sprida läkemedelsrester och bakterier som finns kvar i denna fraktion (Grundfos, n.d.).

Gemensamt för dessa anläggningar är att reningen sker i en lång processkedja med olika reningstekniker, vilket betyder att vattnet är relativt rent innan läkemedelsresterna reduceras. En mer småskalig lösning kan vara att rena källsorterad urin. I detta kapitel beskrivs tre olika reningstekniker; kemisk oxidation, enzymatisk nedbrytning samt adsorption till kol, där metodernas applicerbarhet på både avloppsvatten och källsorterad urin med höga halter läkemedelsrester diskuteras.

2.4.1 Kemiska oxidationsprocesser- Ozon

Ozon kan användas i många olika processer där destruktion av föreningar eller syntes av ämnen önskas, ett vanligt användningsområde är därför behandling av olika typer av vatten. Inom dricksvattenberedning kan ozon användas för att t.ex. förbättra lukt och smak, för desinfektion eller för att öka biotillgängligheten hos föroreningar. Ozon kan också användas inom avloppsvattenrening för att t.ex. desinfektera eller oxidera mikroföroreningar (Gottschalk et al., 2009; J. Hoigné and H. Bader, 1983).

På senare tid har ozon även implementerats tillsammans med andra reningssteg, för att reducera läkemedelsrester i avloppsvatten (Elsevier, 2015; Karlsson-Ottosson, 2015). Gemensamt för både avloppsvattenrening och dricksvattenberedning är att ozon sällan används som ett enskilt reningssteg, utan oftast som ett oxidationssteg i en längre processkedja (Elsevier, 2015; Gottschalk et al., 2009; Olsson, 2005). Att ozonera ett orenat avloppsvatten anses inte vara ett alternativ, däremot kan ozonering av så kallade laddade vattenmatriser som urin eller gråvatten fungera både som desinfektion och för oxidation av mikroföroreningar. Relativt höga ozondoser, över 500 mg/l verkar dock behövas för att nå en tillfredsställande rening. Nackdelarna med höga ozondoser utöver kostnaden och energiåtgången är att risken för bildning av biprodukter ökar (Von Gunten, 2013).

Reaktion

Ozon är ett starkt oxidationsmedel som antingen reagerar direkt med ett ämne eller bildar hydroxylradikaler som i sin tur kan reagera. Reaktionen med ozon kan beskrivas genom indirekt- och direkt reaktion.

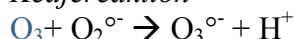
Den indirekta reaktionen involverar radikaler, som bildas då ozon sönderdelas i vatten, medan den direkta reaktionen består av selektiv oxidation av organiska- och oorganiska föreningar (Gottschalk et al., 2009). Kedjereaktionen med ozonradikaler kan delas in i tre nedbrytningssteg; initiation, kedjereaktion och termination. Det första steget innebär sönderdelning av ozon som accelereras av initiatorer, t.ex. OH⁻, då bildas t.ex. hydroxylradikaler (OH[•]), hydroperoxidradikaler (HO₂[•]) och superoxidradikaljoner (O₂^{•-}). Hydroxylradikalerna som strävar efter att bli stabila reagerar direkt och oselektivt med olika substanser eller andra radikaler. Genom att avlägsna en väteelektron från reaktanten omvandlas hydroxylradikalerna till vatten. Om hydroxylradikalen reagerar med ett ämne omvandlas denna till en ny radikal, som kommer att fortsätta att reagera i en kedjereaktion med ozon men när en radikal reagerar med en annan radikal avslutas kedjereaktionen; terminering (Gottschalk et al., 2009; Rakness, 2005).

Nedan visas en förenklad beskrivning hur reaktionen mellan en hydroxidjon och ozon kan se ut (Gottschalk et al., 2009).

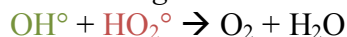
Initiering



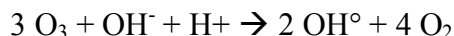
Kedjereaktion



Terminering



Total reaktion



Den direkta reaktionen är långsam och relativt selektiv och sker i tre olika steg där ozon fungerar som en dipol-, en elektrofil- eller en nukleofil molekyl. Under reaktionen bildas aldehyder, ketoner och karboxylsyror (Rakness, 2005). Ozon reagerar snabbt med organiskt material som innehåller dubbelbindningar, aromatiska- och alifatiska ämnen som t.ex. hydroxyl- och aminogrupper. Höga halter DOC kan därför vara störande i en sådan oxidationsprocess (Gottschalk et al., 2009), och anses vara den största faktorn till varför höga ozondoser krävs (Von Gunten, 2013). Ozonreaktionen går generellt sett snabbare med högre elektrondensitet; nukleofilitet. Vissa aromatiska och alifatiska ämnen, som har elektrontillförande delar som t.ex. hydroxyl- eller aminogrupper, reagerar också snabbare. Utan dessa grupper går reaktionen betydligt långsammare. Oorganiska ämnen reagerar mycket snabbare med ozon än organiska ämnen, och liksom för organiska ämnen ökar reaktionshastigheten hos oorganiska ämnen med ökande grad av nukleofilitet. Reaktionen är även snabbare för dissocierade eller joniserade oorganiska ämnen (Gottschalk et al., 2009).

Hansen et. al. (2016) studerade ozonering av utgående avloppsvatten från en pilotanläggning på Aarhus universitetssjukhus i Danmark. Vattnet som hade behandlats i en så kallad MBBR (moving bed biofilm reactor) hade ett pH-intervall mellan 5 och 9 och en DOC-halt mellan 6 mg/l och 20 mg/l. Hansen et. al. (2016) fann att ozondosen steg linjärt med DOC-halten, vilket betyder att DOC är en viktig parameter, vilket också poängteras av andra författare (Buffle et al., 2006; Huber et al., 2005; Von Gunten, 2013). Varför oxidationen av föroreningar blir mindre effektiv med ökande koncentration DOC, beror på att DOM konkurrerar med föroreningarna om den kemiska oxidationen. Genom att förbehandla så kallade laddade vattenmatriser för att sänka DOC-koncentrationen, kan effektiviteten hos ett kemiskt oxidationssteg (som exempelvis ozonering) ökas (Von Gunten, 2013).

I studien av Hansen et. al (2016) gav ett högre pH-värde kortare livstid för ozon i vattnet. Vid det högsta pH-värdet krävdes en dubbelt så hög ozondos jämfört med det lägsta pH-värdet, för att rena avloppsvattnet till önskad nivå (Hansen et al., 2016). I en studie av (Buffle et al., 2006) identifierades liknande samband; ozonets sönderdelning ökade tydligt då pH steg från 2 till 7. Enligt Buffle et al. (2006) verkar inte ozonering av avloppsvatten vara beroende av kedjereaktionen, men är ändå känsligt för förändringar i pH. Sambandet mellan pH och ozonets livslängd föreslås bero på deprotonering/protonering av reaktiva delar i det organiska materialet, där deprotonerade delar reagerar snabbare med ozon (Buffle et al., 2006). Utöver pH verkar livslängden för ozon kunna styras genom tillsats av karbonater. Enligt Gottschalk et al., (2009), kan endast några mol karbonat öka halveringstiden för ozon i vatten, med en

faktor 10. Detta betyder alltså att stabiliteten för ozon i vattnet ökar vid karbonattillsats (Gottschalk et al., 2009).

Biprodukter

Eftersom att ozonreaktionen är komplex och involverar många ämnen kan som tidigare nämnt olika biprodukter bildas, en del toxiska. Några exempel är AOC (assimilerbart organiskt kol), N-nitrosodimetyl-amin (NDMA), brom-organiska ämnen och bromat (Von Gunten, 2013) som är en potentiell carcinogen (Gottschalk et al., 2009). AOC uppstår när bindningar i det organiska kolet bryts och mindre kolföreningar bildas, som är lättillgängliga för bakterier. En ökad halt AOC kan därmed ge upphov till återväxt av bakterier (Ijpelaar et al., 2007), vilket vill undvikas när en minskning av spridning av resistent bakterier önskas.

Uppkomsten av biprodukter som bromat sker genom ozonering av bromjoner, i en mycket komplex reaktion som både involverar ozon och hydroxiradikaler (Gottschalk et al., 2009). Denna reaktion kan påverkas av olika faktorer men halten av bromid i vattnet verkar vara den främsta orsaken (Lin et al., 2014). Urin innehåller ofta en högre halt av bromid (1,2–7,7 mg/l) än t.ex. renat avloppsvatten (0,03-1 mg/l) (Von Gunten, 2013), varför bildningen av bromat är extra viktig att ta hänsyn till vid ozonering av urin. I exempelvis Knivsta reningsverk där avloppsvattnet ozoneras har ozondosen begränsats till 5 g/m³ för att vara säker på att inga toxiska biprodukter bildas (Karlsson-Ottosson, 2015). I studier på ozondoser vid Linköpings reningsverk Nykvarnsverket kunde höga halter av bromat inte detekteras om ozondosen var under 10 g O₃/m³ (Sehlén et al., 2015). Förutom att hålla ozonnivåerna så låga som möjligt kan t.ex. ammoniak tillsats och pH-sänkning motverka bildningen av bromat, där ammoniak tillsats visats vara mest effektiv (Wang et al., 2010). Biprodukter som t.ex. NDMA kan reduceras i ett efterföljande sandfilter (Hollender et al., 2009), något som inte verkar fungera för att reducera bromat (Margot, 2015).

Det poängteras att det är viktigt att testa den behandlade matrisen då test av t.ex. ett syntetiskt vatten kan missa viktiga spårprodukter. Idag finns bra bioanalyser för att mäta toxiciteten. Effekter brukar mätas på t.ex. bakterier, Daphnia och fisk, och kan visa om ozoneringen har ökat eller minskat toxiciteten, och visar således den gemensamma påverkan från alla biprodukter (Gottschalk et al., 2009).

2.4.2 Kemiska oxidationsprocesser-Advancerad Oxidations Process (AOP)

Inom gruppen kemiska oxidationsprocesser finns så kallade AOP-processer, vars definition är en process där högreaktiva radikaler, speciellt OH^o, bildas som intermediärer. OH^o har högre oxidationspotential än ozon, och kan oselektivt reagera med föroreningar. En AOP-process går ut på att kombinera två oxidanter vilket gör att oxidationspotentialen kan höjas och i vissa göra behandlingen mer effektiv (Gottschalk et al., 2009).

Generellt kan AOP delas in i två grupper; kemiska eller katalytiska reaktioner som i sin tur kan delas upp i heterogena- och homogena katalysreaktioner. De vanligaste kombinationerna av oxidationsprocesser är O₃/H₂O₂ (kemisk) UV/O₃ (fotokemisk) och UV/H₂O₂ (fotokemisk), ozonering över pH-värde 8 brukar också räknas om en AOP-process (Gottschalk et al., 2009).

UV/H₂O₂ går ut på två huvudsakliga mekanismer; adsorption av UV-fotoner vilket leder till exciterade molekyler som kan resultera i brutna bindningar samt reaktioner med organiska

mikroföroreningar med hydroxylradikaler (Ijpelaar et al., 2007). UV/H₂O₂-processen är betydligt mer energikrävande än t.ex. O₃/H₂O₂ men fördelen är att inga bromater bildas vilket gör att denna metod kan vara lämplig för vattenmatriser som innehåller höga halter av bromjoner (Von Gunten, 2013). Processen är inte fri från biprodukter, både nitrat i höga nivåer (högre än dricksvattenstandard) och höga halter AOC kan bildas, men dessa kan minskas med efterbehandling, t.ex. BAC (Ijpelaar et al., 2007).

Så kallade katalytiska AOP är mer ovanliga och det verkar finnas relativt få fullskaliga applikationer. Enligt Gottschalk et al., 2009, finns en process som slagit igenom och som i labb-skala visat goda resultat för rening av industriavloppsvatten innehållande t.ex. aromatiska fluorföreningar eller bisfenol-A. Denna metod kallas Ecoclear och innebär att ozon tillsammans med förorenat vatten matas in i en fastbäddsreaktor, där aktivt kol fungerar som katalysmaterial (Gottschalk et al., 2009). Det finns även ett svenskt företag Ozonetech, som har en patenterad AOP-teknik kallad CAT-AOP, en katalysprocess som enligt en personlig konversation med VD Johan Kvissberg är mycket effektiv. Kvissberg förklarar att denna teknik inte är påverkad av inhibitorer (t.ex. karbonater och andra oorganiska ämnen) i lika stor utsträckning eftersom de inte binder till katalysmassan på samma sätt som organiska ämnen gör. Inhibering kan vara en stor faktor till att en AOP-process kan bli mindre effektiv (Kvissberg, 2016).

2.4.3 Ozon och AOP för reduktion av läkemedel

Det har gjorts ett flertal studier på både ozon och AOP för reduktion av läkemedel i utgående avloppsvatten, många med goda resultat.

Wahlberg et al (2009) har exempelvis jämfört reduktionen av olika läkemedelsrester i utloppsvatten från reningsverk i Stockholm, genom bland annat ozonering och AOP-processen UV/H₂O₂. Studien visade att ozon var en effektivare metod där en dos på 5 g O₃/m³ i genomsnitt reducerade 80 % av läkemedlen. För att nå 90 % rening krävdes en ozondos på 7 g O₃/m³ vilket förbrukade 40 % mer energi (Wahlberg et al., 2009). Huber et al. (2003) jämförde bland annat en ozonbaserad AOP-process (O₃/H₂O₂) med ozonering på avloppsvatten med olika ozonstabilitet. Resultatet visade att för vatten med hög ozonstabilitet (hög alkalinitet och låg DOC-halt), kunde oxidationen av föroreningar höjas vid tillsats av H₂O₂ (Huber et al., 2003). (Ternes et al., 2003) jämförde reduktionen hos olika läkemedel (bland annat 15 antibiotika), i ett avloppsreningsverks utgående avloppsvatten med ozondos på 10-15 mg/l och AOP-processen O₃/UV-low pressure arc och O₃/H₂O₂. Resultaten visade att läkemedlen i studien var odetekterbara efter denna dos och att AOP-processerna inte ledde till någon signifikant skillnad i reduktion jämfört med ozon själv (Ternes et al., 2003).

I en doktorsavhandling av (Dodd, 2008) har ozonering av renat avloppsvatten och urin studerats. I arbetet framgick att en dos på 5-10 mg O₃/l ledde till inaktivering av i stort sett alla antibakteriella klasser i ett utgående avloppsvatten vilket visar att ozonering kan vara en mycket robust och effektiv barriär för utsläpp av sådana ämnen (Dodd, 2008).

Eftersom olika avloppsvatten kan skilja i sammansättning kan ozondosen normaliseras till exempelvis DOC-halten. (Hansen et al., 2016) undersökte systematiskt skillnaderna mellan både DOC-halt och mängden O₃ för att nå 90 % rening av flera olika läkemedel i ett

sjukhusavloppsvatten och fann att vid neutralt pH krävdes ca 0,5 mg O₃/mg DOC för det mest lättnedbrytbara läkemedlet i studien (Sulfadiazine) medan ca 4,7 mg O₃/mg DOC krävdes för att reducera det mest svårnedbrytbara läkemedlet (Diatrizoik) (Hansen et al., 2016).

Hollender et al., (2009) studerade 220 olika mikroföroreningar i ett utgående avloppsvatten som ozonerats och filtrerats genom sand. Studien visade att det krävdes ca 0,47 g O₃/g DOC för de mest lätttoxiderade ämnena. Dessa ämnen var t.ex. Sulfametoxazol, Diklofenac, och Carbamazepin; substanser med dubbelbindningar, aktiva aromatiska bindningar och aminer med 2:a ordningens reaktionskonstant med ozon större än 10⁴ M⁻¹ s⁻¹ vid pH 7. För de mer svårnedbrytbara ämnena (t.ex. Atenolol och Benzotriazol) krävdes ca 0,6 g O₃/ g DOC för att nå över 85% rening (Hollender et al., 2009).

Rening av urin

Ozonering av urin har tidigare ansetts som en möjlig teknik för reduktion av mikroföroreningar som t.ex. läkemedel. Fördelen att behandla urin är dels att den utgör en betydligt mindre del av avloppsfraktionen dels att halten av läkemedelsrester är högre. Genom att rena urin innan det når avloppet skulle också läkemedel som har affinitet att partikelbinda kunna fångas upp, vilka annars skulle hamna i reningsverkets slam. Studier visar dock att en väldigt hög ozondos behövs för att uppnå en önskad reduktion av flera läkemedel (Escher et al., 2006; Gulyas et al., 2006; Maure et al., 2006). Höga ozondoser ökar inte bara risken för bildning av biprodukter (Lin et al., 2014) utan gör att metoden riskerar att inte bli ekonomiskt försvarbar (Gulyas et al., 2006).

Escher et al (2006) undersökte olika reningsmetoder för rening av lagrad källsorterad urin där ozonering utgjorde en av dessa. Urinen i studien spikades med olika läkemedel och hormoner (Karbamazepin, Diklofenak, Ibuprofen, Propranolol, Sulfametoxazol, 17 β -estradiol (E2) och 17 α -etinylostradiol (EE2)) och resultatet visade att en ozondos mellan 0,6 och 1,3 g/l sänkte nivåerna av ett antal läkemedel i urinen under LOD (limit of detection). I studien gjordes även algtoxtester som visade en begränsning i eliminering av algtoxicitet. En ozondos på 1 g/l sänkte exempelvis algtoxiciteten med 50-60 % medan samma dos reducerade 99% av östrogeniciteten. En dubblad ozondos sänkte endast algtoxiciteten med 75 % vilket troddes bero på att ozoneringen bara delvis brutit ner de östrogena ämnena så att östrogeniciteten eliminerats men att substanserna inte fullständigt mineraliserats. Då det är känt att ozonering utgör en risk för bildning av reaktiva ämnen gjordes även ett så kallat umu-test (test för gentoxicitet) på den behandlade urinen, men testet visade ingen aktivitet (Escher et al., 2006). För att vara helt säker på att inga efterföljande bi- och transformationsprodukter finns kvar efter ozonering är en efterföljande biologisk rening att föredra enligt Svenskt vatten (Svenskt Vatten, 2016).

Varför höga halter ozon behövs för att reducera läkemedel i urin kan bero på urinens höga DOC-halt (ca 2000 mg/l) (Von Gunten, 2013), vilket enligt flera författare verkar vara orsaken vid studier på ozonering av utgående avloppsvatten (Buffle et al., 2006; Hansen et al., 2016).

Skillnaderna i DOC-halt mellan ett utgående avloppsvatten från ARV och urin beror på att urinen är mer koncentrerad än ett utgående avloppsvatten, som ofta också passerat ett biologiskt oxidationssteg vilket gjort att den erhållit en lägre DOC-halt (ca 5-20 mg/l). Då

åtgången av oxidant är relaterad till DOM (vilket uttrycks i DOC) inses att vatten med höga halter av organiska substanser som fekalier i exempelvis svartvatten inte lämpar sig för rening med oxidativa metoder (Von Gunten, 2013).

För att göra ozonering av urin effektivare kan en för- eller efterbehandling av urinen appliceras. (Dodd et al., 2008) undersökte ozonering av källsorterad hydrolyserad urin och källsorterad hydrolyserad urin som passerat elektrodialys antingen före eller efter ozonering. Studien visade att urinen som bara ozonerats krävde mer energi än motsvarande ozonering av utgående avloppsvatten för att nå samma reningsgrad. Den urin som genomgått ozonering med postelektrodialys och elektrodialys med postozonering visade sig vara mer energieffektiv, jämfört med motsvarande rening av avloppsvatten till samma reningsgrad. Studien visade även att ozonering av urin kunde effektiviseras genom att bland annat förbättra inlösningen i vätskefasen (Dodd et al., 2008).

I Tabell 2 och 3 nedan ges en sammanfattning över ozonering som reningsmetod, detta illustreras även i Figur 1.

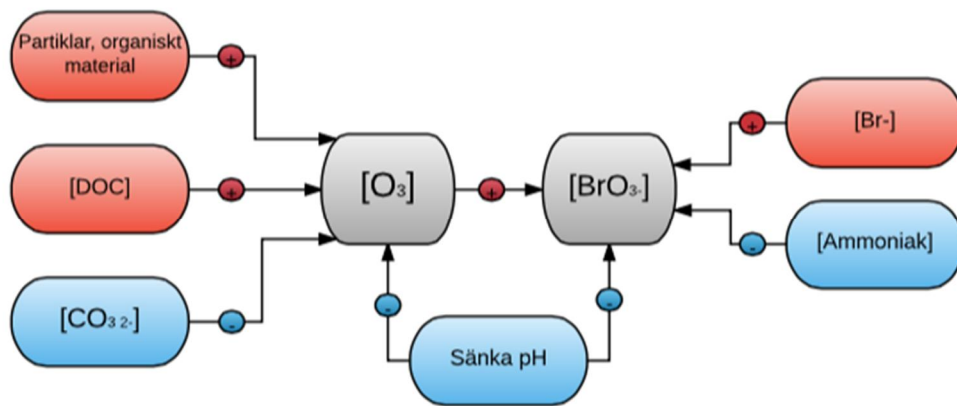
Tabell 2. Relevanta egenskaper hos några vattenmatriser vid rening med ozon. Här står ”-” för låg och ”+” för hög.

	Renat avloppsvatten	Färsk urin	Hydrolyserad urin	Avloppsvatten
DOC	-	+	+	+++ (hög halt DOC samt hög partikelhalt)
pH	(-)*	-	+	(-)*
Ammoniak	-	-	+	-

* pH-värde kan skilja mellan olika vatten

Tabell 3. Ozon som reningsmetod för fyra typer av vattenmatriser, en sammanställning från litteraturen.

	Renat avloppsvatten	Färsk urin	Hydrolyserad urin	Avloppsvatten
Ozonering lämplig som reningsmetod?	Ja	Ja	Ja	Nej, ozonering rekommenderas ej
Dos	5-10 mg/l	>500 mg/l (hög DOC-halt)	>500 mg/l (hög DOC-halt)	
Risk för biprodukter?	Nej	Ja	Ja	
Kommentar			Högt pH-värde kan innebära ett ännu högre ozonbehov och en högre risk för bromatbildning än för t.ex. färsk urin-	För mycket ozonkonsumerande substanser gör att ozonering av orenat avloppsvatten inte är lämpligt.



Figur 1. Schematisk bild över faktorer som påverkar ozonbehov och bromatbildning

2.4.4 Enzymatisk rening

Mindre vanligt inom konventionell dricks- och avloppsvattenrening är rening med enzymer, men medvetenheten om att det finns enzymer som klarar av att bryta ner komplexa mikroföroreningar ökar. Faktum är att kemisk nedbrytning katalyserad av enzymer som utsöndras av bakterier är en av orsakerna till att resistens uppstår (Coates, 2012). I en litteratursammanställning av de Cazes et al (2014) rapporteras flera nya studier inom enzymatisk nedbrytning av läkemedel. De Cazes et al. (2014) förklarar att enzymer kan nå höga reaktionskinetik och är dessutom användbara i vatten som är för toxiska för att en biologisk rening ska fungera.

Enzymer som beskrivs passa för avloppsvattenrening är Oxidoreductaser (t.ex. peroxidaser), Hydrolaser (t.ex. lipas och cellulas) och lyas. Enzymen har olika förutsättningar för inaktivering av olika föroreningar. Laccas, lipas eller Cellulas kan t.ex. inaktivera antibiotika medan Peroxidas beskrivs kunna inaktivera exempelvis Tetracykliner och Diklofenak. För att initiera nedbrytningen behöver enzymen olika co-substrat; Peroxidaser behöver t.ex. närvaro av H₂O₂ medan Laccaser bara behöver löst O₂ som elektronacceptor.

Nackdelarna med enzymatisk rening, som nämns i artikeln, är dels risken för att enzymaktiviteten sänks p.g.a. andra föroreningar i avloppsvattnet dels höga kostnader (de Cazes et al., 2014).

Företaget Pharem Biotech utvecklar nya produkter för att bryta ned läkemedelsrester med hjälp av enzymer. Pharem Filtration System (PFS) är ett filtersystem som utvecklats mot reningsverk, för att i ett sista steg bryta ner läkemedelsrester innan vattnet släpps ut i recipienten. Enligt företaget har tekniken potential att reducera över 90 % av läkemedelsresterna till en lägre kostnad än många andra tekniker. Enzymerna i produkterna som är utvecklade för att effektivt bryta ned substanser som t.ex. läkemedel bygger på naturliga och enligt företaget helt ofarliga processer. Pharem Biotech har även utvecklat en produkt, PCure, tillsammans med sjukvården. PCure är ett toalettblock som innehåller enzymer som utvecklats för att bryta ned specifika läkemedelssubstanser. Om toalettblocket som nu testas på Akademiska sjukhuset fungerar blir läkemedelsrening vid sjukhus enkelt att införa, då varken högre arbetsbelastning på personal eller någon ombyggnation skulle krävas (Ryen, 2016).

2.4.5 Rening med kol

Aktivt kol inom vatten- och avloppsvattenrening

Inom både dricksvattenberedning och avloppsvattenrening används aktivt kol som reningsmetod. Aktivt kol har en mycket stor aktiv yta; 500-1500 m²/g, vilket gör att föroreningar i vattnet kan reduceras genom adsorption till ytan eller porerna hos kolet (Cecen and Aktas, 2011). Skillnaden mellan vanligt kol, även kallat biokol, och aktivt kol är adsorptionsförmågan. Aktivt kol framställs av exempelvis stenkol, träkol, torv eller kokosnötskal som först pyrolyseras och därefter aktiveras på kemisk eller termisk väg vilket gör att antalet mikroporer ökar och därmed också absorptionsförmågan (Cecen and Aktas, 2011). Biokol som bara pyrolyserats får således en lägre absorptionsförmåga.

Inom vatten- och avloppsvattenrening kan antingen pulverkol (PAC) eller granulärt aktivt kol (GAC) användas för att rena vattnet från t.ex. DOC och andra mikroföroreningar (Chowdhury et al., 2013). Den huvudsakliga skillnaden mellan de två typerna är partikelstorleken; PAC är ca 15-25 µm medan GAC är ca 0,2-5 mm (Cecen and Aktas, 2011). Nu mer är det vanligare att använda GAC som till skillnad från PAC kan användas som ett filtermaterial i reningsverken. Filtret i en dricksvattenanläggning kan hålla i upp till 3 år innan en beläggning har byggts upp, och filtret måste bytas ut eller regenereras genom förbränning (Svenskt Vatten, 2011). Om ingen desinfektion sker innan filtrering genom t.ex. sand eller biokol kan det uppstå en biofilm av heterotrofa bakterier på partiklarna. Då denna biofilm uppstår på aktivt kol är benämningen BAC (biological activated carbon). Dessa bakterier kan oxidera BOM (biodegradable organic matter) (Chowdhury et al., 2013), vilket betyder att en kombinerad biologisk nedbrytning av föroreningar tillsammans med adsorption av föroreningar sker (Cecen and Aktas, 2011).

Adsorption

Inom vatten- och avloppsvattenrening är det fram för allt två krafter som kommer till användning i adsorptionen av föroreningar. De lösta ämnenas karaktär styr en av dessa krafter. Hydrofila ämnen tenderar att stanna i lösning medan de hydrofoba ämnena adsorberas lättare. Vissa ämnen kan ha båda egenskaperna, så kallade amfifila ämnen, vilket gör att den hydrofila delen av molekylerna stannar i vattenlösningen medan den hydrofoba delen adsorberas till kolet. Organiska ämnen som humussyror är ett sådant exempel. Den andra kraften som styr adsorptionen är affiniteten för kolet hos de lösta föroreningarna. Detta beror på elektrostatiska krafter som kan uppstå på grund av Van der Waals krafter eller kemiska reaktioner med kolet (Cecen and Aktas, 2011).

Adsorptionen som sker med Van der Waals-krafterna benämns ofta fysisk adsorption och innebär att ämnen fäster på ytan till kolet med relativt svaga krafter. Detta är den dominerande adsorptionen vid temperaturer under 150 °C. Över 150 °C är kemisk adsorption mer vanligt, vilket är en starkare adsorption som involverar elektronbyte (Cecen and Aktas, 2011).

Det är flera processer som kan påverka adsorptionen; större molekyler, fler funktionella grupper; dubbelbindningar och halogener, och ickepolära ämnen adsorberas bättre av aktivt kol. pH-värdet hos organiska lösningar är också avgörande. Organiska ämnen bildar negativa joner vid höga pH-värden och vice versa. Då kolet ofta är negativt laddat är adsorptionen av organiska ämnen därför oftast högre vid lägre pH-värden (Cecen and Aktas, 2011).

Adsorptionsisotermer

Jämvikten i ett mass-vätskeförhållande mellan adsorptionen av ett ämne till en adsorbent kan beskrivas genom en isoterm, och innebär att adsorptionskapaciteten för adsorbenten kan beräknas för okända vätskekoncentrationer. Det finns flera olika adsorptionsisotermer men vanligast är Freundlich eller Langmuir isotermen, där det enligt Chowdhury et al., (2013) är Freundlich-modellen som fungerar bäst.

Adsorptionsisotermen för ett ämne kan beräknas genom att göra så kallade skaktester där exempelvis dosen adsorbent varierar medan koncentrationen i vätskefasen hålls konstant. Skakning sker under en viss tid, den så kallade jämviktstiden, varefter adsorbenten silas av och jämviktsskoncentrationen i vätskefasen analyseras. Jämviktstiden påverkas av flera faktorer; partikelstorleken hos adsorbenten, initialkoncentrationen hos vätskefasen och diffusionskoefficienten. Mindre partiklar hos adsorbenten gör att jämviktssnivån nås snabbare då det interna diffusionsavståndet (avståndet som adsorbaten måste färdas för att nå adsorptionsplatserna) sänks, och därmed sänks jämviktstiden (Chowdhury et al., 2013).

Freundlichkonstanten kan användas för att jämföra adsorptionskapaciteten hos olika ämnen för ett visst kol eller för ett ämne hos olika kol, då Freundlich exponent är någorlunda konstant. Då Freundlichkonstanten är större än 10 är adsorptionen till aktivt kol generellt mycket bra medan ett värde under 1 ger låg adsorption (Chowdhury et al., 2013). Chowdhury et al., (2013), förklarar att Freundlichparametrarna inte kan användas under alla omständigheter då denna parameter påverkas av bakgrundsmatrisen i mediet som behandlas. System som innehåller höga halter DOM är extra svåra då målämnet och DOM konkurrerar om adsorptionsplatserna. Om mediet innehåller stora molekyler kan porerna på kolet också blockeras vilket gör att adsorptionen försämras (Chowdhury et al., 2013).

Biokol

Vanligt biokol har visats kunna rena vatten från läkemedelsrester och kan därför utgöra ett billigare alternativ till aktivt kol. Det finns ett antal studier på adsorptionskapaciteten för olika ämnen till biokol. Ett exempel är Wang et al. (2015), som testade adsorptionsförmågan hos biokol gjort av bambusågspån för två fluorokinoloner (antibiotika) i ett syntetiskt avloppsvatten (filtrerat dammvatten spikat med antibiotika). Bambubiokol beskrivs ha 4 gånger högre adsorptionskapacitet än andra kol och studien visade att 99 % av antibiotikan kunde reduceras med kolet som hade en medelkornstorlek på 100 µm. Den maximala adsorptionsförmågan för t.ex. Enrofloxacin var ca 46 mg/g och 45 mg/g för Ofloxacin, då var kvoten mellan mängd tillsatt biokol och koncentration av antibiotika 10 (mg kol/mg Flourokinolon). En högre dos biokol gav en lägre adsorptionskapacitet men ett renare vatten, upp till en kvot på 50. Wang et al., (2015) undersökte även salthaltens- och pH-värdets inverkan på adsorptionsförmågan, och fann att adsorptionen endast påverkades lite inom pH-intervallet 3-10. När jonstyrkan varierades från 0 till 3 g NaCl/l, gav den högre jonstyrkan en minskning av adsorptionsförmågan hos kolet.

Inga studier på rening av urin med biokol har till dagens datum hittats.

3 METODUTVECKLING

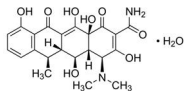
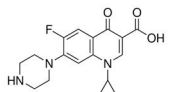
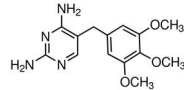
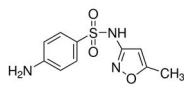
I detta kapitel presenteras metodutveckling och förberedande tester, detaljer och figurer finns under APPENDIX B.

3.1 VAL AV RENINGSMETOD OCH ANTIBIOTIKA

Utifrån Akademiska sjukhusets förhoppning om en enkel reningsprocess valdes att studera rening av källsorterad urin, istället för hela avloppsfraktionen. Tre reningsmetoder; ozonering, enzymbehandling med produkter från företaget Pharem Biotech samt behandling med biokol ansågs utifrån litteraturstudien och Akademiska sjukhusets önskemål som bäst lämpade för detta ändamål.

För att göra en bedömning av vilka läkemedelssubstanser från Akademiska sjukhuset som släpps ut i störst mängd skulle nya mätvärden vara önskvärda. Idag finns endast mätdata från år 2005 i en rapport från (Landstinget i Uppsala län, 2005), valet av läkemedel för reningsförsöken i examensarbetet gjordes därför utifrån Tabell 1 samt genom samråd med Josef Järhult, infektionsläkare på Akademiska sjukhuset och Sofia Schultz, miljösamordnare Akademiska sjukhuset. På grund av höga analyskostnader begränsades studien till att endast studera antibiotika. Antibiotikan som valdes var Ciprofloxacin, Doxycycline och Trimethoprim, tre antibiotika som också har valts ut i Akademiska sjukhusets reningsprojekt. För tester med biokol och urin adderades även Sulfamethoxazol, en rekommendation från (Svahn, 2016). Denna antibiotika har en negativ laddning till skillnad från övriga antibiotika, vilket kan komma att påverka reningsresultatet. I Tabell 4 finns information om antibiotikan.

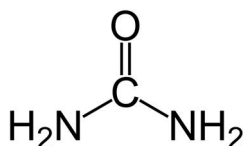
Tabell 4. Sammanställd information om utvalda antibiotika (PubChem, 2016a, 2016b, 2016c, 2016c; Sigma-Aldrich, 2016a, 2016b, 2016c, 2016d)

Antibiotika	Antibiotika-klass	Verksam mot	Resistens rapporterad	Strukturformel	M (g/mol)	Skelettformel
<i>Doxycyklin monohydrat</i>	Semi-syntetisk tetracyclin	GN- och GP bakterier*, mycoplasma, parasiter	Ja	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈ · H ₂ O	462.5	 <p>Laddning: Positiv</p>
<i>Ciprofloxacin</i>	Syntetisk-bredspektrum Florokinolon	GN- och GP bakterier*	Ja	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	331.3	 <p>Laddning: Positiv</p>
<i>Trimetoprim</i> <i>Används ofta i kombination med sulfametoxazol</i>	Sulfonamid	GN- och GP bakterier* och mykobakterier	Ja	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	290.3	 <p>Laddning: Positiv</p>
<i>Sulfametoxazol</i> <i>Används i kombination med trimetoprim</i>	Sulfonamid		Ja	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253.3	 <p>Laddning: Negativ</p>

*GN står här för gramnegativ och GP för grampositiv

3.2 RENING AV URIN

Många artiklar om rening av urin, t.ex. (Dodd et al., 2008; Escher et al., 2006; Pronk et al., 2007) baseras på studier på hydrolyserad urin. Hydrolys sker på grund av ureasutöndring från bakterier som normalt finns i både jord och vatten och således även i urinseparerande system (Udert et al., 2003). Urin består av 91-96 % vatten och resterande utgörs av oorganiska salter, urea (Figur 2), organiska ämnen och organiska ammoniumsalter (Rose et al., 2015). När urinen hydrolyseras bryts urea i urinen ner och ammonium omvandlas till ammoniak och pH-värdet stiger (Udert et al., 2003), urinen får alltså andra egenskaper. Ekvation 1 nedan beskriver nedbrytningen av urea (Udert et al., 2003):



Figur 2. Strukturformel Urea

Litteraturstudien i rapportens bakgrund visade att effektiviteten hos ozonering av urin kan påverkas pH-förändringar och att bildningen av biprodukter som t.ex. bromat kan påverkas av både pH och ammoniak. Det är därför intressant att studera skillnaderna mellan färsk och hydrolyserad urin vid ozonering.

3.2.1 Hydrolysis i källsorterande system

Urinen innehöll inte någon betydande mängd ureas, däremot sågs en högre ureasaktivitet i ledningssystemet. Urinen hydrolyserades dock framförallt i uppsamlingstanken då tiden i ledningssystemet var för kort. Enligt mätningar av ureasaktivitet skulle urinen hydrolyseras på strax över en dag, men aktiviteten kan förväntas vara lite lägre i konventionella system som inte har omrörning (Udert et al., 2003).

Det är inte bara pH- värdet och ammoniak-ammoniumjämvikten som förändras under hydrolysen; mineralerna Struvit ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) och Octacalcium fosfat ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) fälls ut, där den slutgiltiga mineralen är hydroxyapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Det är dessa mineral som kan orsaka stopp i ledningarna i urinseparerande system (Udert et al., 2003).

Om en ozonering skulle övervägas som reningsmetod för Akademiska sjukhuset skulle alltså den eventuella skillnaden mellan hydrolyserad- och färsk urin vara relevant för att kunna bestämma om reningsprocessen ska ske kontinuerligt eller om lagring av urinen är mer effektivt.

3.2.2 Hydrolysis på konstgjord väg

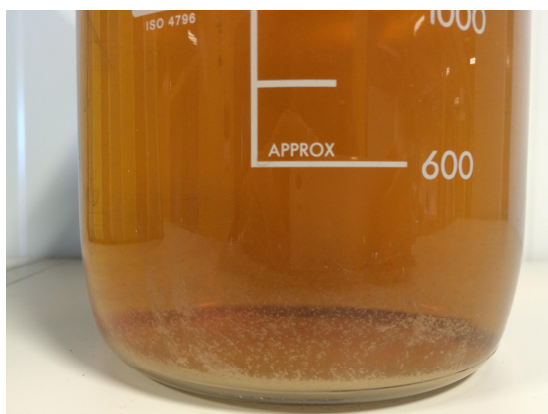
För ozonförsöken var hydrolyserad urin av intresse att undersöka, därför söktes information om hur detta kunde ske på bästa sätt.

Då helt ren urin inte hydrolyserar spontant, måste urinen antingen kontamineras av bakterier som kan utsöndra ureas eller tillsättas ren ureas (C. Nordin, 2016). För examensarbetet beslutades att använda ren ureas för att katalysera ureanedbrytningen. (C. Nordin, 2016) rekommenderade att testa 0,5 g ureas/l samt 1,5 g ureas/l på två mindre urinprov. Merck Millipores reagenstester (Figur 3) användes för att mäta totalkväve innan hydrolysis samt och ammoniumhalt före och efter hydrolysis.

0,025 g och 0,075 g Ureas (5U/mg) tillsattes till 50 ml urin, därefter placerades proverna i 37 °C värmeskåp, på skakbord i ett dygn. För mer utförlig beskrivning av hydrolysering, se kapitel 4.2.1. Innan ammoniakhalten mättes filtrerades utfällningar (ses i Figur 4) bort med ett 0,45 µm filter. Resultatet, som kan ses i Tabell , APPENDIX B, visade att båda proven hade hydrolyserats fullständigt (över 90 % av totalkvävet i båda testen omvandlades till ammonium).



Figur 3. NH_4^+ -N-test



Figur 4. Utfällningar som sedimenterat till botten av flaskan hos den hydrolyserade urinen

3.2.3 Spikning

För att studera nedbrytningen av valda antibiotika måste den rena urinen spikas. Andelen urin i ett avloppsvatten är generellt mindre än 1 % (Naturvårdsverket, 1995), men koncentrationerna av läkemedel kan vara relativt höga. Det är inte helt enkelt att hitta tillförlitliga siffror på den genomsnittliga utsöndringen av olika läkemedel, men i en rapport av (Lienert et al., 2007) anges att 64 % i snitt utsöndras via urinen. I studien anges dock denna siffra som osäker.

Om mätvärden används från Akademiska sjukhusets avloppsvatten från 2005 (Tabell 1) (Landstinget i Uppsala län, 2005), och antagandet görs att avloppsvattnet innehåller 1 % urin och att urinen står för ca 64 % av halterna som utsöndras (Lienert et al., 2007), skulle en koncentration av dessa läkemedel teoretiskt kunna vara några milligram per liter urin, se Tabell 5.

Tabell 5. Uppskattad antibiotikahalt i urin från Akademiska sjukhuset¹

Antibiotika (AB)	[AB I1 och I2] ($\mu\text{g/l}$)	m AB i 700 m ³ avloppsvatten (μg)	[AB urin]* (mg/l)
Ciprofloxacin	11	$8 \cdot 10^6$	7
Doxycykline	1	$4 \cdot 10^5$	0,4
Trimetoptim	7	$5 \cdot 10^6$	5
Sulfametoxazol	10	$8 \cdot 10^6$	7

1. Observera att detta är en grov uppskattning då utsöndringen av läkemedel i urin är osäker

* Beräknat som 1 % av avloppsvattnet ($0,7 \text{ m}^3$) med 64 % av totala mängden läkemedel

4 METOD

Kapaciteten att rena läkemedelsrester i urin hos tre olika reningsmetoder undersöktes. Totalt genomfördes 3 försöksserier (S-1.1 till S-3.2), se Tabell 6.

Tabell 6. Försöksuppsättning

<i>Serienamn</i>	<i>Beskrivning</i>
S-1.1	Ozonering av färsk- och hydrolyserad urin
S-1.2	Ozonering av färsk- och hydrolyserad urin utspädd med 50 % vatten samt med tillsatts av olja
S-1.3	Bromatanalys av ozonerad urin
S-2.1	Filtrering genom PFS-filter (enzymfilter)
S-2.2	Skakförsök av färsk urin med PCure-lösning (enzymlösning)
S-3.1	Filtrering genom biokol av färsk urin
S-3.2	Skaktest med biokol och färsk urin

4.1 Försöksuppställning

4.1.1 Serie 1

Ozonering och analys genomfördes av IVL men proverna preparerades på SLU och Geocentrum, Uppsala Universitet. Innan reningsförsöken spikades urinproverna med antibiotika och för denna försöksserie hydrolyserades även hälften av proverna.

Bromatanalys av ozonerade prover genomfördes av IVL i Göteborg.

4.1.2 Serie 2

I serie 2 testades företaget Pharem Biotech's PFS-filter (enzymfilter) och en så kallad PCure-lösning (enzymlösning) genom kolonnförsök respektive skakförsök med spikad urin. Proverna analyserades därefter av IVL.

4.1.3 Serie 3

Biokolet undersöktes genom både kolonnförsök och skakförsök med färsk spikad urin. Proverna analyserades tillsammans med Ola Svan på Högskolan i Kristianstad.

4.2 INSAMLING- OCH PREPARERING AV URIN

Under några veckor samlades 20 l urin från friska personer på SLU, d.v.s. personer som inte gick på antibiotika. Urinen fick stå kyld (8°C) under insamlingen och förvaringen så att samma urin kunde användas i samtliga försöksserier.

Innan varje reningsförsök spikades urinen med antibiotika från stamlösningar av Ciprofloxacin, Doxycyklin, Trimetoprim och Sulfametoxazol som beställdes från Sigma-Aldrich. Ciprofloxacin ($\geq 98\%$ HPLC), Trimetoprim ($\geq 99\%$ HPLC) och Sulfametoxazol ($\geq 98\%$ HPLC) levereras som kristalliserade och Doxycyklin ($\geq 98\%$ HPLC) som ett salt, ett monohydrat. Doxycyklin och Trimetoprim lösliga i DMSO, ca 1 mg/ml, Sulfametoxazol i 50 mg/ml DMSO (Dimethylsulfoxid) medan Ciprofloxacin är löslig 0,1 N saltsyra, ca 25 mg/ml. Stamlösningarna bereddes genom att väga in ca 10 mg av vardera antibiotika och därefter späda med ca 10 g lösningsmedel och därefter späda med önskad mängd vatten. För Doxycyklin som var bundet till ett salt, var 96,1% av massan ren substans. Detta togs i hänsyn då teoretiska koncentrationer för stamlösningar och spikningar beräknades. Nya stamlösningar bereddes mellan försöksserie 1 och 2-3 som genomfördes ca 5 veckor efter den första försöksserien. Stamlösningarna av antibiotika, lösningsmedel och vatten kan ses i APPENDIX C.

4.2.1 Hydrolysering

I försöksserie 1 hydrolyserades urinen. För att katalysera ureanedbrytningen köptes Ureas från *Canavalia ensiformis* (Jack bean) med styrka 8U/mg från Sigma-Aldrich. 1 U motsvarar mängden enzym som krävs för att hydrolysera 1 μmol urea på 1 min, pH 8 och 25 °C (Sigma Aldrich, 2016). Utifrån denna information samt ett antagande om att allt kväve som finns i urin kommer från urea, kunde en teoretisk mängd ureas som behövs för att hydrolysera urinen beräknas, se APPENDIX A. Beräkningarna visade att 500 mg ureas skulle ge en teoretisk nedbrytningstid på ca 1 h för 1 l urin.

4.2.2 Kolonnförsök

Kolonnförsök valdes som metod för filtreringsförsök med biokol och enzymfilter. En plexiglaskolonn med diametern 2,5 cm och höjden 15 cm kopplades till en peristaltisk pump. Flödet på pumpen kunde ställas in manuellt, men vilket flöde som motsvarade vilken inställning var okänt. Genom att testa olika inställningar på pumpen och väga in vatten efter en viss tid kunde en relation mellan pumpinställning och flöde tas fram:

$$\text{Pumpinställning} = \frac{\text{Flöde} \left(\frac{\text{ml}}{\text{min}} \right)}{2,15}$$

För att inte kolet skulle sköljas ut ur kolonnen monterades ett teflonfilter med pordiameter 0,2 mm i botten och toppen av kolonnen.

4.3 FÖRSÖKSSERIE 1.1 – OZONERING AV KONCENTRERAD URIN

Ozonering och analys av hydrolyserad- och färsk urin spikad med antibiotika genomfördes hos IVL som tillhandahåller en mindre ozongenerator kopplad till en kolonn med ett keramiskt filter i botten. Filtret släpper in ozonet i mycket små bubblor, så att inlösningen blir så bra som möjligt. IVL mäter inte hur mycket ozon som löser sig i mediet utan kontrollerar endast den överförda ozondosen (TOD; transferred ozon dose).

I denna försöksserie ville IVL att proverna skulle spikas till en koncentration på ca 1-2 µg/l.

4.3.1 Provberedning

Hydrolys

Ungefär två liter urin vägdes upp och tillsattes till glasflaska. 1 g ureas tillsattes urinen och flaskan förvarades därefter på skakbord i värmeskåp (37 °C) för att försäkra fullständig hydrolys. Efter ca 1 dygn togs flaskan ut i rumstemperatur och urinen fördes över till en klar glasflaska så att sedimentation av utfällningar kunde ses. Flaskan förslöts med plastkork, tätades med parafilm och ställdes i kylrum (8°C).

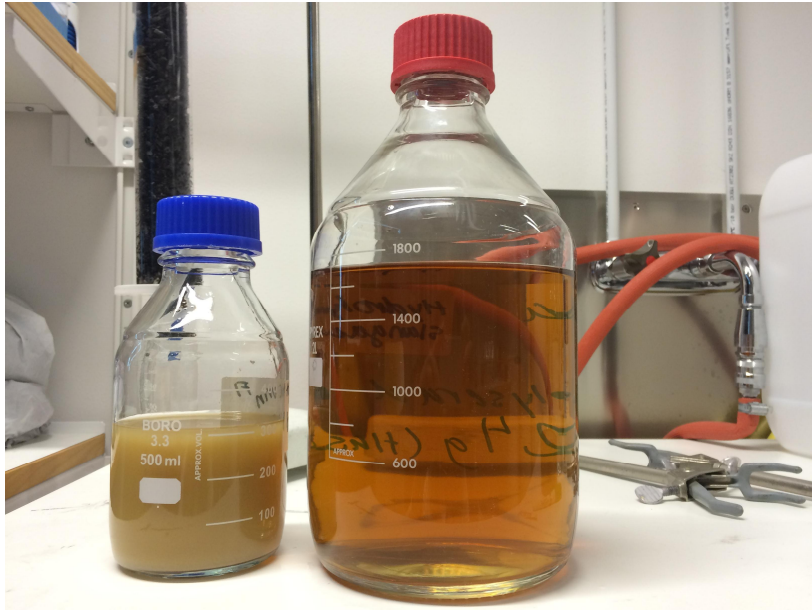
Test av totalkväve och ammoniumkväve

För att ta reda på om den insamlade urinen var representativ mättes totalkvävehalt (N-tot) och ammoniumkväve (NH₄⁺-N) med Merck Millipors reagenstester på urinen från försöksserie 1.1. För den färska urinen användes Merck Millipores Nitrogen(total) Cell test (10-150 mg/l N) och Merck Millipores Ammonium Cell test 4-80 mg/l NH₄⁺-N och för den hydrolyserade urinen användes Merck Millipores Ammonium Test 5-150 mg/l NH₄⁺. pH-värdet kontrollerades även före och efter hydrolys. Efter försöksserie 1 ansågs det tillräckligt att kontrollera pH-värde som en markör för hydrolys.

Under hydrolysen blev urinen grumlig p.g.a. utfällningar, innan ammoniumtestet filtrerades därför en liten mängd urin genom att med en spruta pressa urinen genom ett 0.45 µm-filter.

Efter några dagar i kyl hade utfällningarna i den hydrolyserade urinen sedimenterat till botten av flaskan. Även om det enligt vissa studier ser ut som att struvitutfällningarna från urin med läkemedelsrester är urin är rena (Escher et al., 2006), slangades den övre klara urinen ut till en ny provflaska innan spikning för att inte riskera att antibiotika adsorberas till partiklar. NH₄⁺-N-halt och pH-värde kontrollerades igen för att säkerställa att hanteringen inte påverkat urinen. 1,5 l av både färsk och hydrolyserad urin vägdes därefter upp, och förvarades i glasflaska med plastlock tätad med parafilm.

Resultaten finns presenterade i APPENDIX B.



Figur 5. Från vänster: Bottensats- respektive övre sats av Hydrolyserad urin

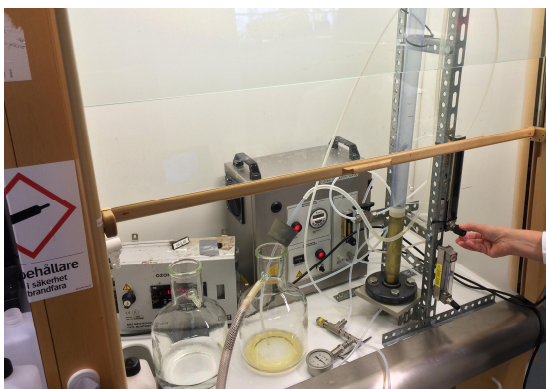
Spikning

Urinen spikades till ca 1-2 $\mu\text{g}/\text{l}$ av vardera antibiotika, från stamlösningar som bereddes enligt kapitel 4.2. Detaljer och exakta siffror från beredning av stamlösningar och spikning finns i APPENDIX C.

4.3.2 Behandling och analys

De spikade urinproverna togs till IVL för att ozoneras och analyseras. Ozonanläggningen kunde ozonera 1 l medium åt gången med en kapacitet på 2,5 ml ozon/l min upp till en maximal tillförd ozondos på 50 mg/l. Eftersom att urin enligt litteraturstudien kräver höga ozondoser för att uppnå god reningsgrad, valdes den högsta ozondosen.

Efter några sekunder uppstod en skumpelare i kolonnen, vilket gjorde att försöken fick begränsas till ozonering av en volym på 0,25 l under 5 min för färsk urin och 0,1 l under 2 min för hydrolyserad urin, som var ännu mer skumbildande. Försöket kördes istället två respektive 4 gånger för att få tillräcklig mängd prov till analysen.



Figur 2. Ozonanläggning



Figur 7. Skumpelare under ozonförsök

4.4 FÖRSÖKSSERIE 1.2 – OZONERING AV UTSPÄDD URIN MED TILLSATS AV OLJA

Ytterligare ett ozontest utfördes hos IVL. En högre koncentration antibiotika: ca 10 μ g/l valdes i denna serie efter IVLs önskemål. Detta gjordes för att undvika att små toppar i analysen stör resultatet.

4.4.1 Provberedning

Hydrolys

Urin preparerades med ureas på samma sätt som i kapitel 4.3, försöksserie 1.1

Spikning

En stamlösning beredd enligt kapitel 4.2., innan proverna spikades spädde urinen med 50 % spolvatten (kranvatten). Beredning av stamlösning och spikning ges i Tabell och Tabell i APPENDIX C.

4.4.2 Behandling och analys

Urinen togs till IVL för ozonering och analys. Ozondosen valdes som i försöksserie 1.1 till 50 mg/l. Precis innan ozonering tillsattes ca 1 ml olja/l för att undvika problemet med skumning.

4.5 FÖRSÖKSSERIE 2.1 – RENING AV URIN MED PFS-FILTER FRÅN PHAREM BIOTECH

Ett kolonnförsök genomfördes på företaget Pharem Biotechs enzymfilter. Det så kallade PFS-filtret innehöll enzymer designade för att bryta den önskade antibiotikan; Ciprofloxacin, Doxycyklin och Trimetoprim.

4.5.1 Provberedning

Spikning

Färsk urin spikades med en stamlösning som preparerades enligt kapitel 4.2 till en koncentration på ca 10 μ g/l. Värden för beredning av stamlösning och spikning ges i Tabell och Tabell i APPENDIX C.

4.5.2 Behandling

Pharem Biotech anpassade filtrets dimensioner för en glaskolonn med höjden 15 cm och diametern 2,5 cm vilket gjorde att ett filtreringsförsök enkelt kunde genomföras.

Spikad urin infiltrerade kolonnen med enzymfiltret i ett flöde av 2,5 ml/min, vilket gav en EBCT (Empty bed contact time) på ca 30 min. Se ekvation 2. När ca 1 l urin hade behandlats, dvs. efter 400 min, avbröts försöket.

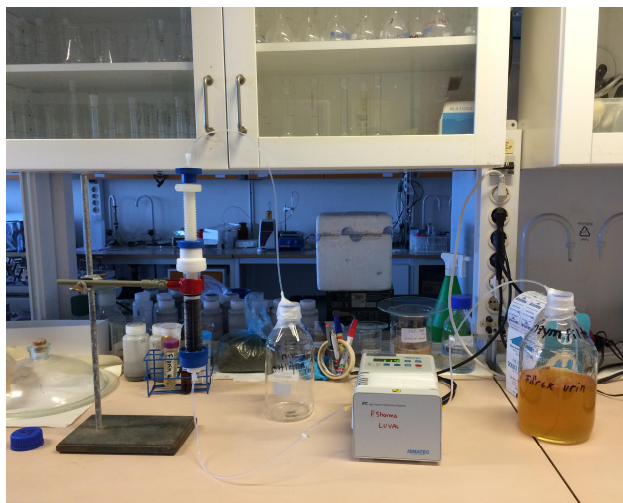
$$EBCT = \frac{\text{Filtervolym}}{\text{Flöde}} \quad (2)$$

4.5.3 Analys

Det behandlade filtratet analyserades av IVL, Stockholm. Innan analys förvarades proverna i frys.



Figur 3. PFS-filter



Figur 9. Kolonnförsök med PFS-filter

4.6 FÖRSÖKSSERIE 2.2 – RENING AV URIN MED PCURE-LÖSNING FRÅN PHAREM BIOTECH

Pharem Biotech har utvecklat toalettblock; PCure som kan hängas över toalettstolen, och som vid spolning tar med enzymer designade för att bryta ner önskade läkemedel. För denna försöksserie tog Pharem Biotech fram en enzymlösning som skulle motsvara en spolning med PCure.

4.6.1 Provberedning

Spikning

Färsk urin spikades med en stamlösning som preparerades enligt kapitel 4.2 till en koncentration på ca 10 µg/l. Värden för beredning av stamlösning och spikning ges i APPENDIX C.

4.6.2 Behandling

1 liter spikad urin skakades med enzymlösningen (ca 50 ml) under 10 minuter. Därefter placerades provet i frysen för att stoppa eventuell fortsatt enzymatisk aktivitet.

4.6.3 Analys

Proverna förvarades i frys fram till analys som genomfördes hos IVL, Stockholm.

4.7 FÖRSÖKSSERIE 3.1 – KOLONNFÖRSÖK MED BIKOL OCH URIN

Filtreringsförsök av spikad färsk urin genomfördes i en plexiglaskolonn fylld med ett biokol som erhöles från Sahar Dalahmeh, SLU. Kolet var rester från ett kol som bland annat använts i ett examensarbete av (Berger, 2012) och bestod av pyrolyserad (450 °C) salix från Tyskland. Storleksintervallet på kolpartiklarna var 1-5 mm, där 2/5 bestod av partiklar av storleken 1-1,4 mm och 3/5 bestod av partiklar av storleken 2,8-5 mm.



Figur 10. Biokol som användes i reningsförsöket

Kolonnen som hade längden 15 cm och diametern 2,5 cm, kopplades till en peristaltisk pump där flödet kunde ställas in manuellt.

Ett flöde på 5 ml/ minut gav en EBCT (ekv. 2) på ca 12,8 min. Normala effektiva EBCT är 10-15 minuter för att reducera de flesta organiska föroreningar med GAC (Faust and Aly, 1998), vilket betyder att detta flöde är lämpligt att testa.

För att ta reda på hur försöksuppsättningen fungerade testades kolonnen med vatten först. Genom att våtpacka kolet från botten försäkrades ett mättat flöde. När kolonnen var helt fylld flöt kolet på en fri vattenyta, ca 2 cm från botten. Denna yta gjorde att kolets tvärsnittsyta infiltrerades jämnt. På samma sätt packades kolet då försöket med spikad urin genomfördes.

Innan urinen filtrerades rengjordes kolet genom att försiktigt skölja med destillerat vatten tills att största andelen av stoffet var borta och vattnet som sköljde kolet blev klart. Därefter torkades kolet i ugn under ca 1 dygn och 105 °C.

4.7.1 Materialegenskaper

Porositeten (ε) och porvolymen (V_p) för kolet kunde bestämmas genom att ta reda på infiltrerad volym i den packade kolonnen. Bägaren med urin vägdes in och infiltrationen startades. Bägaren vägdes då urinen precis nådde botten på kolonnen, därefter packades kolonnen med kol samtidigt som urinen infiltrerade kolonnen. När kolet och urinen nådde toppen på kolonnen, kunde bägaren vägas in igen och porvolymen samt porositeten beräknas enligt ekvation 3, resultaten ses i Tabell 7.

$$V_p = \varepsilon \times V_{kolfilter} \quad (3)$$

$$V_{kolfilter \text{ samt fri vattenyta}} = \pi \times r^2 \times h \quad (\rho_{urin} \approx 1 \text{ g/ml})$$

$$\text{Där } h=13 \text{ cm och } r = \frac{2,5 \text{ cm}}{2} = 1,25 \text{ cm}$$

Tabell 7. Beräkningar av volymer, porositet och porvolym

$V_{Kolfilter}$ (ml)	V_{Vatten} i slang (ml)	V_{fri} vattenmängd d (ml)	V_{vatten} infiltrerat (ml)	V_p^* (ml)	Porositet	Antal behandlade porvolym	V_{tot}^{**} (ml)
63,8	6,1	9,8	60,5	54,4	0,7	20	1,1

$$*V_p = V_{vatten \text{ infiltrerat}} - V_{vatten \text{ i slang}} - V_{fri \text{ vattenyta}}$$

$$** V_{tot} = \text{Antal porvolym} \times V_p$$

4.7.2 Provberedning

Spikning

Färsk koncentrerad urin spikades till en koncentration på ca 10 $\mu\text{g/l}$ för vardera antibiotika, med en stamlösning som preparerades enligt kapitel 4.2. Värden för beredning av stamlösning och spikning ges i APPENDIX C.

4.7.3 Behandling

Kolonnen packades med biokol samtidigt som urin infiltrerade kolonnens botten. Då kolonnen var fylld med urin och kol stoppades flödet under några sekunder medan toppen på kolonnen monterades. Kolonnförsökets uppsättning ses i Figur 4.

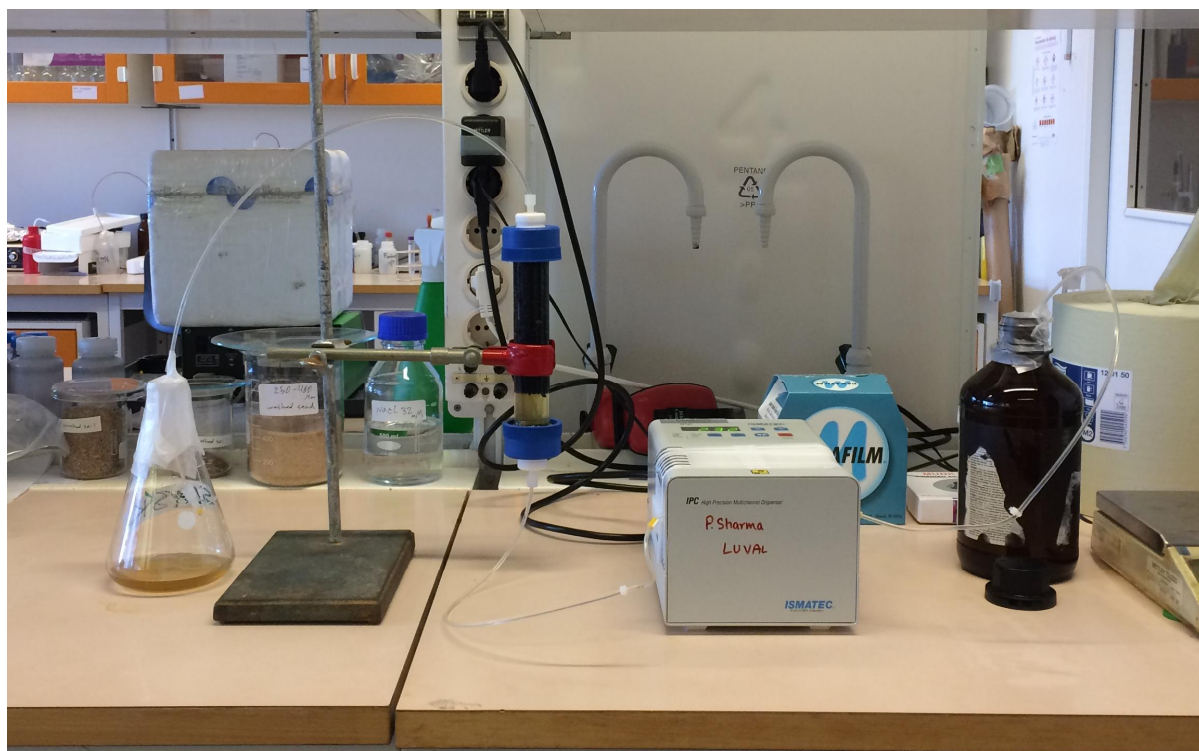
Tiden för testet startades då första droppen landat i insamlingskärlet. Filtratet samlades upp för porvolym 5, 10 och 20. Ekvation 4 visar relationen mellan porvolym och tidsintervallet för provtagningen. Tidsintervallet för uppsamling av porvolym 5, 10 och 20 ses i Tabell 8.

$$t = \frac{n \times V_p}{q} \quad (4)$$

där n är antal porvolym.

Tabell 8. Tidsintervall för uppsamling av porvolym (Vp)

Vp 5	Vp 10	Vp 20
Från t=44 min till t= 54 min	Från t=98 min till t= 109 min	Från t=207 min till t= 218 min



Figur 4. Kolonnförsökets uppställning. I nedre delen av kolonnen ses den fria vattenmängden (jämför tabell 7)..

4.7.4 Analys

Biokolproverna analyserades på Högskolan i Kristianstad tillsammans med Ola Svahn. Metoden som användes var kromatografi och masspektrometri (UPLC MS/MS). För att analysera den behandlade urinen spädades provet tills koncentrationen av antibiotika var ca $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ($\mu\text{g}/\text{l}$).

För att förhindra att Doxycyklin och Ciprofloxacin komplexbinder med metalljoner vilket leder till missvisande analysresultat, tillsattes EDTA som bildar mycket starka komplex med metallerna. Metanolen som egentligen är ett arv från när hela analyskedjan körs (inkluderande provupparbetning), ger en ökad löslighet.

För att kontrollera så att instrumentet uppträdde korrekt tillsattes en internstandard (Thiacloprid). För att kunna kvantifiera de olika ämnena i proven tillsattes dessutom en LUX-mix som innehåller isotopmärkta standarder. När LUX-mixen tillsätts kommer internstandarderna att kompensera för eventuella matriseffekter från urinen, vilket skulle kunna leda till missvisande resultat. I Tabell 9 ges mängder samt spädning från provberedningen.

Tabell 9. Provberedning för analys

<i>Substans</i>	<i>Obehandlat prov (kolonntest)</i>	<i>Behandlat prov (Vp nr 5 Vp nr 10 och Vp nr 20)</i>
<i>prov</i>	500 µl	835 µl
<i>EDTA</i>	5 µl	5 µl
<i>Methanol</i>	100 µl	100 µl
<i>internstandard</i>	10 µl	10 µl
<i>lux (isotop)</i>	50 µl	50 µl
<i>vatten</i>	335 µl	-
<i>Slutlig spädning</i>	1:2	1:1,2

4.8 FÖRSÖKSSERIE 3.2 – SKAKTEST MED BIOKOL OCH URIN

Skaktest med urin och biokol genomfördes för att närmare studera adsorptionen av antibiotika till biokol. Samma biokol användes som i kapitel 4.7 (försöksserie 3.1).

4.8.1 Provberedning

Spikning

Stamlösningar bereddades på samma sätt som i avsnitt 4.2, men denna gång till en högre koncentration. 1 liter urin spikades till en koncentration av ca 5 mg/l för vardera antibiotika. Värderna från beredning av stamlösning och spikning ges i APPENDIX C.

4.8.2 Behandling

E-kolvar fylldes med 100 ml spikad urin och fem olika doser av biokol tillsattes; 0,1 g, 1g, 5 g, 10 g och 20 g, se APPENDIX D. Försöken duplicerades för 1 g respektive 10 g kol. Om totala halten av antibiotika är 20 mg/l skulle 0,1 g-20 g kol till 100 ml spikad urin ge ett förhållande mellan kol till antibiotika på 50-10 000.

E-kolvorna med kol och urin täcktes med parafilm och placerades på skakbord (180 rpm) under 60 minuter. Därefter avslutades skaktestet och urinen överfördes till provrör. Rören centrifugerades sedan i 3 minuter på 3000 varv, därefter kunde den behandlade urinen skiljas från rester av kolet. Proverna överfördes till 1 ml-flaskor som förvarades i kyl under tre dygn innan analys.

4.8.3 Analys

Proverna analyserades på Högskolan i Kristianstad tillsammans med Ola Svahn, på samma sätt som i kapitel 4.7.4. Tabell 10 visar provberedning inför analys.

Tabell 10. Provbereidning för analys

<i>Substans</i>	<i>Obehandlat prov (skaktest)</i>	<i>Skaktester</i>
<i>prov</i>	100 µl av urinprov spädd med vatten till 1:100	100 µl av urinprov spädd med vatten till 1:10
<i>EDTA</i>	5 µl	5 µl
<i>Methanol</i>	100 µl	100 µl
<i>internstandard</i>	10 µl	10 µl
<i>lux (isotop)</i>	50 µl	50 µl
<i>vatten</i>	735 µl	735 µl
<i>Slutlig spädning</i>	1:1000	1:100

4.8.4 Skaktest biokol och vatten

När skaktesten genomfördes lossnade ett mycket finkornigt kol (stoff) från kolpartiklarna. För att ta reda på hur stor andel av den specifika ytan som genereras av detta stoff gjordes nya skaktest. Till detta skaktest användes samma massor av biokol som vid skaktesten med urin, men istället för urin användes destillerat vatten.

Biokolet tvättades först försiktigt med destillerat vatten för att skölja bort så mycket stoff som möjligt. Därefter torkades kolet i ugn under ca ett dygn på ca 105 °C.

100 ml destillerat vatten tillsattes 5 E-kolvar, därefter tillsattes 0,1 g, 1 g, 5 g, 10 g och 20 g kol och E-kolvarna placerades på skakbord (180 rpm) under 60 min. Därefter filtrerades proverna genom ett 0,2 mm teflonfilter.

Bägarna placerades i ugn ca 105 °C tills kolet var torrt (ca 1,5 dygn) och kunde sedan vägas in.

5 RESULTAT OCH OBSERVATIONER

5.1 FÖRSÖKSSERIE 1 – OZONERING AV KONCENTRERAD URIN

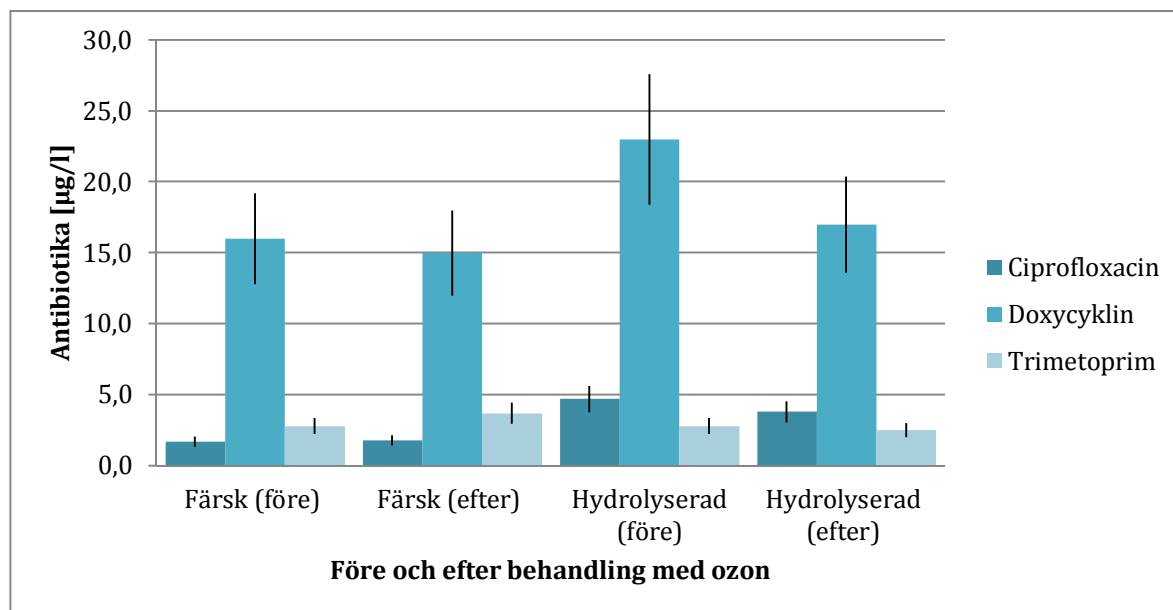
Reningsförsöket genomfördes på färsk och hydrolyserad urin spikad med tre antibiotika till en teoretisk koncentration på ca 2 µg/l. Det genererade ozondosen var 50 mg/l.

Hos den färska urinen visade resultaten att koncentrationen av Ciprofloxacin och Trimetoprim ökat efter behandlingen, medan en viss reduktion kunde ses för Doxycyklin. Hos den hydrolyserade urinen kunde en relativt låg reduktion ses hos alla tre antibiotika. Resultatet ligger dock inom felmarginalen (20 %), vilket betyder att det inte går att avgöra hur ozoneringen i denna försöksserie påverkat koncentrationerna av antibiotika.

Tabell 11. Resultat från ozonering, omgång 1. Koncentration före- och efter behandling (50 mg O₃/l)

	Färsk urin före	Färsk urin efter	Hydrolyserad urin före	Hydrolyserad urin efter
pH	6,8	-	9,2	-
Substans	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)
Ciprofloxacin	1,7*	1,8*	4,7*	3,8*
Doxycyklin	16*	15*	23*	17*
Trimetoprim	2,8*	3,7*	2,8*	2,5*

* Felmarginal: 20 %



Figur 11. Antibiotikakoncentration före och efter behandling med ozon (koncentrerad urin)

5.2 FÖRSÖKSSERIE 1.2 – OZONERING AV UTSPÄDD URIN

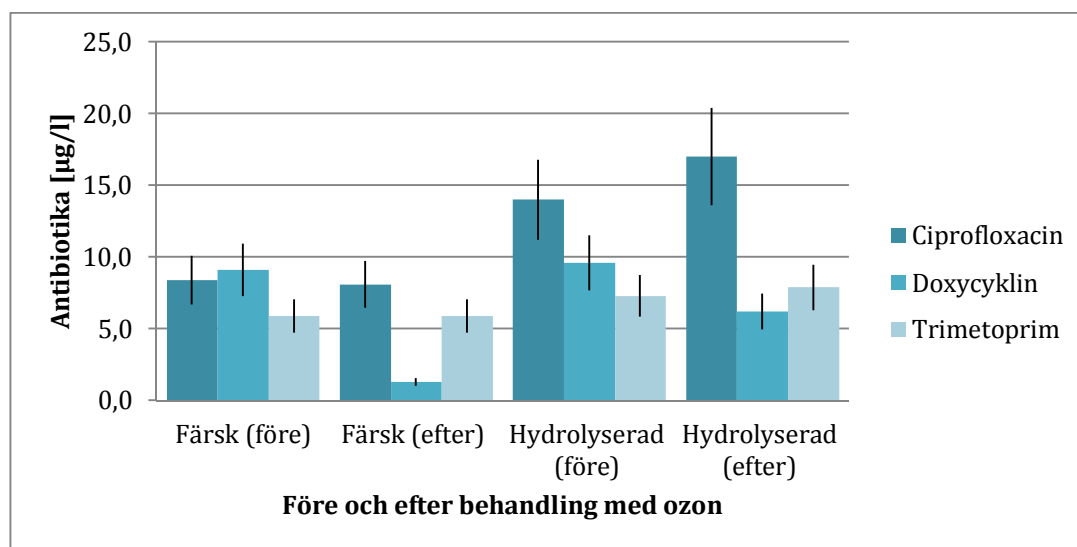
Ozonering testades igen, men under nya förutsättningar. Denna gång späddes urinen med 50 % "spolvatten" (kranvatten) innan den spikades. För att undvika skumbildning tillsattes 1 ml olja per liter urin innan ozoneringen. Ozondosen valdes till 50 mg/l.

Tabell 12-14 och figur 12 nedan visar att Doxycyklin reducerats kraftigt medan skillnaden före och efter ozonering för Ciprofloxacin och Trimetoprim ligger nära felmarginalen, vilket gör dem svåra att utvärdera. För Doxycyklin kan vi se att ozoneringen varit effektivare i den färska urinen jämfört med den hydrolyserade.

Tabell 12. Resultat från ozonering, omgång 2. Koncentration före- och efter behandling (50 mg O₃/l)

	Färsk urin före	Färsk urin efter	Hydrolyserad urin före	Hydrolyserad urin efter
pH	7,2	7,7	10,1	10,0
Substans	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)
Ciprofloxacin	8,4*	8,1*	14*	17*
Doxycyklin	9,1*	1,3*	9,6*	6,2*
Trimetoprim	5,9*	5,9*	7,3*	7,9*

*Felmarginal 20 %



Figur 5. Antibiotikakoncentration före och efter behandling med ozon (utspädd urin)

Tabell 13. Resultat från ozonering, omgång 2. Reducerad mängd efter behandling (50 mg O₃/l)

	Färsk urin efter	Hydrolyserad urin efter
<i>pH</i>	7,7	10
<i>Substans</i>	(μ g)	(μ g)
<i>Ciprofloxacin</i>	-	-
<i>Doxycyklin</i>	7,8 *	3,4 *
<i>Trimetoprim</i>	-	-

* Felmarginal: 20 %

** I tabellen rapporteras endast halter som är större än felmarginalen

Tabell 14. Procentuell förändring av halter efter behandling (50 mg O₃/l)**

	Färsk urin efter	Hydrolyserad urin efter
<i>pH</i>	7,7	10
<i>Substans</i>	(%)	(%)
<i>Ciprofloxacin</i>	-	-
<i>Doxycyklin</i>	86 *	35 *
<i>Trimetoprim</i>	-	-

*Felmarginal: 20 %

** I tabellen rapporteras endast procentuell reduktion för halter som är större än felmarginalen

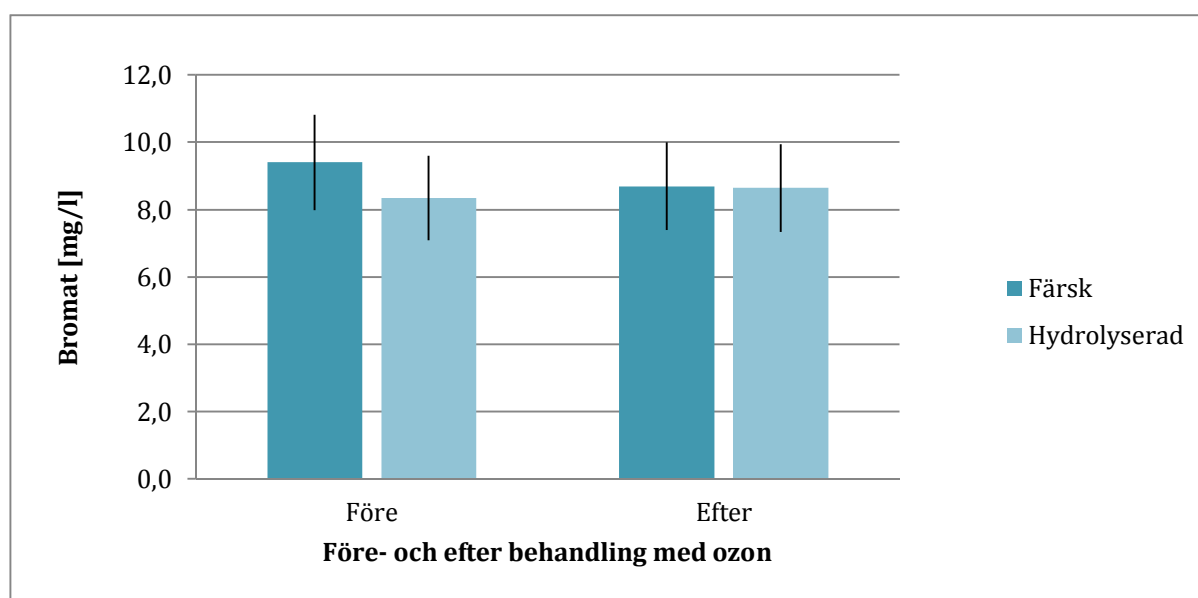
5.2.1 FÖRSÖKSSERIE 1.3 – BROMATANALYS AV OZONERADE PROVER

Eftersom det är känt att bromat kan bildas som en oönskad biprodukt under ozonering av medium som innehåller bromjoner, gjordes en bromatanalys på urinen som ozonerats. Bromatanalysen i Tabell 15-16 och Figur -14 visade dock ingen skillnad före och efter ozonering, förvånansvärt höga bromathalter kunde dock ses i samtliga prov.

Tabell 15. Resultat från bromatanalys, bromathalter före- och efter behandling (50 mg O₃/l) av koncentrerad urin

Prov	Bromat (mg/l)
Färsk urin (före)	9,4*
Färsk urin (efter)	8,7*
Hydrolyserad urin (före)	8,4*
Hydrolyserad urin (efter)	8,7*

*felmarginal: 15 %

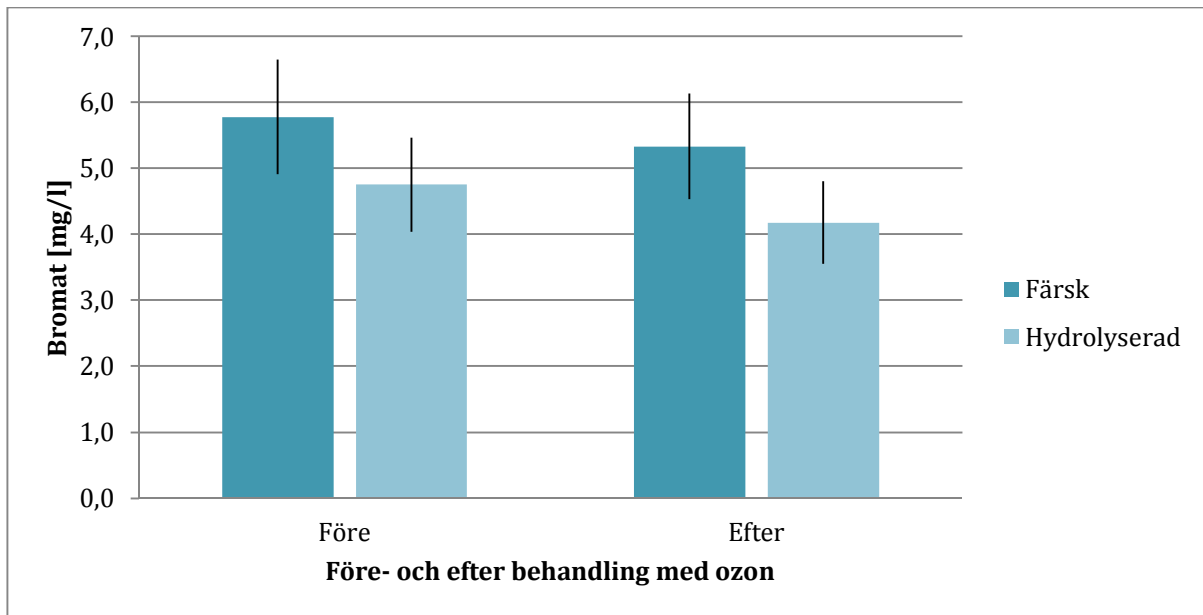


Figur 6. Bromatkoncentration före- och efter behandling med ozon (koncentrerad urin)

Tabell 16. Resultat från bromatanalys, bromathalter före- och efter behandling (50 mg O₃/l) av utspädd urin

Prov	Bromat (mg/l)
färsk urin (före)	5,8*
färsk urin (efter)	5,3*
Hydrolyserad urin (före)	4,8*
Hydrolyserad urin (efter)	4,2*

*Felmarginal: 15 %



Figur 7. Bromatkoncentration före- och efter behandling med ozon (utspädd urin)

5.3 FÖRSÖKSSERIE 2 – RENING AV URIN MED PFS-FILTER OCH PCURE-LÖSNING FRÅN PHAREM BIOTECH

Analysresultatet som kan ses i Tabell 17-18 och Figur 8 visar att ingen av antibiotikan inaktiverades av enzymerna i Pharem Biotechs PFS-filter och PCure-lösning.

Tabell 17. Resultat från behandling med PFS-filter, felmarginal: 20 %

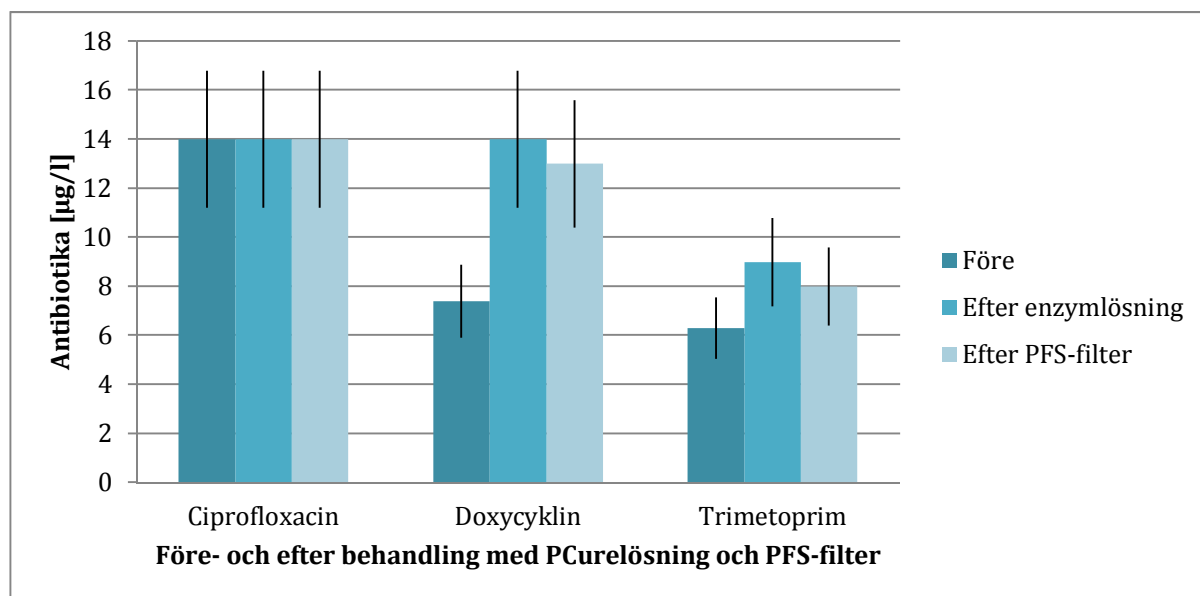
Substans	Före ($\mu\text{g/l}$)	Efter (PFS-filter) ($\mu\text{g/l}$)
Ciprofloxacin	14	14*
Doxycyklin	7,4	13*
Trimetoprim	6,3	8,0*

* Högre halt antibiotika i filtratet från PFS-filtret kan bero på förorenat prov

Tabell 18. Resultat före- och efter behandling med PCure-lösning, felmarginal: 20 %

Substans	Före ($\mu\text{g/l}$)	Efter (PCure) ($\mu\text{g/l}$)
Ciprofloxacin	14	14
Doxycyklin	7,4	14*
Trimetoprim	6,3	9,0*

* Högre halt antibiotika efter blandning med PCure-lösning kan bero på förorenat prov



Figur 8. Antibiotikakonzentration före- och efter behandling med Pharem Biotechs enzymprodukter

5.4 FÖRSÖKSSERIE 3.1 – KOLONNFÖRSÖK MED BIOKOL OCH URIN

Sorptionen av antibiotika till biokol i storleksintervallet 1-5 mm undersöktes genom kolonnförsök. Resultatet som presenteras i Tabell 19 visar koncentrationen före- och efter infiltration genom kolonnen. Tabell 20 och Figur 9 visar den procentuella reduktionen ($\frac{c_0 - c}{c_0} \times 100$) av antibiotika. För exempelvis Ciprofloxacin är reduktionen bäst vid porvolym 5 och avtar vid porvolym 10 och 20.

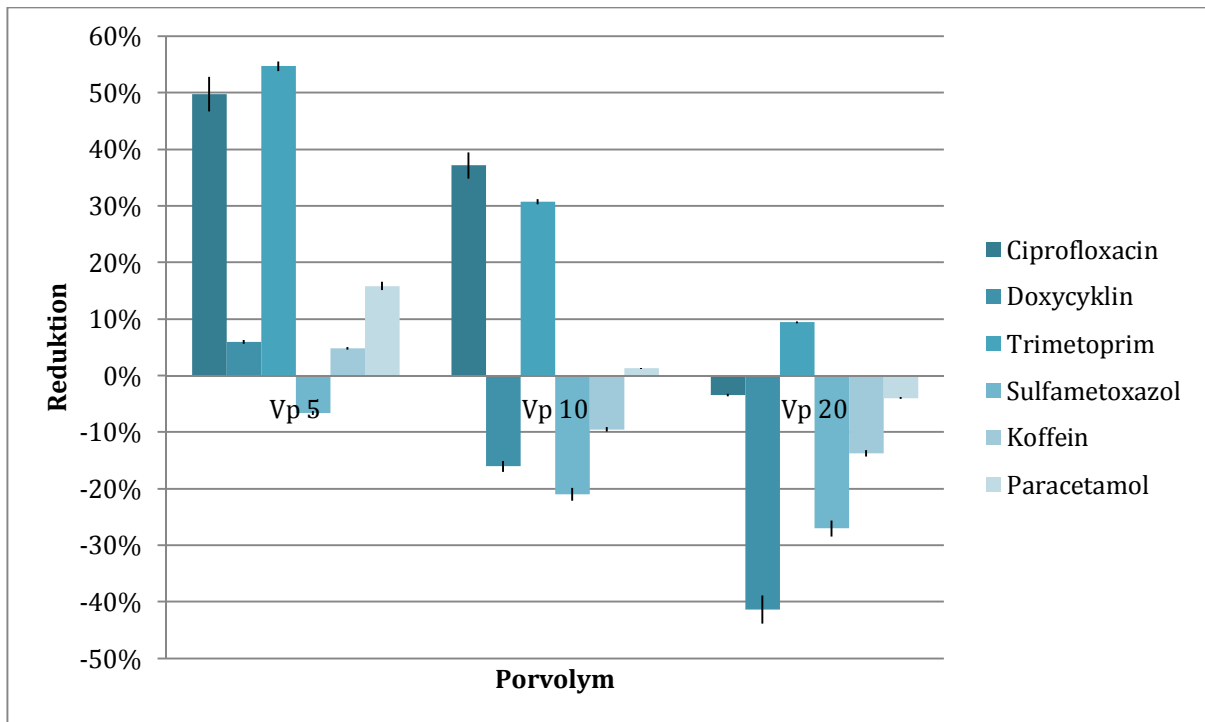
Tabell 19. Resultat från kolonnförsök med biokol, koncentration i blankprov samt i uppsamlade prover (mg/l)

Substans	Blank	Vp 5	Vp 10	Vp 20
Ciprofloxacin felmarginal: 6,2 %	0,030	0,015	0,019	0,021
Doxycyklin felmarginal: 6 %	0,019	0,018	0,022	0,019
Trimetoprim felmarginal: 1,5 %	0,010	0,0045	0,0069	0,0063
Sulfametoxazol felmarginal: 5,3 %	0,0019	0,0020	0,0023	0,0017
Koffein felmarginal: 3,8 %	0,80	0,77	0,88	0,64
Paracetamol felmarginal: 4,5%	0,80	0,68	0,79	0,58

Tabell 20. Resultat från kolonnförsök med biokol, total reduktion av antibiotika

Substans	Reduktion Vp 5 (%)	Reduktion Vp 10 (%)	Reduktion Vp 20 (%)
Ciprofloxacin felmarginal: 6,2 %	50	37	28
Doxycyklin felmarginal: 6 %	6	-16*	1
Trimetoprim felmarginal: 1,5 %	55	31	37
Sulfametoxazol felmarginal: 5,3 %	-7*	-21*	11
Koffein felmarginal: 3,8 %	5	-9*	21
Paracetamol felmarginal: 4,5%	16	1	28

* Negativ reduktion kommer från att den uppmätta koncentrationen i porvolymen varit högre än blankprovet vid någon/några av provtagningarna.



Figur 9. Resultat från kolonnförsök med biokol, procentuell reduktion

5.5 FÖRSÖKSSERIE 3.2 – SKAKTEST MED BIKOL OCH URIN

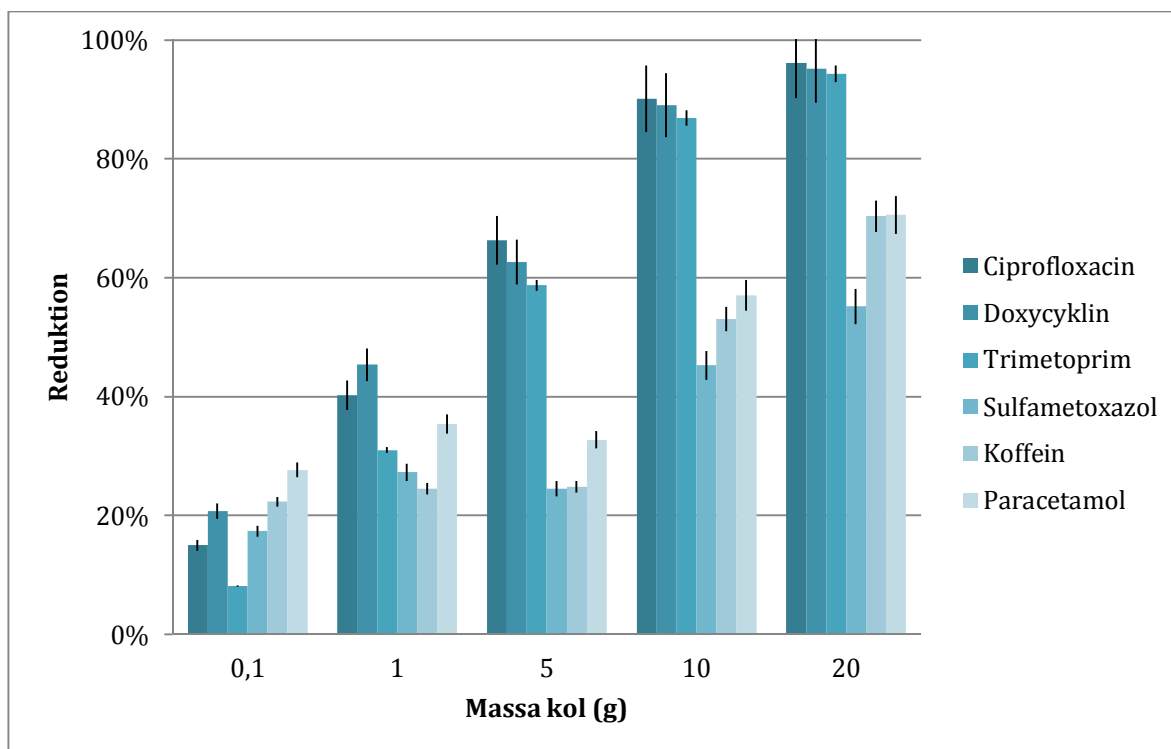
För att närmare studera sorptionen av antibiotika till biokol genomfördes så kallade skaktest, där olika mängder biokol skakades tillsammans med 100 g urin spikad med antibiotika. Resultaten från försöket som presenteras i Tabell 21 visar koncentration av antibiotika före och efter skaktesten. Tabell 22 och 23 visar att den procentuella reduktionen ($\frac{C_0 - C}{C_0} \times 100$) av antibiotika tydligt ökar med ökad mängd tillsatt kol. Tabell 23 visar att skillnaden mellan de duplicerade proverna är relativt liten, vilket tyder på reproducerbarhet hos proverna. Tabell 24 visar att reduktionskapaciteten hos per gram kol sjunker med ökad mängd tillsatt kol ($\text{Reduktionskapacitet} = \frac{C_0 - C}{m_{\text{kol/l}}}$).

Tabell 21. Koncentration (mg/l) före- och efter skakförsök med biokol och urin

Massa kol (g)	0	0,1	1	5	10	20	1 (duplikat)	10 (duplikat)
<i>Substans</i>								
<i>Ciprofloxacin</i> <i>felmarginal: 6,2 %</i>	26,5	22,5	15,8	8,9	2,6	1,0	15,7	3,1
<i>Doxycyklin</i> <i>felmarginal: 6 %</i>	18,9	15,0	10,3	7,1	2,1	0,9	10,0	2,4
<i>Trimetoprim</i> <i>felmarginal: 1,5 %</i>	2,2	6,8	5,1	3,1	1,0	0,4	4,9	1,2
<i>Sulfametoxazol</i> <i>felmarginal: 5,3 %</i>	1,7	1,8	1,6	1,7	1,2	1,0	1,5	1,2
<i>Koffein</i> <i>felmarginal: 3,8 %</i>	2,9	1,3	1,3	1,3	0,8	0,5	1,3	0,9
<i>Paracetamol</i> <i>felmarginal: 4,5%</i>	7,4	2,1	1,9	2,0	1,3	0,9	1,8	1,3

Tabell 22. Procentuell reduktion (%) av antibiotika i skaktest med biokol och urin

Massa kol (g)	0,1	1	5	10	20	1 (duplikat)	10 (duplikat)
<i>Substans</i>							
<i>Ciprofloxacin</i> <i>felmarginal: 6,2 %</i>	15%	40%	66%	90%	96%	41%	88%
<i>Doxycyklin</i> <i>felmarginal: 6 %</i>	21%	45%	63%	89%	95%	47%	87%
<i>Trimetoprim</i> <i>felmarginal: 1,5 %</i>	8%	31%	59%	87%	94%	34%	84%
<i>Sulfametoxazol</i> <i>felmarginal: 5,3 %</i>	17%	27%	25%	45%	55%	32%	46%
<i>Koffein</i> <i>felmarginal: 3,8 %</i>	22%	25%	25%	53%	70%	24%	46%
<i>Paracetamol</i> <i>felmarginal: 4,5%</i>	28%	35%	33%	57%	71%	38%	56%



Figur 10. Resultat från skaktest med biokol, procentuell reduktion

Tabell 23. Skillnad mellan duplicerade prover

Massa kol (g)	1	1 (duplikat)	Skillnad	10	10 (duplikat)	Skillnad
Substans	(mg/l)	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(mg/l)	(%)
Ciprofloxacin	15,8	15,7	1%	2,6	3,1	16%
Doxycyklin	10,3	10,0	3%	2,1	2,4	15%
Trimetoprim	5,1	4,9	4%	1,0	1,2	17%
Sulfametoxazol	1,6	1,5	6%	1,2	1,2	0%
Koffein	1,3	1,3	1%	0,8	0,9	13%
Paracetamol	1,9	1,8	4%	1,3	1,3	4%
Medelvärde			3%			11%

Tabell 24. Reduktionskapacitet (mg/g) i skaktest med biokol och urin

Massa kol (g)	0,1	1	5	10	20	1 (duplikat)	10 (duplikat)
Ciprofloxacin	3,62	1,07	0,35	0,24	0,13	1,08	0,23
Doxycyklin	3,58	0,86	0,24	0,17	0,09	0,90	0,17
Trimetoprim	0,56	0,23	0,09	0,06	0,04	0,25	0,06
Sulfametoxazol	0,35	0,06	0,01	0,01	0,01	0,07	0,01
Koffein	0,35	0,04	0,01	0,01	0,01	0,04	0,01
Paracetamol	0,74	0,10	0,02	0,02	0,01	0,11	0,02

5.5.1 Skaktest biokol och vatten

När skaktesten med biokol och urin genomfördes lossnade ett mycket finkornigt kol (stoff) från kolpartiklarna. För att ta reda på hur stor andel av den totala massan och den specifika ytan som genererades av detta stoff gjordes nya skaktest med biokol och vatten. Resultaten i Tabell 2 visade att ca 1 % av tillsatt massa biokol bestod av partiklar <0,2 mm och beräkningar visade att dessa partiklar utgör i genomsnitt 13 % av den specifika ytan hos kolet. För detaljer se APPENDIX E.

Tabell 25. Resultat från skaktest med biokol och vatten

<i>Massa kol (g)</i>	<i>Massa kolstoff (g)</i>	<i>Andel kolstoff (%)</i>
1,0	0,0069	1%
5,0	0,042	1%
10,0	0,10	1%
20,0	0,22	1%

6 DISKUSSION

Nedan ges en diskussion kring resultaten hos vardera försöksserie.

6.1 FÖRSÖKSSERIE 1 – OZONERING AV KONCENTRERAD URIN

Samtliga resultat visade en låg till negativ reduktion, dock inom felmarginalen vilket betyder att resultaten från detta test kan förkastas. Under det här försöket uppstod dessutom ett kraftigt skum vilket gör att inlösningen kan förväntas vara låg.

6.2 FÖRSÖKSSERIE 1.2 – OZONERING AV UTSPÄDD URIN

I detta försök späddes urinen ut med 50 % vatten för att simulera ett mer verkligt scenario; ett urinseparerande system med spolning. När urinen späds ut med vatten blir DOC-halten också lägre vilket enligt teorin borde göra ozoneringen mer effektiv. Genom att tillsätta 1 ml olja/l urin kunde problemet med skumning också minskas.

Resultaten visade låga reduktionsgrader för alla antibiotika utom Doxycyklin som reducerats till 86 % (± 20 %) i den färskna urinen och 35 % (± 20 %) i den hydrolyserade urinen. Skillnaderna mellan reningsresultatet i de två urintyperna för den här antibiotikan skulle kunna bero på skillnaderna i pH. Det högre pH-värdet i den hydrolyserade urin skulle enligt tidigare studier alltså kunna sänka livslängden för ozonet i urinen, vilket ger en lägre reduktion.

På IVL där ozoneringen utfördes, mättes inte redoxpotentialen i den ozonerade vätskan, vilket gör att den inlösta halten ozon blir svår att uppskatta då det visat sig att tillförd ozondos TOD (transferred ozone dose) korrelerar dåligt med ozonexponering (Buffle et al., 2006). Det är troligt är den inlösta ozonhalten ligger under TOD på 50 mg/l.

Om försöket jämförs med andra studier, t.ex. (Escher et al., 2006) eller (Gulyas et al., 2006), kommer det fram att dosen som användes i detta test är väldigt låg. Gulyas et al., (2006) anger t.ex. att ca 8 g O₃/l behövs för att reducera Carbamazepin till 95 %. Denna dos är således 160 gånger högre än den tillförda ozondosen i detta test. Att använda så höga doser gör att ozonering av urin som enskild reningsmetod blir svårt att motivera ekonomiskt, dessutom ökar risken för toxiska biprodukter.

Ozonering av urin ser alltså ut att vara en metod som kan fungera, men en rening i två steg kan vara att föredra; t.ex. genom elektrodialys som nämnt i kapitel 2.4.3.

6.3 FÖRSÖKSSERIE 2.1 – RENING AV URIN MED PFS-FILTER FRÅN PHAREM BIOTECH

PFS-filtret och PCure-lösningen visade ingen reduktion på antibiotikan, snarare kunde en liten ökning av antibiotikan ses i de behandlade proverna, dessa ligger dock inom felmarginalen. Skillnaderna mellan proverna skulle eventuellt kunna förklaras med att antingen var antibiotikan i provet dåligt löst redan vid start eller att en utfällning av antibiotikan skett. Dessa eventuella fel är troligen väldigt små, vilket betyder att enzymerna i filtret inte fungerat.

Som (de Cazes et al., 2014) beskriver i sin litteratursammanställning, skulle anledningen till att reningen inte fungerat kunna vara att enzymerna inaktiverats av föroreningar i urinen, det skulle alltså kunna vara rätt sorts enzym men i fel förhållanden. Då sammansättningen i filtret är en företagshemlighet är det svårt att utvärdera närmare varför försöket inte fungerat, men Pharem Biotech tror att enzymerna måste anpassas för att vara applicerbara på ett urinseparerande system.

6.4 FÖRSÖKSSERIE 3.1 – KOLONNFÖRSÖK MED BIKOL OCH URIN

Kolonförsöket med biokol visade en relativt låg reduktion för antibiotika. Trimetoprim nådde som bäst 55 % ($\pm 1,5$ %) reduktion i porvolym nr 5. För några av substanserna (speciellt i porvolym nummer 20), sågs en negativ reduktion, vilket kan bero på att tidigare adsorberad antibiotika har lossnat och därmed genererat en högre koncentration än blankprovet. Flödes hastighet och partikelstorleksfördelning hos kolet kan vara två helt avgörande faktorer i ett försök som detta. Resultatet visar att denna typ av biokol har god potential som filtermaterial för att reducera antibiotika, men troligtvis kan adsorptionen förbättras om ovan nämnda faktorer ändras. En mindre partikelstorlek skulle t.ex. bidra till att det interna avståndet mellan adsorbaten och adsorptionsplatserna minskar (Chowdhury et al., 2013), vilket skulle betyda att sorptionen till kolet går snabbare. Mindre partiklar gör även att den aktiva ytan ökar, vilket gör att filtrerbäddens adsorptionskapacitet skulle kunna ökas. Nackdelen med väldigt små partiklar är dock att avskiljningen mellan kolet och det förorenade mediet blir svårare.

Utöver ovan nämnda faktorer kan läkemedlets egenskaper, pH, konduktivitet och DOC-halt spela en avgörande roll för adsorptionen av ”målämnet”. Wang et al. (2015) såg en väldigt liten förändring av adsorptionskapacitet i pH-intervallet 3-10 för Enrofloxacin och Ofloxacin (Wang et al., 2015), medan en studie av (Zheng et al., 2013) visade hur adsorptionen av sulfametoxazolmolekyler med olika laddning påverkades av pH. Neutrala Sulfametoxazolmolekyler var dominerande för adsorptionen på biokol vid pH 1-6 medan adsorptionen för negativa Sulfametoxazolmolekyler ökade vid pH över 7 (Zheng et al., 2013).

pH-värdet i urin ser således ut att vara en faktor som kan påverka adsorptionen. För att avgöra om en kontinuerlig reningsprocess på färsk urin eller en process med viss uppehållstid är effektivast föreslås att vidare studier bland annat undersöker skillnaden mellan färsk- och hydrolyserad urin, vars pH-värde skiljer ca 3-4 pH-enheter.

6.5 FÖRSÖKSSERIE 3.2 – SKAKTEST MED BIKOL OCH URIN

Skaktesterna för urin och biokol visade mycket god reduktion, speciellt vid de högre mass-vätske förhållanden. De duplicerade proverna skiljde sig i snitt 3-11 % från varandra, vilket betyder att resultaten kan ses som tillförlitliga.

Resultaten visar tydligt vilken potential biokol har som adsorbent för dessa typer av föroreningar. Den bästa reduktionskapaciteten sågs hos det största förhållandet mellan tillsatt kol och mängd antibiotika, dvs. mindre mängd kol gav bättre reduktion per gram. När kolmängden ökades minskades reduktionskapaciteten kraftigt men urinen blev renare. Detta samband visades också i en studie av Wang et.al., vilket beskrivits i kapitel 2.4.5.

Då ekonomin begränsade antalet försök valdes att inte söka efter jämviktstiden för kolet och antibiotikan, dvs. den tid då maximal mängd antibiotika adsorberats till kolet. Att hitta jämviktstiden hade krävt flera analyser. Istället genomfördes skaktesterna under 1 h, med olika mass-vätskeförhållanden. I studien av Wang et al. (2015) hade största andelen av antibiotikan adsorberats till biokolet under skaktest i 1 h. Den kanske största skillnaden mellan denna studie och Wang et al., (2015) var partikelstorleken och således den specifika ytan. Då partikelstorleken i den här studien var ca 30 gånger större än kolet som användes i studien av Wang et al., 2015, är det troligt att mer antibiotika hade adsorberats till kolet om skaktiden ökats och/eller partikelstorleken minskats. Relationen mellan partikelstorlek och specifik yta visades tydligt när ytan hos kolstoffet studerades: stoffet utgjorde bara 1 % av massan men bidrog med ca 13 % av den aktiva yttre ytan. I den här studien är det endast ytterytan på partiklarna som beräknats vilket gör att den specifika ytan är svår att jämföra med studier som t.ex. Wang et al., (2015) där även den inre ytan av både mesoporor och makroporer analyserats.

7 SLUTSATSER

Att besluta om ett sjukhus ska införa åtgärder för att reducera läkemedel från avloppet råder det delade meningar om, det är dessutom svårt att hitta en enkel reningsprocess som inte kräver någon för- eller efterbehandling eller som tar upp stora ytor. Många reningstekniker ser ut att fungera bäst i kombination med varandra vilket gör att processen för rening av läkemedel ur avloppet kan komma att likna ett mindre reningsverk. Urinsortering kan vara ett alternativ för att skala ned reningsprocessen och den här studien visar att en relativt enkel rening med biokol kan vara en mycket lovande metod.

Examensarbetets resultat kunde inte visa att enzymer i produkter från företaget Pharem Biotech hade någon reduktionseffekt på antibiotikan. Ozonering i en tillförd ozondos på 50 mg/l visade ingen reduktion för Ciprofloxacin och Trimetoprim, medan Doxycyklin reducerades till 86 % (± 20 %) i den färsk utspädda urinen och till 35 % (± 20 %) i den hydrolyserade utspädda urinen. Den högsta reduktionen nåddes hos skaktesten med biokol, där 20 g biokol på 100 ml färsk urin reducerade upp till 96 % ($\pm 6,1$ %) (Ciprofloxacin) av antibiotikan, under 1 h. Skaktesten med biokol och vatten visade att en mycket liten andel kolstoff bildades/lossnade under skaktesten men att detta stoft utgör i snitt 13 % av den specifika ytan. För att inte läkemedelsrester som adsorberats till dessa partiklar ska spridas när urinen släpps ut till avloppsledningsnätet kan t.ex. ett efterföljande sandfilter rekommenderas.

Akademiska sjukhuset ligger på ett vattenskyddsområde vilket kan göra valet av reningsmetod snävare. Genom att välja en kontinuerlig reningsprocess skulle uppsamling och förvaring på området kunna undvikas, vilket ökar möjligheterna för implementering av läkemedelsrening.

Vidare studier

Biokol har enligt denna studie en mycket hög kapacitet att rena urin från läkemedelsrester, därför kan denna reningsmetod rekommenderas att gå vidare med. För att avgöra hur en reningsmetod med biokol (filteranläggning eller liknande) ska utformas, föreslås vidare studier på exempelvis adsorptionsegenskaper, EBCT och genombrottsid. Ett kolonnförsök med mindre partikelstorlek är ett förslag på hur bättre adsorption skulle kunna uppnås. Om kolonnförsöket körs under tillräckligt lång tid kan även genombrottsiden hittas.

Ozon ser också ut att vara en metod som kan fungera för att reducera läkemedelsrester i urin och ozoneringen har troligtvis även stor förbättringspotential. Att hitta en bättre inlösningsmetod samt förbehandla urinen för att sänka DOC-halten kan vara exempel för vidare studier.

8 REFERENSER

Akademiska sjukhuset, 2015a. Uppsala Care - Akademiska sjukhuset [WWW Document]. URL <http://www.akademiska.se/Verksamheter/Uppsala-Care1/> (accessed 2.11.16).

Akademiska sjukhuset, 2015b. Miljö - Akademiska sjukhuset [WWW Document]. URL <http://www.akademiska.se/sv/Om-Akademiska/Miljoarbete/> (accessed 2.11.16).

Amos, G.C.A., Hawkey, P.M., Gaze, W.H., Wellington, E.M., 2014. Waste water effluent contributes to the dissemination of CTX-M-15 in the natural environment. *J. Antimicrob. Chemother.* 69, 1785–1791. doi:10.1093/jac/dku079

Andersson, Y., 2008. Utvärdering av urinsortering och torrtoaletter i Tanums kommun (No. 2008:88 ISSN: 1403-168X), Västra Götalands län.

Avloppscenter, 2016. Avloppscenter [WWW Document]. URL <http://www.avloppscenter.se/sv/vara-produkter/olika-typer-av-wc/urinseparerande-wc/>

Bengtsson, B.-E., Jan, B., Berndt, B., Birgitta, B., Magnus, B., Staffan, C., Jerker, F., Lars, F., David, G., Bo, G., Anna-Karin, J., Niklas, J., Roland, K., Joakim, L., Alf, L., Roland, M.,

Leif, N., Mats, T., Cajsa, W., Åke, W., 2005. Läkemedel och miljö (No. 1008-01). Apoteket AB, Stockholms läns landsting och Stockholms universitet.

Berger, C., 2012. Biochar and activated carbon filters for greywater treatment – comparison of organic matter and nutrients removal (No. ISSN: 1654-9392).

Brooks, B.W., Chambliss, C.K., Stanley, J.K., Ramirez, A., Banks, K.E., Johnson, R.D.,

Lewis, R.J., 2005. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 464–469. doi:10.1897/04-081R.1

Buffle, M.-O., Schumacher, J., Meylan, S., Jekel, M., Gunten, U. von, 2006. Ozonation and Advanced Oxidation of Wastewater: Effect of O₃ Dose, pH, DOM and HO[•]-Scavengers on Ozone Decomposition and HO[•] Generation. *Ozone Sci. Eng.* 28, 247–259. doi:10.1080/01919510600718825

C. Nordin, A., 2016.

Cecen, F., Aktas, Ö., 2011. Activated Carbon for Water and Wastewater Treatment. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA.

Chowdhury, Z.K., Summers, R.S., Westerhoff, G.P., Leto, B.J., Nowack, K.O., Corwin, C.J., 2013. Activated Carbon: Solutions for Improving Water Quality. American Water Works Association.

Coates, A.R.M. (Ed.), 2012. Antibiotic Resistance, Handbook of Experimental Pharmacology. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.

De Cazes, M., Abejón, R., Belleville, M.-P., Sanchez-Marcano, J., 2014. Membrane Bioprocesses for Pharmaceutical Micropollutant Removal from Waters. *Membranes* 4, 692–729. doi:10.3390/membranes4040692

Dodd, M.C., 2008. Characterization of Ozone-Based Oxidative Treatment as a Means of Eliminating the Target-Specific Biological Activities of Municipal Wastewater-Borne Antibacterial Compounds.

Dodd, M.C., Zuleeg, S., von Gunten, U., Pronk, W., 2008. Ozonation of Source-Separated Urine for Resource Recovery and Waste Minimization: Process Modeling, Reaction Chemistry, and Operational Considerations (No. 42, 9329–9337. DOI: 10.1021/es800560r). *Environmental Science Technology*.

Elsevier, 2015. New standard for hospital wastewater treatment. *Filtr. Sep.* 52, 44–45. doi:10.1016/S0015-1882(15)30141-5

Escher, B.I., Pronk, W., Suter, M.J.-F., Maurer, M., 2006. Monitoring the Removal Efficiency of Pharmaceuticals and Hormones in Different Treatment Processes of Source-Separated Urine with Bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5095–5101. doi:10.1021/es060598w

Europeiska unionens officiella tidning, 2013, n.d. DIREKTIV EUROPAPARLAMENTETS OCH RÅDETS DIREKTIV 2013/39/EU av den 12 augusti 2013 om ändring av direktiven 2000/60/EG och 2008/105/EG vad gäller prioriterade ämnen på vattenpolitikens område.

Faust, S.D., Aly, O.M., 1998. *Chemistry of Water Treatment*, Second Edition. CRC Press.

Fick, J., Lindberg, R.H., Kaj, L., Brorström-Lundén, E., 2011. Results from the Swedish National Screening Programme 2010 Subreport 3. Pharmaceuticals (No. B2014), IVL. Folkhälsomyndigheten, 2011. Bredspektrumantibiotika ökar risken att drabbas av ESBL — Folkhälsomyndigheten [WWW Document]. URL <http://www.folkhalsomyndigheten.se/nyheter-och-press/historik-smi-2003-2013/historik-smi-nyheter/2011/december/bredspektrumantibiotika-okar-risken-att-drabbas-av-esbl/> (accessed 3.15.16).

Gao, P., Munir, M., Xagorarakis, I., 2012. Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant. *Sci. Total Environ., Special Section: Reviews of Trace Metal Pollution in China* 421–422, 173–183. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.01.061

Gottschalk, C., Libra, J.A., Saupe, A., 2009. *Ozonation of Water and Waste Water : A Practical Guide to Understanding Ozone and its Applications* (2nd Edition), 2nd ed. Wiley-VCH.

Grundfos, n.d. Wastewater treatment at Herlev Hospital, Denmark | Grundfos [WWW Document]. URL <http://www.grundfos.com/market-areas/water/emerging-water-technologies/grundfos-biobooster/cases/wastewater-treatment-at-herlev-hospital-denmark.html> (accessed 8.29.16).

Gullberg, E., Cao, S., Berg, O.G., Ilbäck, C., Sandegren, L., Hughes, D., Andersson, D.I., 2011. Selection of Resistant Bacteria at Very Low Antibiotic Concentrations. *PLoS Pathog.* 7. doi:10.1371/journal.ppat.1002158

Gulyas, H., Gajurel, D.R., Kucharek, K., Skwiot, R., Winker, M., Furmanska, M., Otterpohl, R., 2006. Ozonation of urine: English summary.

Hammarlund-Udenaes, A.R., Margareta, n.d. Kliniskt farmakologiska principer |

Läkemedelsboken [WWW Document]. URL

http://www.lakemedelsboken.se/kapitel/lakemedelsanvandning/kliniskt_farmakologiska_principer.html (accessed 2.11.16).

Hansen, K.M.S., Spiliotopoulou, A., Chhetri, R.K., Escolà Casas, M., Bester, K., Andersen, H.R., 2016. Ozonation for source treatment of pharmaceuticals in hospital wastewater – Ozone lifetime and required ozone dose. *Chem. Eng. J.* 290, 507–514. doi:10.1016/j.cej.2016.01.027

High-performance liquid chromatography, 2016. . Wikipedia Free Encycl.

Hjelmqvist, ^{ÖB}Jane, Johansson, M., Tegelberg, L., 2012. ^{ÖB}Återföring av näring från små avlopp En kunskapssammanställning om källsorterande avloppssystem för enskilda hus och samlad bebyggelse (No. 2012:1), Urban Water.

Hollender, J., Koepke, S., Krauss, M., McArdell, C.S., Ort, C., Singer, H., Gunten, U. von, Siegrist, H., 2009. Elimination of Organic Micropollutants in a Municipal Wastewater Treatment Plant Upgraded with a Full-Scale Post-Ozonation Followed by Sand Filtration. *Environ. Sci. Technol.* 7862.

Huber, M.M., Canonica, S., Park, G.-Y., von Gunten, U., 2003. Oxidation of Pharmaceuticals during Ozonation and Advanced Oxidation Processes. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1016–1024. doi:10.1021/es025896h

Huber, M.M., Göbel, A., Joss, A., Hermann, N., Löffler, D., McArdell, C.S., Ried, A., Siegrist, H., Ternes, T.A., von Gunten, U., 2005. Oxidation of Pharmaceuticals during Ozonation of Municipal Wastewater Effluents: A Pilot Study. *Environ. Sci. Technol.* 39, 4290–4299. doi:10.1021/es048396s

Ijpelaar, G.F., Harmsen, D.J.H., Heringa, M., 2007. ^{ÖB}UV disinfection and UV/H₂O₂ oxidation: by-product formation and control (No. D 2.4.1.1).

J. Hoigné, H. Bader, 1983. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—I: Non-dissociating organic compounds (No. doi:10.1016/0043-

1354(83)90098-2), *Water research*, Volume 17, Issue 2. Federal Institute for Water Resources and Water Pollution Control (EAWAG) Swiss Federal Institute of Technology, CH-8600 Dübendorf, Switzerland.

Janus info, 2016. Miljöklassificerade läkemedel [WWW Document]. URL <http://www.janusinfo.se/Beslutsstod/Miljo-och-lakemedel/Miljoklassificerade-lakemedel/> (accessed 2.13.16).

Karlsson-Ottosson, U., 2015. Första svenska reningssteget för läkemedel installerat [WWW Document]. NyTeknik. URL http://www.nyteknik.se/nyheter/bioteknik_lakemedel/lakemedel/article3939570.ece (accessed 2.12.16).

Korzeniewska, E., Korzeniewska, A., Harnisz, M., 2013. Antibiotic resistant Escherichia coli in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 91, 96–102. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.01.014

Kvarnström, E., 2006. Urine Diversion: One Step Towards Sustainable Sanitation.

Kvissberg, J., 2016. Ozonetech.

Läkartidningen, 2015. Kinoloner -bot som blivit hot.

Läkemedelsverket, 2012. Åtgärder på nationell nivå för att minska kassationen av läkemedel eller på annat sätt begränsa miljöpåverkan av läkemedel.pdf [WWW Document]. URL <https://lakemedelsverket.se/upload/om-lakemedelsverket/roll-och-uppdrag/%C3%85tg%C3%A4rder%20p%C3%A5%20nationell%20niv%C3%A5%20f%C3%B6r%20att%20minska%20kassationen%20av%20%C3%A4kemedel%20eller%20p%C3%A5%20annat%20s%C3%A4tt%20begr%C3%A4nsa%20milj%C3%B6p%C3%A5verkan%20av%20%C3%A4kemedel.pdf> (accessed 2.11.16).

Läkemedelsverket, 2007. Underlag till fördjupad utvärdering av miljömålsarbetet - Sektorsrapport från Läkemedelsverket.

Landstinget i Uppsala län, 2005. Kartläggning av läkemedelsrester i avlopps- och dricksvatten. Provtagning vid Akademiska sjukhuset, Uppsala och Lasarettet i Enköping hösten 2005.

Larsen, T.A., Judit Lienert, Adriano Joss, Hansruedi Siegrist, 2004. How to avoid pharmaceuticals in the aquatic environment, *Journal of Biotechnology* 113 (2004) 295–304.

Larsen, T.A., Udert, K.M., Lienert, J., 2013. *Source Separation and Decentralization for Wastewater Management*. IWA Publishing.

Larsson, J., Lööf, L., 2015. Läkemedel i miljön | Läkemedelsboken [WWW Document]. Läkemedel Miljön. URL http://www.lakemedelsboken.se/kapitel/lakemedelsanvandning/lakemedel_i_miljon.html#x7_13 (accessed 11.24.15).

Li, J., Cheng, W., Xu, L., Strong, P.J., Chen, H., 2014. Antibiotic-resistant genes and antibiotic-resistant bacteria in the effluent of urban residential areas, hospitals, and a municipal wastewater treatment plant system (No. ISSN 0944-1344), *Environmental Science*

and pollution research international.

Lienert, J., Bürki, T., Escher, B.I., 2007. Reducing micropollutants with source control: substance flow analysis of 212 pharmaceuticals in faeces and urine. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 56, 87–96. doi:10.2166/wst.2007.560

LIF, n.d. Svensk miljöklassificering av läkemedel [WWW Document]. URL <http://service.lif.se/default.aspx?id=11677> (accessed 2.16.16).

Lin, T., Wu, S., Chen, W., 2014. Formation potentials of bromate and brominated disinfection by-products in bromide-containing water by ozonation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 13987–14003. doi:10.1007/s11356-014-3329-2

Margot, J., 2015. Micropollutant removal from municipal wastewater – From conventional treatments to advanced biological processes.

Maure, M., Pronk, W., Larsen, T.A., 2006. Treatment processes for source-separated urine (No. 40 (2006) 3151–3166), *Water research*.

Naturvårdsverket, 2014. Redovisning av regeringsuppdrag Miljökrav vid produktion av läkemedel inom EU.

Naturvårdsverket, 2008. Avloppsreningsverkens förmåga att ta hand om läkemedelsrester och andra farliga ämnen (No. ISSN 0282-7298).

Naturvårdsverket, 1995. Vad innehåller avlopp från hushåll? (No. ISBN 91-620-4425-7).

Olsson, J., 2005. Desinfektion på ledningsnätet – effekten på dricksvattenkvaliteten (No. 2005-15). VA-forsk.

Palm, O., Malmén, L., Jönsson, H., 2002. Robusta, uthålliga små avloppssystem. En kunskapsmanställning (No. nr 5224, ISBN 91-620-5224-1, Naturvårdsverket).

Peter Jonsson, 2015. Avloppsvattenflöde Akademiska sjukhuset.

Pronk, W., Zuleeg, S., Lienert, J., Escher, B., Koller, M., Berner, A., Koch, G., Boller, M., 2007. Pilot experiments with electro dialysis and ozonation for the production of a fertiliser from urine. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 56, 219–227. doi:10.2166/wst.2007.575

PubChem, 2016a. Doxycycline [WWW Document]. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/doxycycline#section=Therapeutic-Uses>

PubChem, 2016b. Ciprofloxacin [WWW Document]. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ciprofloxacin#section=Top>

PubChem, 2016c. Trimethoprim [WWW Document]. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/trimethoprim#section=Top>

Rakness, K.L., 2005. Ozone in Drinking Water Treatment - Process Design, Operation, and Optimization (1st Edition). American Water Works Association.

Ramirez, A.J., Brain, R.A., Usenko, S., Mottaleb, M.A., O'Donnell, J.G., Stahl, L.L., Wathen, J.B., Snyder, B.D., Pitt, J.L., Perez-Hurtado, P., Dobbins, L.L., Brooks, B.W., Chambliss, C.K., 2009. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in fish: Results of a national pilot study in the united states. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2587–2597. doi:10.1897/08-561.1

Riksdagsförvaltningen, 2015. Svensk författningssamling 2015:315 Läkemedelslag (2015:315) - riksdagen.se.

Riksdagsförvaltningen, 2012. Faktapromemoria 2011/12:FPM120 Direktiv om prioriterade ämnen i vatten - riksdagen.se [WWW Document]. URL https://www.riksdagen.se/sv/Dokument-Lagar/EU/Fakta-PM-om-EU-forslag/Direktiv-om-prioriterade-amnen_GZ06FPM120/ (accessed 4.6.16).

Rose, C., Parker, A., Jefferson, B., Cartmell, E., 2015. The Characterization of Feces and Urine: A Review of the Literature to Inform Advanced Treatment Technology. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 45, 1827–1879. doi:10.1080/10643389.2014.1000761

Ryen, M., 2016. Pharem Biotech.

Schoultz, S., 2015. Miljöprojekt Akademiska sjukhuset.

Sehlén, R., Malmborg, J., Baresel, C., Ek, M., Magnér, J., Allard, A.-S., Yan, J., 2015. Pilotanläggning för ozonoxidation av läkemedelsrester i avloppsvatten (No. B 2218). IVL Svenska Miljöinstitutet.

Sigma Aldrich, 2016. Urease from *Canavalia ensiformis* (Jack bean) [WWW Document]. Sigma Aldrich. URL <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/94281?lang=en®ion=SE>

Sigma-Aldrich, 2016a. Sigma-Aldrich Doxycycline monohydrate [WWW Document]. URL <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/d1822?lang=en®ion=SE>

Sigma-Aldrich, 2016b. Sigma-Aldrich Ciprofloxacin [WWW Document]. URL <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/17850?lang=en®ion=SE>

Sigma-Aldrich, 2016c. Sigma-Aldrich Trimethoprim [WWW Document]. URL <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t7883?lang=en®ion=SE>

Sigma-Aldrich, 2016d. Sulfametoxazole Vetranal [WWW Document]. Sigma-Aldrich. URL <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/31737?lang=en®ion=SE> (accessed 5.21.16).

Silva, M.F. da, Tiago, I., Veríssimo, A., Boaventura, R.A.R., Nunes, O.C., Manaia, C.M., 2006. Antibiotic resistance of enterococci and related bacteria in an urban wastewater

treatment plant. *FEMS Microbiol. Ecol.* 55, 322–329. doi:10.1111/j.1574-6941.2005.00032.x

Sten, V., 2013. Vårt vatten. Grundläggande lärobok i vatten- och avloppsteknik, 2nd ed, VA-teknik. Svenskt vatten.

Svahn, O., 2016.

Svenskt Vatten, 2016. Läkemedel och kemiska ämnen [WWW Document]. URL <http://www.svensktvatten.se/Vattentjanster/Avlopp-och-Miljo/Reningsteknik/Rening-av-lakemedel-och-kemiska-amnen/>

Svenskt Vatten, 2014. Sex projekt för att rena avloppsvatten från läkemedelsrester får dela på tio miljoner kronor [WWW Document]. URL <http://www.svensktvatten.se/Aktuellt/Nyheter/Svenskt-Vatten-nyhetslista/Sex-projekt-for-att-rena-avloppsvatten-fran-lakemedelsrester-far-dela-pa-tio-miljoner-kronor-/> (accessed 3.15.16).

Svenskt Vatten, 2011. Dricksvattenteknik 3 Ytvatten. Svenskt vatten AB.

Ternes, T.A., Stüber, J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M., Teiser, B., 2003. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Res.* 37, 1976–1982. doi:10.1016/S0043-1354(02)00570-5

Udert, K.M., Larsen, T.A., Biebow, M., Gujer, W., 2003. Urea hydrolysis and precipitation dynamics in a urine-collecting system. *Water Res.* 37, 2571–2582. doi:10.1016/S0043-1354(03)00065-4

Umeå universitet, 2016. Fyra miljoner till utvärdering av Sveriges första reningsverk för läkemedelsrester - Umeå universitet [WWW Document]. URL <http://www.umu.se/forskning/forskningsnyheter/nyhetsvisning//fyra-miljoner-till-utvardering-av-sveriges-forsta-reningsverk-for-lakemedelsrester.cid264122> (accessed 8.29.16).

Uppsala Vatten, 2010. Kungsängsverket [WWW Document]. URL http://www.uppsalavatten.se/Global/Uppsala_vatten/Dokument/Trycksaker/kungsangsverket_avloppsreningsverk.pdf (accessed 2.11.16).

Von Gunten, U., 2013. Source Separation and Decentralization for Wastewater Management - Chapter 26 Chemical oxidation processes. IWA Publishing.

Wahlberg, C., Björlenius, B., Paxéus, N., 2009. Läkemedelsrester i Stockholms vattenmiljö. Förekomst, förebyggande åtgärder och rening av avloppsvatten. Stockholm Vatten.

Wang, H., Liu, D., Cui, F., Zhu, Q., Liu, T., 2010. Effect of Ammonia and pH Combinations on the Formation of Ozonation and Chlorination By-Products in Bromide-Containing Water.

Wang, Y., Lu, J., Wu, J., Liu, Q., Zhang, H., Jin, S., 2015. Adsorptive Removal of Fluoroquinolone Antibiotics Using Bamboo Biochar. *Sustainability* 7, 12947–12957.

doi:10.3390/su70912947

Wikipedia, 2016. Ozone. Wikipedia Free Encycl.

Woods Hole, 1981. Flux of Organic Carbon by Rivers to the Oceans: Report of a Workshop, Woods Hole, Massachusetts, September 21-25, 1980. National Academies.

Zheng, H., Wang, Z., Zhao, J., Herbert, S., Xing, B., 2013. Sorption of antibiotic sulfamethoxazole varies with biochars produced at different temperatures. *Environ. Pollut.* 181, 60–67. doi:10.1016/j.envpol.2013.05.056

APPENDIX A

BERÄKNING AV HYDROLYSERING

Strukturformel urea: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

Molekylvikt urea: 60,07 g/mol

Molekylvikt kväve (N): 14,0067 g

$$\text{Andel kväve av urea} = \frac{2 \times 14,0067 \text{ g/mol}}{60,07 \text{ g/mol}} = 46,634 \%$$

$$\text{Massa urea i 1 l urin med normal kvävehalt} \left(7 \frac{\text{g}}{\text{l}}\right) = \frac{7 \text{ g}}{0,46634} = 15,010 \text{ g urea}$$

$$\text{Antal mol urea i 1 liter urin med normal kvävehalt} = \frac{15,010}{60,06} = 0,2499 \text{ mol urea}$$

vilket motsvarar ca 1,25 mol ($15,010/60,06 = 0,2499$ mol urea). Antal timmar för total nedbrytning i rumstemperatur blir därmed ca 521 h/mg ureas i rumstemperatur.

$$\begin{aligned} \text{Nedbrytningstid för 1 mg ureas} &= \frac{0,2499 \text{ mol urea}}{\frac{\text{mol urea}}{8 \times 10^{-6} \frac{\text{min}}{\text{mg}}}} \\ &= 31239,59 \frac{\text{min}}{\text{mg ureas}} = 520,7 \frac{\text{h}}{\text{mg ureas}} \end{aligned}$$

500 mg ureas skulle därmed ge en nedbrytningstid på ca 1 h för 1 l urin.

APPENDIX B

DELRESULTAT

Hydrolysis testades på en liten mängd urin innan reningsförsöken. Resultaten presenteras i Tabell .

Tabell 25. Resultat från hydrolystest av en liten mängd urin

Typ av urin	Ureasmängd _(5U/mg) (g/l)	NH ₄ -N halt (g/l)	N-tot (g/l)	pH
Färsk		0,143	6,3	7,05
Hydrolyserad	1,5	5,78		
Hydrolyserad	0,5	5,78		

För att kontrollera att urinen som skulle användas i ozonförsöken var representativ och att urinen hydrolyserats fullständigt efter tillsats av ureas mättes NH₄⁺-N halt, N-tot-halt och pH-värde. Resultatet visade att 90 % av kvävet hade omvandlats till NH₄⁺-N vilket är normalt under hydrolysis. Resultaten presenteras i Tabell .

Tabell 26. Resultat från test av totalkväve och ammoniumkväve i urinen som användes i ozonförsöken

Typ av urin (2005,5 g)	Ureasmängd g/l (5U/mg)	Nitrogen(total) Cell test (10-150 mg/l N).	Ammonium Cell test 4-80 mg/l NH ₄ ⁺ -N Spädning 100 ggr	NH ₄ -N halt (g/l)	N-tot (g/l)	pH
Färsk		67 mg N/l (spädning 100 ggr)	38,7 mg (spädning 10 ggr)	0,387	6,7 g	6,9
Hydrolyserad	0,5		59,666 mg/l (spädning 100 ggr)	5,97		9,3

Efter hantering och lagring av urinen kontrollerades både pH-värde och NH₄⁺-N-halt igen för att säkerställa att den övre satsen var representativ och inte skiljde sig från tidigare mätningar. Resultaten presenteras i Tabell .

Tabell 27. Kontroll av pH och NH₄⁺-N-halt efter hantering och lagring av urin

Typ av urin	pH	NH ₄ ⁺ -N-halt	Färg
Hydrolyserad	9,2	5,73 mg/l	Mörkbrun
Färsk	6,8	-	Gul



Figur 11. Vänster: hydrolyserad filtrerad urin. Höger: färsk urin

APPENDIX C

BEREDNING AV STAMLÖSNING OCH SPIKNING

Tabell 29. Beredning av stamlösning i försöksserie 1.1 Ozonering av koncentrerad urin

Antibiotika (AB)	<i>m</i> (AB) (g)	<i>m</i> (lösningsmedel)	<i>m</i> (MQ-vatten)	<i>m</i> _{tot} (stamlösning) (g)	[AB] (stamlösning) (µg/10 mg)
Doxycyklin	0,0142	7,0226	93,0	100,1	1,40
Ciprofloxacin	0,0104	9,6214	91,1	100,8	1,03
Trimetoprim	0,0115	7,4883	92,5	100,0	1,15

Tabell 30. Spikning av urin i försöksserie 1.1 Ozonering av koncentrerad urin. Stamlösning från tabell 29.

Antibiotika (AB)	<i>m</i> (m stamlösning till färsk urin) (g)	<i>m</i> (m stamlösning till hydrolyserad urin) (g)	<i>m</i> (färsk urin) (g)	<i>m</i> (hydrolyserad urin) (g)	[AB] (färsk urin) (µg/l)	[AB] (hydrolyserad urin) (µg/l)
Doxycyklin	0,0218	0,0206	1500,6	1500,2	2,0	1,8
Ciprofloxacin	0,0205	0,022	1500,6	1500,2	1,4	1,5
Trimetoprim	0,0216	0,0219	1500,6	1500,2	1,7	1,7

Tabell 31. Beredning av stamlösning för försöksserie 3.1 Kolonnförsök med biokol och 3.2 Skaktest med biokol

Antibiotika (AB)	<i>m</i> (AB) (mg)	<i>m</i> (lösningsmedel) (g)	Konc. (Stamlösning) (mg/g)	<i>m</i> (Stamlösning)	<i>m</i> (MQ-vatten) (g)	[AB] (spädd stamlösning) (µg/g)
Ciprofloxacin	14,2	9,9	1,4	1,0	99,3	14,8
Doxycyklin	11,9	10,1	1,2	1,1	100,9	12,4
Trimetoprim	13,5	11,4	1,2	1,0	100,5	12,3
Sulfametoxazol	13,0	10,0	1,3	1,0	100,3	13,0

Tabell 28 Spikning av urin i försöksserie 3.1 Kolonnförsök med biokol. Stamlösning från tabell 31

Antibiotika (AB)	<i>m</i> (spädd stamlösning till 2002 g urin) (g)	[AB] (µg/l)
Ciprofloxacin	2,1	15,7
Doxycyklin	2,2	13,3
Trimetoprim	2,2	13,4
Sulfametoxazol	2,1	13,5

Tabell 29. Spikning av urin i försöksserie 3.2 Skaktest med biokol. Stamlösning från tabell 31.

Antibiotika (AB)	m (massa stamlösning till 2001 g urin) (g)	[AB] (mg/l)
Ciprofloxacin	5,0	7,1
Doxycyklin	5,1	6,0
Trimetoprim	5,0	5,9
Sulfametoxazol	5,2	6,7

Tabell 34. Beredning av stamlösning för försöksserie 1.2 Ozonering av utspädd urin samt försöksserie 2.1 Rening av urin med PFS-filter och försöksserie 2.2 Rening av urin med PCure-lösning.

Antibiotika (AB)	m (AB) (mg)	m (lösningsmedel +AB) (g)	m (stamlösning)	m (MQ-vatten)	[AB] (spädd stamlösning) (µg/g)
Ciprofloxacin	10,4	10,1	1,0	99,4	10,4
Doxycyklin	11,1	10,0	1,0	99,0	10,8
Trimetoprim	10,1	10,0	1,0	99,1	10,3

Tabell 30. Spikning av urin i försöksserie 1.2 Ozonering av utspädd urin. Stamlösning från tabell 34

Antibiotika (AB)	m (m stamlösning till 1006 g färsk urin + vatten) (g)	m (m stamlösning till hydrolyserad urin + vatten) (g)	m (färsk urin) (g)	m (m vatten till färsk urin) (g)	m (hydrolyserad urin) (g)	m (m vatten till hydrolyserad urin) (g)	[AB] färsk urin (µg/l)	[AB] hydrolyserad urin (µg/l)
Ciprofloxacin	2	2	1003	1002	1002	1002	10,3	10,3
Doxycyklin	2	2					10,8	11,8
Trimetoprim	2	2					10,3	10,3

Tabell 31. Spikning av urin i försöksserie 2.1 Rening av urin med PFS-filter och försöksserie 2.2 Rening av urin med PCure-lösning. Stamlösning från tabell 34

Stamlösning av antibiotika	m (m stamlösning till 3002 g Färsk urin) (g)	[AB] färsk urin (µg/l)
Ciprofloxacin	3	15,5
Doxycyklin	2	7,2
Trimetoprim	3	10,3

APPENDIX D

MASS-VÄTSKEFÖRHÅLLANDEN FÖR SKAKTEST MED BOKOL

Tabell 32. Mass-vätskeförhållande för skaktest med urin, försöksserie 3.2

Provnummer	<i>m</i> (kol) (g)	<i>m</i> (urin) (g)
1	0,1	100,0
2	1,0	100,1
3	5,0	100,0
4	10,0	100,1
5	20,1	100,1
6	1,0	100,0
7	10,0	100,0

Tabell 33. Mass-vätskeförhållande för skaktest med vatten, försöksserie 3.2

Provnummer	<i>m</i> (kol) (g)	<i>m</i> (vatten) (g)	<i>m</i> (kolstoft) (g)
1	0,11	100,04	0,006
2	1,0	100,05	0,007
3	5,0	100,05	0,042
4	10,0	100,03	0,102
5	20,0	100,07	0,223

APPENDIX E

BERÄKNINGAR FÖR SPECIFIK YTA HOS KOLSTOFT

Tabell 34 visar resultatet från beräkningar av den specifika ytan hos kolstoffet som genererades i skakförsöken.

Tabell 34. Resultat av beräkningar från skaktest med biokol och vatten

Typ av partikel samt dess diameter	m (g)	$V_{\text{sfärisk partikel}}$ *	$m_{\text{sfärisk partikel}}$ (densitet 0,002 g/mm ³) **	S (Ytarea) (mm ²) per g *	S_{tot} (total ytarea) mm ² *	Andel av totala ytarean (%)	Medelvärde (%)
<hr/>							
Stoft							
$d < 0,2$ mm							
	1	0,00419	8,38E-06	15000	103,5	10	
	5	0,00419	8,38E-06	15000	636,0	12	13
	10	0,00419	8,38E-06	15000	1533,0	14	
	20	0,00419	8,38E-06	15000	3342,7	15	
<hr/>							
$1-1,4$ mm							
$\rightarrow d \approx 2,4$ mm							
	1	7,238	0,0145	1250	498,3	47	
2/5 av massan	5	7,238	0,0145	1250	2492,4	46	45
	10	7,238	0,0145	1250	4961,8	45	
	20	7,238	0,0145	1250	9891,5	44	
<hr/>							
$2,8-5$ mm							
$\rightarrow d \approx 3,9$ mm							
	1	31,06	0,0621	769	460,0	43	
3/5 av massan	5	31,06	0,0621	769	2300,7	42	42
	10	31,06	0,0621	769	4580,1	41	
	20	31,06	0,0621	769	9130,6	41	

* $S = \frac{4 \times \pi \times r^2}{m_{\text{sfärisk partikel}}}$, $S_{\text{tot}} = S \times m_{\text{kolstoff}}$, $V = \frac{4}{3} \times \pi \times r^3$

** För att beräkna den specifika ytan antogs en densitet på 0,002 g/mm³

APPENDIX F

GENERERING AV OZON

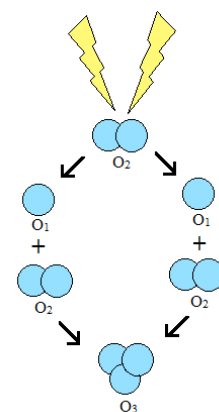
Ozon (O_3) är en molekyl som är uppbyggd av tre syreatomer och som i sitt normaltillstånd består av en mycket ostabil och toxisk ljusblå gas (Wikipedia, 2016). Ozon är så ostabilt att den är väldigt svår att förvara vilket gör att den måste produceras på plats när den behövs. I naturen sker den vanligaste produktionen av ozon genom blixtnedslag, men när syre finns tillgängligt kan nästan alla högenergikällor producera ozon. Exempelvis kan energin från ett vattenfall eller en våg på havet räcka för att lokalt producera ozon. Ozon kan kännas igen på lukten, som i låga koncentrationer beskrivs som frisk och ren; den speciella lukten efter ett åskväder är lukten av ozon (Rakness, 2005).

Det finns många olika metoder för att producera ozon men den vanligaste, mest ekonomiska och kanske säkraste metoden är genom s.k. *Electrical Discharge (ED)* som ibland också kallas *silent discharge*. En ozongenerator av denna typ kallas *Electrical Discharge Ozone Generator (EDOG)* och producerar ozon genom att luft eller syre får flöda i ett elektriskt fält mellan två elektroder. Elektroderna hos generatorerna kan antingen vara symmetriska och kallas *Dielectric-Barrier Discharge (DBD) generators*, vilket är vanligast hos generatorer för kommersiellt bruk, eller assymmetriska och kallas *Corona Discharge generators*. Ibland kallas dock båda varianterna för *Corona Discharge* (Gottschalk et al., 2009).

I en EDOG sker urladdning av elektroner från en av elektroderna, detta joniserar luften eller syrgasen och bildar plasma; elektroner, joner, radikaler och neutrala eller exiterade molekyler som samlas nära elektroden. Den joniserade gasen lyser kring ytan hos den exiterande elektroden, vilket beskrivs likna en krona, varav namnet *Corona Discharge*. När plasman kolliderar med syremolekylerna överförs en del av energin från plasman till syremolekylen som dissocierar till en ensam syreatom som är mycket reaktiv. När dessa syreatomer kolliderar med andra syremolekyler bildas ozon, förenklat beskrivet (Gottschalk et al., 2009).

I en *Dielectric Barrier Discharge Ozone Generator (DBDOG)* består

elektroderna vanligtvis av två parallella plattor eller koncentriskt cylindrar, med bestämda mellanrum på ca 1-2 mm, där urladdning kan ske. I de här modellerna är elektroderna också isolerade från varandra med ett dielektriskt material, som gör att urladdningarna bättre fördelas över elektrodytan. Elektronerna från joniseringen bildar olika typer av joniserade former av syrgas som fungerar som laddningsbärare, vilka är nödvändiga för strömflödet (Gottschalk et al., 2009).



Figur 12. Schematisk beskrivning över ozonbildning

För att föra in ozonet i vattnet som ska renas kan exempelvis ett venturirör användas, som med hjälp av lågt statiskt tryck suger in gasen in i vattenfasen (Gottschalk et al., 2009).