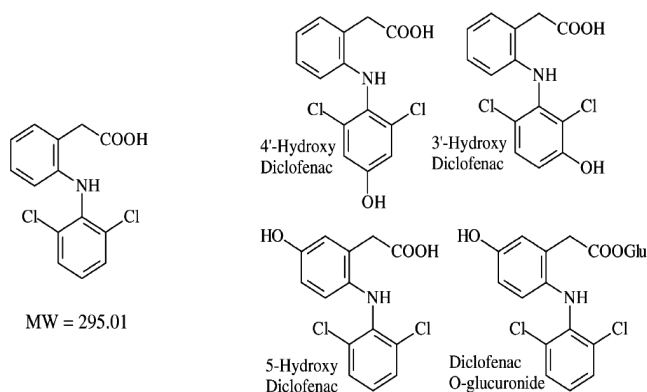


# Förekomst av läkemedel och deras metaboliter, samt östrogener, östrogenlika ämnen och triclosan i avloppsvatten som behandlats med moderna reningstekniker



*Rapport 9-2009*

*Tomas Alsberg, Margaretha Adolfsson-Erici, Martin Lavén och Yong Yu*

*Enheten för analytisk miljökemi, Institutionen för tillämpad miljövetenskap,*

*ITM, Stockholms universitet, 106 91 Stockholm*



## Slutrapport

Förekomst av läkemedel och deras metaboliter, samt östrogener, östrogenlika ämnen och triclosan i avloppsvatten som behandlats med moderna reningstekniker

Tomas Alsberg, Margaretha Adolfsson-Erici, Martin Lavén och Yong Yu

*Enheten för analytisk miljökemi, Institutionen för tillämpad miljövetenskap, ITM, Stockholms universitet, 106 91 Stockholm*

<b>Innehåll</b>	<b>Sida</b>
Sammanfattning .....	4
Bakgrund .....	5
Material och metoder	
Provtagning .....	5
Analys av läkemedelsrester .....	8
Analys av metaboliter .....	9
Multivariat datatolkning	12
Analys av hormoner, hormonstörare och triclosan .....	13
Resultat läkemedelsrester	
Förekomst av läkemedelsrester i olika avloppsströmmar .....	14
Kampanj 1 och 2, basiska .....	15
Kampanj 1 och 2, neutrala .....	16
Kampanj 1 och 2, sura .....	17
Kampanj 3, ozondosering .....	18
Kampanj 4 .....	19
Resultat läkemedelsmetaboliter	20
Ibuprofen, karboxy- och hydroxyibuprofen .....	22
Diclofenac och hydroxydiclofenac .....	23
Metoprolol, karboxy- och hydroxymetoprolol .....	24
Carbamazepine, 10-hydroxy- och dihydroxycarbamazepine .....	25
Ozondosering .....	26
Ozondosering, ozon+biobädd,UV+väteperoxid och aktivt kol .....	27
Bildas metaboliter av reningsprocesserna?	28
Resultat hormoner .....	29
Diskussion .....	32
Bilaga 1 Resultattabeller .....	33
Bilaga 2 Analys av läkemedelsrester .....	38
Bilaga 3 Analys av metaboliter .....	42
Referenser .....	45

## Sammanfattning

Läkemedelsrester i avloppsvatten förekommer dels i oförändrad form, men även som omvandlingsprodukter, metaboliter. Det övergripande målet för projektet var att undersöka effektiviteten hos olika reningstekniker för avloppsvatten, med avseende på vanliga läkemedel och deras huvudsakliga metaboliter, hormoner och hormonstörande kemikalier samt triclosan. Reningseffektiviteten hos moderna reningstekniker som biomembranreaktor, biofilter, ozon, UV-bestrålning kombinerat med väteperoxid samt filtrering genom aktivt kol undersöktes. Studerade läkemedel var atenolol, carbamazepine, cyclophosphamide, diclofenac, enalapril, gemfibrozil, hydrochlorothiazide, ibuprofen, ketoprofen, metoprolol, naproxen, oxazepam, paracetamol, propranolol, ranitidine och terbutaline. De hormoner som ingick i studien var de naturliga hormonerna estron och estradiol samt det syntetiska hormonet etinylestradiol. Hormonstörande kemikalier som studerades var oktylfenol, nonylfenol, bisfenol A samt det antibakteriella ämnet triclosan.

I det orenade avloppsvattnet uppvisade paracetamol högst koncentrationer av de undersökta läkemedelssubstanserna, ca 80 µg/liter men denna substans avlägsnades effektivt av Henriksdalverkets normala reningsprocess. Ibuprofen förelåg i näst högst halter, upp till ca 10 µg/liter, men också denna substans renades relativt effektivt bort av Henriksdals biologiska rening. Koncentrationerna av övriga undersökta läkemedelssubstanser låg från mindre än 0.003 mikrogram/liter (cyclophosphamide) upp till 3.2 mikrogram/liter (naproxen) i ingående vatten. Effektiv rening av läkemedelsrester, mer än 90 %, erhöles med ozon eller aktivt kol, medan de biologiska metoderna och UV kombinerat med väteperoxid inte var lika effektiva, utan lämnade signifikanta rester av t ex hydrochlorothiazide, atenolol, metoprolol carbamazepine och oxazepam.

Metaboliter som identifierades och kvantiterades i de olika vattnen utgjordes av hydroxylerade och karboxylerade former av ibuprofen och metoprolol, hydroxy- och dihydroxycarbamazepine, samt hydroxydiclofenac. Resultaten stämmer väl överens med publicerade data för ibuprofen, carbamazepine och diclofenac, medan förekomsten av metoprololmetaboliter i avloppsvatten ej rapporterats tidigare. Konjugerade former, Fas 2-metaboliter, detekterades ej, vare sig i ingående eller utgående avloppsvatten, trots att dessa, framförallt glukuronidkonjugaten, var dominerande i urinproverna. Den troligaste förklaringen till detta är att konjugaten återbildas, till modersubstanserna, samt hydroxylerade och karboxylerade former av dem, av enzymer som finns i avloppssystemet.

Liksom för läkemedelsresterna var aktivt kol och ozonering de effektivaste reningsteknikerna för metaboliterna. Östrogener och östrogenlika ämnen liksom triclosan reduceras redan efter sandfiltret. Koncentrationerna av estron och nonylfenol reducerades endast i begränsad omfattning. De effektivaste reningsprocesserna med avseende på hormoner var biofilter, ozon och UV-behandling.

## Bakgrund

Läkemedelsrester i avloppsvatten förekommer dels i oförändrad form, men även som omvandlingsprodukter, metaboliter. Metaboliterna bildas i människokroppen, men kan även bildas av mikroorganismer i reningsverken. Kunskapen om det senare är dock bristfällig. Metaboliterna är som regel mer vattenlösliga än modersubstanserna, vilket underlättar för kroppen att utsöndra dem. Metaboliter delas in i två huvudtyper, Fas 1- respektive Fas 2-metaboliter, där Fas 1-metaboliterna bildats genom att enzymer som monooxygenaser, reduktaser och hydrolaser (för estrar och epoxider) adderat reaktiva funktionella grupper till molekylerna. Resultatet blir ofta hydroxylerade eller karboxylerade former av modersubstansen. Fas 2-metaboliter utgörs av molekyler som bildats genom att en polär molekyl, t ex en socker-, sulfat-, eller aminosyramolekyl kopplats till modersubstansen. Sådana konjugat kan återbildas till modersubstansen av enzymer som finns i avloppssystem och reningsverk. Kunskapen om läkemedelsresternas förekomstform vid projektets start var bristfällig, eftersom man normalt endast analyserar läkemedlen i deras ursprungsform. Detta projekt initierades för att öka kunskapen om förekomsten av vanliga läkemedel och deras huvudsakliga metaboliter i avloppsvatten som behandlats med olika moderna reningstekniker. Initialt har 20 läkemedelssubstanser, inklusive 3 st hormoner, valts ut. Det övergripande målet för projektet var att undersöka effektiviteten hos olika kompletterande reningstekniker för avloppsvatten, med avseende på vanliga läkemedel och deras huvudsakliga metaboliter. Syftet med projektet var även att följa syntetiska och naturliga hormoner, samt oktylfenol, nonylfenol, triclosan och bisfenol-A i avloppsvatten som renats med moderna metoder.

## Material och metoder

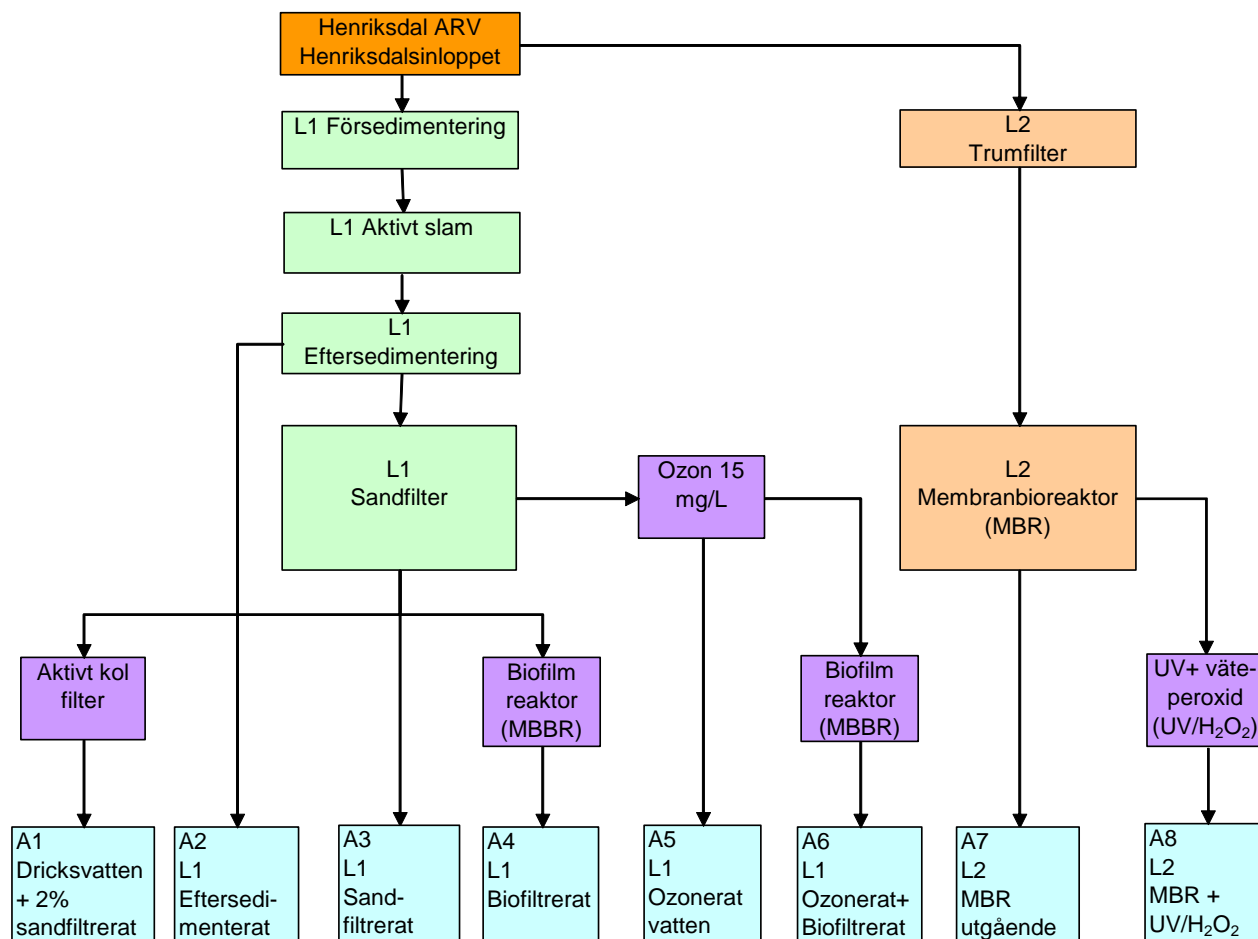
### Reningsmetoder och provtagning

Proverna som analyserades kom från en undersökning av kompletterande reningsmetoder som gjordes under 2007 och 2008 inom ramen för Stockholm Vatten VA AB:s Miljömiljardsprojekt. Försöken utfördes vid pilotanläggningen Hammarby Sjöstadsverket och Henriksdals reningsverk. Här följer en kort sammanfattning av försöken och vad de olika proverna som analyserats i detta delprojekt representerar.

År 2007, under provtagningskampanj 1 och 2, kördes försök i två parallella pilotanläggningar i Hammarby Sjöstadsverket. Flödet i respektive linje uppgick till 1,7 m<sup>3</sup>/h, vilket motsvarar en belastning av 200 personer. Linje 1, L1, som bestod av försedimentering, biosteg och sandfilter, drevs med en låg slamålder, 6 dygn, för att simulera ett mindre reningsverk utan biologisk kvävereduktion. Betydelsen av ett avslutande sandfilter kunde studeras genom att provflöden togs ut före och efter sandfiltret. Den andra linjen, L2, bestod av ett trumfilter och en membranbioreaktor, MBR, som drevs med en mycket hög slamålder, 87 dygn. Ingående vatten till L1 och L2 i Sjöstadsverket var identiskt med avloppsvatten från Henriksdalsinloppet, det ena av Henriksdalsverkets två inlopp.

Utgående vatten från sandfiltret i linje 1 behandlades vidare med antingen en biofilmreaktor, ozonering eller ozonering följt av en biofilmreaktor. Ozondosen var 15 g O<sub>3</sub>/m<sup>3</sup>. Uppehållstiden i biofilmreaktorn var två timmar och reaktorn hade 25% fyllnadsgrad med Anox-Kaldnes Biochip-M som har en mycket stor yta, 1200 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>. Det utgående vattnet från MBR:en i linje 2 behandlades med en kombination av UV-ljus och väteperoxid. UV-dosen var 0,28 kWh/m<sup>3</sup> och väteperoxid-dosen 8 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/m<sup>3</sup>. Försöken och provtagningspunkterna illustreras i figur 1.

Provtagningen under kampanj 1 gjordes under tiden 19-25 mars. Här användes ett delprov från perioden 19-22 mars. Under kampanj 2 togs prover ut mellan den 17 april och den 2 maj och här har ett delprov från perioden 17-23 april använts.

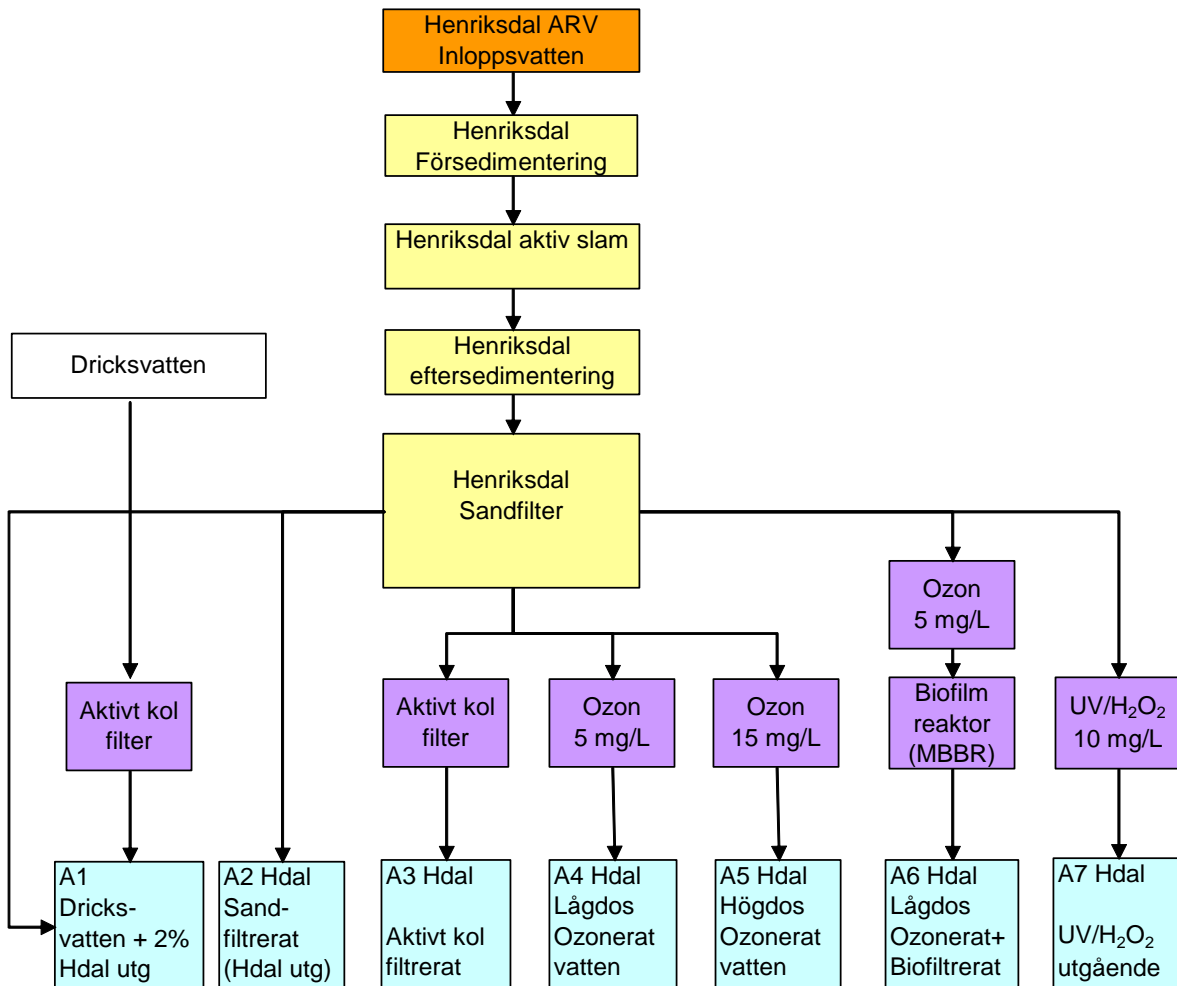


**Figur 1. Schema över provtagningspunkter vid 2007 års exponeringar i mars och april (kampanj 1 och 2). Prover för analys togs vid punkterna A1-A7, samt av ingående vatten. Vid provtagningen i april (kampanj 2) lades reningssteget, "UV+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>", nedströms "L2 MBR" till (A8). A betecknar akvarier för fiskexponering. Vattnet från delström A1 var referens till exponering av regnbågslax och har inte ingått i analyserna. (bild: Berndt Björlenius)**

Under försöken 2008 användes utgående renat avloppsvatten från Henriksdals reningsverk. Slamåldern var 20 dygn i luftningsbassängerna i Henriksdal. Kampanj 3 var en fristående provtagning den 5 februari 2008 på utgående avloppsvatten som ozonerats med två olika doser, 5 respektive 15 mg/L. Under kampanj 4 behandlades utgående vatten antingen med aktivt kolfilter (Filtrisorb 400), ozonering med två olika doser, 5 respektive 15 mg O<sub>3</sub>/L, ozonering följd av en biofilmreaktor med uppehållstiden två timmar och 25% fyllnadsgrad med Anox-Kaldnes Biochip-M eller med ultraviolett ljus, 0,75 Wh/L med samtidig dosering av väteperoxid, 10 mg/L (figur 2). Proverna för kampanj 4 togs ut under tiden 3-16 mars 2008.

Avloppsvattenproverna insamlades av Stockholm Vattens personal. Under kampanj 1, 2 och 4 togs proverna ut som tidsstyrda samlingsprover uppdelade på tre respektive fyra dygn. Provkärlen förvarades i kylskåp under provtagningstiden. Efter avslutad provtagningen hölls provet över i

polyetenflaskor som frystes på reningsverket, alternativt transporterades direkt till laboratoriet och frystes där. Innan analys tinades proverna och poolades till veckosamlingsprover, vilka filtrerades genom 0.45 µm glasfiberfilter före upprensning. Under kampanj 3 togs proverna ut som stickprover efter att processerna hade stabiliserats direkt i PE-flaskor som frystes.



**Figur 2. Schema över provtagningspunkter vid 2008 års exponering (kampanj 4). Prover för analys togs vid punkterna A2-A7, samt av ingående vatten. A betecknar akvarier för fiskexponering. Vattnet från delström A1 och A2 var referenser till exponeringen av regnbågslax och har inte ingått i analyserna. (bild: Berndt Björlenius)**

Parallellt med provtagningarna för kemisk analys togs prover för ekotoxikologisk testning (Magnus Breitholtz och medarbetare, ITM). Exponering för fisk utfördes dels på plats med regnbåge i genomströmningsakvarier (Joakim Larsson och medarbetare, Göteborgs universitet), dels på uppsamlat vatten som kördes till Uppsala för tester med zebrafisk (Leif Norrgren och medarbetare, SLU). Dessa försök redovisas i separata rapporter.

## Analys av läkemedelsrester

Primärt selekterades 20 substanser utifrån de listor över angelägna läkemedelssubstanser som identifierats av utredningar initierade av Läkemedelsverket (9) och Stockholm Vatten (10).

Följande substanser förekom i båda dessa utredningars prioriteringslistor:

- atenolol, enalapril, metoprolol, furosemid, hydrochlorthiazid (blodtryckssänkande)
- simvastatin (blodfettsänkande)
- diazepam, oxazepam (lugnande)
- dextropropoxifen, diclofenac, paracetamol (smärtstillande)
- ketoprofen, naproxen (inflammationshämmande)
- metformin (mot diabetes)
- cyklofosfamid (cellgift)
- ranitidin (mot magsår)
- terbutalin (mot astma)
- etinylöstradiol, noretisteron, östrogen (hormoner)

En analysmetod för läkemedelsrester i avloppsvatten utvecklades (se Bilaga 2 och referens 1).

Metoden bygger på sekvensiell fastfasextraktion med katjon- respektive anjonbytare, Oasis MCX resp Oasis MAX. Med denna metodik erhålls tre fraktioner från varje prov, en basisk en neutral och en syrafraktion (Figur 2.1). För identifiering och kvantifiering användes Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC) kopplad till hybrid-masspektrometrisk instrumentering, s k QTOF-MS (Quadrupole Time- of-Flight Mass Spectrometer). Tekniken är högupplösande, man kan bestämma massan för en substans med stor noggrannhet, och varje analys tar bara ca 10 minuter. Metodiken utarbetades och validerades först med avseende på de utvalda läkemedelssubstanserna, och applicerades därefter på deras metaboliter.

Metodens utbyte utvärderades genom att tillsätta kända mängder standarder (standardaddition) till ofraktionerade avloppsvatten, och jonsuppressionen (responssänkning som vanligen förekommer vid analys av komplexa prov med elektropray-teknik) mättes genom standardaddition till fraktionerade avloppsvatten. För fyra substanser användes isotopmärkta (deutererade) standarder vid valideringen (D5-oxazepam, D3-paracetamol, D10-carbamazepin och D3-ibuprofen), medan omärkta standarder användes för övriga substanser. Som en oberoende kontroll användes ett tredje adsorbent (Oasis HLB) parallellt. Denna ger endast en fraktion, som är mer komplext sammansatt än de från den sekvensiella metoden, men kan ändå vara ett värdefullt komplement.

Metoden validerades för läkemedelssubstanserna i Tabell 1. Av de ursprungligen utvalda 17 läkemedelssubstanserna saknas i Tabell 1 simvastatin, metformin, dextropropoxifen och diazepam, de två förstnämnda på grund av att de uppvisade lågt utbyte i metodvalideringen, och de två sistnämnda på grund av avsaknad av referenssubstans. Å andra sidan har ibuprofen, carbamazepin och gemfibrozil tillkommit. Dessa tre inkluderades för att få en bättre jämförelse med andra undersökningar. Både ibuprofen och carbamazepin är substanser som vanligen rapporteras från undersökningar av läkemedelsrester i avloppsvatten. Nämnas bör också att oxazepam, förutom att vara en läkemedelsingrediens, också är en metabolit från diazepam. Vad gäller hormoner hänvisas till avsnittet ”Hormoner och hormonstörande substanser och triclosan” nedan.



**Tabell 1. Analyserade läkemedel, användning och egenskaper**

Läkemedel	Användningsområde	pKa <sup>1</sup>	logP <sup>1</sup>
Atenolol	Hjärt- och kärlsjukdomar	9.2	0.1
Carbamazepine	Epilepsi	13.9	2.7
Cyclophosphamide	Kemoterapi	2.8	0.2
Enalapril	Hjärt- och kärlsjukdomar	3.2/5.4	2.4
Gemfibrozil	Lipidreglering	4.8	4.4
Hydrochlorothiazide	Hjärt- och kärlsjukdomar	9.0	-0.1
Ibuprofen	Inflammationshämmande <sup>2</sup>	4.4	3.7
Ketoprofen	Inflammationshämmande <sup>2</sup>	4.2	2.8
Metoprolol	Hjärt- och kärlsjukdomar	9.2	1.8
Naproxen	Inflammationshämmande <sup>2</sup>	4.8	3
Oxazepam	Lugnande	1.7/10.9	2.3
Paracetamol	Smärtstillande	1.7/9.9	0.3
Propranolol	Hjärt- och kärlsjukdomar	9.1	3.1
Ranitidine	Magsår	8.4	1.2
Terbutaline	Astma	9.3	0.5

<sup>1</sup>Data från Scifinder Scholar Version 2006.

<sup>2</sup>NSAID: Non-steroidal antiinflammatory drug

Beskrivningen ovan gällde för provtagningskampanj 1 och 2. Inför kampanj 3 och 4 modifierades analysförfarandet, genom att isotopmärkta referenssubstanter kunnat införskaffas för samtliga analyser. Detta innebär att ett mer rationellt förfarande kunde införas, som inte krävde uppärbetning av dubbla prover (med, respektive utan, tillsats av omärkta standarder).

### Analys av metaboliter

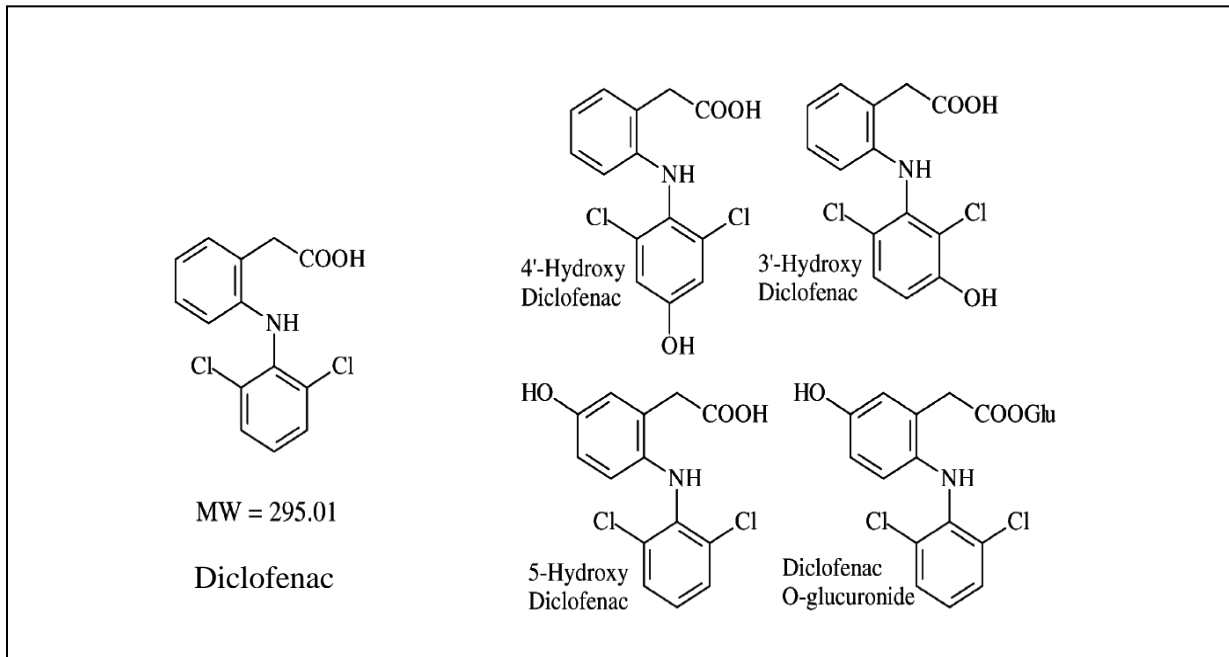
Då kommersiellt tillgängliga referenssubstanter för metaboliter i stort sett saknas, använde vi urinprover från läkemedelskonsumenter som källa till referensmetaboliter.

Följande aktiva substanser hade konsumerats av urinprovlämnare (de som matchar listan av undersökta läkemedel är understruken):

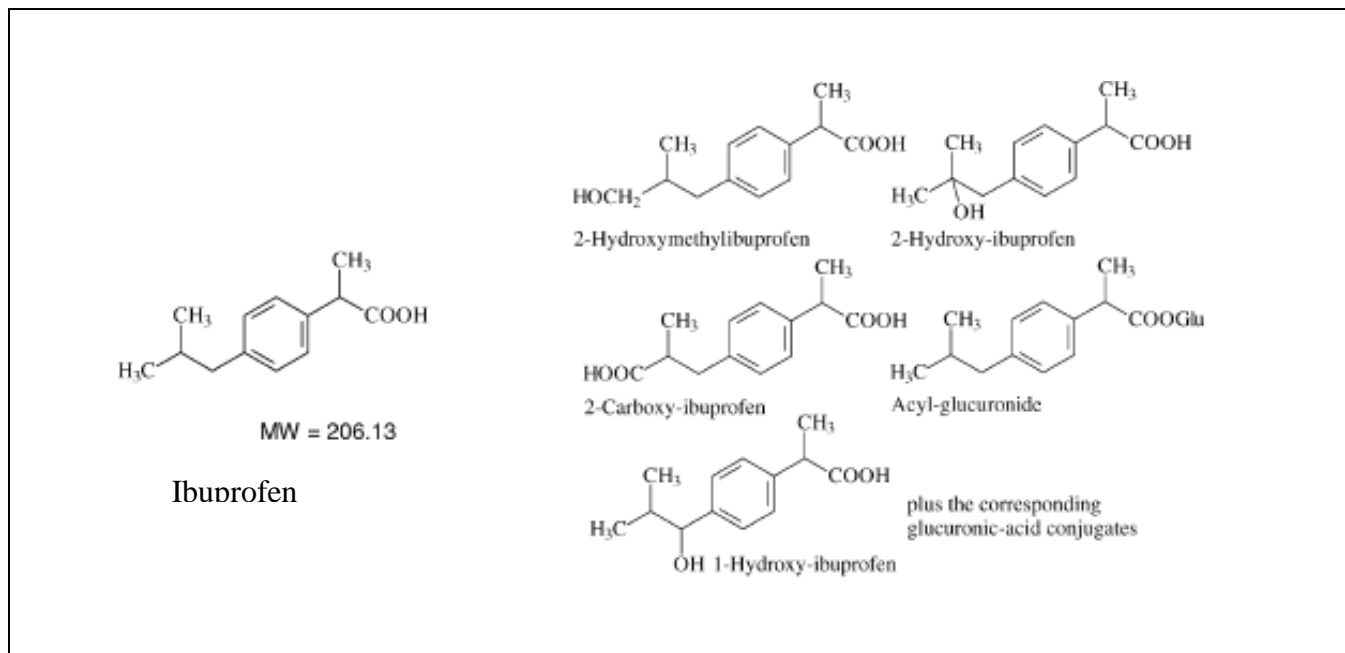
Acetylsalicylsyra, Amiloridhydroklorid, Atenolol, Atorvastatin, Carbamazepin, Diclofenac, Enalapril, Nitrofurantoin, Hydrochlorthiazid, Ibuprofen, Kortison, Metoprolol, Naproxen, Paracetamol, Sertralin och Simvastatin.

Vi sökte även efter metaboliter från de läkemedel för vilka ”referensurin” saknades. I dessa fall utgick vi från litteraturuppgifter om kända metaboliter, exakt massa och förväntade fragment i den masspektrometriska analysen. Figur 3-6 visar strukturer för de läkemedel och metaboliter som identifierades (även här icke identifierade metaboliter från samma moderssubstans förekommer i Fig 3-6).

Alla metaboliter strukturidentifierades med exakt massbestämning och MS/MS som ökar tillförlitligheten i identifieringen. Alla metaboliter i avloppsvatten matchades mot urin innehållande kända läkemedel och deras metaboliter. För en detaljerad beskrivning av analysmetoden för läkemedelsmetaboliter hänvisas till Bilaga 3.



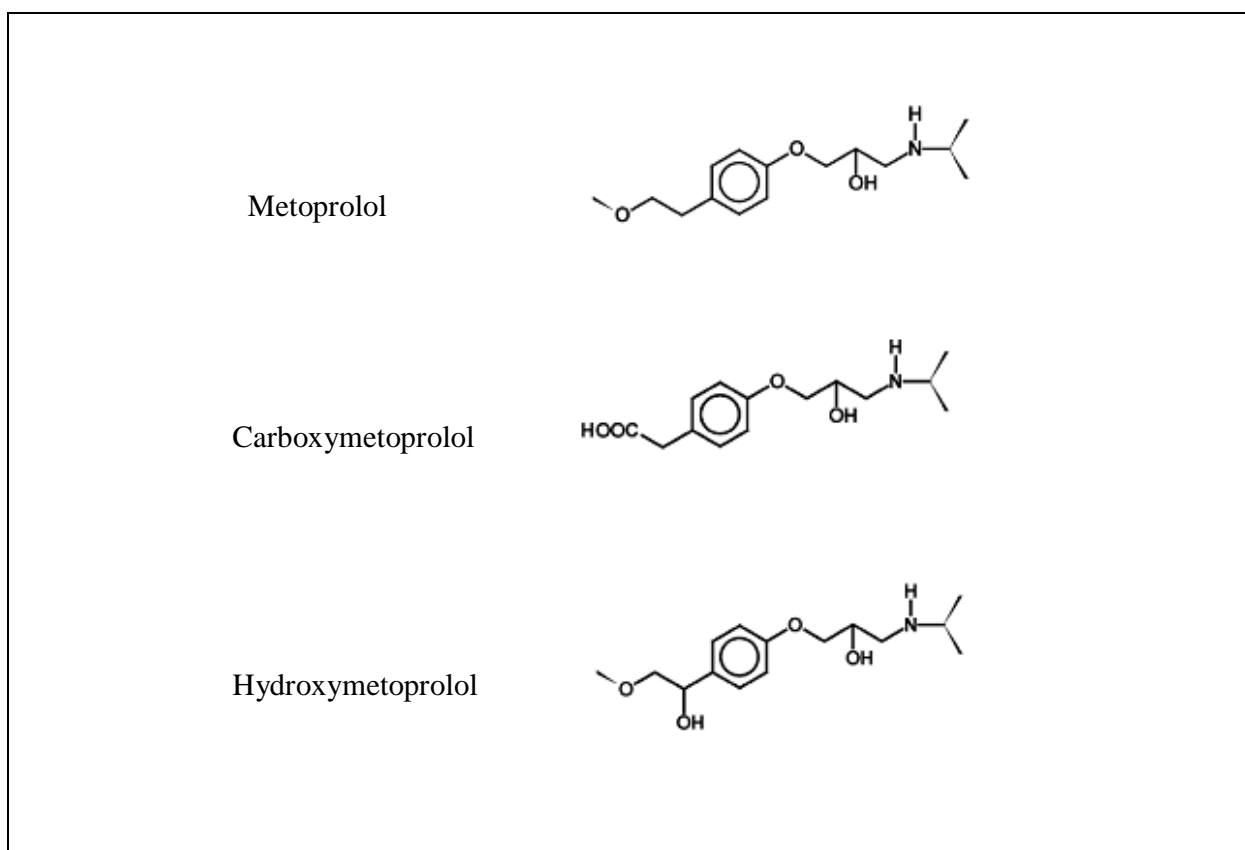
**Figur 3. Diclofenac med metaboliter** (källa: Gentili A., *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387, 1185-1202).



**Figur 4. Ibuprofen med metaboliter** (källa: Gentili A., *Anal Bioanal Chem* 2007, 387, 1185-1202).

	Namn/molekylvikt
	Carbamazepine
	10,11-dihydro-10,11-epoxycarbamazepine
	10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepine
	2-hydroxycarbamazepine
	3-hydroxycarbamazepine
	10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine

**Figur 5. Carbamazepine med metaboliter** (källa: Miao, X.-S. et al., *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39, 7469-7475).



**Figur 6. Metoprolol med metaboliter** (källa: Dumasia, M. C., *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40, 75-81).

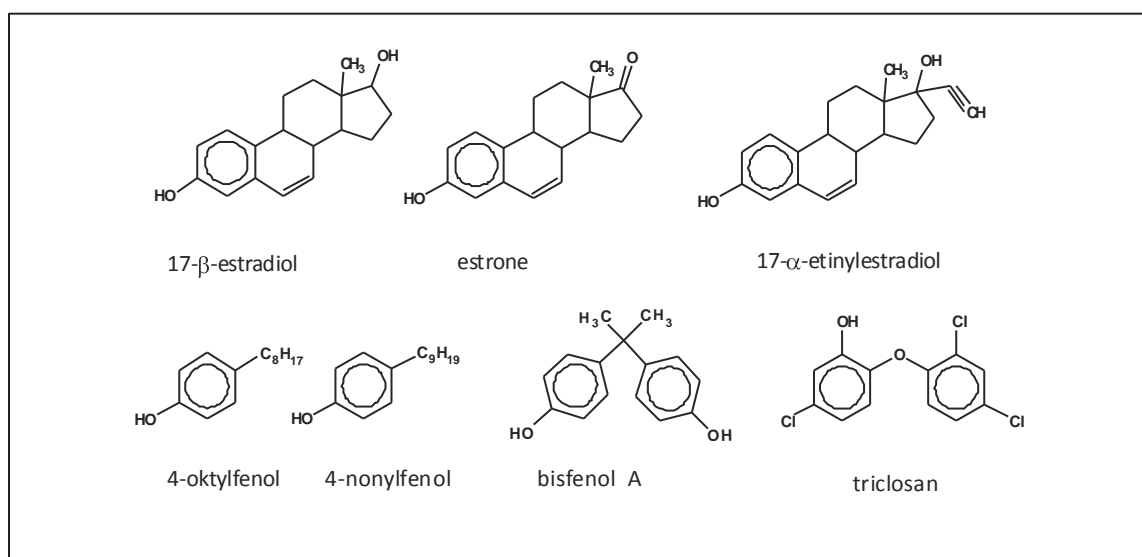
### Multivariat datatolkning

Resultaten från bestämningen av läkemedelsrester och läkemedelsmetaboliter utvärderades bland annat med en multivariat metod, en s.k. principalkomponentanalys (PCA). Mjukvaran som användes var SIMCA-P ver 10. En ”score-plot” i PCA bygger på att objekten (ett objekt = ett provresultat) placeras i en rymd som spänns ut av de ingående variablerna (parametrarna, n st). Objekten (proverna) projiceras sedan i det plan som bäst beskriver punktmängden i den n-dimensionella rymden. Resultatet blir att objekt med likartad profil plottas nära varandra. Genom att jämföra objektplotten med en s.k. variabelplot erhålls en indikation om vilka variabler som styr objektplotten i olika riktningar.

## Analys av hormoner och hormonstörande substanser och triclosan

Från kampanj 1 och 2 analyserades avloppsvattnen med avseende på hormoner (17- $\beta$ -estradiol, estrone, 17- $\alpha$ -etinyloestradiol), hormonstörande substanser (4-oktylfenol, 4-nonylfenol, bisfenol A, och triclosan). Substanserna i avloppsvattnet analyserades enligt en metod utvecklad på laboratoriet (Gunnarsson et al. 2009). I korthet går metoden ut på att substanserna anrikas på en fastfaspatron (ENV+) och störande substanser tvättas bort i två steg. Efter eluering med metanol/metyl-t-butyleter renas extraktet med ytterligare en fastfaspatron (NH<sub>2</sub>)

För att kunna bestämma låga halter av substanserna (sub-ng/L), omvandlas dessa till pentafluorbenzoylstrar som har hög känslighet vid analys med gaskromatografi/masspektrometri med negativ kemisk jonisering (GC/ECNI-MS). Som internstandarder vid kvantifieringen av hormonerna och triclosan användes <sup>13</sup>C-märkta standarder. För bisfenol A användes en deuteriummärkt standard och för nonylfenol en ogrenad isomer som inte förekommer i produkter. Metoden har validerats i en internationell metodjämförelse inom projektet COST 636 (Xenobiotics in the urban water cycle). I jämförelse med 14 andra laboratorier hade vi ett mycket gott resultat



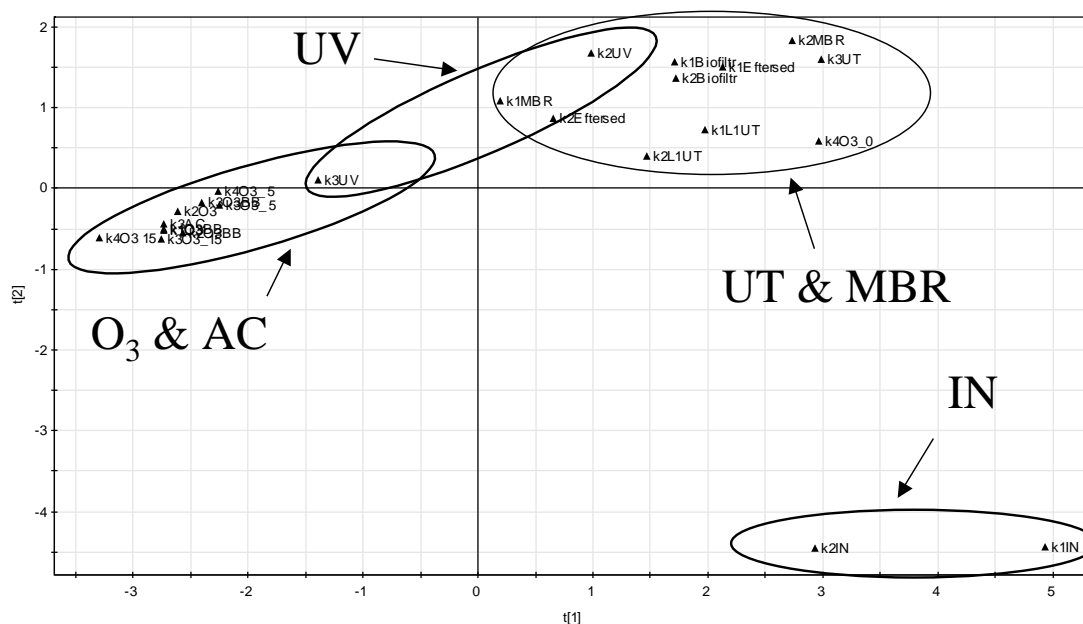
**Figur 7. Strukturformler för substanser med östrogenlik effekt: De naturliga östrogenerna estradiol och estron, det syntetiska östrogenet etinyloestradiol, kemikalierna oktylfenol, nonylfenol, bisfenol A och den antibakteriella substansen triclosan.**

## Resultat

### Förekomst av läkemedelsrester i olika avloppsströmmar

Resultaten för modersubstanser från de tre kampanjerna redovisas i Tabell 1:1-1:5 i Bilaga 1. För att lättare kunna jämföra resultaten presenteras resultaten även i figurer, Figur 8-13.

Med multivariatanalys erhålls en översikt över resultaten, och man kan med principalkomponentanalys gruppera proverna på basis av deras koncentrationsprofiler avseende t ex modersubstanser. Resultatet av en sådan analys i form av en s k objektplot ses i Figur 8. I en objektplot hamnar objekt med liknande profil ("fingerprint") nära varandra. I figuren har objekt som "hör ihop" ringats in med olika stora ellipser. Ellipsernas storlek avspeglar spridningen inom gruppen. Ju mer samlad en grupp är, desto mer lika varann är de ingående objektens "fingerprint". Av Figur 8 framgår att materialet kan delas upp i tre huvudgrupper, bestående av 1) obehandlat avloppsvatten (IN), 2) vatten behandlat i Henriksdalsverkets normala process samt vatten från membranbioreaktorn och 3) vatten renat med ozon eller aktivt kol. UV- och väteperoxidbehandlat vatten utgör en grupp som överlappar grupp 2 och 3.

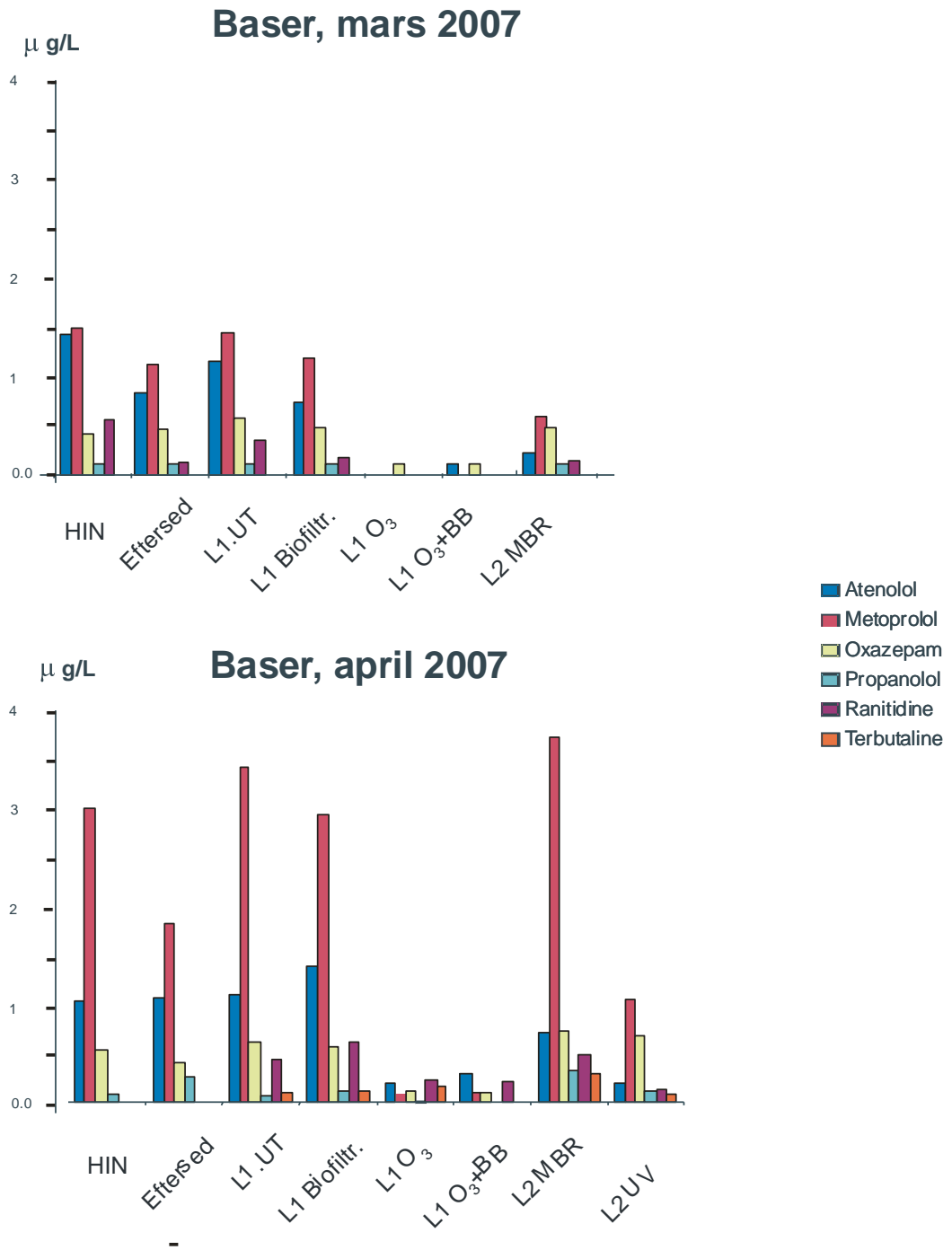


**Figur 8. PCA-plot, s k objektplot, baserad på avloppsströmmarnas innehåll av modersubstanser (läkemedelsrester). O<sub>3</sub> : ozonbehandlat; AC: aktivt kol; UV: UV- och väteperoxidbehandlat; UT: Henriksdal UT; MBR: membranbioreaktor; IN: Henriksdal IN. K1, k2, k3 respektive k4 i objektnamn anger provtagningskampanj.**

Mer detaljerade grafer som visar koncentrationerna av de analyserade läkemedelssubstanserna presenteras nedan. Data från kampanj 1 och 2 jämförs med varandra eftersom avloppsvatten från samma reningstekniker samlades in och analyserades, med undantag för "UV+väteperoxid" som inte fanns med i kampanj 1. Resultaten från kampanj 3 och 4 presenteras separat eftersom försöksupställningen var olik den för kampanj 1 och 2.

## Kampanj 1 och 2, basiska

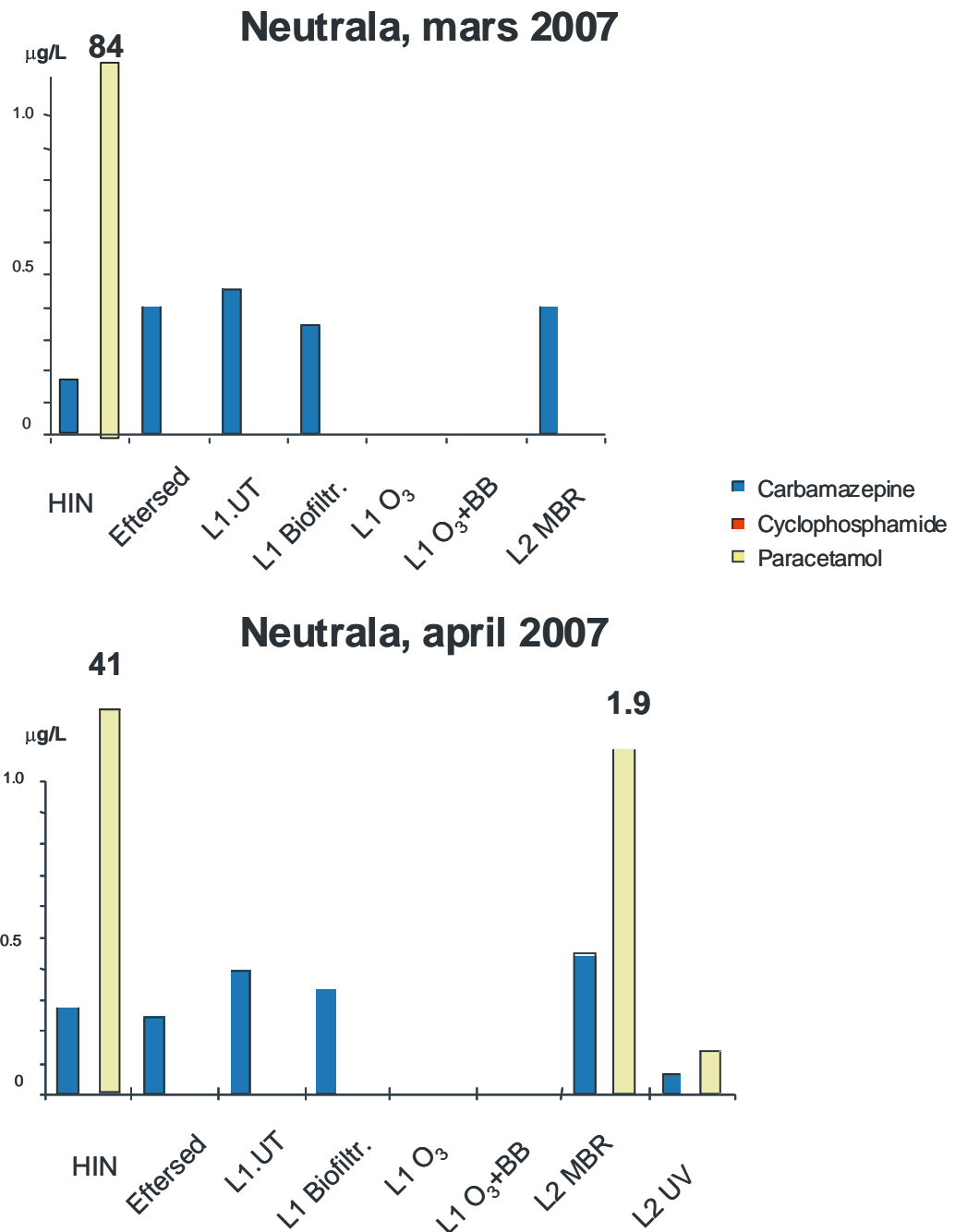
Av Figur 9 framgår att koncentrationerna av de basiska läkemedlen atenolol, metoprolol, propranolol, oxazepam, ranitidin och terbutalin framförallt reducerades av ozon (båda kampanjerna). Även UV i kombination med väteperoxid reducerade basernas koncentrationer, men inte till samma grad (april -07, L2 UV jmfrt med L2 MBR). För biofilter respektive membranbioreaktor var reningsgraden med avseende på de basiska läkemedlen endast marginell om ens detekterbar.



**Figur 9.** Koncentrationer av basiska läkemedel i olika avloppsströmmar vid de två kampanjerna 2007.

## Kampanj 1 och 2, neutrala

Av de neutrala läkemedlen som undersöktes är det framförallt carbamazepin som är intressant (Figur 10). Cyklofosfamid detekterades endast i ett fåtal fall (kampanj 4, mars -08), och paracetamol eliminerades, trots höga halter i ingående vatten (84 respektive 41  $\mu\text{g/L}$ ), effektivt i första reningssteget. Membranbiofiltrerat vatten från linje två (april -07) utgjorde ett undantag i detta avseende. Carbamazepine å andra sidan var relativt persistent mot de biologiska reningsteknikerna, men koncentrationerna av carbamazepin reducerades av ozon och även av UV och väteperoxid.

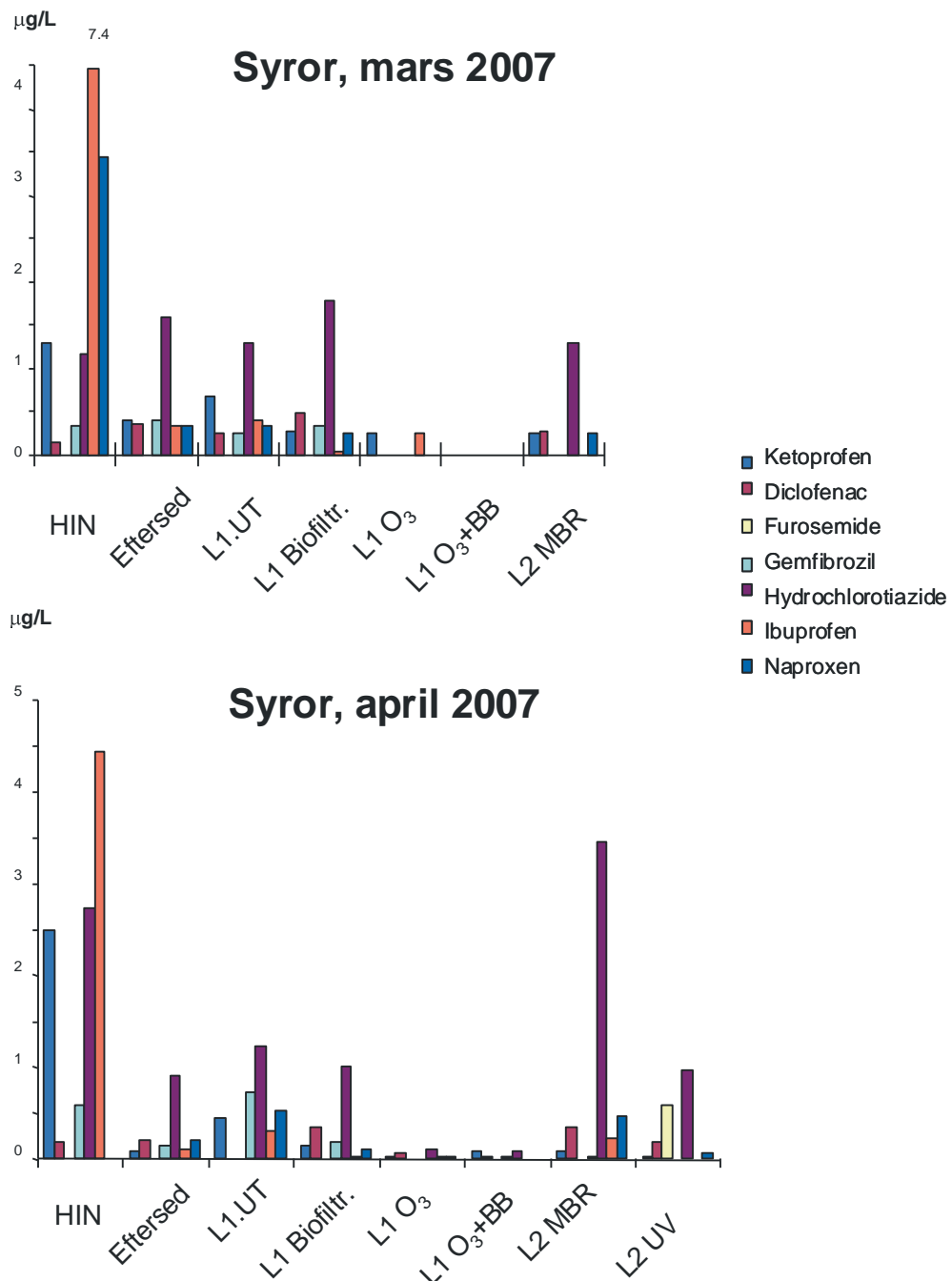


Figur 10. Koncentrationer av neutrala läkemedel i olika avloppsströmmar vid kampanj 1 och 2.



## Kampanj 1 och 2, sura läkemedel

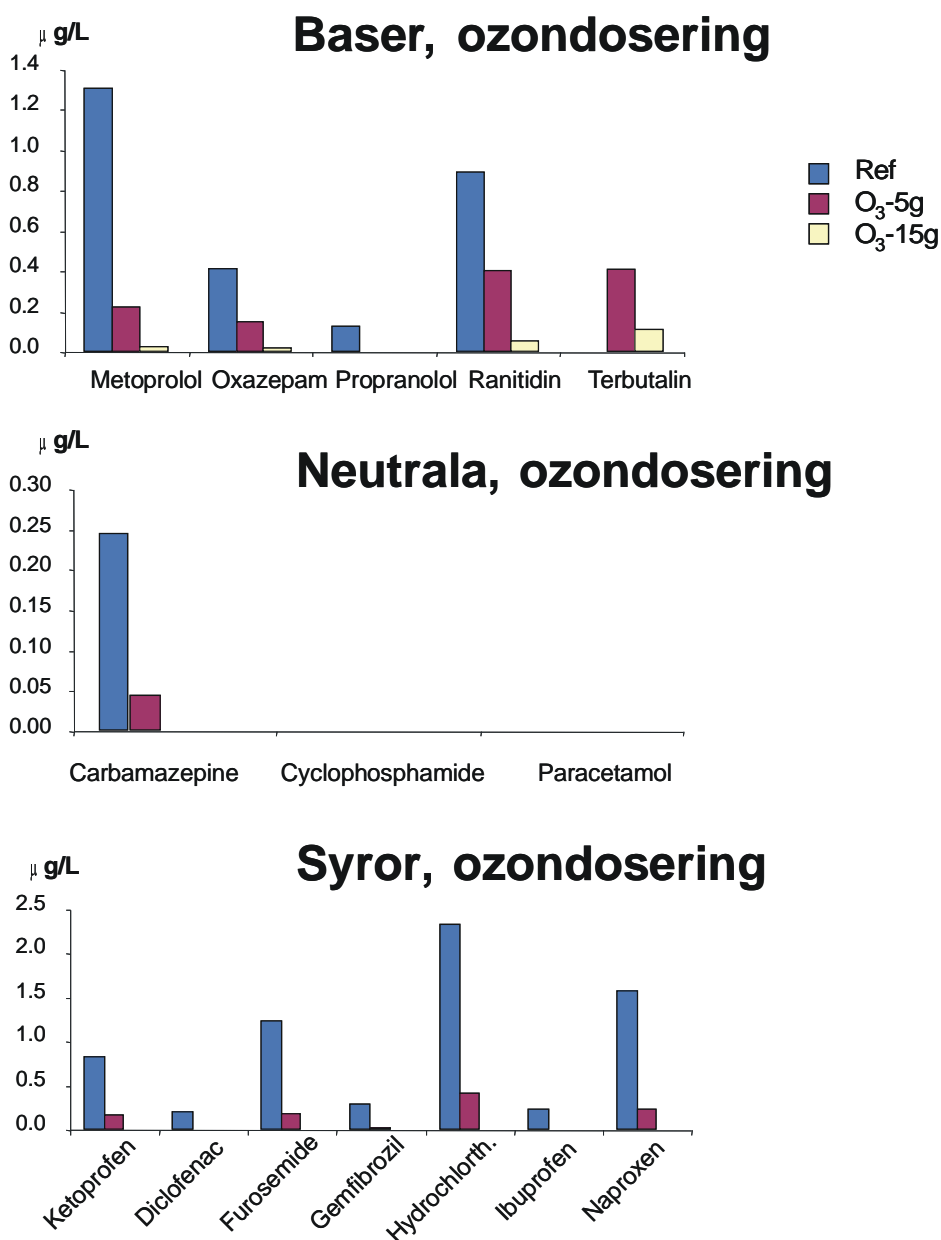
Av de sura läkemedlen utmärkte sig ibuprofen med höga halter i ingående vatten (7.4 och 4.7 ug/L, mars -07 respektive april -07). Även naproxen, ketoprofen och hydrochlortiazid förekom i ingående vatten i halter över 1 ug/L (Figur 11) Data för furosemid bedömdes som alltför osäkra (låg utbyte av adderad standard) för att rapporteras från kampanj 1 och 2, men från mars -08, då analysmetoden fungerade bättre för furosemid (bättre utbyte av adderad standard), visade det sig att även denna sura läkemedelssubstans kan förekomma i halter över 1 ug/L, t o m i utgående vatten (Figur 13). De sura substanserna avlägsnas i varierande grad av de olika teknikerna. Hydrochlortiazid är den som förekommer i högst halt i de renade vattnen, vilket till viss del kan förklaras av de höga ursprungshalterna.



Figur 11. Koncentrationer av sura läkemedel i olika avloppsströmmar vid kampanj 1 och 2.

### Kampanj 3, ozondosering

I avsikt att optimera reningen med ozon gjordes även försök med olika ozonhalter. Två nivåer av ozon 5 respektive 15 g/m<sup>3</sup>, samt en referens utan ozontillsats testades. Resultaten visas i Tabell 1:3 och Figur 12. Som framgår av Figur 12 var ozonrening effektivt även i detta försök, för både basiska, neutrala och sura substanser. För de substanser som detekterades i vattnet som behandlats med 15 g ozon/m<sup>3</sup>, dvs metoprolol, oxazepam och ranitidin (samtliga baser) var reningsgraden 95-98 %. Det framgår också att reningen blir effektivare vid den högre ozondoseringen än vid den lägre.

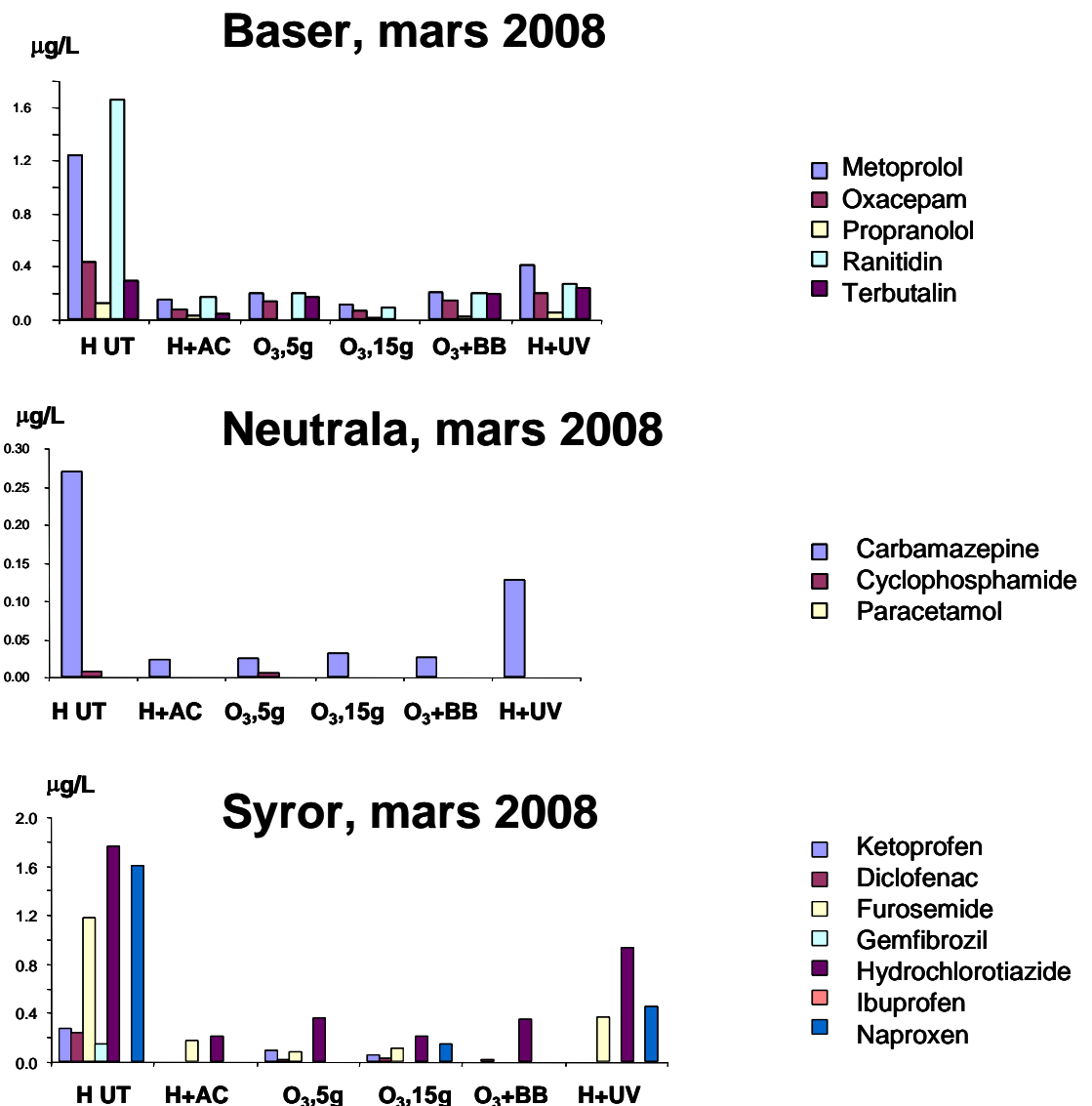


Figur 12. Koncentrationer av läkemedelssubstanser vid tillsats av ozon: 0, 5, respektive 15 g ozon/m<sup>3</sup> avloppsvatten (Henriksdal UT), vid kampanj 3 (feb -08).

## Kampanj 4

Vid kampanj 4 i mars 2008 testades de reningstekniker som visat mest lovande resultat i de föregående försöken. Dessutom inkluderades aktivt kol, en reningsteknik som inte testats tidigare i projektet. De övriga var ozon, 5 respektive 15 g/m<sup>3</sup>, ozon 5g + biobädd, samt UV+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ingående vatten till alla reningsstegen utgjordes av "Henriksdal UT".

Som framgår av Figur 13 var aktivt kol och ozon de mest effektiva teknikerna. För baser gav 15 g ozon/m<sup>3</sup> den bästa reningen följt av aktivt kol, för neutrala var aktivt kol bäst och för syror var "ozon 5g + biobädd" effektivast.



Figur 13. Koncentrationer av basiska, sura och neutrala läkemedelssubstanser i kampanj 4, mars 2008. H UT: Henriksdal ut; H+AC: "H UT" filtrerat genom aktivt kol; O<sub>3</sub>, 5g; O<sub>3</sub>, 15 g: "H UT" behandlat med 5 resp 15 g O<sub>3</sub>/m<sup>3</sup>; O<sub>3</sub>+BB: "H UT" behandlat med O<sub>3</sub> följt av biobädd.

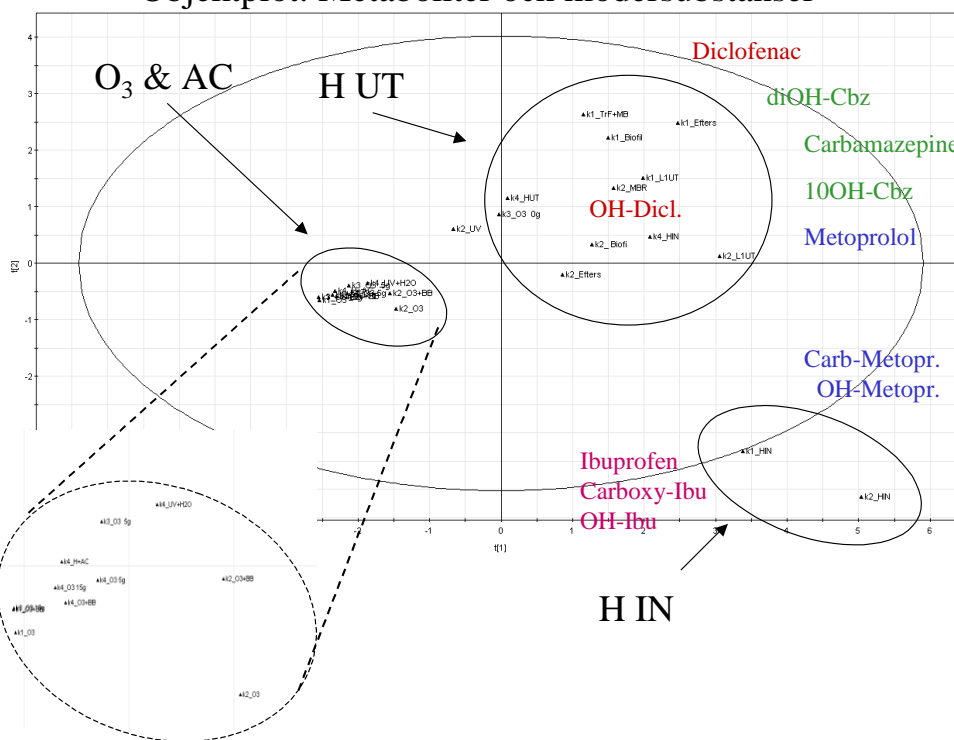
## Resultat läkemedelsmetaboliter

Metaboliter från fyra av målsubstanserna kunde identifieras i avloppsvattenproverna. De fyra målsubstanserna var ibuprofen, diclofenac, metoprolol och carbamazepine. Metaboliterna var samtliga Fas 1-metaboliter, dvs hydroxylerade eller karboxylerade former av ursprungssubstansen. Konjugerade former, Fas 2-metaboliter, detekterades ej från någon av målsubstanserna, vare sig i ingående eller utgående avloppsvatten, trots att dessa, framförallt glukuronidkonjugaten, var dominerande i urinproverna. Upprening och analys av urinprover pekar på att utbytet för t ex glukuronid-diclofenac och glukuronid-ibuprofen är tillräckligt högt (ca 70 % eller högre) vid SPE (HLB) upprening för att detektera dessa om de verkligen finns i ingående vatten. Den troligaste förklaringen till att de ej detekterades i avloppsvattnet är att konjugaten återbildas till modersubstanserna, samt hydroxylerade och karboxylerade former av dem, genom inverkan av enzymer som finns i avloppssystemet

En översiktlig bild av resultaten avseende metaboliter och tillhörande modersubstanser ges i Figur 14 (jmf Fig 8). I figuren har även variablerna inkluderats. Placeringen av variabelnamnet indikerar i vilken riktning de påverkar plotten, eller ”spänner ut” planet som plottats. Liksom för modersubstanserna i Figur 8, separeras objekten i Figur 14 huvudsakligen i tre grupper: 1) inkommande vatten (H IN), 2) utgående vatten (H UT) samt 3) extra processat vatten (O<sub>3</sub> & AC). Det mest tydliga exemplet på hur variabler och objekt hänger ihop i plotten utgörs av ibuprofen och hydroxy-ibuprofen. Dessa variabler ”drar ut” plotten i riktning mot ”H IN”, vilket verifieras av profilerna i figur 15. Ibuprofen och dess metaboliter förekommer huvudsakligen i ingående vatten, vilket alltså avspeglas i figuren. Uppdelningen i grupper är inte knivskarp, så tillvida att t ex att IN-provet från kampanj 4 hamnat i UT-gruppen. Vattnen som behandlats med biologiska metoder har, liksom i Figur 8, plottats i UT-gruppen. Gruppen ”O<sub>3</sub> & AC” är väl samlad, huvudsakligen beroende på de låga halterna, i flera fall under detektionsgränserna, vilket gör att profilinformationen från dessa objekt blir väldigt begränsad (kan jämföras med svaga fingeravtryck). Objekt som plottats utanför den stora ellipsen (dvs utanför det 95-procentiga konfidensintervallet) kan sägas avvika väsentligt från övriga objekt. Sådana avvikande objekt brukar kallas ”outliers” och representerar i figur 14 prover från ingående vatten.

Metaboliter detekterades i prov från samtliga reningssteg, även i de mest effektivt renade vattnen. Detta kan vara en indikation på att de bildas i de olika reningsstegen, men eftersom halterna av metaboliter inte är högre i utgående än ingående vatten går det inte att säga med säkerhet att det är så. Enheten för koncentration i figurerna har markerats med citationstecken (”µg”/L) då vi antagit att metaboliterna har samma respons som respektive modersubstans. I avsikt att få jämförbarhet mellan modersubstans och respektive metabolit har toppytorna i masskromatogrammen normerats mot interna standards (deutererade analoger till oxazepam, ibuprofen och carbamazepin). Härigenom kan halterna av modersubstans och metabolit jämföras relativt varandra efter de olika reningsstegen.

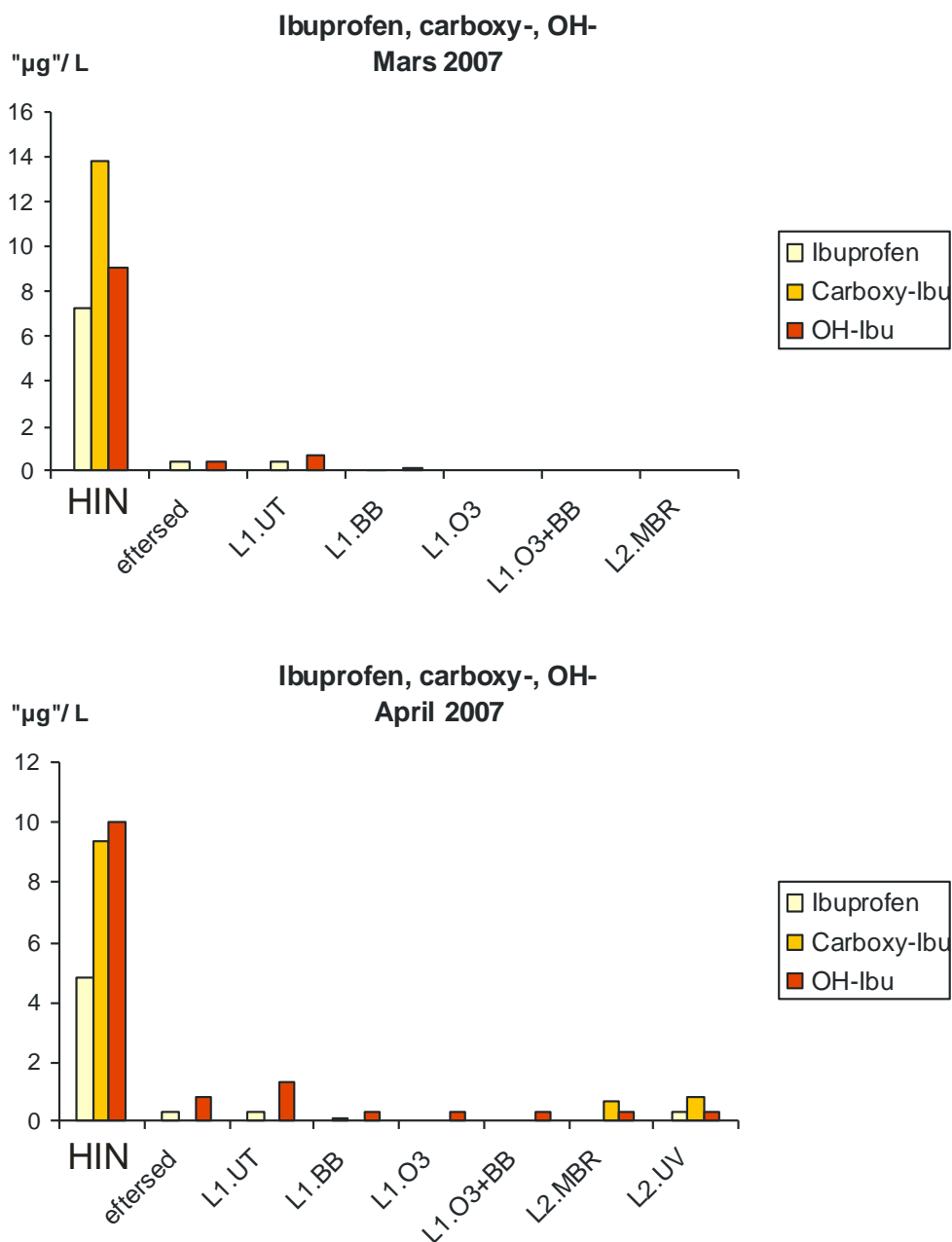
### Objektplot: Metaboliter och modersubstanser



**Figur 14.** Objektplot från principalkomponentanalys av resultaten avseende metaboliter och respektive modersubstans från kampanj 1-4. I figuren är markerat vilka variabler (analyser, substanser) som "spänner ut" planet i olika riktningar. De streckade linjerna i nedre vänstra hörnet markerar att "O3 & AC"-gruppen förstorats för bättre läsbarhet. K1, k2, k3 respektive k4 i objektnamn anger provtagningskampanj.

## Ibuprofen, karboxy- och hydroxyibuprofen

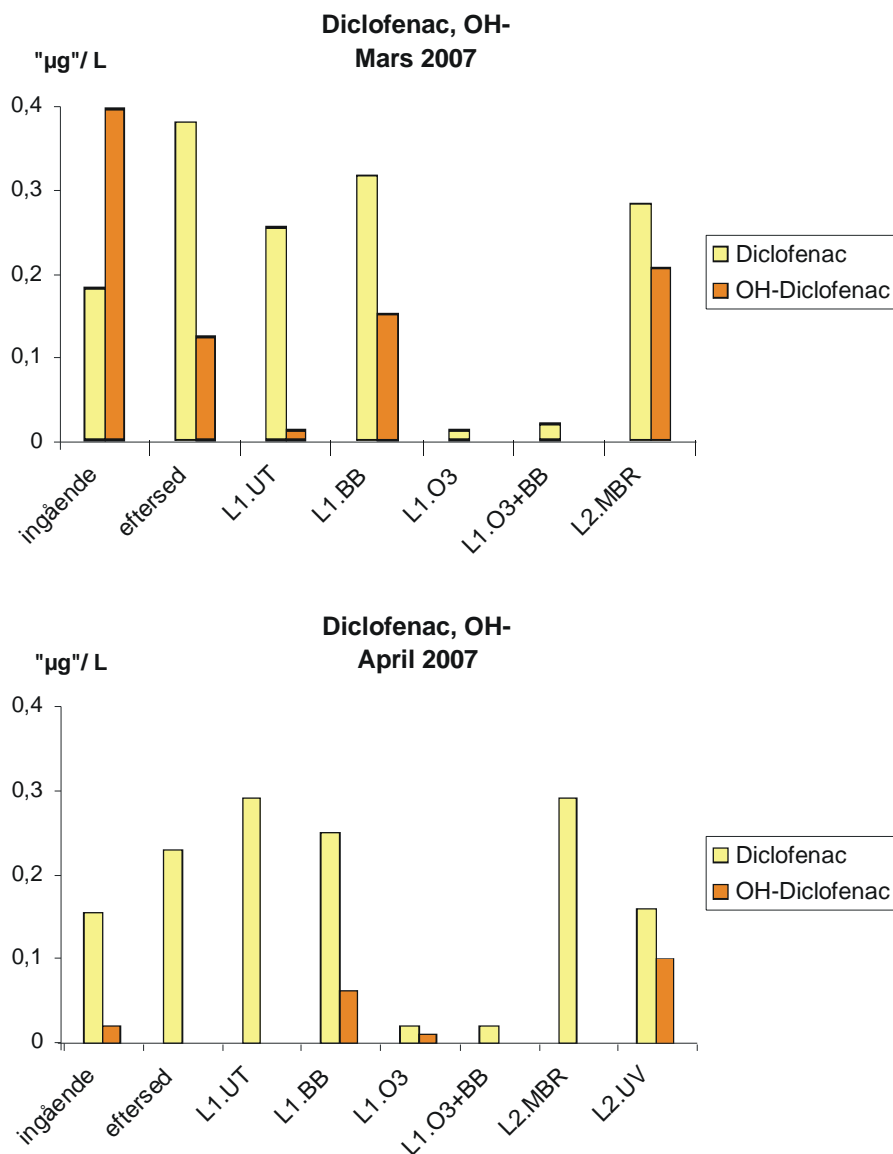
Den korrekta beteckningen på de här rapporterade ibuprofenmetaboliterna är sannolikt 2-hydroxyibuprofen respektive 2-karboxyibuprofen i enlighet med referens 4. Halterna av båda metaboliterna var högre än för ibuprofen i ingående vatten vid båda provtagningstillfällena 2007, Figur 15, vilket framstår som ett rimligt resultat. Enligt uppgifter refererade i ref 4 utsöndras 15 % av ibuprofen som modersubstans, 26 % som hydroxy- och 43 % som karboxy-ibuprofen, inklusive konjugat. Reningseffektiviteten var relativt god för båda ibuprofenmetaboliterna, >ca 90 % efter samtliga reningssteg.



Figur 15. Koncentrationer av ibuprofen, karboxy- och OH-ibuprofen i avloppsströmmar från kampanj 1 och 2.

## Diclofenac och hydroxydiclofenac

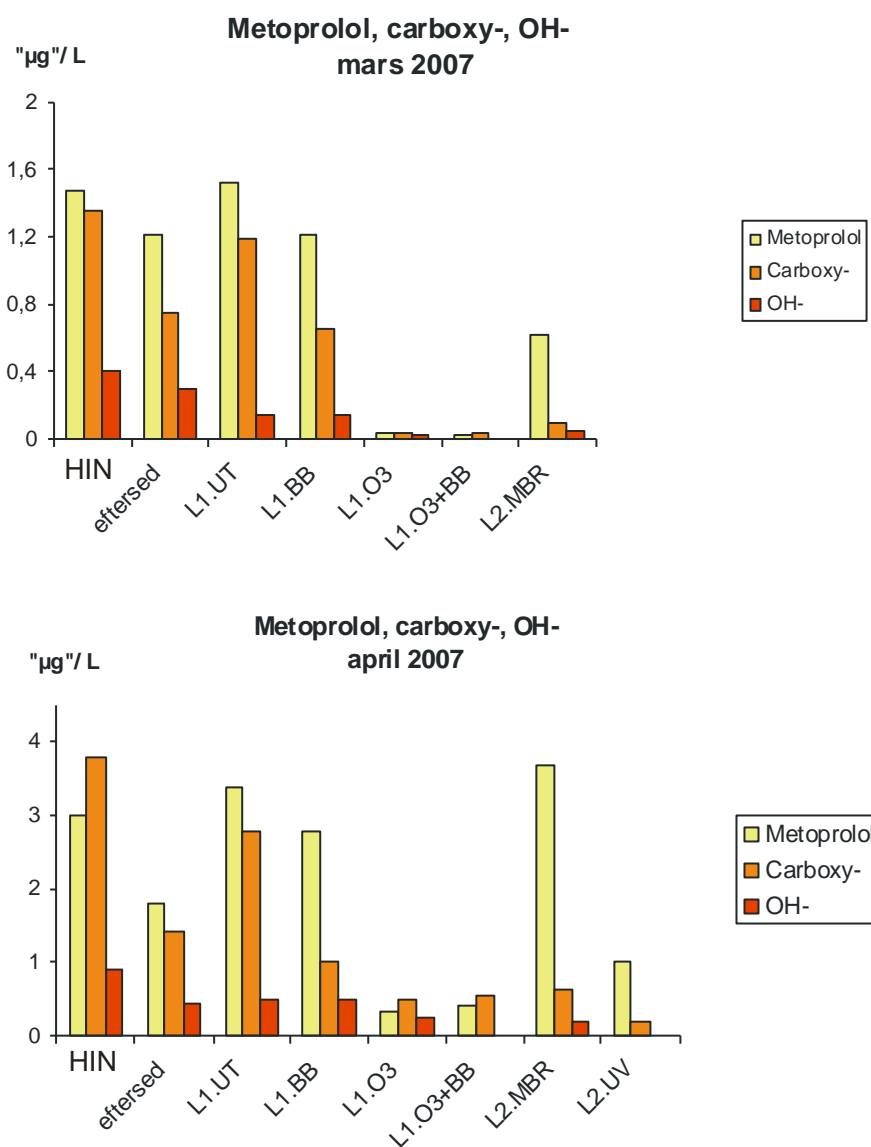
En hydroxylerad metabolit av diclofenac detekterades i ingående vatten vid kampanj 1 och 2 (figur 16), samt 4 (Figur 20). Vid kampanj 1 uppvisade denna metabolit den högsta koncentrationen ca 2 gånger så hög koncentration som modersubstansen diclofenac. Liknande resultat rapporterades av Pérez och Barcelo, 2008 (3), som refererade till studier på människa där utsöndringen av intakt diclofenac i urin var 6.2 % och utsöndringen av 4'-OH-diclofenac uppgick till 16 % (inklusive glukuronidkonjugat). Relativt höga koncentrationer av hydroxydiclofenac uppmättes i det membranbioreaktorbehandlade vattnet vid kampanj 1, och UV+väteperoxidbehandlade vattnet vid kampanj 2. Vid båda tillfällena var halterna i de ozonrenade vattnen låga.



**Figur 16. Koncentrationer av diclofenac och OH-diclofenac i avloppsströmmar från kampanj 1 och 2.**

## Metoprolol, karboxy- och hydroxymetoprolol

I denna undersökning identifierades två metaboliter av metoprolol, karboxylerad respektive hydroxylerad metoprolol, Figur 17. Vad vi vet så har metaboliter av metoprolol tidigare ej rapporterats från studier på avloppsvatten. Membranbioreaktorn och "UV+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>" förefaller effektivare än "L1UT" och "L1 Biofilter" vad gäller att reducera metaboliternas koncentration. Ozon reducerade metaboliternas koncentration i liknande grad, och reducerade dessutom koncentrationen av modersubstansen metoprolol mer effektivt.

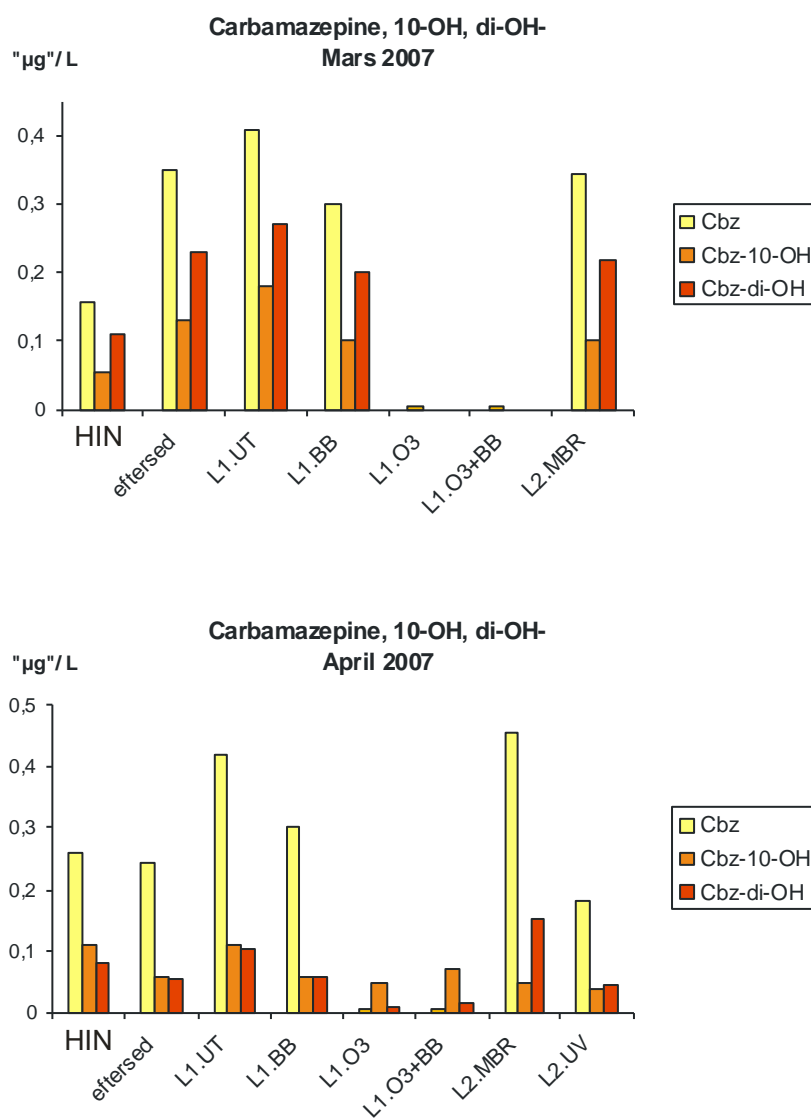


**Figur 17. Koncentrationer av metoprolol, carboxy- och OH-metoprolol i avloppsströmmar från kampanj 1 och 2.**



## Carbamazepine, 10-hydroxy- och dihydroxycarbamazepine

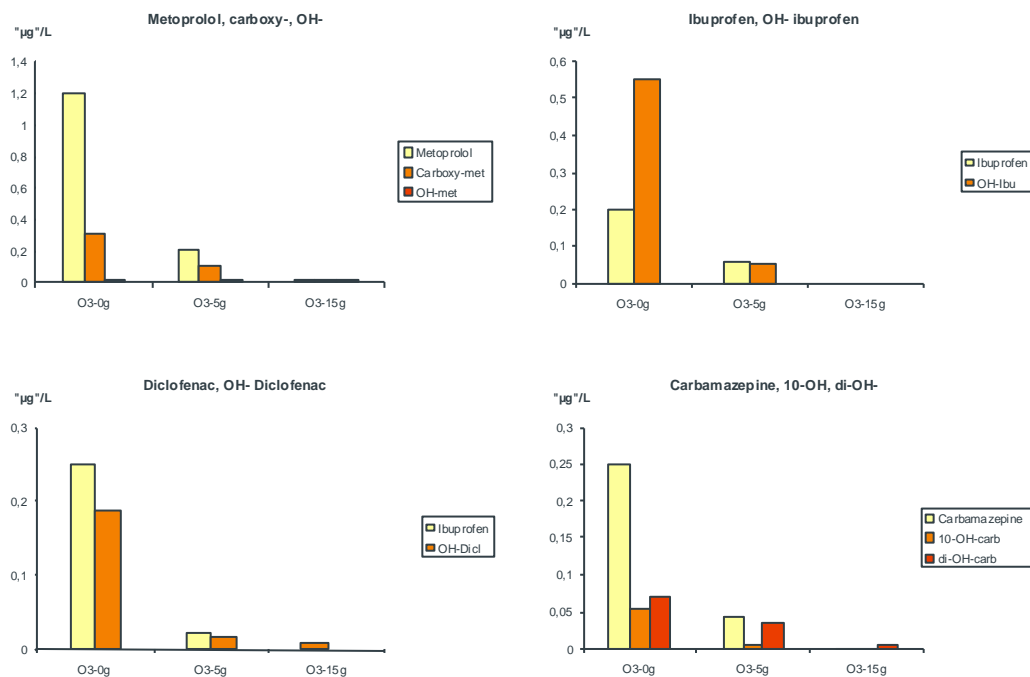
Två metaboliter av carbamazepin detekterades i alla vatten. Fragmenteringsmönster och exakta masstal stämmer bra med urinprov, liksom en jämförelse med litteraturen om vilka metaboliter som kan förväntas förekomma. Den exakta strukturen för den detekterade di-hydroxylerade metaboliten, är sannolikt 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepine (4), se figur 5. Denna metabolit har rapporterats kunna utgöra 34.6 % av summan av carbamazepine och dess metaboliter i urin från havande kvinnor som konsumerat carbamazepine (Bernus et al., 1995, refererad i ref.4). Identiteten hos den hydroxylerade metaboliten, 10-hydroxy-carbamazepine, kunde bestämmas tack vare att dess molekylvikt avviker från övriga hydroxylerade eller epoxiderade former av carbamazepine.



Figur 18. Koncentrationer av carbamazepine, 10-OH- och diOH-carbamazepine avloppsströmmar från kampanj 1 och 2.

## Ozondosering

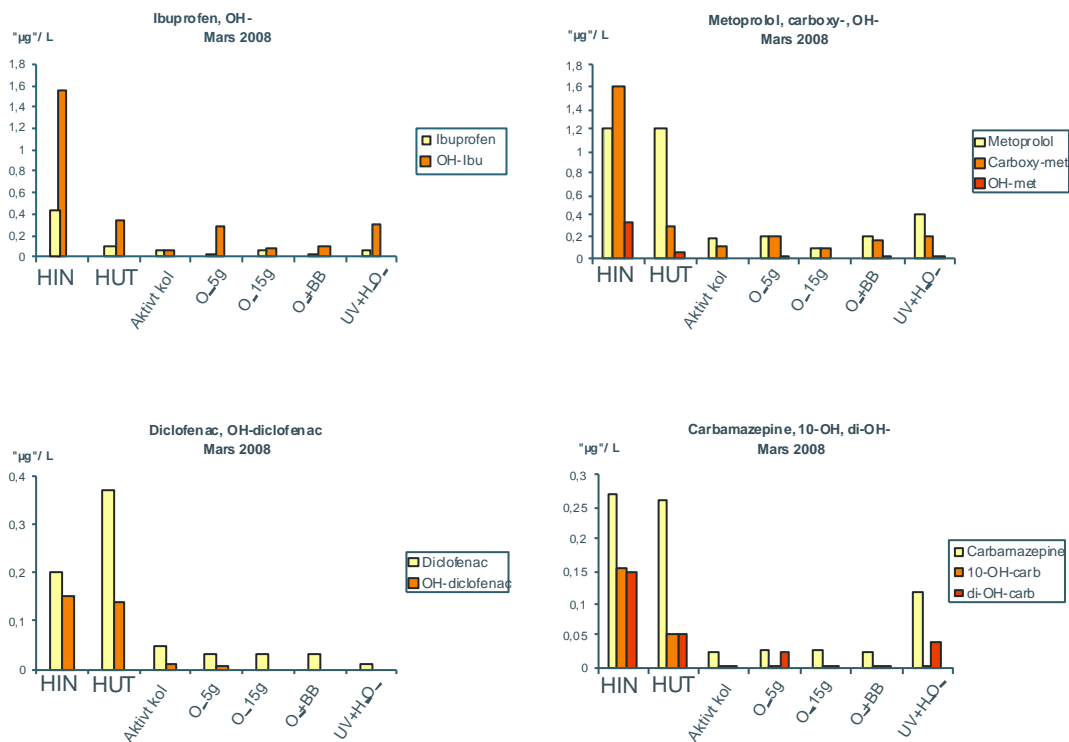
Effekten av olika ozonkoncentrationer på metaboliterna ses i Figur 19. Som framgår av figuren reducerades koncentrationerna av alla analyserade metaboliter samt deras modersubstanser mest vid den högsta ozonhalten, 15 g ozon/m<sup>3</sup> avloppsvatten.



**Figur 19. Koncentrationer av ibuprofen, diclofenac, metoprolol, carbamazepine, samt deras metaboliter vid kampanj 3.**

## Ozondosering, ozon+biobädd,UV+väteperoxid och aktivt kol

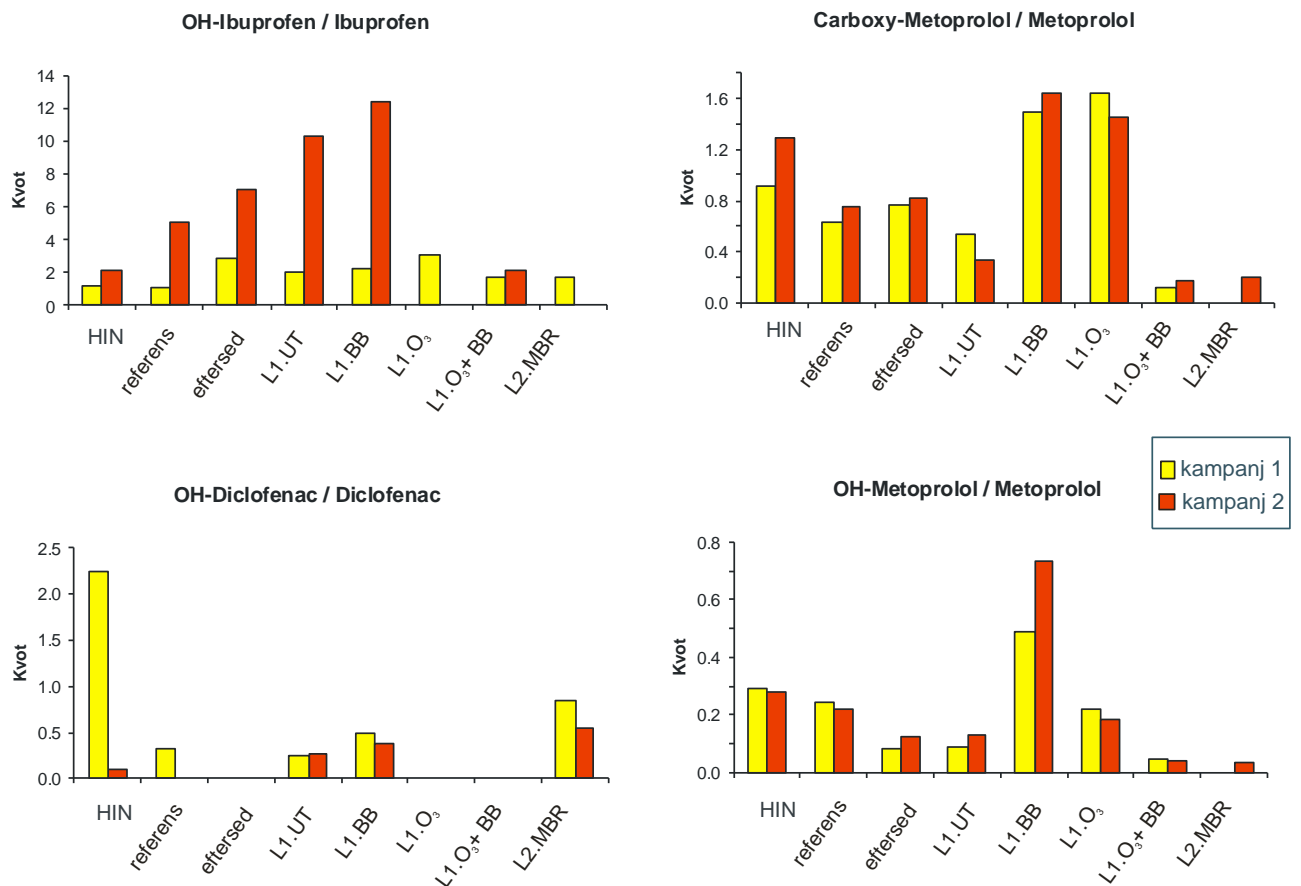
Metaboliterna analyserades i vattnen från kampanj 4, som omfattade förutom ozon, 5 respektive 15 g/m<sup>3</sup>, även ozon 5g + biobädd, UV+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> samt dessutom aktivt kol ("AC"), se Figur 20. Generellt kan dras samma slutsats för metaboliterna som för modersubstanserna, att aktivt kol och ozon var de mest effektiva reningsstegen.



**Figur 20. Koncentrationer av ibuprofen, diclofenac, metoprolol, carbamazepine, samt deras metaboliter vid kampanj 4.**

## Bildas metaboliter av reningsprocesserna?

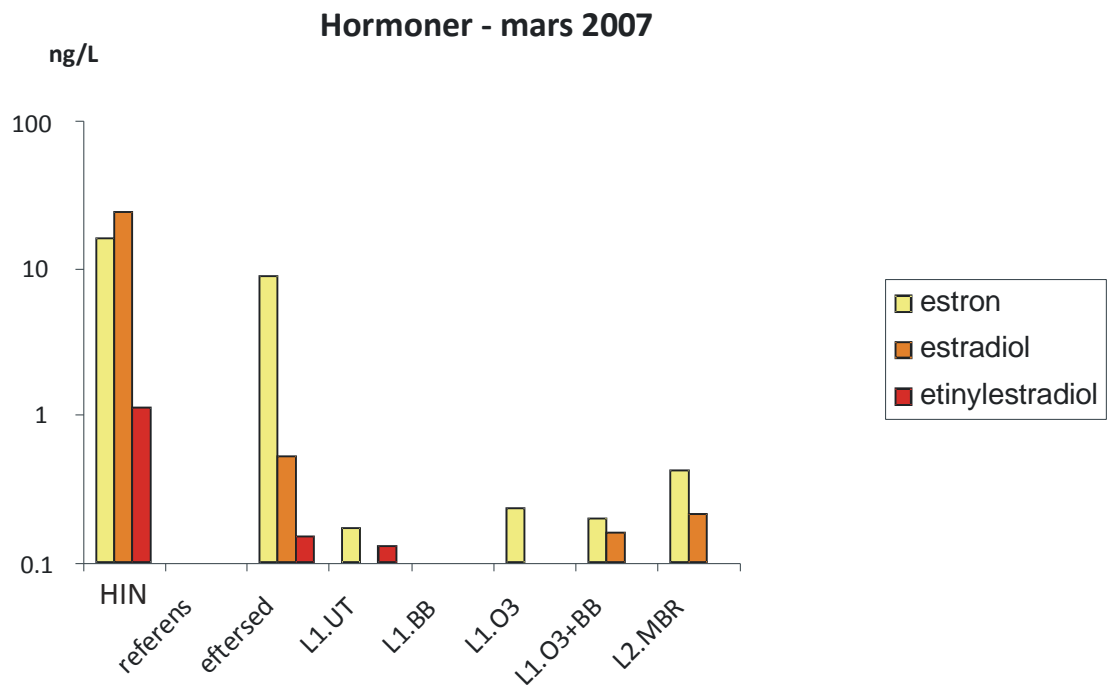
I Figur 21 plottas förhållandet mellan koncentrationerna av läkemedelssubstanser och deras metaboliter efter olika reningssteg vid kampanj 1 och 2. Detta gjordes för att dels ge en bild av reproducerbarheten vid dessa försök, men också för att få en indikation om huruvida metaboliterna bildas från modersubstanserna i de olika reningsprocesserna. För OH-Ibuprofen är bilden i Figur 21 inte entydig, genom att metaboliten ökar kraftigt i förhållande till modersubstans fram till ozonsteget under kampanj 1, medan endast en måttlig ökning av kvoten erhöles under kampanj 2. För de tre övriga metaboliterna överensstämmer trenderna i kampanj 1 och 2 mycket bra. Däremot kan man inte dra slutsatsen att metaboliterna bildas under reningsprocesserna bara därför att kvoten metabolit/modersubstans ökar. Det kan ju vara så att metaboliterna är mer motståndskraftiga mot nedbrytning/omvandling än modersubstanserna. I regel ökade inte koncentrationen av metaboliterna efter rening.



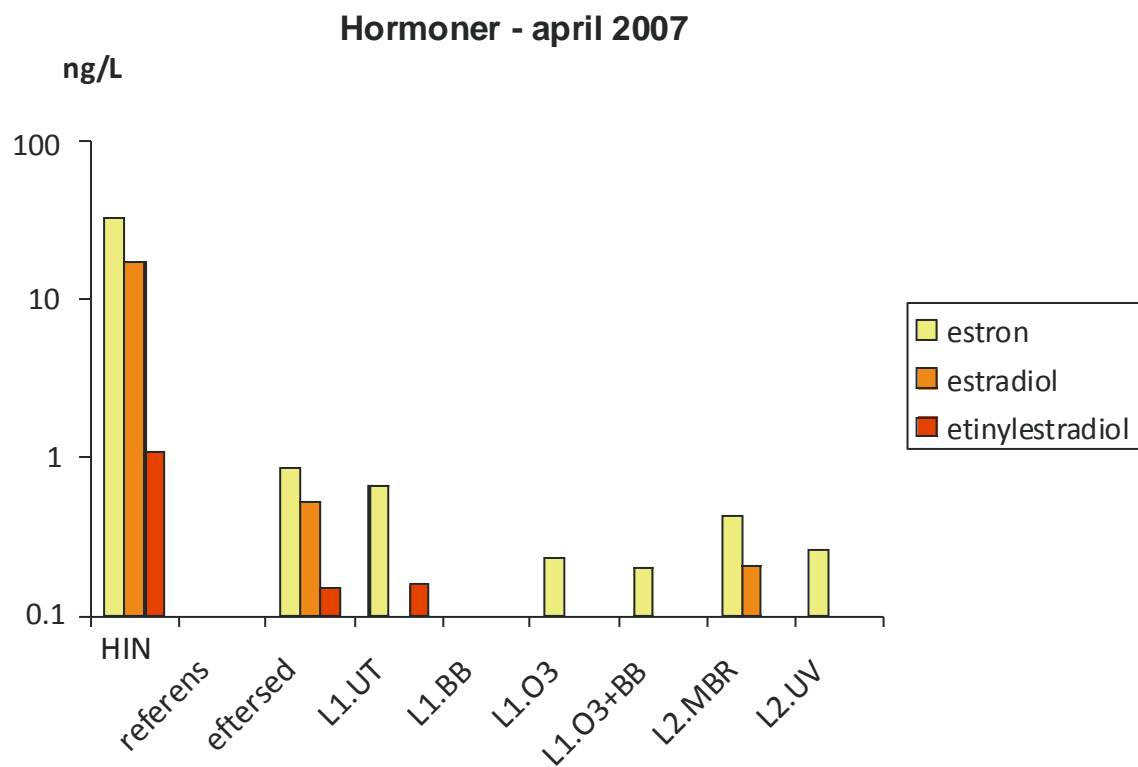
Figur 21. Kvoten mellan metaboliterna och respektive modersubstans vid kampanj 1 och 2.

## Resultat hormoner, hormonstörande ämnen samt triclosan

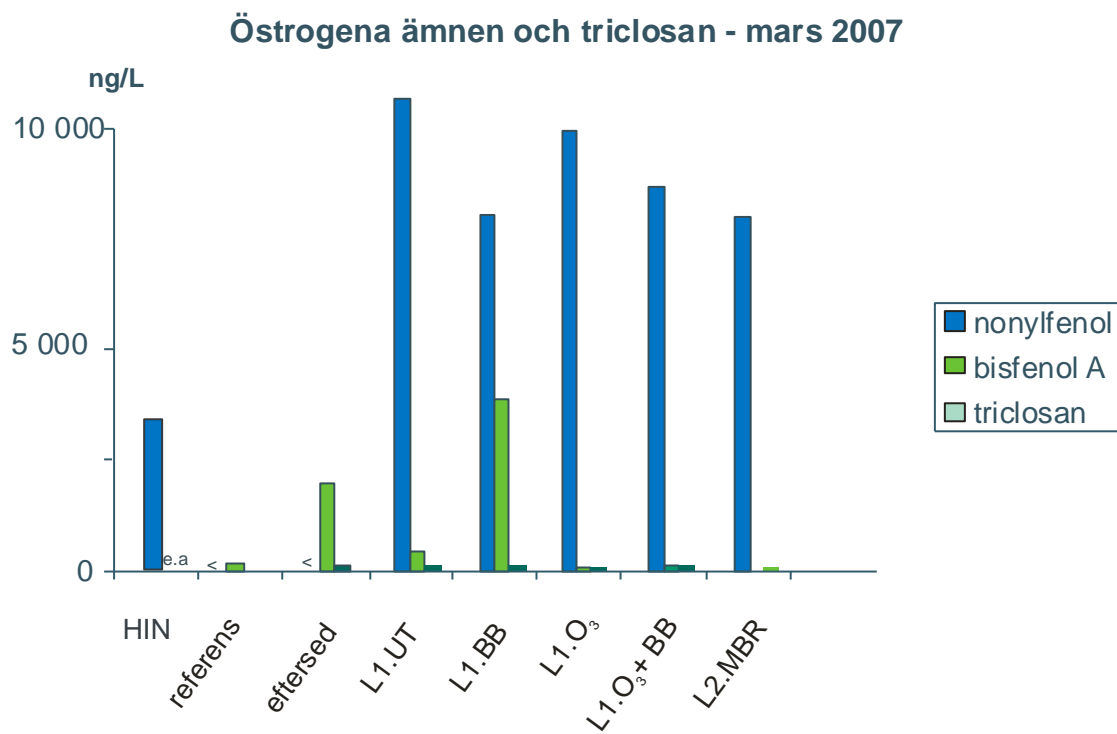
Redan i den ordinarie reningsprocessen som innefattar sandfilter reduceras koncentrationerna av östrogen och östrogenlika ämnen, Figur 22 och 23. Av de naturliga östrogenerna reducerades koncentrationerna av estradiol redan efter biofilter och eftersedimentering, och sedan ytterligare av sandfiltret. I de efterföljande reningsstegen inkluderande biofilter och ozonbehandling reducerades koncentrationerna av estradiol effektivt. I linje 2 med trumfiltrering och MBR med hög slamålder, reducerades koncentrationerna av estradiol, mer effektivt i kampanj 2. Estronkoncentrationen reducerades av sandfiltret och sedan ytterligare av de efterföljande reningsstegen. I linje 2 med trumfiltrering och MBR var reduktionen av estron i samma storleksordning som efter sandfiltrering i linje 1. Koncentrationen av det syntetiska östrogenet etinylestradiol reducerades av biofilter och eftersedimentering, men inte ytterligare av sandfiltret. I linje 2, kampanj 1, reducerades etinylestradiolkoncentrationen men inte i kampanj 2, där små mängder detekterades efter MBR-steget.



**Fig 22. Koncentrationer av hormoner i avloppsvatten vid kampanj 1 (OBS! Logaritmisk skala)**

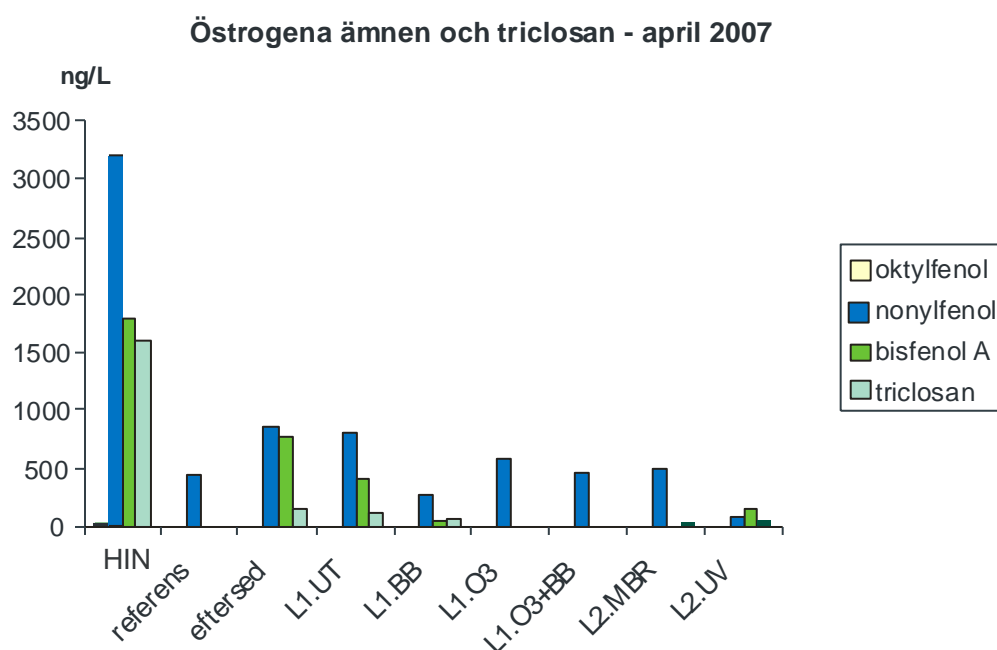


**Fig 23. Koncentrationer av hormoner i avloppsvatten vid kampanj 2 (OBS! Logaritmisk skala)**



**Fig 24. Koncentrationer av östrogena ämnen i avloppsvatten vid kampanj 1**

Av de östrogenlika ämnena, Figur 24, var oktyl- och nonylfenol de ämnen vilkas koncentrationer reducerades i minst utsträckning. Nonylfenol är en stabil nedbrytningsprodukt av nonylfenoletoxylater som finns i stora mängder i det inkommande vattnet. Bilden kompliceras av att provtagnings slangarna innehöll nonylfenol. Triclosan och bisfenol A reducerades redan av biofilter och eftersedimentering, och sedan ytterligare av sandfiltret. De efterföljande reningsstegen biofilter och ozon reducerade dem ytterligare. Även MBR och UV-behandling i linje 2 var relativt effektiva för att reducera koncentrationen av triclosan och bisfenol A. Koncentrationerna av nonylfenol och oktylfenol reducerades inte i någon större utsträckning av biofilter och eftersedimentering. Relativt höga halter av nonylfenol fanns dessutom i referensvattnet, vilket komplicerar tolkningen. Om reduktionen i vattenfasen är en verklig nedbrytning, eller om ämnena fördelar sig till slamfasen på grund av deras fettlöslighet och förmåga att fastna på partiklar är inte fullt utrett. Tre olika biomarkörer för östrogena effekter mättes i regnbåge som exponerats för de olika avloppsvattnen. Kemiska och biologiska data var relativt väl överensstämmande, men det fanns indikationer på att östrogena substanser fanns kvar i de renade avloppsvattnen, med undantag för det ozonbehandlade avloppsvattnet, där all biologisk respons var försvunnen (7).



**Fig 25. Koncentrationer av hormonstörande ämnen och triclosan i avloppsvatten vid kampanj 2**

## Diskussion

I denna undersökning har förekomsten av ett antal läkemedelssubstanser och deras metaboliter i avloppsvatten som behandlats med olika reningstekniker studerats. Målsättningen var att ta fram ett bedömningsunderlag om huruvida läkemedelsmetaboliter utgör ett potentiellt miljöproblem.

Resultatet visar att läkemedelsmetaboliter liksom läkemedelsrester släpps ut med det renade avloppsvattnet, även då mer avancerade reningstekniker använts. Koncentrationerna av de metaboliter som mättes var i flera fall på samma nivå som de aktiva läkemedelssubstanserna.

Hur kommer det sig att halterna i utgående vatten för vissa substanser är högre än ingående?: Det är i litteraturen inte ovanligt att halterna av läkemedelssubstanser i utgående vatten överstiger de som uppmätts i ingående. Som förklaring till detta anförs ofta att konjugerade substanser i det ingående vattnet dekonjugeras i reningsverket.

Varken glukuronid- eller sulfatkonjugat detekterades i ingående vatten. Vår hypotes är därför att glukuronidkonjugaten återgår till modersubstanserna redan i avloppssystemet innan de når reningsverket. Hypotesen får stöd av Remberger och medarbetare (8), som ej detekterade konjugat av anti-inflammatoriska and analgetika i ingående avloppsvatten.

Frågeställningar som kan behöva belysas ytterligare:

-Även vatten från de mest effektiva reningsteknikerna innehåller läkemedelsrester och metaboliter. Finns det andra, mer effektiva reningsmetoder?

-Förekommer metaboliter av andra än de här undersökta läkemedelssubstanserna i avloppsvatten?

Parallellt med de kemiska analyserna undersöktes vattnen som beskrivs i denna rapport med biologiska tester för att undersöka förekomsten av subakuta, kroniska ekotoxikologiska effekter. En separat artikel, där de kemiska analysresultaten och biologiska effekterna sammankopplas, är under utarbetande. Den är tänkt att utgöra en del av underlaget för en riskbedömning av läkemedelsrester i avloppsvatten.

## Tack

Undersökningen kunde genomföras tack vare finansiellt stöd från Stockholm Vatten, som även var delaktiga i planering och genomförande. Ekonomiskt stöd gavs även av Forskningsrådet för miljö, areella näringar och samhällsbyggande, Formas.



## Bilaga 1. Resultattabeller

**Tabell 1:1. Läkemedelskoncentrationer ( $\mu\text{g/L}$ ) i analyserade vatten kampanj 1, mars 2007.**

Läkemedel	H IN	A1 referens	A2 eftersed	A3 L1.UT	A4 L1.BB	A5 L1.O <sub>3</sub>	A6 L1.O <sub>3</sub> +BB	A7 L2.MBR
Atenolol	1.4	0.045	0.80	1.1	0.70	<0.050	0.052	0.22
Metoprolol	1.5	<0.025	1.2	1.5	1.2	0.022	0.017	0.64
Oxazepam	0.40	<0.015	0.45	0.54	0.45	0.051	0.047	0.45
Propranolol	0.087	<0.005	0.080	0.090	0.084	<0.005	<0.005	0.094
Ranitidine	0.53	<0.020	0.13	0.34	0.17	<0.020	<0.020	0.14
Terbutaline	<0.020	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010
Enalapril	0.23	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010
Carbamazepine	0.16	0.013	0.35	0.41	0.30	0.003	0.004	0.34
Cyclophosphamide	<0.015	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010
Paracetamol	84	<0.035	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
Ketoprofen	1.2	<0.015	0.37	0.66	0.27	0.042	0.020	0.042
Diclofenac	0.17	<0.015	0.37	0.028	0.28	0.015	0.027	0.24
Furosemide								
Gemfibrozil	0.29	<0.020	0.37	0.18	0.32	<0.015	<0.015	<0.015
Hydrochlorothiazide	1.1	<0.020	1.5	1.2	1.7	<0.020	<0.020	1.2
Ibuprofen	7.4	<0.030	0.330	0.34	0.059	0.031	0.013	0.009
Naproxen	3.2	<0.030	0.35	0.35	0.11	<0.025	<0.025	0.075

**Tabell 1:2. Läkemedelskoncentrationer ( $\mu\text{g/L}$ ) i analyserade vatten kampanj 2, april 2007.**

Läkemedel	H IN	A2 eftersed	A3 L1.UT	A4 L1.BB	A5 L1.O <sub>3</sub>	A6 L1.O <sub>3</sub> +BB	A7 L2.MBR	A8 L2.UV
Atenolol	0.95	0.98	1.01	1.3	0.18	0.27	0.66	0.17
Metoprolol	3.0	1.8	3.4	2.9	0.29	0.36	3.76	1.00
Oxazepam	0.49	0.37	0.56	0.53	0.11	0.10	0.67	0.64
Propranolol	0.07	0.25	0.06	0.12	0.00	<0.002	0.29	0.10
Ranitidin	<0.04	<0.09	0.40	0.57	0.22	0.19	0.46	0.12
Terbutalin	<0.03	<0.02	0.08	0.11	0.15	<0.01	0.28	0.08
Carbamazepine	0.27	0.24	0.42	0.31	0.006	<0.002	0.46	0.19
Cyclophosphamide	<0.003	<0.01	<0.01	<0.003	<0.004	<0.004	<0.015	<0.013
Paracetamol	41	<0.46	<0.69	<0.72	<0.27	<0.56	1.9	0.13
Ketoprofen	2.5	0.097	0.45	0.15	0.039	0.079	0.08	0.04
Diclofenac	0.15	0.22	0.28	0.24	0.019	0.019	0.28	0.16
Furosemide	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	0.58
Gemfibrozil	0.58	0.16	0.72	0.17	0.01	0.02	0.03	<0.01
HCITh	2.7	0.92	1.25	0.99	0.11	0.08	3.4	0.96
Ibuprofen	4.7	0.12	0.20	0.027	0.026	<0.03	0.19	<0.03
Naproxen	<0.03	0.21	0.53	0.11	0.016	0.009	0.46	0.062

**Tabell 1:3. Koncentrationer av läkemedelssubstanser ( $\mu\text{g/L}$ ) vid olika ozonkoncentrationer, 0, 5 respektive 15  $\text{g/m}^3$ , samt procentuell reduktion vid 15  $\text{g ozon/m}^3$  jämfört med 0  $\text{g/m}^3$ , vid kampanj 3.**

	$\text{O}_3, 0 \text{ g/m}^3$	$\text{O}_3, 5 \text{ g/m}^3$	$\text{O}_3, 15 \text{ g/m}^3$	% reduktion
Metoprolol	1.3	0.22	0.024	98
Oxazepam	0.41	0.15	0.014	97
Propranolol	0.13	<0.005	<0.005	>96
Ranitidin	0.89	0.40	0.049	95
Terbutalin	<0.01	0.41	0.11	
Carbamazepine	0.24	0.043	<0.01	>96
Cyclophosphamide	<0.005	<0.005	<0.005	
Paracetamol	<0.04	<0.04	<0.04	
Ketoprofen	0.82	0.16	<0.015	>98
Diclofenac	0.20	<0.02	<0.015	>93
Furosemide	1.2	0.19	<0.04	>97
Gemfibrozil	0.29	0.024	<0.015	>95
Hydrochlorth.	2.3	0.41	<0.02	>99
Ibuprofen	0.23	<0.03	<0.03	>87
Naproxen	1.6	0.24	<0.03	>98

**Tabell 1:4. Läkemedelskoncentrationer ( $\mu\text{g/L}$ ) i analyserade vatten kampanj 4, april 2008.**

<b>Concentrations (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>	<b>H UT</b>	<b>H+AC</b>	<b>O3, 5g</b>	<b>O3, 15g</b>	<b>O3+BB</b>	<b>UV+H2O2</b>
Metoprolol	1.2	0.15	0.21	0.11	0.20	0.42
Oxazepam	0.43	0.069	0.13	0.065	0.14	0.19
Propranolol	0.12	0.020	<0.005	0.011	0.012	0.045
Ranitidin	1.7	0.16	0.19	0.085	0.19	0.26
Terbutalin	0.28	0.041	0.16	<0.010	0.18	0.23
Carbamazepine	0.26	0.025	0.027	0.027	0.025	0.12
Cyclophosphamide	0.006	<0.005	0.005	<0.005	<0.005	<0.005
Paracetamol	<0.035	<0.035	<0.035	<0.035	<0.035	<0.035
Ketoprofen	0.26	<0.015	0.086	0.053	<0.015	<0.015
Diclofenac	0.38	0.048	0.027	0.031	0.025	0.007
Furosemide	1.2	0.17	0.075	0.102	<0.04	0.37
Gemfibrozil	0.14	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015
Hydrochlorthiazide	1.8	0.20	0.35	0.20	0.35	0.93
Ibuprofen	0.081	0.034	0.025	0.041	0.024	0.048
Naproxen	1.6	<0.030	<0.030	0.137	<0.030	0.44

**Tabell 1:5. Koncentrationer av modersubstanser ( $\mu\text{g/L}$ ) och deras metaboliter ( $\mu\text{g/L}$ ) i analyserade vatten kampanj 1, mars 2007.**

Substans	H IN	A2 eftersed	A3 L1.UT	A4 L1.BB	A5 L1.O <sub>3</sub>	A6 L1.O <sub>3</sub> +BB	A7 L2.MBR
Ibuprofen	7.4	0.330	0.34	0.059	0.031	0.013	0.009
Carboxy-ibuprofen	14	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Hydroxy-ibuprofen	9.0	0.37	0.69	0.13	0.093	0.022	0.016
Diclofenac	0.17	0.37	0.028	0.28	0.015	0.027	0.24
Hydroxy-diclofenac	0.38	0.12	0.007	0.140	nd	nd	0.20
Metoprolol	1.5	1.2	1.5	1.2	0.022	0.017	0.64
Carboxy-metoprolol	1.3	0.77	1.2	0.67	0.033	0.028	0.079
Hydroxy-metoprolol	0.43	0.29	0.13	0.112	0.011	0.004	0.029
Carbamazepine	0.16	0.35	0.41	0.30	0.003	0.004	0.34
10-hydroxy-carbamazepine	0.06	0.13	0.18	0.10	nd	nd	0.099
di-hydroxy-carbamazepine	0.11	0.23	0.27	0.20	nd	nd	0.22

**Tabell 1:6 Koncentrationer av modersubstanser ( $\mu\text{g/L}$ ) och deras metaboliter ( $\mu\text{g/L}$ ) i analyserade vatten kampanj 2, april 2007.**

Substans	H IN	A2 eftersed	A3 L1.UT	A4 L1.BB	A5 L1.O <sub>3</sub>	A6 L1.O <sub>3</sub> +BB	A7 L2.MBR	A8 L2.UV
Ibuprofen	4.7	0.12	0.20	0.027	0.026	<0.03	0.19	<0.03
Carboxy-ibuprofen	9.3	nd	nd	nd	nd	0.498	0.71	nd
Hydroxy-ibuprofen	10	0.62	1.4	0.28	0.32	0.33	0.42	nd
Diclofenac	0.15	0.22	0.28	0.24	0.019	0.019	0.28	0.16
Hydroxy-diclofenac	0.016	nd	nd	0.066	0.007	nd	nd	0.091
Metoprolol	3.0	1.8	3.4	2.9	0.29	0.36	3.76	1.00
Carboxy-metoprolol	3.8	1.4	2.8	0.96	0.47	0.53	0.65	0.20
Hydroxy-metoprolol	0.83	0.40	0.42	0.37	0.21	0.068	0.15	0.038
Carbamazepine	0.27	0.24	0.42	0.31	0.006	<0.002	0.46	0.19
10-hydroxy-carbamazepine	0.11	0.073	0.12	0.071	0.052	0.073	0.050	0.032
di-hydroxy-carbamazepine	0.082	0.054	0.11	0.069	0.014	0.016	0.16	0.047

**Tabell 1:7. Koncentrationer av modersubstanser ( $\mu\text{g/L}$ ) och deras metaboliter ( $\mu\text{g/L}$ ) vid olika ozonkoncentrationer, 0, 5 respektive 15  $\text{g/m}^3$ , samt procentuell reduktion vid 15  $\text{g ozon/m}^3$  jämfört med 0  $\text{g/m}^3$ , vid kampanj 3.**

Substans	$\text{O}_3$ , 0 $\text{g/m}^3$	$\text{O}_3$ , 5 $\text{g/m}^3$	$\text{O}_3$ , 15 $\text{g/m}^3$	% reduktion
Ibuprofen	0.23	<0.030	<0.030	>93
Carboxy-ibuprofen	nd	nd	0.028	
Hydroxy-ibuprofen	0.56	0.051	<0.03	>95
Diclofenac	0.20	<0.015	<0.015	>97
Hydroxy-diclofenac	0.19	0.012	<0.015	>92
Metoprolol	1.30	0.22	0.024	98
Carboxy-metoprolol	0.31	0.11	0.032	90
Hydroxy-metoprolol	0.026	0.017	0.001	96
Carbamazepine	0.24	0.043	<0.01	>96
10-hydroxy-carbamazepine	0.056	0.007	0.003	95
di-hydroxy-carbamazepine	0.076	0.035	0.006	92

**Tabell 1:8. Koncentrationer av modersubstanser ( $\mu\text{g/L}$ ) och deras metaboliter ( $\mu\text{g/L}$ ) i analyserade vatten kampanj 4, april 2008.**

Substans	H IN	H UT	H+AC	$\text{O}_3$ , 5g	$\text{O}_3$ , 15g	$\text{O}_3$ +BB	UV+H2O2
Ibuprofen	0.44	0.081	0.034	0.025	0.041	0.024	0.048
Carboxy-ibuprofen	0.85	0.087	0.17	0.32	0.11	0.030	0.15
Hydroxy-ibuprofen	1.5	0.344	0.050	0.24	0.085	0.066	0.30
Diclofenac	0.20	0.379	0.048	0.027	0.031	0.025	0.007
Hydroxy-diclofenac	0.15	0.130	0.007	0.002	<0.002	<0.002	<0.002
Metoprolol	1.2	1.2	0.15	0.21	0.11	0.200	0.42
Carboxy-metoprolol	1.6	0.30	0.073	0.24	0.10	0.17	0.19
Hydroxy-metoprolol	0.35	0.041	0.010	0.018	0.011	0.018	0.025
Carbamazepine	0.27	0.26	0.025	0.027	0.027	0.025	0.12
10-hydroxy-carbamazepine	0.16	0.07	0.006	0.010	0.005	0.006	0.01
di-hydroxy-carbamazepine	0.15	0.06	0.005	0.021	0.005	0.004	0.03
Ibuprofen	0.27	0.26	0.025	0.027	0.027	0.025	0.12

**Tabell 1:9. Koncentrationer (ng/L) av hormoner, hormonstörare och triclosan i analyserade vatten kampanj 1, mars 2007.**

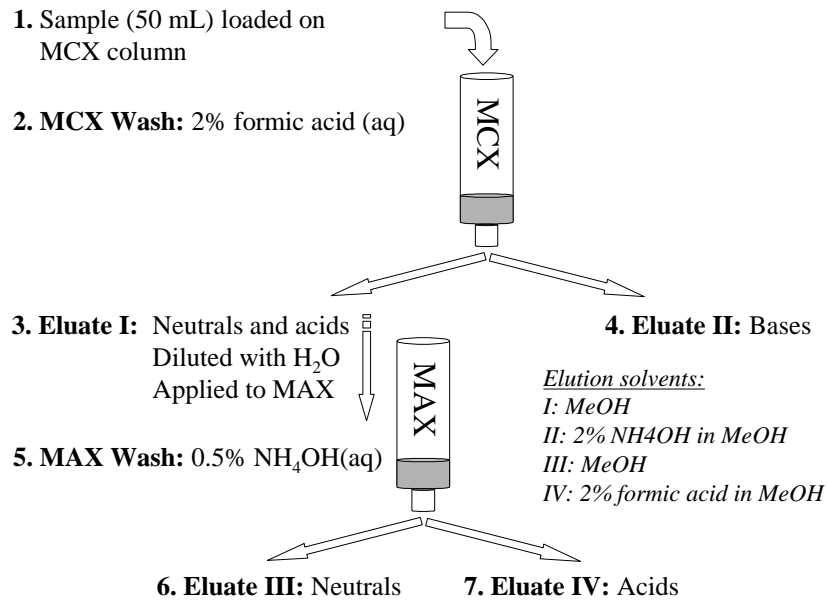
	Ing.	A1 Ref	A2 Eftersed	A3 L1.Ut	A4 L1.BB	A5 L1.O <sub>3</sub>	A6 L1.O <sub>3</sub> +BB	A7 L2.MBR	A8 L2.UV
Estron	16	<0.05	8.6	0.17	<0.05	0.23	0.20	0.42	e.a.
17-β-estradiol	24	<0.10	0.2	<0.1	<0.10	<0.10	0.16	0.21	e.a.
17-α-etinylestradiol	1.1	<0.10	0.5	0.13	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	e.a.
Oktylfenol	e.a.	e.a.	e.a.	e.a.	e.a.	e.a.	e.a.	e.a.	e.a.
Nonylfenol	2800	<1500	<1500	12000	8100	10000	8600	7500	e.a.
Triclosan	e.a.	2.4	87	89	65	3.5	2.2	16	e.a.
Bisfenol A	e.a.	170	1700	850	2900	48	79	62	e.a.

**Tabell 1:10. Koncentrationer (ng/L) av hormoner, hormonstörare och triclosan i analyserade vatten kampanj 2, april 2007.**

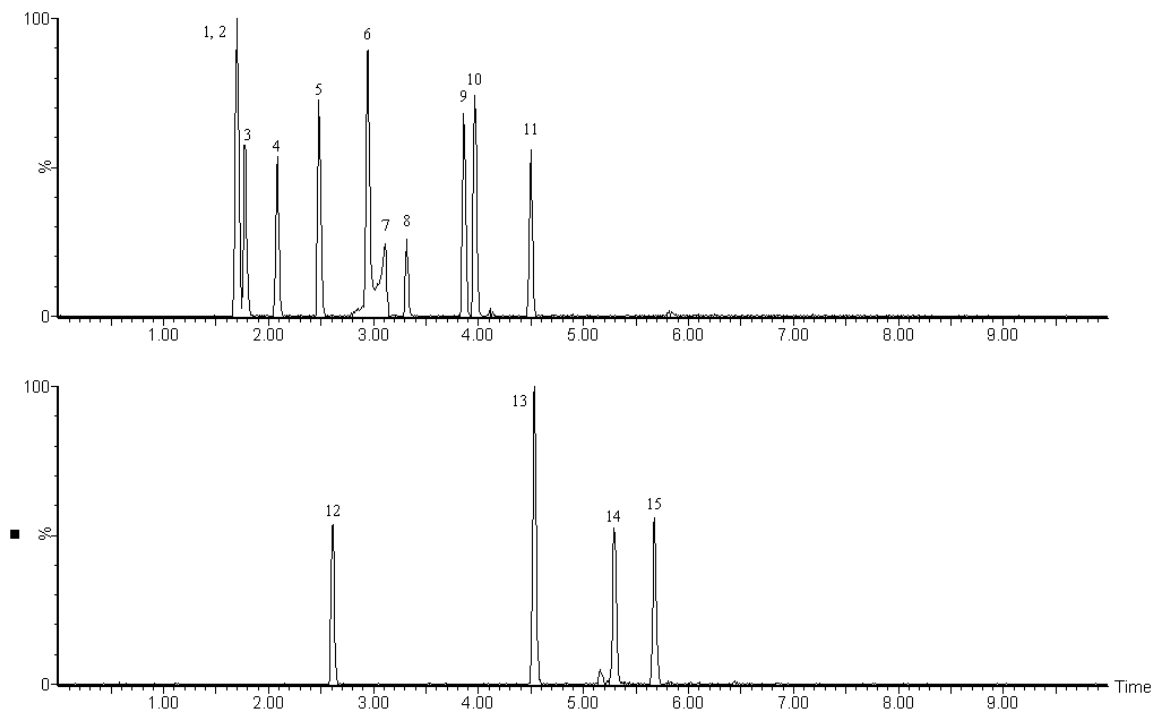
	Ing.	A1 Ref	A2 Eftersed	A3 L1.Ut	A4 L1.Biof	A5 L1.O <sub>3</sub>	A6 L1.O <sub>3</sub> +BB	A7 L2.MBR	A8 L2.UV
Estron	32	<0.05	6.3	0.67	0.055	0.17	0.05	0.49	0.26
17-β-estradiol	17	<0.10	0.3	0.2	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10
17-α-etinylestradiol	1,1	<0.10	0.2	0.2	<0.10	<0.10	<0.10	0.1	<0.10
Oktylfenol	24	0.25	0.94	0.83	0.43	0.66	0.24	0.50	0.43
Nonylfenol	3200	460	870	810	260	590	470	500	92
Triclosan	1600	4.2	160	120	58	2.9	1.7	26	49
Bisfenol A	1800	<1.0	780	420	41	<1.0	<1.0	<1.0	150

## Bilaga 2. Analys av läkemedelsrester

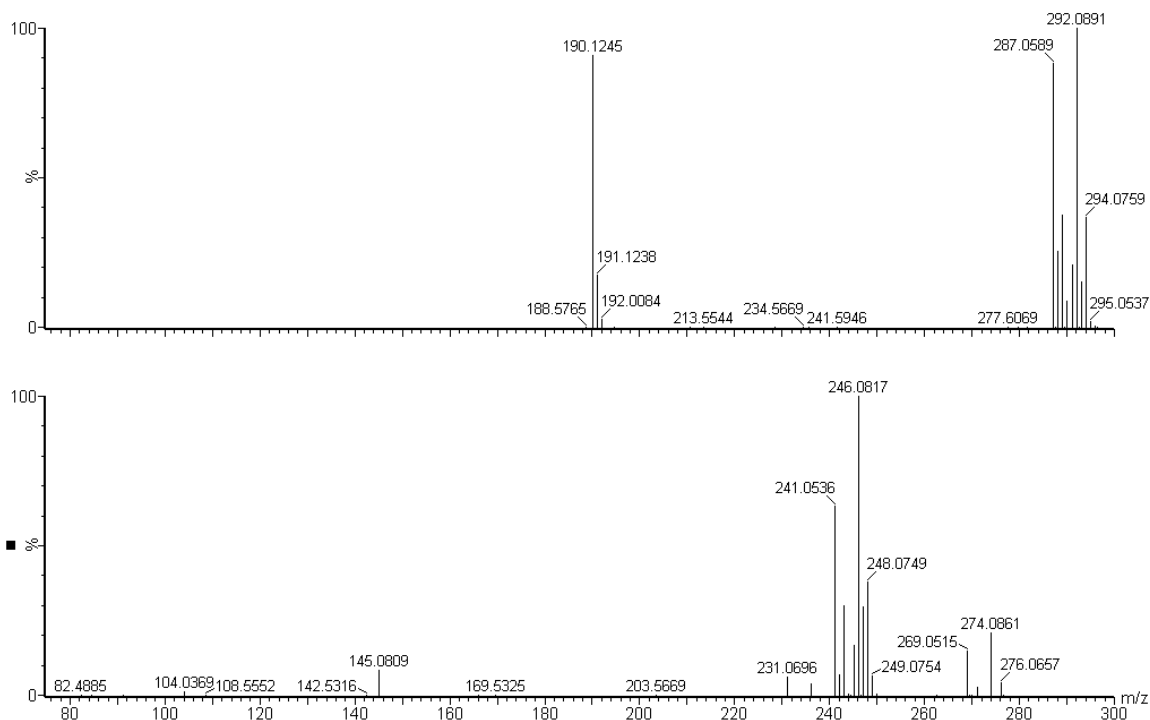
### Metodvalidering läkemedelssubstanser



Figur 2.1 Schematisk beskrivning av upprengningsmetoden (från ref. 1)



**Figur 2:1. Standardkromatogram för läkemedelssubstanser, ESI+ (övre) and ESI- (undre).  
 Toppidentifiering 1) atenolol 2) ranitidine 3) terbutaline 4) paracetamol 5) metoprolol 6) 7)  
 enalapril 8) cyclophosphamide 9) carbamazepine 10) oxazepam 11) ketoprofen 12)  
 hydrochlortiazid 13) naproxen 14) ibuprofen 15) gemfibrozil**



**Figur 2:2. Blandspektrum för oxazepam och D5-oxazepam (intern standard) i avloppsvatten, med låg (övre) respektive hög kollisionsenergi (undre). Övre spektrum visar  $[M+H]^+$  och undre visar fragmentet  $[M+H-46]^+$  för respektive substans.**

**Tabell 2:1. Utbyte, jonsuppression och precision med MCX/MAX eller HLB SPE kolonner vid analys av spikat ingående vatten**

Läkemedel	SPE fraktion	SPE utbyte(%)		Jonsuppression (%)		Totalt utbyte (%)		RSD (%) <sup>a</sup>	Spädning (#) <sup>b</sup>
		MCX/MAX	HLB	MCX/MAX	HLB	MCX/MAX	HLB		
Atenolol	Bas	94	10	43	23	53	8	1.1	3
Carbamazepine	Neutral	71	80	5	22	67	62	3.3	5
Cyclophosphamide	Neutral	87	95	32	49	59	49	1.7	0
Enalapril	Bas	87	92	29	16	62	78	3.6	0
Gemfibrozil	Syra	77	54	74	87	20	7	6.9	0
Hydrochlorothiazide	Syra	84	98	85	94	12	6	5.6	0
Ibuprofen	Syra	88	84	66	76	30	21	1.7	0
Ketoprofen	Syra	85	90	21	28	67	65	3.4	5
Metoprolol	Bas	101	103	20	27	81	75	1.3	3
Naproxen	Syra	87	80	77	83	20	14	3.6	0
Oxazepam	Bas	89	88	10	17	80	73	7.8	0
Paracetamol	Neutral	11	68	-4	64	11	25	4.2	5
Propranolol	Bas	102	96	35	53	66	45	2.7	0
Ranitidine	Bas	99	10	56	43	44	6	5.6	0
Terbutaline	Bas	93	5	55	40	42	3	4.3	0

<sup>a</sup>RSD för koncentrationsbestämning av tre spikade ingående vattenprover extraherade med MCX/MAX

<sup>b</sup>Antal gånger som SPE extraktet späddes för att passa in i kalibreringskurva.



**Tabell 2:2. Utbyte, jonsuppression och precision med MCX/MAX eller HLB SPE kolonner vid analys av spikat utgående vatten**

Läkemedel	SPE fraktion	SPE utbyte(%)		Jonsuppression (%)		Totalt utbyte (%)		RSD (%) <sup>a</sup>
		MCX/MAX	HLB	MCX/MAX	HLB	MCX/MAX	HLB	
Atenolol	Bas	100	13	44	32	56	9	0.6
Carbamazepine	Neutral	93	104	18	22	76	81	1.0
Cyclophosphamide	Neutral	92	120	2	28	91	86	2.0
Enalapril	Bas	98	104	-3	-11	101	116	2.8
Gemfibrozil	Syra	52	80	14	41	45	47	18
Hydrochlorothiazide	Syra	141	122	75	94	35	7	11
Ibuprofen	Syra	53	86	13	53	46	41	7.6
Ketoprofen	Syra	45	124	35	57	29	54	14
Metoprolol <sup>b</sup>	Bas	82	114	-7	17	88	95	3.6
Naproxen	Syra	44	93	41	72	26	26	6.5
Oxazepam	Bas	89	97	16	26	75	72	3.2
Paracetamol	Neutral	26	86	10	63	23	31	9.6
Propranolol	Bas	98	114	19	28	88	82	1.2
Ranitidine	Bas	84	20	43	48	48	10	9.0
Terbutaline	Bas	96	14	29	41	68	8	2.7

<sup>a</sup> RSD för koncentrationsbestämning av tre spikade utgående vattenprover extraherade med MCX/MAX

<sup>b</sup>Prov spätt 5 gånger.

**Tabell 2:3. Lägsta kvantifieringsgräns (LLOQ<sup>a</sup>) i utgående respektive ingående vatten LLOQ baseras på 25 mL respektive 50 mL prov, för ingående respektive utgående vatten.**

Substans	Ingående (ng/L)	Utgående (ng/L)
Atenolol	75	15
Carbamazepine	65	10
Cyclophosphamide	15	5
Enalapril	20	10
Gemfibrozil	35	15
Hydrochlorothiazide	40	20
Ibuprofen	70	30
Ketoprofen	120	15
Metoprolol	35	30
Naproxen	65	30
Oxazepam	25	15
Paracetamol	370	35
Propranolol	15	5
Ranitidine	40	20
Terbutaline	20	10

<sup>a</sup> LLOQ definierat som den lägsta externa kalibreringspunkten, korrigerat för utbyte, jonsuppression, koncentreringsfaktor hos SPE-metodiken samt påföljande utspädning av SPE-extraktet.

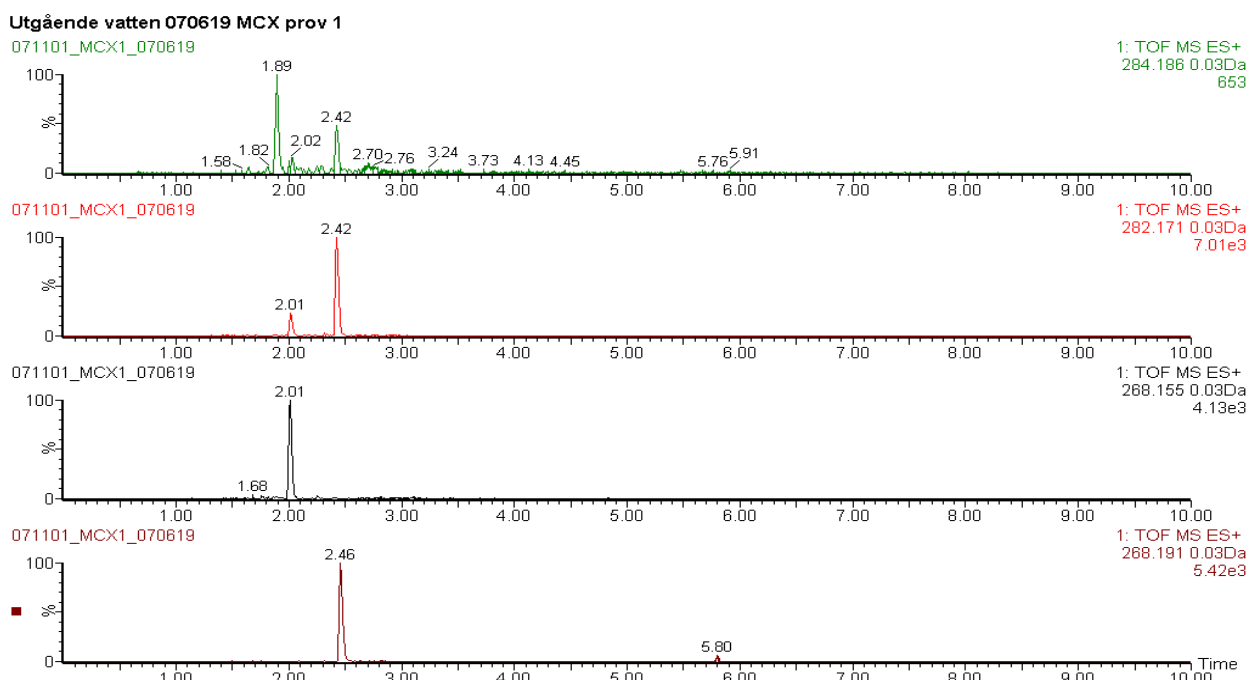
## Bilaga 3. Analys av metaboliter

Metoden för analys av metaboliter beskrivs nedan. För att underlätta förståelsen har vi försökt följa arbetsgången i kronologisk ordning så långt möjligt. Metoden består av följande delmoment.

1. SPE-fraktionering som tidigare beskrivits.
2. Analys med UPLC/QTOF-MS, fullscan med med låg och hög energi parallellt, positiv elektropray (ES+) respektive negativ elektropray (ES-) i separata analyser, beroende på vilken fraktion som analyserades
3. ”Screening” av kromatogrammen efter toppar som matchar kvasimolekyljoner ( $[M+H]^+$  respektive  $[M-H]^-$ ) för metaboliter till de läkemedelssubstanser som identifierats ovan.
4. Kontroll av retentionstider mot urinprover (gäller carbamazepin-, diclofenac-, ibuprofen- och metoprololmetaboliter)
5. Verifiering av metaboliternas identitet med hjälp av exakt masstal för kvasimolekyljoner
6. Ytterligare kontroll genom upprepad analys med MSMS av urinprover och avloppsvattenprover, och exakt masstalsbestämning av fragment.
7. Som en slutlig verifiering blandades urinprover som innehöll de metaboliter som detekterats i avloppsvattenproverna. Denna blandning fraktionerades sedan med MCX/MAX metoden och fraktionerna analyserades med UPLC/QTOF-MS

Metodiken illustreras i kromatogram och spektra, och resultaten presenteras i tabeller.

### 3.”Screening”: Kontroll av retentionstider och exakt masstal för kvasimolekyljoner



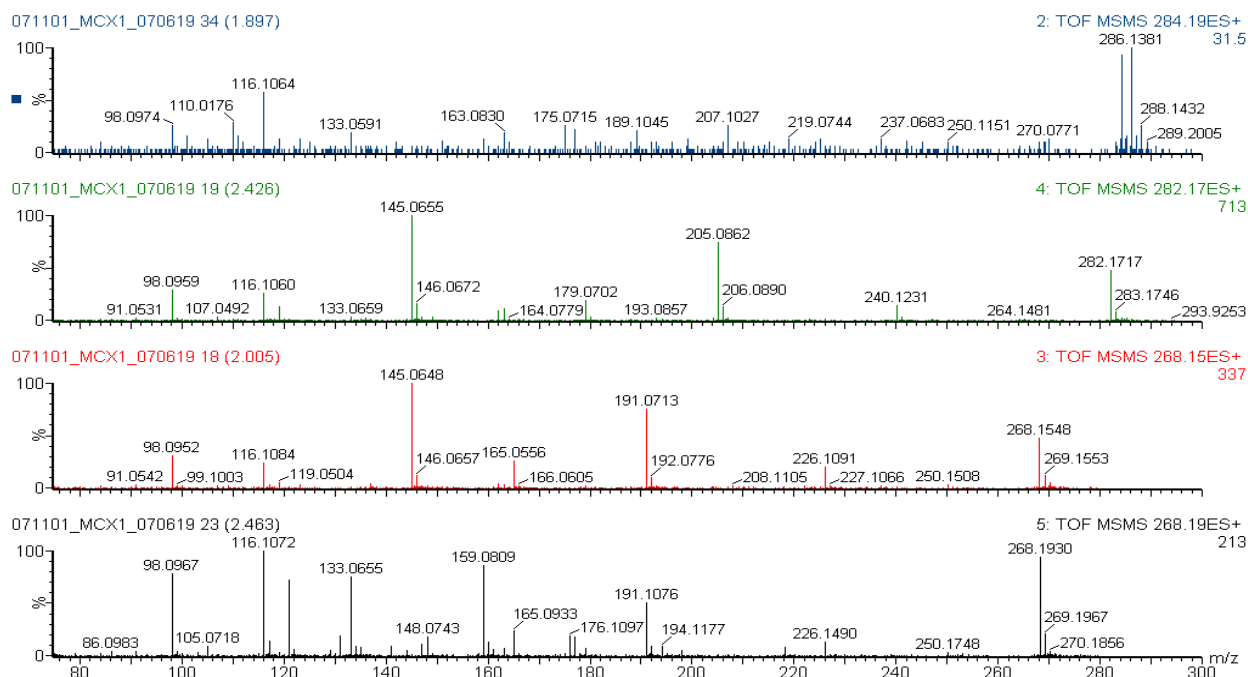
**Figur 3:1. Kromatogram metoprolol och metaboliter i utgående vatten. Överst OH-metoprolol (Rt 1.89 min, ), därunder metylerad carboxy-metoprolol (Rt 2.42 min, en artefakt bildad under upparbetning), följt av carboxy-metoprolol (Rt 2.01 min) och metoprolol (Rt 2.46 min).**

#### 4. Kontroll av retentionstider gentemot metaboliter i urinprov

**Tabell 3:1. SPE fraktioner och retentionstider för detekterade läkemedelsmetaboliter i urin, ingående och utgående (A3) vatten**

Läkemedel/metabolit	SPE fraktion	Retentionstid (min)			dTid (min)	
		Urin	Ingående	Utgående (A3)	Ingående	Utgående (A3)
Diclofenac	Syra	5.18	5.18	5.18	0.00	0.00
Diclo-OH	Syra	4.35	4.35	4.34	0.00	-0.01
Ibuprofen	Syra	5.29	5.29	5.29	0.00	0.00
Ibuprofen-OH	Syra	3.52	3.52	3.52	0.00	0.00
Ibuprofen- carboxy	Syra	3.58	3.58	ND	0.00	-
Metoprolol	Bas	2.45	2.46	2.46	0.01	0.01
Metoprolol- carboxy	Bas	2.01	2.00	2.01	-0.01	0.00
Metoprolol- carboxy -metyl	Bas	2.42	2.41	2.42	-0.01	0.00
Metoprolol-OH	Bas	1.89	1.88	1.89	-0.01	0.00

#### 5 och 6. "Identitetskontroll" med MSMS: fragmenteringsmönster och exakt masstal för fragment (Fig 3:1 och tabell 3:1 och 3:3)



**Figur 3:2. Spektra från metoprolol och metaboliter i utgående vatten. Överst OH-metoprolol, därunder metylerad carboxy-metoprolol (en artefakt bildad under upparbetning), följt av carboxy-metoprolol och metoprolol.**

**Tabell 3:2. Exakt massbestämning i MS/MS<sup>a</sup> av Diclofenac, Ibuprofen och deras metaboliter i urin, ingående och utgående (A3) vatten**

Läkemedel/ metabolit	Samman-sättning	Beräknad massa (m/z)	Uppmätt massa (m/z)			Fel (mDa)		
			Urin	Ingående	Utgående (A3)	Urin	Ingående	Utgående (A3)
Diclofenac	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	294.0089	294.0082	294.0103	294.0096	-0.7	1.4	0.7
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N	250.0190	250.0195	250.0184	250.0176	0.5	-0.6	-1.4
Diclo-OH	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	310.0038	310.0023	310.0031	310.0066	-1.5	-0.7	2.8
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> NO	266.0139	266.0139	266.0164	266.0181	0	2.5	4.2
Ibuprofen	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub>	205.1229	205.1229	205.1207	205.1234	0	-2.2	0.5
	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub>	161.1330	161.1345	161.1321	161.1346	1.5	-0.9	1.6
Ibuprofen-OH	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub>	221.1178	221.1178	221.1171	221.1184	0	-0.7	0.6
	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> O	177.1279	177.1285	177.1274	177.1288	0.6	-0.5	0.9
Ibuprofen- carboxy	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub>	235.0970	235.0967	235.0957	ND	-0.3	-1.3	-
	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub>	191.1072	191.1067	191.1062	ND	-0.5	-1.0	-

<sup>a</sup>[M-H]<sup>-</sup> joner bestämda i MS scan mode

**Tabell 3:3. Exakt massbestämning i MS/MS<sup>a</sup> av metoprolol och metaboliter i urin, ingående och utgående (A3) vatten**

Läkemedel/ metabolit	Samman-sättning	Beräknad massa (m/z)	Uppmätt massa (m/z)			Fel (mDa)		
			Urin	Ingående	Utgående (A3)	Urin	Ingående	Utgående (A3)
Metoprolol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> NO <sub>3</sub>	268.1913	268.1942	268.1913	268.1913	2.9	0	0
	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub>	191.1072	191.1062	191.1067	191.1076	-1.0	-0.5	0.4
	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> O	159.0810	159.0807	159.0793	159.0809	-0.3	-1.7	-0.1
	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O	133.0653	133.0665	133.0647	133.0655	1.2	-0.6	0.2
	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> NO	116.1075	116.1091	116.1065	116.1072	1.6	-1.0	-0.3
	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N	98.0970	98.0950	98.0965	98.0967	-2.0	-0.5	-0.3
Metoprolol- carboxy	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>4</sub>	268.1549	268.1542	268.1566	268.1548	-0.7	1.7	-0.1
	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub>	191.0708	191.0701	191.0700	191.0713	-0.7	-0.8	0.5
	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> O	145.0653	145.0655	145.0650	145.0648	0.2	-0.3	-0.5
	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> NO	116.1075	116.1068	116.1064	116.1084	-0.7	-1.1	0.9
	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N	98.0970	98.0971	98.0930	98.0952	0.1	-4.0	-1.8
Metoprolol carboxy - methyl	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>4</sub>	282.1705	282.1713	282.1684	282.1717	0.8	-2.1	1.2
	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub>	205.0865	205.0861	205.0855	205.0862	-0.4	-1.0	-0.3
	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> O	145.0653	145.0641	145.0635	145.0655	-1.2	-1.8	0.2
	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> NO	116.1075	116.1064	116.1063	116.1060	-1.1	-1.2	-1.5
	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N	98.0970	98.0944	98.0955	98.0959	-2.6	-1.5	-1.1
Metoprolol- OH	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> NO <sub>4</sub>	284.1862	284.1853	284.1830	284.1867	-0.9	-3.2	0.5
	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub>	207.1021	207.1063	207.0972	207.1027	4.2	-4.9	0.6
	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O	133.0653	133.0662	133.0628	133.0591	0.9	-2.5	-6.2
	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> NO	116.1075	116.1061	116.1077	116.1064	-1.4	0.2	-1.1
	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N	98.09700	98.09610	98.0966	98.0974	-0.9	-0.4	0.4

**Tabell 3:4. Exakt massbestämning i MS/MS av carbamazepine och metaboliter, ingående och utgående (A3) vatten**

Läkemedel/ metabolit	Samman- sättning	Beräknad massa (m/z)	Uppmätt massa (m/z)		Fel (mDa)	
			Ingående	Utgående (A3)	Ingående	Utgående (A3)
Carbamazepine	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>2</sub> O	237.1028	237.1013	237.1031	-1.5	0.3
	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N	194.0970	194.0958	194.0962	-1.2	-0.8
CBZ-EP/OH <sup>a</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	253.0977	253.0993	253.0969	1.6	-0.8
	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>2</sub>	236.0712	236.0733	236.0705	2.1	-0.7
	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> NO	210.0919	210.0933	210.0925	1.4	0.6
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N	180.0813	180.0816	180.0817	0.3	0.4
CBZ-DiOH	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	271.1083	271.1096	271.1099	1.3	1.6
	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	253.0977	-	253.0967	-	-1.0
	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>2</sub>	236.0712	236.0704	236.0686	-0.8	-2.6
	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> NO	210.0919	210.0901	210.0970	-1.8	5.1
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N	180.0813	180.0815	180.0825	0.2	1.2
CBZ-10OH	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	255.1134	255.1144	255.1123	1.0	-1.1
	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>2</sub> O	237.1028	-	237.1044	-	1.6
	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N	194.0970	194.0973	194.1020	0.3	5.0
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N	180.0813	180.0815	180.0839	0.2	2.6

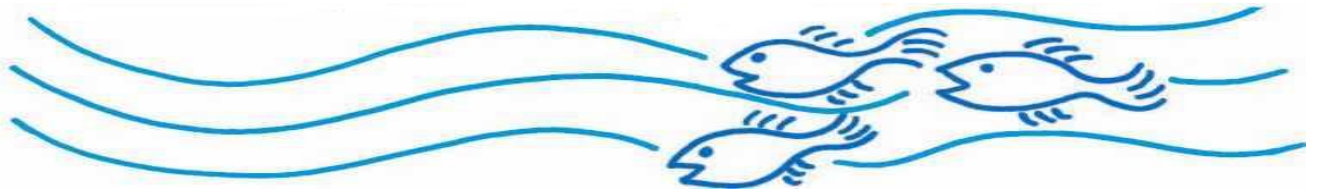
<sup>a</sup>Carbamazepine-epoxide och/eller carbamazepine-hydroxy.

## Referenser

1. Lavén, M., Alsberg, T., Yu, Y., Adolfsson-Erici, M., and Sun, H. Serial mixed-mode cation- and anion-exchange solid-phase extraction for separation of basic, neutral and acidic pharmaceuticals in wastewater and analysis by high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, **J. Chrom. A**, 2009, 1216, 49-62.
2. Pettersson, M. Endocrine disrupting compounds in effluent waters. Doctoral thesis 2006. ISBN 91-7155-324-X.
3. Lundström, E., Ek, K., Eklund, B., Hermansson, M., Linde, M. och Breitholtz, M: Ekotoxikologisk testning av avloppsvatten och läkemedelssubstanser med bakterie, alg, kräftdjur och fiskembryo, Rapport till Stockholm Vatten, 2008.09.10
4. Pérez, S. and Barcelo, D. First evidence for occurrence of hydroxylated human metabolites of diclofenac and aceclofenac in wastewater using QqLIT-MS and QqTOF-MS, **Anal. Chem.**, 2008, 80, 8135-8145.
5. Miao, X.-S., Yang, J.-J., and Metcalfe, C., D.; Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant, **Environ. Sci. Technol.**, 2005, 39, 7469-7475.
6. Weigel, S., Berger, U., Jensen, E., Kallenborn, R., Thoresen, H., and Hühnerfuss, H.; Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites, **Chemosphere**, 2004, 56, 583-592.

7. Gunnarsson L., Adolfsson-Erici M., Björlenius B., Rutgersson C., Förlin L., Larsson D. G. J. Comparison of six different sewage treatment technologies -reduction of estrogenic substances and effects on gene expression in exposed male fish. *Science of the total environment* 2009, 407, 5235-5242..
8. Remberger, M., Wiklund, P., Woldegiorgis, A., Viktor, T., Kaj, L., Brorström-Lundén, E.; Anti-inflammatory and analgesic drugs in WWTP influent and effluent streams and the occurrence in the aquatic environment, IVL Report B1810 (2009).
9. Läkemedelsverket *Miljöpåverkan från läkemedel samt kosmetiska och hygieniska produkter*; Läkemedelsverket, 2004.
10. Kemi & miljö AB, 2006, Litteraturstudie kring läkemedelsrester i vattenmiljön, Stockholm Vatten, 2006.02.28.





Detta är en publikation inom projektet Läkemedel – förekomst i vattenmiljön, förebyggande åtgärder och möjliga reningsmetoder. Projektet är finansierat av Miljömiljarden, Stockholms stad.

Andra publikationer inom projektet är:

Rapport 8-2009. Åtgärder vid Källan. Hantering av läkemedel inom Stockholm Vattens upptagningsområde – lägesbeskrivning och förslag till åtgärder



Stockholm Vatten VA AB  
106 36 Stockholm  
Telefon 08-522 120 00  
[www.stockholmvatten.se](http://www.stockholmvatten.se)