

Tallinna Tehnikaülikooli Tartu Kolledž

Keskkonnakaitse õppetool

**LOODUSESSE SATTUNUD RETSEPTIRAVIMITE
MÕJU MULLAELUSTIKULE**

Magistritöö tööstusökoloogia erialal

Liis Kullamägi

Juhendaja: MSc. Jane Peda

Tartu 2015

Autorideklaratsioon

Deklareerin, et käesolev magistritöö, mis on minu iseseisva töö tulemus, on esitatud Tallinna Tehnikaülikooli magistrikraadi taotlemiseks ja selle alusel ei ole varem taotletud akadeemilist kraadi.

Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on viidatud.

.....

Kuupäev

.....

Allkiri

Sisukord

Sissejuhatus.....	4
1. Vermikompostimine.....	5
1.1 Vermikompostimiseks sobivad keskkonnatingimused.....	6
1.2 Vermikompostimisel enamkasutatavad parasvöötme vihmaussiliigid.....	7
2. Ravimitööstus.....	9
2.1 Ravimijääkide mõju keskkonnale.....	9
3. Materjal ja meetodika.....	13
4. Tulemused.....	16
4.1 Massikadu vermikompostimisel.....	16
4.2 Substraadi niiskusparameetrid.....	18
4.3 Substraadi happesusparameetrid.....	19
4.4 Vihmausside arvukuse muutus.....	20
4.5 Mikroobikoosluse hingamisaktiivsus ja mulla mikroobne biomass vermi – ja tavakompostimisel.....	21
4.6 Statistiliste analüüside tulemused.....	22
5. Arutelu.....	23
Kokkuvõte.....	25
Summary.....	26
Kasutatud materjalid.....	27
Lisad.....	30

Sissejuhatus

Ameerika Ühendriikide Rahvaloenduse Büroo andmetel oli 26. mai 2015 aasta seisuga maailma hinnanguline rahvaarv 7,256 miljardit (United States Census Bureau, 2015). Rahvaarv on kasvanud alates 18.sajandi lõpust mil sai hoo sisse tööstusrevolutsioon. Sellega kaasnesid muutused kõikides eluvaldkondades, kaasa arvatud meditsiinis, samuti ravimitööstuses. Ravimid (ained või ainete kombinatsioonid, mis avaldavad toimet organismile) on suureks abiks nii inimeste kui ka loomade tervise parandamisel ja haiguste ravimisel. (Ravimiamet, 2012).

Ravimijäägid võivad keskkonda sattudes tekitada seal soovimatuid muutusi. Autori hinnangul on tehtud piisavalt uurimusi, selgitamaks välja antibiootikumide soovimatuid mõjusid, kuid üha enam kasutust leidvate retseptiravimite puhul sellised uuringud peaaegu puuduvad.

Antud magistritöö eesmärgiks on uurida, millist mõju avaldavad mulda sattunud retseptiravimid mullaelustikule. Töö autor eeldab, et retseptiravimid pärsvad mullaelustiku paljunemist ning seetõttu on ka orgaanilise aine lagunemiskiirus mullas aeglasem.

Töö eesmärgi täitmiseks püstitas autor järgmised uurimisülesanded:

- anda kirjanduse põhjal ülevaade vermikompostimisest ja ravimitööstusest;
- viia läbi laboritingimustes läbi vermikompostimiskatse;
- Teha läbiviidud katse põhjal järeldused, kas ja kuidas mõjutavad katsesse valitud retseptiravimid mullaelustikku;
- Teha läbiviidud katse põhjal järeldused, kuidas mõjutavad katsesse valitud ravimid alfa-tselluloosi lagunemiskiirust.

1. Vermikompostimine

Vermikompostimiseks ehk vihmausskompostimiseks nimetatakse komposti valmistamist vihmausside ja mikroorganismide koostoimel (Applehof, 1997; Dominguez, 2004 Raudseping, 2010;). Mikroorganismid vastutavad organilise aine biokeemilise lagundamise ees, vihmaussid toimivad materjali peenestajate- ja segajatena (Dominguez, 2004). Vermikompostimine on ideaalne viis majapidamisjäätide kompostmiseks sisetingimustes talvel, kui kompostihunnikus toimub lagunemisprotsess külma tõttu aeglaselt.

Kompostimisprotsessi läbiviimisel ja orgaanilise aine töötlemisel on suur tähtsus vihmaussidel. Nad soodustavad ja kiirendavad kompostiprotsessi muutes oma tegevusega kompostitava materjal keemilist, bioloogilist ja füüsikalist olekut, vähendades sellega märgatavalt lämmastiku/süsiniku suhet ning suurendades mikroorganismidele kättesaadavat materjali pinda, stimuleerides seeläbi mikroorganismide aktiivsust, millega tõuseb kompostiprotsessi kiirus (Dominguez, 2004; Kumar, 2005). Vihmausside tööks on kompostihunnikusse laotatud materjali muutmine kohevaks struktuurseks huumusmullaks. Just vihmausside seedekanalid ühinevad humiinhapete ühendid minareaalainetega, mille tulemusel tekivad suhteliselt püsivad mullasõõrmed (Raudseping, 2010). Vihmaussid on suutelised orgaanilist ainet ööpäevas lagundama poole vähem, kui nad kaaluvad. (Kumar, 2005).

Vermikompostimisprotsessis osalevad lisaks vihmaussidele ja mikroorganismidele ka teised kaaslejad. Kõige enam leidub kaaslejatest enhütreiidid (*Enchytraeidae*), vähem leidub mikrolüliljalgseid (lestad (*Acarina*) ja hooghännalised (*Collembola*) ning nematoode (*Nematoda*) (Lavelle & Spain, 2001; Edwards, 2004).

Vermikomposti lõppsaaduseks on huumusmuld. Huumusmuld ehk biohumus on mahevätis, mille kasutamine tõstab mullaviljakust, parandab põllumajandustoodangu kvaliteeti ja maitseomadusi (Talver, 2014). Biohumus sisaldab nii makro- kui ka mikroelemente, vitamiine, kasvuaineid (giberelliin, auksiin jt), antibiootikume, 18 aminohapet ja kasulike mikrofloorat. Enamik vajalikest toiteelementidest on biohumuses taimedele kergesti omastataval kujul. Taimedele kasulike mikroorganismide sisaldus on biohumuses ligi 100 korda suurem kui sõnnikus, mida annab suurepärase võimaluse kurnatud pinna reanimatsiooniks. Väidetavalt suurendab biohumus saagikust ligikaudu 10% ja vegetatsiooniperiood lüheneb ligikaudu nädala võrra (Dominguez, 2004; Raudseping, 2010). Biohumus sobib lilledele, köögiviljadele ja toataimedele, eriti mitmeaastaste taimede, näiteks rooside ja okaspuude istutamiseks (Talver, 2014).

Peaaegu kõik orgaanilised jäätmed, milles on vähemalt üks protsent lämmastikku (N), sobivad vermikompostimiseks (Raudseping, 2010; Applehof, 1997). Importpuuviljade koori pole soovitatav vermikomposti panna, kuna neid on sageli pritsitud ja/või hallitusvastase ainetega töödeldud ning need mürgid võivad vihmaussidele halvasti mõjuda. Samuti ei ole soovitatav vermikomposti lisada liha, piimatooteid, leiba, kala ega rasva kuna need võivad ligi meelitada kahjurputukaid (Kuresoo, 2002; Olauasson, 2003; Raudseping, 2010).

1.1 Vermikompostimiseks sobivad keskkonnatingimused

Kõige sobivam niiskustase vermikompostis on 70-90%. Vihmaussid hingavad läbi naha difusiooni teel, seega ei tohiks niiskuse tase vermikompostimisel langeda alla 50%. Nende areng ja kasv peatub, kui elukeskkonna niiskusparameetrid on liiga madalad. Peale ebapiisava niiskuse taseme vermikompostis võib vihaussidele mõjuda hukuatavalt ka liiga madal ja liiga kõrge temperatuur kompostis. (Edwards & Bohlen, 1996; Dominguez, 2004; Munroe, 2007)

Niiskes mullas on enamik vihmausse aktiivsemad kui kuivas mullas. Kuid liiga kõrge niiskussisaldus võib põhjustada hapnikupuuduse, mille tagajärjel võivad vihmaussid hukkuda. (Dominguez, 2004)

Vihmaussidele sobiva elukeskkonna tagamiseks on väga oluline, et substraadi niiskus oleks piisav, kuna vihmaussi keha koosneb 75-90% ulatuses veest. Vihmaussid on suutelised toime tulema ka ebasoodsates keskkonnatingimustes, näiteks ebasobiva niiskuse taseme korral liiguvad nad mulda, kus niiskustase on neile sobivam või veedavad kuiva perioodi suveunes (Hand, 1988; Edwards & Bohlen, 1996).

Vihmaussid suudavad elada substraadis, mille pH on 5 kuni 9 (Dominguez, 2004). Kuid mitmed uuringud näitavad, et enamikele vihmaussiliikidele on sobilik nõrgalt aluseline või neutraalne keskkond. Vermikompostimises kõige tihedamini parasvöötme tingimustes kasutatav vihmaussiliik *Eisenia fetida* eelistab substraate, mille pH on kergelt aluseline, kuid on ka vihmaussiliike kes suudavad elada happelisemas keskkonnas. (Edwards, 1996)

Ajaga vermikomposti happesusparameeter langeb, kuid parameetri taset saab mõjutada ka toidu lisamisega. Kui lisatav toit on happeline, võib happesusparameeter olla nõrgalt happeline ja kui toit, mis lisatakse on leeliseline, siis substraadi happesusparameeter on nõrgalt aluseline või neutraalne. (Munroe, 2007)

Vermikompostis tuleb pöörata tähelepanu ka ammoniaagi ja anorgaaniliste soolade sisaldusele. Keskkond, kus vihmaussid tegutsevad, ei tohiks sisaldada ammoniaaki rohkem kui 5mg/grammi kohta ja anorgaanilisi sooli üle 0,5%. Jäätmed, mis sisaldavad liiga palju

ammoniaaki (linnusõnnik) on võimalik kompostimiskõlblikuks muuta kui neid eelnevalt töödelda (eelkompostimine, ammoniaak enne välja pesta). (Dominguez, 2004)

Soodsaim süsiniku-lämmastiku suhe vermikompostis on 30:1, kuid jäätmetest sõltuvalt on see suhe erinev. Orgaanilise aine mineraliseerumisprotsessil on mulla mikroorganismide süsiniku tarve olulisem kui lämmastiku vajadus. Lämmastiku kasutatakse valkude moodustamiseks ja süsinikku kasutatakse energia saamiseks. (Haynes, 1986; Tamm, 2009)

Vihmaussidele sobilikud temperatuurid jäävad enamasti vahemiku 15-25 kraadi, kuid erinevad vihmaussiliigid eelistavad elutegevuseks erinevaid temperatuure. *Eisenia* perekonda kuuluvad vihmaussid, kes suudavad ellu jääda ka 0°C juures, kuid sellel temperatuuril vermikompostiprotsess aeglustub, kuna nad tarbivad siis vähem toitu ja ei suuda paljuneda. Hea oleks kui vermikompostis oleks temperatuur vähemalt 10°C (miinimum), tõhus kompostimine toimub 15°C juures ja produktiivseks kompostimiseks oleks vaja vähemalt 20°C. (Hand, 1988; Dominguez, 2004; Kumar, 2005; Munroe, 2007)

Kui temperatuur langeb vermikompostimisprotsessil alla 4°C, siis peatub noorte vihmausside areng ja kookonite tootmine. Üle 25°C kraadises keskkonnas paljunevad enamik vihmaussiliike kõige kiiremini, kuid siis vajavad nad ka rohkem toitu (Edwards & Bohlen, 1996). Vihmaussid võivad jääda talveunne või rännata sügavamatesse kompostikihtidesse, kui keskkonnatingimused on eluks sobimatud (Dominguez, 2004).

Ka liiga kõrge temperatuur ei ole vihmaussidele hea. Üle 35°C keskkonnatemperatuur ei sobi neile ning nad üritavad võimalusel vahetada keskkonda. Vihmaussid võivad hukkuda kui nad ei suuda keskkonda vahetada (Munroe, 2007). Liiga kõrge temperatuuriga võib kaasnedagi hapnikupuudus, temperatuuri kasvuga kaasneb ka mikrobioloogilise ja keemilise aktiivsuse tõus (Dominguez, 2004).

1.2 Vermikompostimisel enamkasutatavad parasvöötme vihmaussiliigid

Vermikompostimiseks sobivad kõige paremini mulla kõige ülemistes kihtides elavad vihmussiliigid, kes ei tee mineraalmulda urge. Sobivad liigid peaksid olema harjunud tarbima orgaanilise aine rikast toitu, taluma erinevaid keskkonnatingumusi, olema tugevad ja vastupidavad käsitsemisele, võimelised elama kitsastes tingimustes ja kiiresti paljunema. (Dominguez, 2004).

Maailmas enim kasutatud liigid vermikompostimisel on sõnnikuussid (*Eisenia fetida* ja *Eisenia andrei*) (Dominguez, 2004). *Eisenia fetida* liiki vihmaussid on punast värvi ja *Eisenia andrei* liiki vihmaussid on pruunikaspunast värvi. Mõlema liigi täiskasvanud ussi keskmine kaal on 0,55 grammi (Dominguez, 2004; Edwards, 2004; Singh *et al.*, 2011).

Sõnnikuussidel on rida eeliseid, miks nad sobivad paremini vermikomposti kui teised liigid. Nad taluvad hästi temperatuuri ja niiskuse kõikumisi ning koloniseerivad looduslike taimseid ja loomseid jäänuseid. Samuti on nad üle maailma laialt levinud ning on vastupidavad käsitsemisele. Teiste liikidega koos elades muutuvad sõnnikuussid enamasti domineerivaks liigiks. (Dominguez, 2004)

Soodsates tingimustes on *Eisenia fetida* ja *Eisenia andrei* elutsükkel, värskelt koorunud kookonist läbi suguküpsuse saabumise, kuni uue generatsiooni kookonite eraldumiseni 45-51 päeva. Suguküpseks saavad nad 21-30 päevaga. Nende eeldatav maksimaalne eluiga on 4,5-5 aastat, keskmine eluiga temperatuuril 18°C on 589 ja temperatuuril 28°C on 594. Looduslikes tingimustes on nende eluiga lühem, kuna neil on palju parasiite ja vaenlasi. (Dominguez, 2004)

Vermikompostimisel kasutatakse ka *Lumbricus rubellus* liiki vihmausse (Dominguez, 2004). Täiskasvanud isendi keskmine kaal on 0,80 grammi ja liik on punakaspruuni värvi (Singh *et al.*, 2011). *Lumbricus rubellus* liiki vihmausse võib tavaliselt leida niisketest muldadest, eriti nendest millele on lisatud reovett või loomasõnnikut. Selle liigi isenditel on aeglane kasvutempo, suhteliselt pikk elutsükkel (120 kuni 170 päeva) ja pikk suguküpsuse saabumise aeg (74 kuni 91 päeva). Tänu oma aeglasele sigimiskiirusele ja aeglasele suguküpsemise ajale, ei ole *Lumbricus rubellus* ideaalne liik, keda kasutada vermikompostis. Seda liiki saab edukalt kasutada mullaparandajatena või kalasöödana, kuna liik on elujõuline, võimelised elama erinevates substraatides ja isendid on üsna suured. (Dominguez, 2004).

Dendrobaena rubida ja *Dendrobaena veneta* liiki vihmausse kasutatakse samuti vermikompostimiseks. *Dendrobaena rubida* on punakas-lillakat värvi vihmauss, kes eelistab elada orgaanilistes substraatides, näiteks põhus, turvas, männi varises ja kõduneva puidu hunnikus, tead on leitud ka reoveetiikide lähedalt ja loomsõnnikust. Selle liigi elutsükkel on 75 päeva ja suguküpseks saavad nad 54 päevaga. Need näitajad teevad *Dendrobaena rubidast* sobiva vihmaussiliigi, keda saab kasutada vermikompostimisel. Kuid selle liigi kasv ja areng on võrreldes teiste liikidega aeglane, siis pole see liik kasutamine vermikompostimises laialt levinud (Dominguez, 2004). Samuti *Dendrobaena veneta* liiki vihmaussid ei sobi oma vähese sigivuse ja aeglase kasvu tõttu vermikomposti. Nende elutsükli pikkus on 100-150 päeva ja suguküpsus saabub keskmiselt 65 päevaga. *Dendrobaena veneta* eelistab elamiseks madalamaid temperatuure (15-25°C) kui teised vihmaussiliigid ja taluma suuremaid niiskuse kõikumisi. (Dominguez, 2004, Edwards, 2004)

2. Ravimitööstus

Ravimitööstus, mis on iseloomulik tööstusharu eelkõige arenenud riikidele, allub rangetele seadustele ja määrustele. Ravimitööstuse tooted aitavad säilitada või parandada inimeste tervist heaolu (Gambardella *et al.*, 2000; Angerma, 2005).

Tänapäevane ravimitööstus sai alguse 19. sajandi teisel poolel (Angerma, 2005). Kõige esimene ravimitööstusettevõtte loodi 1668. aastal Saksmaal (Walsh, 2010). Tänapäeval liigub ravimitööstus üha enam Euroopast Ameerika Ühendriikidesse peamiselt seetõttu, et Ühendriikides on odavam toota, samuti kasvab tööstus Ühendriikides kiiremini. (Gambardella *et al.*, 2000).

20. sajandi alguses puudus Eestis apteegikaupade tööstuslik tootmine ja hulгимүük ning kogu ravimite- ja kosmeetikaalane tegevus oli koondunud apteekidesse. Esimene samm kodumaise ravimitööstuse rajamiseks tehti 1913.aastal, mil mõned saksa soost apteekrid asutasid Eestimaa Farmatseutilise Kaubandusseltsi EPHAG (Estländische Pharmazeutische Handelsgesellschaft), mida peetakse tänase Tallinna Farmaatsiatehase otseseks eelkäijaks Alates 1998. aastast tegutseb Tallinna Farmaatsiatehas emettevõtte Grindeksi all. Tänapäeval on Tallinna Farmaatsiatehas spetsialiseerunud pindmiste pooltahkete ravimivormide (salvid, kreemid ja geelid) tootmisele ja arendamisele. Ettevõtte toodete seas on nii retsepti- kui ka käsimüügiravimid (Tallinna Farmaatsiatehas, 2015). Varem toodeti Tallinna Farmaatsiatehases ka tablette ja ampulle, kuid alates 2001. aastal kehtima hakanud GMP (*Good Manufacturing Practice*) nõuete tõttu viidi nende tootmine üle emettevõttesse (Angerma, 2005). Vaatamata sellele on Tallinna Farmaatsiatööstus suurima kasumiga ja tootmisega ravimitööstusettevõtte Eestis.

2.1 Ravimijääkide mõju keskkonnale

Ravimitel on tähtis roll ennetamiseks ja ravimaks haigusi nii inimestel kui ka loomadel, kuid ravimitel võib olla ka negatiivne mõju keskkonnale. Enamus ravimitest imendub organismis kehvasti: suur osa neist väljub uriini koosseisus muutumatu kujul. Reoveepuhastusprotsess ei ole kahjuks nii efektiivne, et selle käigus eemaldatakse metaboliidid täielikult ning üldise vee ringkäigu tulemusel jõuavad ravimijäägid lõpuks tagasi meie tarbimisse (Kaseorg, 2006). On teadlasi, kes on arvamisel, et ravimijäägid on võimelised keskkonnas (mullas või vees) täielikult lagunema. (Lillenberg *et al.*, 2012)

Kõik ravimid on loodud selleks, et mõjutada elusorganisme. Neil on sageli biostruktuuridega sarnased füüsikalised-keemilised omadused, mis võimaldavad kergesti läbida elusorganismi membraane, samuti pikaajaline stabiilsus, mis hoiab ära nende toime kadumise enne ravitoime

saavutamist. Samad omadused teevad aga ravimijäägid üksiti ohtlikeks saasteaineteks. (Lillenberg *et al.*, 2012)

Kasutusel on lihtsad testid, mille abil on määratud, milliseid ravimeid sisaldab reovesi. Reovett uuritakse seetõttu, et seal on ravimijääkide kontsentratsioon kõige suurem. Jõutud on tõdemuseni, et ravimite ja hügieenivahendite jäägid on tänapäeva linnade kanalisatsioonivees üsna üldlevinud. Hüdroloog Dana Kolpin USA Geoloogiliste Uuringute Iowa Veeteaduste Keskusest väidabki ajakirjas Nature Medicine, et tema juhitud uurimisgrupp on oma uuringute käigus tuvastanud reoveest ühtekokku pea 20 ravimijääki, kusjuures sedasorti aineid on nad leidnud kõigist uuritud reoveepuhastusjaamadest. Kõik kemikaalid ei pruugi muidugi olla kahjulikud ning teisalt on ka enamik eksperte olnud seni suhteliselt kõhklevad seisukohal, kui asi puudutab reovees sisalduvaid ravimijääke. Nüüdseks on välja töötatud ka mitmed tundlikumad tehnoloogiad, mis võimaldavad ravimite jääke kindlaks teha kogu ökosüsteemis, ent vastav uurimistöö on alles algusjärgus. Viimase aja tulemused on siiski muret kasvatanud ning toonud esile võimalikud ohuallikad. (Dove, 2006; Kaseorg, 2006).

Ravimid võivad kuhjuda elusorganismidesse ja muuta vee ning mulla ökosüsteeme. Mõne ravimi lagundavad mikroorganismid päevade või nädalate jooksul, stabiilsemad võivad aga mullas säilida aastaid. Just kauapüsivad ravimid on looduskeskkonnale ohtlikud. Kauapüsivate ravimite hulka kuuluvad nii inimeste kui ka koduloomade raviks laialdaselt kasutatavad antibiootikumid fluorokinoloonide, sulfoonamiidide ja tetratsükliinide rühmadest. Antibiootikumid võivad liikuda põllul või karjamaal mullast taimedesse ja jõuda nii soovimatult inimeste ja loomade toidulauale, hävitada mulla mikroorganisme või muuta need ravimiresistentseks. (Lillenberg *et al.*, 2012; Haiba *et al.*, 2013)

Ravimiresistentsust määravad geenid võivad omakorda ohututelt mullamikroobidelt üle kanduda tõvestavatele mikroobidele. Oletatakse, et just väetamine ravimijääke sisaldava reoveesette või sõnnikuga on üks bakterite üha suureneva ravimiresistentsuse põhjusi. Reoveesetest valmistatud kompostväetist on lubatud kasutada haljastuses, metsanduses ja põllumajanduses eeldusel, et see on muudetud ohutuks inimestele, loomadele, taimedele ja keskkonnale. Enne kui reoveepuhastusjaamad tohivad komposti turule saata, on nad kohustatud tegema selle kohta hulga analüüse. Raskmetallide, parasiitusside munade ja koli-laadsete bakterite sisaldus kompostis ei tohi ületada piirnorme. Kui need näitajad on korras, peetakse komposti ohutuks väetiseks. Probleem on aga selles, et Eesti ega teiste riikide õigusaktid ei näe ette ravimijääkide sisalduse kontrolli ei reoveepuhastusjaamadest pärit kompostile ega sõnnikule. Kuigi näiteks on teadlased leidnud mitmeid ravimi jääke suurfarmide loomade sõnnikus ja sellega väetatud mullast. Suur probleem seoses sõnnikuga on see, et sõnnikut ei töödelda enne turustamist nii nagu reoveesetet. Kui reoveesette puhul

nõutakse, et kompostiaunas peab aeroobsete bakterite elutegevuse tagajärjel tõusma temperatuur 60 °C ja püsima nii vähemalt kuus päeva, siis sõnniku puhul mitte. Kõrge temperatuur on vajalik, et hävitada haigust tekitavad bakterid ja ussimunad. Sõnnik laotatakse põllule tavaliselt ilma kompostimata, seega ka ilma baktereid hävitava temperatuuritõusuta. Kui sõnnikus leidub tõvestavaid baktereid, võivad need täies elujõus põllule rännata. Kui samas laudas on loomad saanud antibiootikumravi, võivad põllule jõudnud bakterid olla antibiootikumide suhtes resistentsed. (Lillenberg *et al.*, 2012; Haiba *et al.*, 2013)

Kui suur ravimisisaldus keskkonnas võiks inimestele, loomadele, taimedele ja mikroorganismidele ohtlikuks osutada, selle üle veel vaieldakse. EMEA/CVMP (Committee for Veterinary Medicinal Products) soovib ravimisisalduse piirnormiks sõnnikus 100 µg/kg, sõnnikuga väetatud mullas 10 µg/kg ja vees 10 ng/l (üks mikrogramm on üks miljardik ja üks nanogramm on üks miljardik grammi – toim.). (Lillenberg *et al.*, 2012) Euroopa Liidu teaduskomitee toksikoloogia, ökotoksikoloogia ja keskkonna küsimustes (EU ESCTEE) ning Euroopa Liidu juhtiv teaduskomitee (EU SSC) ei pea neid norme teaduslikeks, kuna niisugune ravimisisaldus ei ole kõikidele mulla- ega veeorganismidele ohutu. Uuteks ohututeks piirnormideks soovitatakse 1 µg/kg mullas ja 0,4 ng/l vees. Selleks et vältida mullamikroobidel resistentsuse teket, soovitavad teadlased veelgi väiksemat antibiootikumide kontsentratsiooni: 0,1 µg/kg mulla kohta. Et ravimisisaldus mullas ei ületaks nimetatud kontsentratsiooni, ei tohiks seda väetamiseks kasutatavas reoveesette kompostis või sõnnikus sisalduda üle kümne korra rohkem (1 µg/kg; EMEA/CVMP norm). Tuleb veel kord rõhutada, et kõik nimetatud piirnormid on üksnes soovituslikud. Ei ole kehtestatud kohustuslikke piirnorme ravimite sisalduse kohta sõnnikus, reoveesette kompostis, mullas ega vees ja normatiivaktid ei näe ette analüüse nende sisalduse määramiseks. Loomse päritoluga toidule on seadusega kehtestatud ravimijääkide sisalduse piirnorm (ingl. maximum residue limit, MRL; taimse toidu kohta norme aga analüüsikohustust pole). Selle suurus oleneb ravimist, looma liigist ja koest. Mõne ravimirühma puhul on määratud kõigi sellesse rühma kuuluvate ravimite summaarne lubatud sisaldus. (Lillenberg *et al.*, 2012; Haiba *et al.*, 2013)

Ravimite kahjuliku mõju keskkonnale ei tohi eirata. Vaja on teha põhjalikumaid uuringuid ja panna paika kindlad piirnormid. Vaja on leida lahendused, mis peatavad ravimitejääkide jõudmise keskkonda ja sealt tagasi meie toidulauale (Lillenberg *et al.*, 2012). Professor Alistair Boxall on välja toonud „The environmental side effects of medication “ raportis siiani vastamata küsimused ja võimalikud lahendused, mis aitaks uurida ravimite mõju keskkonnale. Oma uurimuses leiab ta, et kõikide ravimite koostisosade mõju keskkonnale pole piisavalt uuritud (on uuritud väheste ravimite mõju keskkonnale ja seda tänu ressurside piiratusele). Ta pöörab tähelepanu ka sellele, et ökotoksilisust tuleks paremini mõista, et aru

saada, mida tähendavad läbiviidud testide tulemused ja kuidas need mõjutavad keskkonda. Ta leiab, et hetkel kasutuses olevad testid ei sobi ravimite mõju hindamiseks. Professor pakub välja, et proteoomika ja genoomika meetodite kasutamine või DNA testid aitaksid välja uurida ravimite ökotoksilisuse. Prof. Boxall pöörab tähelepanu ka ravimisegudele - enamasti on siiani uuritud vaid ühte komponenti ravimit, kuid ta leiab, et uurida tuleks lisaks ka ravimsegusid, sest ei ole teada, milline on nende mõju keskkonnale. (Boxall, 2004)

3. Materjal ja meetodika

Töö autor valis kaste läbi viimiseks kolm retseptiravimit. Valitud ravimiteks olid Betaloc ZOK, Metforal, Xanax. Katseks vajalikud ravimid saadi kahelt TTÜ Tartu Kolledži töötajalt. Ravimite kirjeldused on toodud lisas 1.

Antud kolm erinevasse ravimirühma kuuluvat ravimit valiti katsesse seetõttu, et aasta-aastalt suureneb patsientide arv, kes kannatavad südame-veresoonkonna haiguse, diabeedi (eelkõige II tüüpi diabeedi) ja kesknärvisüsteemi haiguste all (WHO, 2015). Antud ravimid kuuluvad toimeaine poolest ka enimmüüdud ravimirühmade retseptiravimite hulka (Ravimiamet, 2015).

Ravimite mõju uurimiseks mullaelustikule kasutati 33 kompostikarpi mõõtmetega 140x100x70 mm. Kasutatud substraat koosnes kahest osast Biolani Päikesemullast (katse paremaks niiskuse hoidmiseks) ja ühest osa kaks aastat seisnud veisesõnnikust. Karpe niisutati kord nädalas. Ühe karbi kohta lisati 100 ml vett kord nädalas, et vältida läbikuivamist (katse paiknes lõunapoolsel aknalaul).

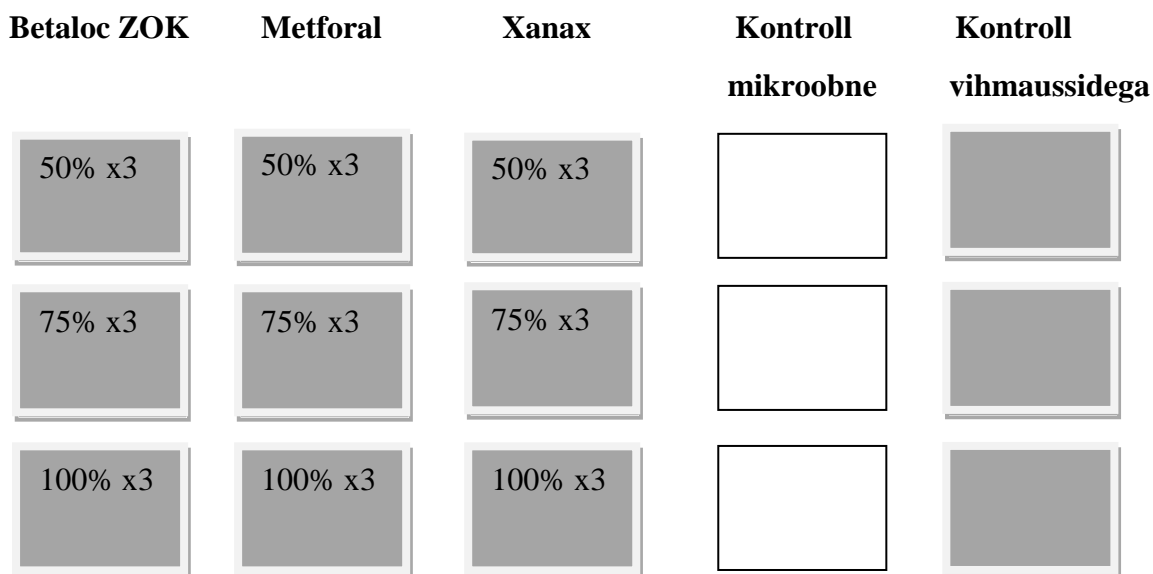
Kolmekümnesse karpi lisati vermikultuuri *Eisenia fetida* (igasse karpi 10 ussi). Ravimid, mis karpidesse lisati, lahustati esmalt 100 ml vees ning lisati karpidesse nende vesilahus. Karpidesse lisati ravimid skeemi järgi. Iga ravimi kohta oli kasutusel üheksa karpi kolme erineva doosiga. Esimesse kolme karpi lisati karbi kohta pool tabletti (lahustatud 100 ml vees), järgmisesse kolme karpi lisati karbi kohta $\frac{3}{4}$ tabletti (lahustatud 100 ml vees) ning viimasesse kolme karpi lisati karbi kohta terve tablett, mis oli lahustatud 100 ml vees.

Tselluloos, mis on oluline komponent nii mikroobsetes ekstratsellulaarsetes polümeerides kui ka taimses biomassis, on Maal kõige levinud biopolümeer. Looduses on tselluloosil kanda struktuuri andev roll – kompleksis ligniini ja hemitselluloosiga annab see taimerakkudele mehaanilise vastupidavuse. (Peda, 2012)

A-tselluloosiks nimetatakse materjali, mis lahustub 20°C juures 17.5%-lises naatriumhüdroksiidilahuses (Peda, 2013). Katseks kasutatud alfa-tselluloos saadi kolleegidelt Soome Metsainstituudist (Finnish Forest Research Institute). Alfa-tselluloosi lagunemiskiiruse uurimiseks kasutati lagunemiskotikeste meetodit (litter-bag (Meyer, 1996)). Lagunemiskotikeste mõõdud olid 2x2 cm, kasutatud võrgu silma suurus oli 5mm². Lagunemiskotikestesse pandi alfa-tselluloosi tükid keskmise kaaluga 0,150±0,130 grammi. Igasse kompostrisse lisati neli alfa-tselluloosi sisaldavad proovikotti.

Katse skeem on toodud järgmisel leheküljel joonisel 1.

Katse kestis kokku 60 päeva. Alfa-tselluloosi eemaldati kahes jaos: katse 30. päeval ja katse lõpus, 60 päeval.



Joonis 1. Katse skeem.

Skeemi legend: 50% - pool tabletti; 75% - $\frac{3}{4}$ tabletti; 100% - terve tablett. X3 – kolmes korduses. Halli taustaga karpi lisati ka 10 vihmaussi.

Peale proovide väljavõtmist kompostikarbist pandi võrkkotikesed 24 tunniks 105 kraadi juurde kuivatuskappi. Peale kuivatamist eemaldas töö autor üleliigse orgaanilise aine ja kaalus katsetükid, mille massikadu leiti arvutuslikult. Töö autor luges üle ka ellujäänud vihmaussid. Vihmausside lugemine toimus samuti kahes jaos ehk samal ajal kui eemaldati kompostist proovid. Proovid analüüsiti Tallinna Tehnikaülikooli Tartu Kolledži mullabioloogia laboris.

Mulla happesus – ja niiskusparameetrit mõõdeti iga kümne päeva tagant. Mulla happesusparameetri määramiseks kaaluti kolbi 10 grammi mulda, millele lisati 50 milliliitrit destilleeritud vett ning sellele lasti seista 24 tundi. Peale seda mõõdeti mulla pH, kasutades pH meetrit WTW Multi 340i.

Mulla niiskusparameetri leidmiseks kaalus töö autor 10 grammi mulda tiiglisse, mis pandi 24 tunniks 105°C juurde kuivatuskappi. Niiskusparameeter leiti arvutuslikult.

Pinnaseproovide mikroorganismide uurimisel on enim kasutatav meetod pinnase hingamisaktiivsuse mõõtmine kas CO₂ eraldumise või O₂ neeldumise kaudu (Bronhon *et al.*, 2001). Mullaproovide mikroobse biomassi (SIR-meetodil) analüüsimiseks võeti nii algsubstraadist kui ka lõppsubstraatidest proovid, mis sõeluti 2mm sõelaga. Substraadi poolt indutseeritud hingamise (SIR meetod; Öhlinger, 1996) leidmiseks kaaluti mullaproovist 100 grammi materjali, mis segati 0,5 grammi glükoosiga. Saadud mass jagati kaheks (ühe proovi kaal 50 grammi) ja inkubeeriti mõõtmisanumatesse. Absorbendina kasutati natroonlupja (umbes pool teelusikatäit), anumad suleti ja neile monteeriti külge mõõtepead. Hermeetiliselt

suletud purke inkubeeriti 24 tundi 22 kraadi juures, peale mida saadud andmed kanti arvutisse ja analüüsiti.

Mikroobse hingamisaktiivsuse määramiseks võeti substraadist algproov ja igast kompostrist katse lõpus proov kogukaaluga 200 grammi (ühe proovi kaal 100 grammi). Kompostiproovid sõeluti läbi 2 mm sõela. Proov jaotati kahe mõõtmisanuma vahel (anuma maht 1 liiter), absorbendina kasutati ~0,5 teelusikatäit natroonlupja. Mõõtmisanumad suleti ja neile monteeriti külge mõõtepead. Hermeetiliselt suletud purgid asetati 96 tunniks 25°C juurde. Mõõtmistulemused kanti arvutisse ning neid analüüsiti.

Töös kasutatud andmed on originaalandmed. Töö autor kogus ja töötles andmeid ise. Antud magistritöö andmeanalüüsiks ning graafikute tegemiseks kasutati programmi *Microsoft Office Excel 2007*, statistiliseks andmeanalüüsiks kasutati programmi *Statistica 10.0* (mitteparameetriline Kruskal-Wallis'e dispersioonanalüüs).

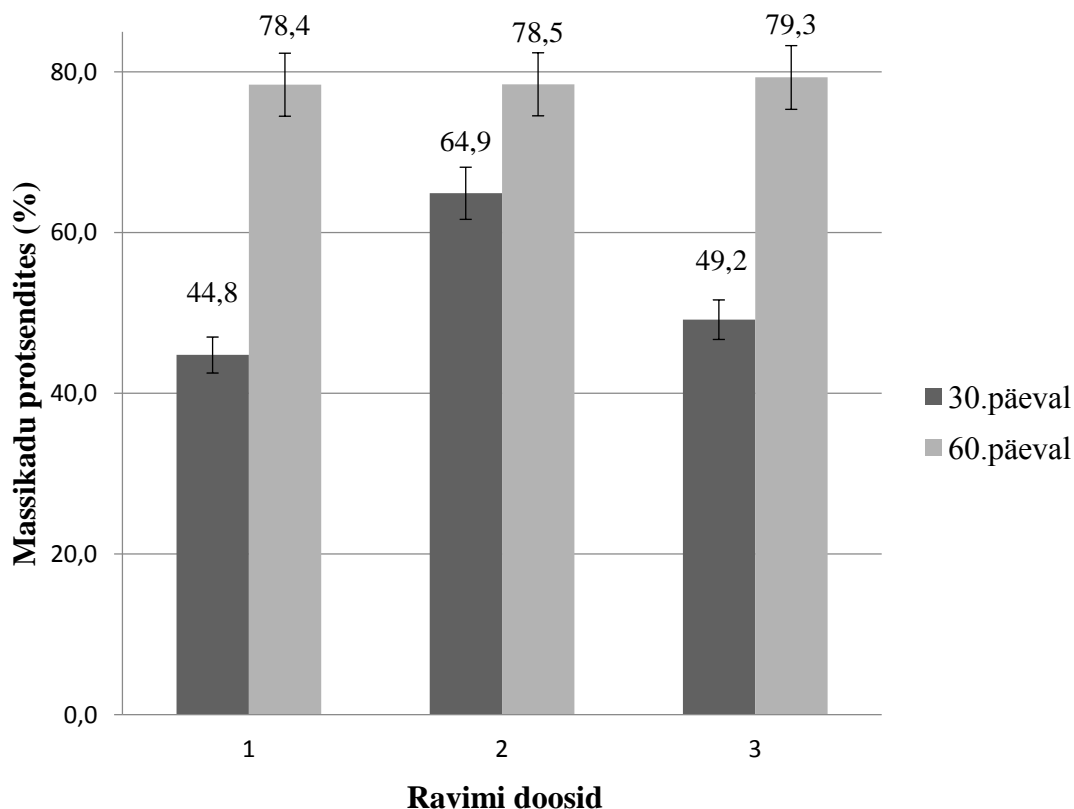
4. Tulemused

4.1 Massikadu vermikompostimisel

Joonis 2 iseloomustab alfa-tselluloosi keskmist massikadu protsentides 30 ja 60 päeva jooksul karpides, kuhu oli lisatud ravimit Betaloc ZOK. Karpides, kuhu oli lisatud $\frac{1}{2}$ tablettist, oli keskmine massikadu 30.päevaks $44,8 \pm 0,9\%$. Karpidesse, kuhu oli lisatud $\frac{3}{4}$ tablettist, oli keskmine massikadu 30. päevaks $64,9 \pm 1,1\%$ ja karpidesse, kuhu oli lisatud terve tablett oli keskmine massikadu samaks ajaks $49,2 \pm 0,8\%$.

60 päevaks oli kõikide dooside puhul lagunemine toimunud üsna võrselt. 60.päevaks oli keskmine massikadu $78,4 \pm 0,9\%$ karpidesse kuhu oli lisatud $\frac{1}{2}$ tablettist. Karpidesse kuhu oli lisatud $\frac{3}{4}$ ühest tablettist oli keskmine massikadu 60. päevaks $78,5 \pm 1,1\%$ ja karpidesse, kuhu oli lisatud terve tablett oli keskmine massikadu $79,3 \pm 0,8\%$.

Keskmine massikadu kõikide dooside lõikes oli antud ravimi puhul 30. katsepäevaks $52,9 \pm 6,1\%$ ning 60. katsepäevaks $78,7 \pm 0,3\%$.

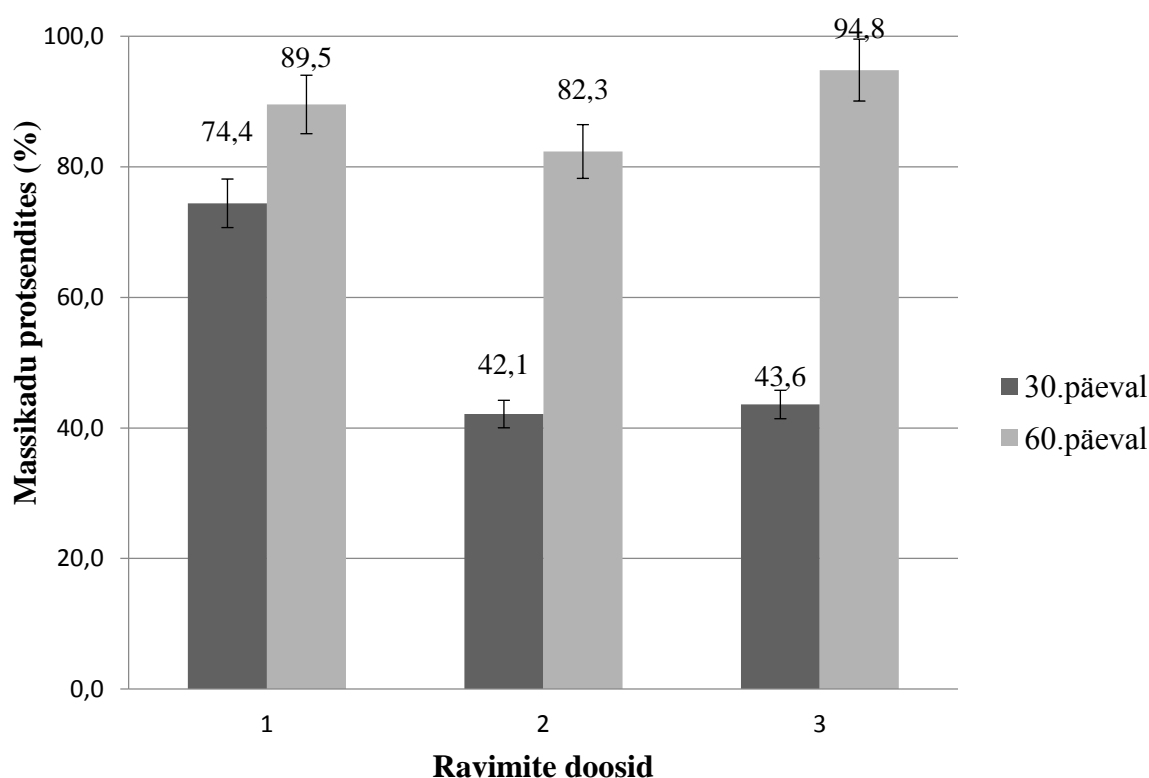


Joonis 2. Keskmine massikadu protsentides 30 ja 60 päeva jooksul karpidesse, kuhu oli lisatud ravim Betaloc ZOK (1- $\frac{1}{2}$ tablettist, 2- $\frac{3}{4}$ tablettist, 3-terve tablett.)

Joonis 3 iseloomustab alfa-tselluloosi keskmist massikadu protsentides 30 ja 60 päeva jooksul karpides, kuhu oli lisatud ravimit Metforal. 30 päevaks oli keskmine massikadu karpidesse, kuhu oli lisatud 50% ravimist, 74,4±1,4%. Samaks ajaks oli keskmine massikadu, karpidesse kuhu oli lisatud 75% ravimist, 42,1±1,1% ja karpidesse, kuhu oli lisatud terve tablett, oli keskmine massikadu 43,6±1,5%.

60 päevaks olid keskmised massikaod järgmised: karpidesse, kuhu oli lisatud 1/2 tableti puhul oli keskmine massikadu 89,5±1,4%, 3/4 tableti puhul oli keskmine massikadu 82,3±1,1% ja terve tableti puhul oli keskmine massikadu 94,8±1,5%.

Keskmine massikadu kõikide dooside lõikes oli antud ravimi puhul 30. katsepäevaks 53,3±10,5% ning 60. katsepäevaks 88,8±3,3%.

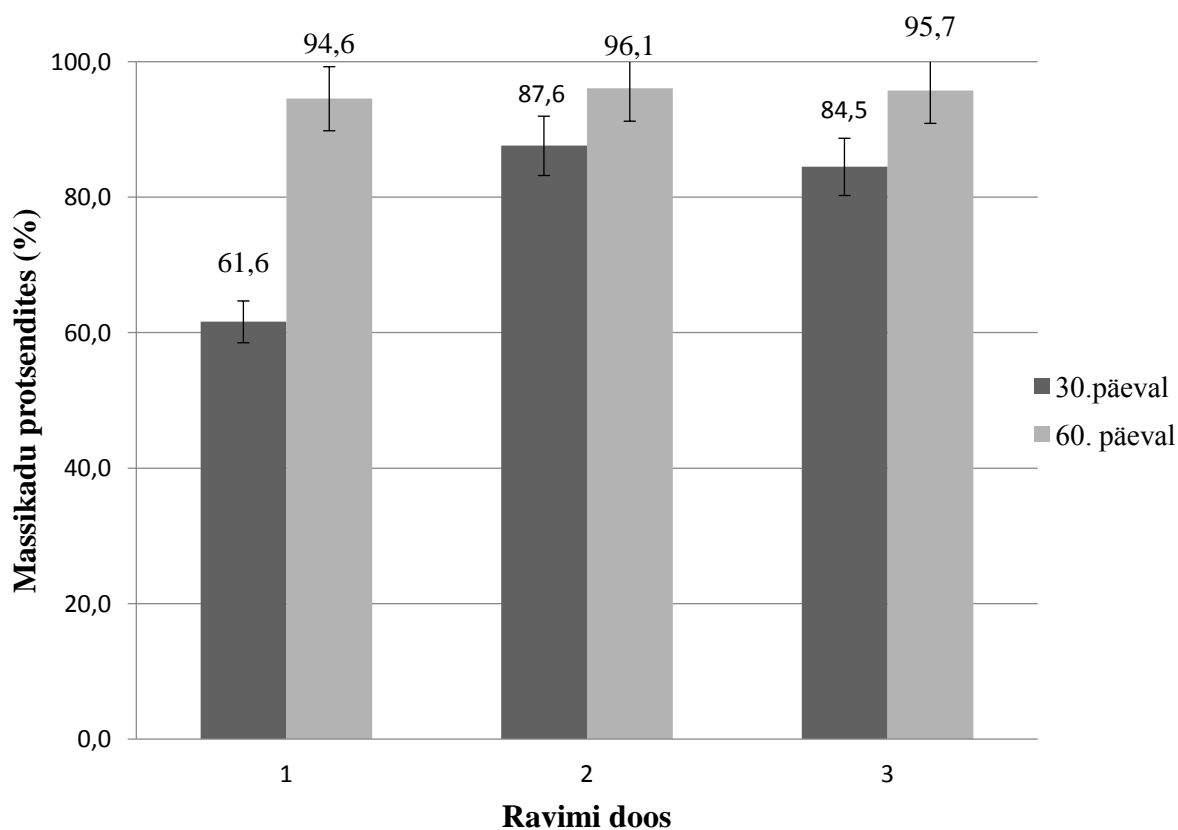


Joonis 3. Keskmine massikadu protsentides 30 ja 60 päeva jooksul karpidesse, kuhu oli lisatud ravim Metforal (1- 1/2 tablettist, 2- 3/4 tablettist, 3-terve tablett.)

Joonis 4 iseloomustab alfa-tselluloosi keskmist massikadu protsentides 30 ja 60 päeva jooksul karpides, kuhu oli lisatud ravim Xanax. 30. päevaks olid keskmised massikaod järgnevad: karpidesse, kuhu oli lisatud 1/2 tablettist, oli keskmine massikadu 61,6±1,5%, 3/4 tableti puhul oli keskmine massikadu 87,6±1,0% ja terve tableti puhul oli keskmine massikadu 84,5±1,0%.

60. päevaks oli keskmine massikadu $94,6 \pm 1,5\%$ karpides, kuhu oli lisatud $\frac{1}{2}$ tablettist. Samaks ajaks oli karpides, kuhu oli lisatud $\frac{3}{4}$ tablettist, keskmine massikadu $96,1 \pm 1,0\%$ ja terve tableti puhul oli samaks ajaks keskmine massikadu $95,7 \pm 1,0\%$.

Keskmine massikadu kõikide dooside lõikes oli antud ravimi puhul 30. katsepäevaks $77,80 \pm 8,20$ ning 60. katsepäevaks $95,47 \pm 0,45$.



Joonis 4. Keskmine massikadu protsentides 30 ja 60 päeva jooksul karpidesse, kuhu oli lisatud ravim Xanax. (1- $\frac{1}{2}$ tablettist, 2- $\frac{3}{4}$ tablettist, 3-terve tablett).

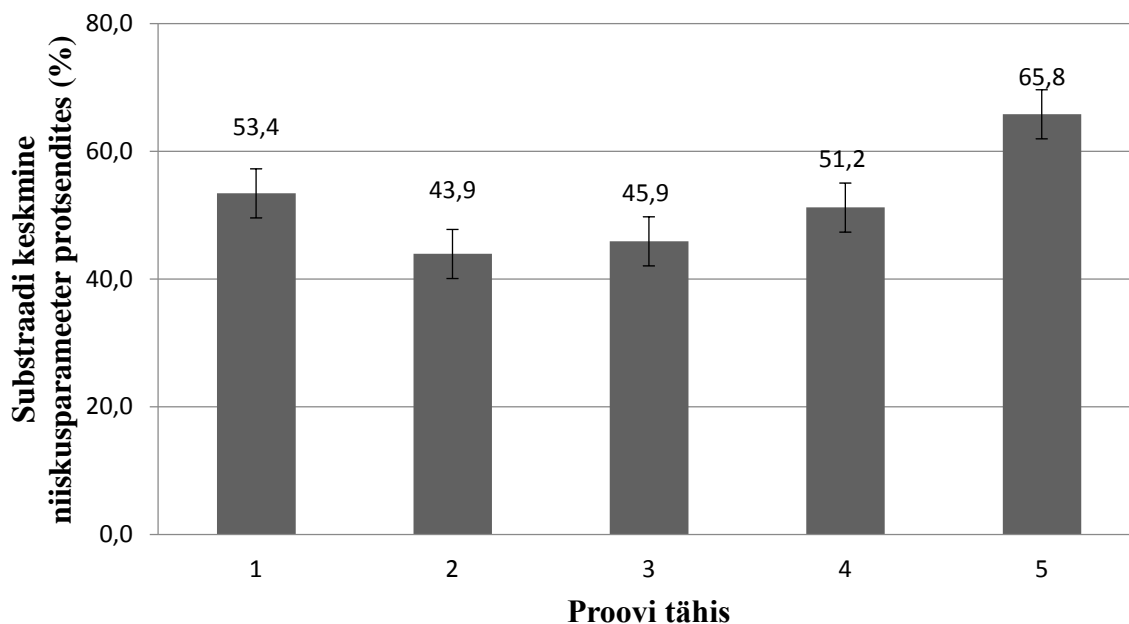
Mikroobsel katsekompostimisel, mida kasutati kontrollina, oli keskmine massikadu katse 30. päevaks $61,6 \pm 1,4\%$ ja 60.päevaks oli keskmine massikadu $74,4 \pm 1,4\%$.

Kompostis, kus toimus kompostimine koos vihmaussidega, oli keskmine massikadu 30. päevaks $67,9 \pm 1,3\%$ ja 60.päevaks $89,1 \pm 1,3\%$.

4.2 Substraadi niiskusparameetrid

Algsubstraadi keskmine happesusparameeter oli $50,3 \pm 1,2\%$. Lagunemiskatse käigus määrati substraadi niiskusparameetri väärtused iga kümne päeva tagant. Joonis 5 kirjeldab substraadi niiskusparameetrit kasutatud katsekompostrites.

Kõige niiskem oli substraat kompostikarpides, kus toimus vermikompostimine ja kuhu ei olnud lisatud ravimeid. Selle substraadi niiskusparameeter oli $65,8 \pm 1,0\%$. Kõige kuivem oli substraat kompostis, kuhu oli lisatud ravim Metforal. Kompostikarbis, kuhu oli lisatud ravimit Betaloc ZOK, oli keskmine substraadi niiskusparameeter $53,4 \pm 0,6\%$. Mikroobse lagunemise keskmine substraadi niiskusparameeter oli $51,2 \pm 0,4\%$. Kompostis, kuhu oli lisatud ravim Xanax oli substraadi keskmine niiskusparameeter $43,8 \pm 1,0\%$.



Joonis 5. Substraadi keskmine niiskusparameeter protsendites (%)

Proovi tähis: 1-Betaloc ZOK, 2-Metforal, 3-Xanax, 4-mikroobne kontroll, 5-vihmaussidega kontroll.

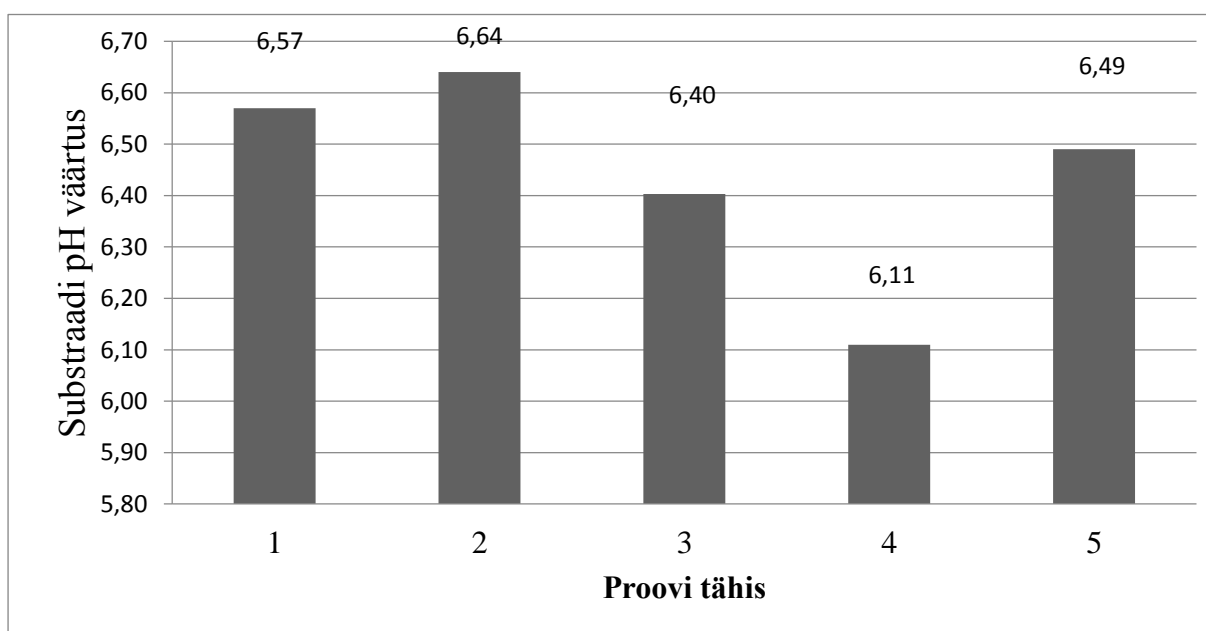
Substraadi niiskusparameeter oli kõige enam langenud kompostis, kuhu oli lisatud ravim Betaloc ZOK. Niiskusparameeter oli seal langenud 6,4%. Substraadi niiskusparameeter oli langenud ka kompostides, kuhu oli lisatud ravim Xanax ja kompostis, kus ei olnud lisatud ravimeid. Need parameetrid oli langenud vastavalt 1,7% ja 0,6%. Substraadi niiskusparameeter oli tõusnud kompostikarpides, kuhu oli lisatud ravim Metforal ja kompostis, kus toimus mikroobne lagunemine. Need parameetrid oli tõusnud vastavalt 0,8% ja 1,1%.

4.3 Substraadi happesusparameetrid

Algsubstraadi keskmine happesusparameeter oli $6,4 \pm 0,06$. Lagunemiskatse käigus määrati substraadi happesusparameetri väärtused iga kümne päeva tagant (10. päeval, 20. päeval, 30. päeval, ja 40. päeval, 50. päeval ja 60. päeval). Joonis 5 kirjeldab substraadi happesusparameetreid kompostrites, kus toimus vermikompostimine ja kuhu oli lisatud

ravimid, mikroobne lagunemine ja ilma ravimiteta vermikompostimine. Kokku toimus kuus määramist ja joonisele on ravimite kõikide dooside keskmine, mikroobse lagunemise keskmine ja vermikompostimise keskmine (polnud lisatud ravimied). Joonisel puuduvad keskmised vead seetõttu, et vea arvutamisel ilmnas et viga on väiksem kui 0,05 ühikut.

Kõige happelisem substraat oli kompostikarpides, kus toimus mikroobne lagunemine. Seal oli pH $6,11 \pm 0,02$. Kõige neutraalsem substraat oli kompostrites, kus toimus vermikompostimine ja kuhu oli lisatud ravim Metforal. Selle substraadi keskmine pH oli $6,64 \pm 0,01$. Karpides, kus toimus vermikompostimine ja olid lisatud ravimid Betaloc ja Xanax olid pH vastavalt $6,57 \pm 0,03$ ja $6,40 \pm 0,04$. Vermikompostrites, kuhu ei lisatud ravimeid oli pH 6,49. Katse lõpuks oli substraatide keskmine pH $6,54 \pm 0,06$.



Joonis 6. Substraadi keskmine happesusparameetri väärtus.

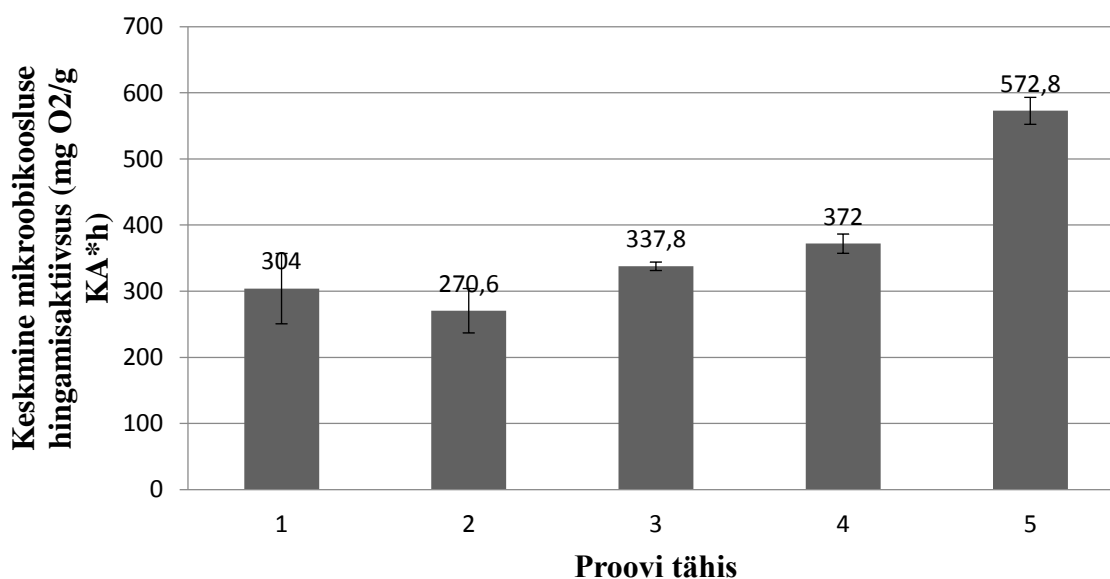
Proovi tähis: 1-Betaloc ZOK, 2-Metforal, 3-Xanax, 4-mikroobne kontroll, 5-vihmaussidega kontroll.

4.4 Vihmausside arvukuse muutus

Katse algul inkubeeriti kompostritesse kokku 300 vihmaussi (*Eisenia fetida*), igas kompostris oli 10 vihmaussi. Katse lõppedes loeti vihmaussid üle. Selgus, et elus oli 20 vihmaussi (6.7% koguarvust). Komposti karpidesse oli tekkinud aga valgelimuklased (*Enchytraeidae*). Nende koguarv oli 478. Kõige enam oli neid tekkinud komposti karpidesse, kuhu oli lisatud ravim Betaloc ZOK.

4.5 Mikroobikoosluse hingamisaktiivsus ja mulla mikroobne biomass vermi – ja tavakompostimisel

Joonisel 7 on välja toodud mikroobikoosluse hingamisaktiivsus katse alguses ja lõpus. Mikroobikoosluse hingamisaktiivsus katse alguses oli 414,1 mg O₂/g KA*h. Mikroobikoosluse keskmine hingamisaktiivsuse näitaja katse lõpus kompostikarbis, kuhu oli lisatud ravimit Betaloc ZOK, oli 304,0±53,2 mg O₂/g KA*h. Mikroobikoosluse keskmine hingamisaktiivsuse näitaja katse lõpus kompostikarbis, kuhu oli lisatud ravimit Metforal oli 270,6,0±33,6 mg O₂/g KA. Mikroobikoosluse keskmine hingamisaktiivsuse näitaja katse lõpus kompostikarbis, kuhu oli lisatud ravimit Xanax oli 337,8,6,0±6,4 mg O₂/g KA*h. Mikroobikoosluse keskmine hingamisaktiivsuse näitaja katse lõpus kompostikarbis, mida kasutati kontrollkarbina mikroobse lagunemisprotsessi jälgimiseks oli 372,0,6,0±14,6 mg O₂/g KA*h. Mikroobikoosluse keskmine hingamisaktiivsuse näitaja katse lõpus kompostikarbis, kus toimus tavaline vermikompostimine ilma lisanditeta, oli 572,8,0±20,4 mg O₂/g KA*h.

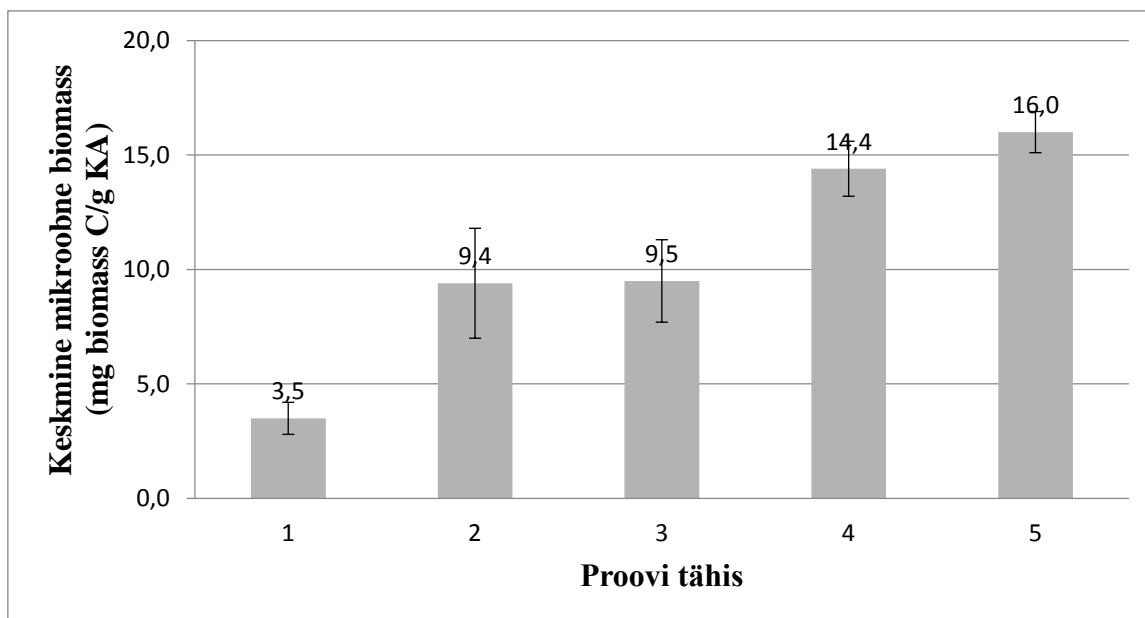


Joonis 7. Keskmine mikroorganismide hingamisaktiivsuse näitaja (mg O₂/gKA*h) katses kasutatud kompostikarpides. Proovi tähis: 1-Betaloc ZOK, 2-Metforal, 3-Xanax, 4-mikroobne kontroll, 5-vihmaussidega kontroll.

Mikroobse biomassi näitaja katsekompostides katse alguses ja lõpus on välja toodud joonisel 8. Mikroobse biomassi näitaja oli algsuubstraadis 4,4mg biomass C/g KA. Keskmine mikroobse biomassi näitaja katse lõpus kompostikarbis, kuhu oli lisatud ravimit Betaloc ZOK oli 3,5±0,7mg biomass C/g KA. Keskmine mikroobse biomassi näitaja katse lõpus kompostikarbis, kuhu oli lisatud ravimit Metforal oli 9,4±2,4mg biomass C/g KA. Keskmine

mikroobse biomassi näitaja katse lõpus kompostikarbis, kuhu oli lisatud ravimit Xanax oli $9,5 \pm 1,8$ mg biomass C/g KA.

Keskmine mikroobse biomassi näitaja oli katse lõpus kompostikarbis, mida kasutati kontrollkarbina mikroobse lagunemisprotsessi jälgimiseks $14,4 \pm 1,2$ mg biomass C/g KA. Keskmine mikroobse biomassi näitaja katse lõpus kompostikarbis, kus toimus tavaline vermikompostimine ilma lisanditeta, oli $16,04 \pm 0,9$ mg biomass C/g KA.



Joonis 8. Keskmine mikroobse biomassi näitaja (mg biomass C/g KA) katses kasutatud kompostikarpides. Proovi tähis: 1-Betaloc ZOK, 2-Metforal, 3-Xanax, 4-mikroobne kontroll, 5-vihmaussidega kontroll.

4.6 Statistiliste analüüside tulemused

Statistiliselt usaldusväärset ($p < 0,05$) korreleerusid omavahel tugevalt positiivselt mikroobne hingamisaktiivsus ja niiskusparameeter ning substraadi poolt indutseeritud hingamine. Statistiliselt usaldusväärset ($p < 0,05$) korreleerusid omavahel keskmiselt negatiivselt omavahel happesusparameeter, niiskusparameeter, mikroobne hingamisaktiivsus ja substraadi poolt indutseeritud hingamine.

5. Arutelu

Uurimaks loodusesse sattunud retseptiravimite mõju, seadis töö autor 2015. aasta alguses üles vermikompostimiskatse, mis kestis kokku 60 päeva. Katse jooksul koguti seitse korda andmeid alfa-tselluloosi massikao, happesus – ja niiskuspameetri kohta. Koguti andmeid ka vihmausside ning valgeliimuklaste arvukuse kohta. Nii katse alguses kui ka lõpus teostati analüüsiks uurimaks substraadi poolt indutseeritud hingamist SIR-meetodil ning mikroobest hingamisaktiivsust.

Autor toob välja ka selle, et antud katsekompostimise planeerimisetapis esines vigu, mis võisid oluliselt mõjutada katse käiku (mõju lagunemiskiirusele, mõju vihmausside ellujäämisele).

Alfa-tselluloos lagunes kõikidel juhtudel. Kompostides, kuhu oli lisatud ravimeid, toimus alfa-tselluloosi lagunemine kiiremini (keskmine lagunemiskiirus ravimeid sisaldavates kompostides $87,6 \pm 4,9\%$) kui mikroobel lagunemisprotsessil ($74,4 \pm 1,2\%$). Keskmine lagunemiskiirus oli kiirem vaid vermikomposti sisaldavates kompostikarpides ($89,1 \pm 2,1$).

Ravimite lõikes oli kiireim lagunemine katsekompostides, mis sisaldasid ravimit Xanax ($95,47 \pm 0,45\%$) ning kõige aeglasem keskmine lagunemiskiirus oli katsekompostis, mis sisaldas ravimit Betaloc ZOK ($78,7 \pm 0,3\%$). Ka mikroobse biomassi näitaja oli antud kompostis kõige madalam ($3,5 \pm 0,7$ mg biomass C/g KA).

Mikroobse biomassi näitaja oli ka algsustraadis üsna kõrge – $4,4$ mg biomass C/g KA. Samuti oli algselt üsna kõrge ka mikroobne hingamisaktiivsus – $414,1$ mg mg O₂/g KA*h. Kõrgeid näitajaid võib seletada asjaoluga, et katseks kasutati valmis istutussegu (Biolani Päikesemuld) ja veisesõnniku kombinatsiooni. Katse lõpuks olid tõusnud kõik mikroobse hingamisaktiivsuse ja mikroobse biomassi näitajad, kuid ära tuleb märkida see, et tõus ravimeid sisaldavate kompostide puhul oli väiksem kui ravimeid mittesisaldavate kompostide puhul. Seega on võimalik välja lugeda, et toksilised ühendid mõjutavad orgaanilise aine lagunemiskiirust (Höflich, 1977).

Kõrvale ei saa jätta ka ravimite mõju mullaelustikule. Katse alguses pandi igasse kompostrisse 10 vihmaussi. Lugeses vihmausse üle katse keskel, 30. katsepäeval, pidi töö autor tõdema, et elusate vihmausside osakaal oli tunduvalt vähenenud. Küll oli kompostides hulgaliselt vihmaussimune. Mitmed teadlased leidnud, et toksilised ühendid mõjutavad vihmaussidel reproduktsiooni kiirust (Espinoza-Navarro&Bustos-Obregon, 2005; .Yasmin&D'Souza, 2010).

Katse lõpuks oli vihmausside arvukus tunduvalt vähenenud – hukkunud oli 93% vihmaussidest, kõige enam vihmausse oli elus vermikompostis, kuhu ei olnud lisatud ravimeid ning kus toimus puhas vermikompostimine. Seda võib seletada ka asjaoluga, et

antud kolmes kompostis oli kõrgeim niiskuspärametri näitaja – ligikaudu 70%. Kirjandusest on teada, et vihmaussid eelistavad oma elutegevuseks niiskuspärametrit, mis on enam kui 50% (Dominguez, 2004).

Teiseks vihmausse mõjutavaks faktoriks oli temperatuur. Katse paigutati lõunapoolsele aknalauale, mis ei olnud analüüsidest tulemusi tagantjäre, katse läbiviimiseks kõige parem variant. On alust arvata, et katses toimusid suured temperatuurimuutused (hommikupäike soojendas, õhtul oli mulla temperatuur madalam, niisutamiseks kasutatav vesi oli pigem külm), kuid kahjuks mulla temperatuuri katses ei jälgitud. Temperatuuri jälgimine katse käigus oleks andnud töö autorile olulist infot, mis oleks võimaldanud paremini interpreteerida katse tulemusi. On teada, et suured temperatuurimuutused põhjustavad vihmaussides stressi ning suurem osa vihmaussidest võis hukkuda ka sellel põhjusel. (Edwards&Bohlen, 1996; Applehof, 1997; Dominguez, 2004; Edwards, 2004, NIIR, 2004)

Katse käigus tekkisid katsekompostidesse ka valgeliimuklased, kes suudavad elada substraatides, mis on enamusele elusorganismidest liiga toksilised (raskmetalle sisaldavad mullad, reoveesete) (Schmelz&Collado, 2010). On teada, et valgeliimuklased aitavad samuti kaasa orgaanilise aine kiiremale lagundamisele samamoodi nagu vihmaussid – olles orgaanilise aine peenestajad – ja segajad ning suurendades oma tegevuse läbi mulla mikroorganismidele kättesaadavat materjali pinda (Edwards&Bohlen, 1996; Dominguez, 2004; Edwards, 2004).

Statistiliste analüüside tulemusena selgus, et mikroobne biomass ja mikroobne hingamisaktiivsus on tugevalt positiivselt korrelatsioonis niiskuspärametriga. Mullafauna elurikkuse seisukohalt on niiskuspärameeter äärmiselt oluline – tagades mullaorganismidele normaalse elukeskkonna ning suurendades seeläbi ka bioloogilist mitmekesisust mullas (Applehof, 1997; Dominguez, 2004)

Ka substraadi happesuspärametril on oluline roll kanda. Vihmaussid on võimelised taluma üsna suurt mulla happesuse vahemikku (pH 5-9), kuid võimalusel eelistavad nad nõrgalt happelist keskkonda. Antud katses jäi substraadi happesuspärametri näitaja kuue kanti ehk vihmaussidele sobivasse vahemikku. Ka vihmaussid ise suudavad ise reguleerida substraadi happesust suhteliselt suures ulatuses, eritades vajadusel kaltsiumigraanuleid (Applehof, 1997; Dominguez, 2004).

Kokkuvõte

Ravimitel on kanda tähtis roll haiguste ennetamisel ning ravimisel. Aasta-aastalt suureneb nende inimeste arv, kes vajavad igapäevaselt ravimeid. Enamus ravimeid ei imendu inimorganismis täielikult – suur osa neist väljub muutumatul kujul uriini koosseisus. Kahjuks ei ole ka reoveepuhastusprotsess nii efektiivne, et selle käigus eemaldatakse ravimijäägid täielikult, nii jõuavadki üldise vee ringkäigu tulemusena ravimijäägid tagasi lõpuks igapäevatarbimisse.

Antud magistritöö eesmärgiks on uurida, millist mõju avaldavad mulda sattunud retseptiravimid mullaelustikule.

Töö autori hüpotees leidis kinnitust osaliselt. Töö autor eeldas, et retseptiravimid pärsivad mullaelustiku paljunemist ning seetõttu on ka orgaanilise aine lagunemiskiirus mullas aeglasem. Selgus, et retseptiravimid mõjutavad mullaelustiku paljunemiskiirust, kuid orgaanilise aine lagunemiskiirus mullas ei muutu oluliselt võrreldes tavalise vermikompostimisprotsessi kiirusega.

Autor toob välja ka selle, et antud katsekompostimise planeerimisetapis esines vigu, mis võisid oluliselt mõjutada katse käiku (mõju lagunemiskiirusele, mõju vihmausside ellujäämisele) ning seetõttu ei saa antud katse põhjal teha ühiseid järeldusi. Vajalik oleks teha korduskatse, mille käigus likvideeritakse antud katses esinenud puudused.

Summary

Effects of prescription drugs to soil biota

Pharmacotherapy has an important role to play in the medical field. A pharmaceutical drug is a drug used to diagnose, cure, treat or prevent disease.

Every year gets mankind physically sicker and sicker and need more medicine. The leading causes of death in the world are ischaemic heart disease, stroke, lower respiratory infections and conditions associated with metabolic syndrome.

Metabolic syndrome refers to a cluster of metabolic conditions that can lead to heart disease. The main features of metabolic syndrome include insulin resistance (which can lead to a type II diabetes), hypertension, abnormal cholesterol, and an increased risk for clotting.

Cellulose is an important component in herbal biomass and in microbial extra-cellular polymers. It has a structural role in nature together with hemicellulose and lignine. It is also a good subject for testing degradation speed in laboratory conditions.

The main purpose of this master thesis was to find out how prescription drugs are affecting soil biota. The intensity of degradation of pharmaceuticals varies among used medicines. The loss of mass of alpha-cellulose was found to be the largest in composters where the drug called „Xanax“ were used. Two other pharmaceuticals „Betaloc ZOK“ and „Metforal“ were affecting also the degradation speed of alpha-cellulose.

The mortality rate of earthworms were quite high – 93%, which can be caused by the extreme temperature hanges, what could possible killed the earthworms. The author of this thesis can not be quite sure – temperature was not observed during the vermicomposting process.

For the conclusions - pharmaceuticals affect the decomposition speed of alpha-cellulose and also the reproduction speed of soil biota but further tests are needed.

Kasutatud materjalid

- Angerma, T.** 2005. Eesti ravimitootmise olukord ja persepektiivid. Tartu Ülikool
- Applehof, M.** 1997. Worms Eat My Garbage. Flower Press. USA. 162 lk.
- Boxall, A.B.A.** 2004. The environmental side effects of medication. EMBO Rep.; 5(12): 1110–1116.
- Dominguez, J., Aira, M.** 2010. Substrate – induced respiration as a measure of microbiological biomass in vermicomposting studies. Bioresource Technology 101. p. 7184-7187
- Dove, A.** 2006. News Feature: Drugs down the drain. Nature Medicine 12, p. 376 – 377
- Edwards C.A., Bohlen P. J.** 1996. Biology and Ecology of Earthworms. Chapman& Hall. London. 426 p.
- Edwards. C. A.** 2004. Earthworm Ecology. CRC Press. USA. 389 p.
- Eesti meditsiini portaal.** 2008. Metforal. Ravimi Omaduste Kokkuvõte. <http://rx.ee/m/1574-metforal-850-mg.html?start=2#ixzz3Tc3q37kn> (27. 05. 2015)
- Eesti meditsiini portaal.** 2009. Betaloc zok-Pakendi Infoleht. <http://rx.ee/b/1762-betaloc-zok-50.html?start=1> (27. 05. 2015)
- Eesti meditsiini portaal.** 2009. Xanax. <http://rx.ee/x/3142-xanax.html?showall=1> (27. 05. 2015)
- Espinoza-Navarro, O; Bustos-Obregon, E.** 2005. Effect of malathion on the male reproductive organs of earthworms, Eisenia foetida. Asian Journal of Andrology. p. 97-101.
- Gambardella, A. Orsenigo, L. Pammolli, F. 2000. Global Competitiveness in pharamaceuticals a European perspective
- Haiba, E.; Nei, L.; Lillenberg, M.; Kipper, K.; Herodes, K.** Degradation of some pharmaceuticals during sewage sludge composting. AWERProcedia Advances in Applied Sciences. 2013 (1). 857-862.
- Hand, P., Hayes, W.A., Frankland, J.C., Satchell, J.E.** 1988. The vermicomposting of cow slurry. Pedobiologia 31, 199-209.

Haynes, R. J. 1986. The decomposition process: Mineralization, immobilisation, humus formation and degradation: Haynes, R.J (Eds.). Mineral nitrogen in the plant – soil system. Orlando Academic Press. USA. p. 52-126

Höflich; G. 1977. The effect of biocides on the microflora of soils and their degradation. I. The selection of suitable biocides and ways of selective influences in soil-microorganisms. Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg. 132(1), p. 55-66

Kaseorg, K. 2006. Ravimijäägid ohustavad joogivett. Horisont, nr3. lk. 30-31

Kumar, A. 2005. Vermis & Vermitechnology. S.B. Nangia A.P.H. Publishing Corporation. New Delhi. p. 200.

Kuresoo, T. 2002. Vermikompost ehk sõnnikuussikompost. Aed, nr3, lk. 49.

Lavelle, P., Spain, A. V. 2001 Soil Ecology. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London. p. 654.

Lillenberg, M; Haiba, E; Nei, L. 2012. Ravimijäägid looduskeskkonnas. Eesti Liidus, 6-7, lk. 71-75.

Munroe, G. 2007 “Manual of on-Farm Vermicomposting and Vermiculture,” Organic Agriculture Centre of Canada. p. 39

NIIR (National Institute of Industrial Research). 2004. The Complete Technology Book on Vermiculture and Vermicompost. Asia Pacific Business Press. Delhi. 345 p.

Olauasson, I. 2003. Kompost. Tänapäev. 100 lk.

Peda, J. 2012. Bioplastist kilekottide lagunemine erineva keskkonnarežiimiga vermikompostrites. Vaht, Riina (Toim.). Talveakadeemia Kogumik (136 - 146). Tartu: Tartu Ülikooli Kirjastus

Peda, J. 2013. A-tselluloosi lagunemine eritüübilistel niitudel. Vaht, Riina (Toim.). Talveakadeemia, 2013 Kogumik (123 - 127). Tartu: Tartu Ülikooli Kirjastus

Raudseping, M. 2010. Kompost ja kompostimine. Maalehe Raamat. lk. 54-63.

Ravimiamet. 2012. Ravimid. <http://www.ravimiamet.ee/ravimid-0> (28. 05. 2015)

Ravimiamet. 2015. Ravimistatistika. <http://www.ravimiamet.ee/ravimistatistika>. (26. 05. 2015)

Schmeltz, R. M; Collado, R. 2010. A guide to European terrestrial and freshwater species of Enchytraeidae. Soil Organisms. Volume 82. pp. 1-176

Singh, R. P., Singh P., Araujo, A. S.F., Ibrahima, M. H., Sulaimanb, O. 2011. Management of urban solid waste: Vermicomposting a sustainable option. Resources, Conservation and Recycling, Vol. 55 (7), p. 719-729.

Tallinna Farmaatsiatehas. 2015. Ajalugu. <http://www.tft.ee/> (23. 05. 2015)

Tallinna Farmaatsiatehas. 2015.Meist. <http://www.tft.ee/> (23. 05. 2015)

Talver, T. 2014. Maaleht. Metallitööstusele lisandub väetisevabrik. <http://maaleht.delfi.ee/news/maamajandus/uudised/metallitoostusele-lisandub-vaetisevabrik?id=69577883> (21.05.2015)

Tamm, K. 2009. Vermikompostimise tehnoloogia ja selle rakendused Eestis. Tallinna Tehnikaülikool Tartu Kolledž KKI

United States Census Bureau. 2015. World Population. <http://www.census.gov/> (28. 05. 2015)

Walsh, R. 2010. A history of : The pharmaceutical industry. <http://www.pharmaphorum.com/articles/a-history-of-the-pharmaceutical-industry> (25.05.2015)

WHO, 2015. World Health Organization. Projections of mortality and causes of death, 2015 and 2030. http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/projections/en/ (27.05.2015)

Yasmin, S; D'Souza, D. 2010. Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Earthworm: A Review. Applied and Environmental Soil Science; Volume 2010, p. 9

Lisad

Lisa 1

Katseks kasutatud ravimid, nende toime – ja abiained, ravimi kasutusala ja nende päevadooside arv elaniku kohta ööpäevas (2014. aasta andmetel) (Eesti meditsiini portaal, 2008; Eesti meditsiini portaal, 2009; Ravimiamet, 2015)

Ravimrühm	DPD*	Ravimrühmast valitud ravim	Toimeaine ja abiained	Ravimi kasutamine
Kardiovaskulaarsüsteem	409,75	Betaloc ZOK	Meto-proloolsuktsinaat Abiained: etüültselluloos, hüpromelloos, mikrokristalliline tselluloos, parafiin, makrogool, ränidioksiid, naatriumstearüülfumaraat ja titaandioksiid. (Eesti meditsiini portaal, 2009)	Kõrgvererõhutõbi, südameelihaseinfarkti ravi- ja järgnevate infarktide ennetamine; isheemiatõbi, krooniline südamepuudulikkus, südame rütmihäired, tahhükardia, migreenihoogude vältimine, stressist või füüsilisest koormusest põhjustatud südame- ja rindkerevalu
Diabeedi raviks kasutatavad ained	57,62	Metforal	Metformiin Abiained: Hüpromelloos, povidoon, magneesiumstearaat, makrogool, titaandioksiid.	Veresuhkru liigse sisalduse vähendamiseks II tüüpi diabeediga patsientidel.
Psühholiptikumid	42,67	Xanax	Alprasolaam Abiained: Laktoosmonohüdraat mikrokristalliline tselluloos naatriumdokusaat, naatriumbensoaat, veevaba kolloidne ränidioksiid, magneesiumstearaat, maisitärklis, erütrosiin, indiogokarmiin.	Ärevusseisundite, sealhulgas depressiooniga kaasneva ärevuse raviks ja paanikahäire raviks.

*DPD – päevadooside arv 1000 elaniku kohta ööpäevas