



SVAlBARDs
MILJØVERNfOND



Legemidler i det marine miljø rundt Longyearbyen

07.12.2009

Terje Vasskog

Institutt for Farmasi

Det Helsevitenskapelige Fakultet

Universitetet i Tromsø

Bakgrunn og formål for prosjektet

Det har i de siste årene blitt et økt fokus på utslipp av legemidler fra menneskelig og veterinær bruk til miljøet da det har vist seg at flere legemidler og nedbrytningsprodukter av disse kan ha en negativ effekt på marine organismer. Legemidlene tilføres miljøet hovedsakelig gjennom avløpsvann fra husholdning og industri, eller som avrenning fra jorder og beiteområder for husdyr.

Det har i denne undersøkelsen blitt fokusert på legemiddelgruppene NSAIDs (smertestillende og betennelsesdempende midler) og SSRIer (antidepressive midler) og deres tilstedeværelse i avløpsvann fra Longyearbyen og i sjøen utenfor Longyearbyen. Det ble også hentet prøver én gang utenfor Ny-Ålesund. Prøvene har blitt analysert vinter/vår 2008/2009, mens det også finnes enkelte resultater fra en tidligere undersøkelse i 2007.

Det finnes også analyseresultater av noen av de samme legemidlene fra avløpsvann og sjøen i Tromsø, og enkelte av resultatene fra Tromsø er tatt med her for sammenligningens skyld.

Det har også blitt gjort undersøkelser der man testet om NSAIDs blir nedbrutt av sollys når de er oppløst i sjøvann, og eventuelt hvor lang tid det tar.



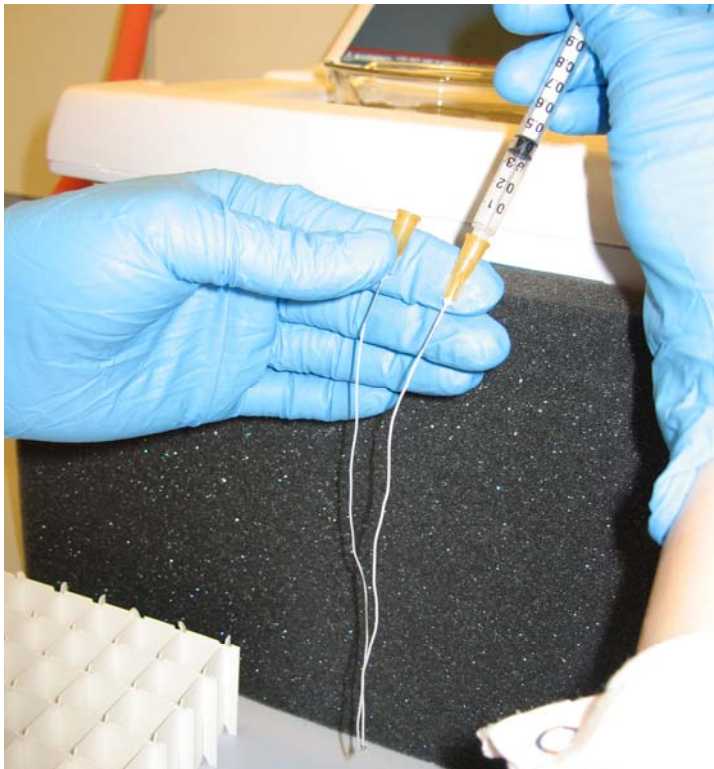
Prøvetaking på isen utenfor henholdsvis Longyearbyen (venstre) og Ny-Ålesund.

Bilder av Kristian Lund Forsberg.

Metoder og resultater

NSAIDs

For å ekstrahere NSAIDs fra sjøvann og avløpsvann har det blitt utviklet en LPME (Liquid Phase Microextraction) ekstraksjonsmetode. Kort fortalt ekstraherer denne metoden de ønskede stoffene over i et svært lite volum organisk løsemiddel, før de videre ekstraheres over i et svært lite volum (20 mikroliter) av en vandig løsning som kan analyseres. Den organiske fasen er plassert i porene til et tynt hult fiber, mens en vandig løsning er plassert i hulrommet i fiberen (20 mikroliter). En pH-gradient mellom prøven og den vandige løsningen inne i hulfiberen er det som driver legemidlene fra prøven og inn i fiberen. NSAIDs er sure legemidler og vil ved nøytral pH være negativt ladd og godt vannløselig. Man vil derfor for NSAIDs gjøre prøven sur, noe som fjerner ladningen fra legemidlene, noe som igjen gjør dem mindre vannløselig, og de vil trekke inn i den organiske fasen i porene i hulfiberet. Når man da har en basisk pH i den vandige fasen inne i fiberet vil legemidlene igjen bli negativt ladd på innsiden av fiberet, og dermed godt løselig i vannfasen inne i hulfiberet. Man oppnår slik en oppkonsentrering av stoffer fra prøven og inn i hulfiberet. Metoden gir en svært høy oppkonsentrering av stoffene man ekstraherer, noe som igjen gjør det mulig å detektere svært lave konsentrasjoner i sjøvann.



Bildene viser fylling av "akseptorfase" i hulfiberen, og ekstraksjon av en prøve med en ferdig lagd hulfiber. Prøvevolumet i flasken er på 1,1 liter.

For sikker identifisering og mengdebestemmelse av legemidlene i ekstraktene har det blitt benyttet væskekromatografi koblet til massespektrometri. Denne metoden gir en 100 % sikker identifisering av stoffene, og en god kvantifisering.

Tabell 1: Konsentrasjon av NSAIDs og deres nedbrytningsprodukter i sjøvann fra Adventfjorden og Ny-Ålesund, konsentrasjoner gitt i nanogram/liter.

	Adventfjorden	Adventfjorden	Ny-Ålesund	Tromsø
	02.12.2008	25.03.2009	11.03.2009	15.04.2009
ketoprofen	Detekterbar	Detekterbar	Detekterbar	Detekterbar
diklofenak	0	0	0	Detekterbar
naproxen	0	0	0	Detekterbar
ibuprofen	Detekterbar	0	0	Detekterbar
6-O-desmetylnaproxen*	0	0	0	0
dihydroketoprofen*	Detekterbar	0	0	0
desmetylketoprofen*	0	0	0	0

*Nedbrytningsprodukt

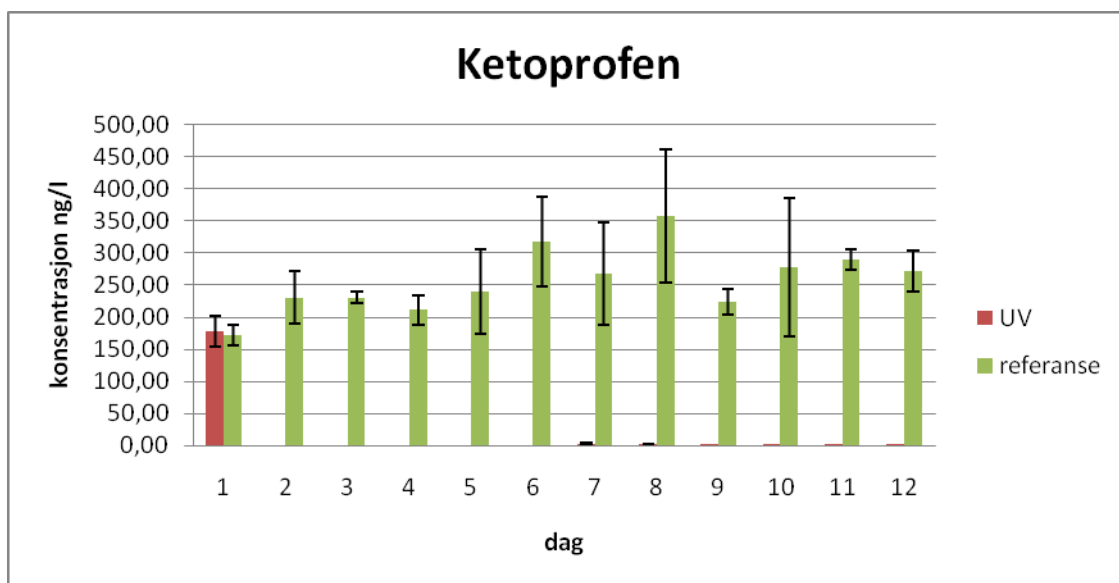
Tabell 2: Konsentrasjon av NSAIDs funnet i avløpsvann i Tromsø og Longyearbyen, konsentrasjoner gitt i nanogram/liter.

	Longyearbyen	Tromsø
	estimat konsentrasjon	konsentrasjon
ketoprofen	20	82
diklofenak	Ikke detekterbar	45
naproxen	30	221
ibuprofen	100	709
6-O-desmetylnaproxen*	5	38
dihydroketoprofen*	ikke detekterbar	ikke detekterbar
desmetylketoprofen*	ikke detekterbar	ikke detekterbar

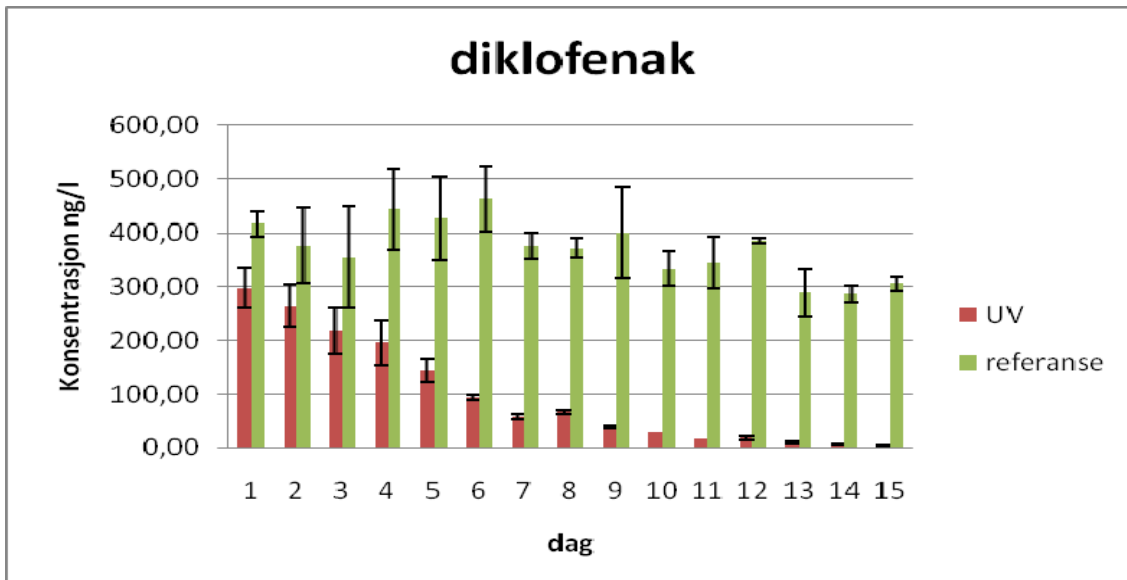
* Nedbrytningsprodukt

Nedbrytning av legemidler som følge av ultrafiolett stråling

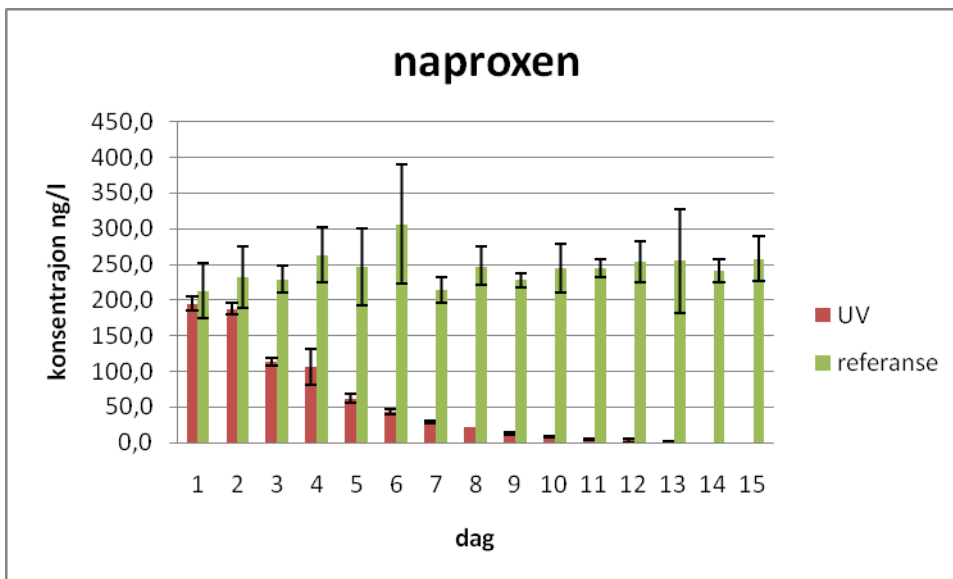
Ultrafiolett lys (UV-lys) er stråling med høy energi fra sola, og denne strålingen kan muligens være med på å bryte ned legemidlene i naturen. For å undersøke nedbrytningshastigheten som følge av UV-stråling ble det satt opp et eksperiment med en beholder med sjøvann tilsatt legemidler som kontinuerlig blir bestrålt av en UV-lampe (lysspekteret fra lampen tilsvarer spekteret fra sola). Sjøvannet var hentet i Adventfjorden umiddelbart før eksperimentet startet, og ble holdt ved en temperatur på ca 4 °C gjennom hele eksperimentet for å best mulig etterligne en reell situasjon. Som referanse ble en tilsvarende flaske oppbevart i mørke og prøver ble analysert hver dag fra begge flaskene for å se hvor stor påvirkning UV-strålingen hadde på nedbrytningshastigheten. Dette eksperimentet ble utført over 15 dager (12 for ett stoff) og resultatene er vist i figurene under.



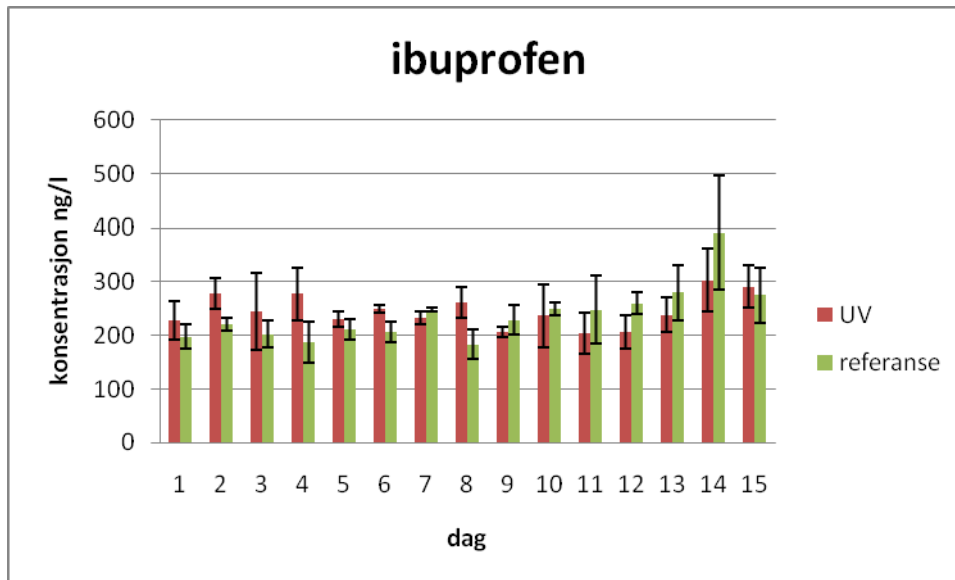
Figur 1: Resultat UV forsøk, nedbrytning av ketoprofen i løpet av 12 dager.



Figur 2 Resultat UV forsøk, nedbryting av diklofenak over 15 dager.



Figur 3 Resultater UV-forsøk, nedbrytning av naproxen i løpet av 15 dager



Figur 4 Resultater UV forsøk, nedbrytning av ibuprofen i løpet av 15 dager

Som man kan se av figurene brytes tre av stoffene raskt ned under bestråling med UV-lys, mens ibuprofen er stabil. Alle stoffene er stabil i mørket over denne tidsperioden, og det bør presiseres at UV-bestrålingen kun imiterer forholdene ved havoverflaten. Mengden lys som kan bryte ned legemidlene vil avta med dypet. Det er også viktig å påpeke at Longyearbyen har en lang "UV-vinter". Dette er perioden der UV-lyset fra sola ikke er kraftig nok til å bryte ned legemidlene, og denne perioden er noe lengre enn den normale mørketiden, noe som fører til en lang periode der man ikke har noen UV-nedbrytning av forbindelsene.

Som man kan se av resultatene så er stoffene tilstede i relativt store mengder i avløpsvann, og i mindre mengder i sjøvann. I tillegg er konsentrasjonene lavere på Svalbard enn i Tromsø som forventet ut i fra befolkningstall. I sjøvann var ingen av stoffene tilstede i høye nok konsentrasjoner til at de kunne mengdebestemmes, men enkelte var mulig å detektere i konsentrasjoner lavere enn kvantifikasjonsgrensen.

SSRIer

Selektive serotonin reopptakshemmere brukes i langt mindre grad enn NSAIDs, og det er derfor påkrevd med en mer sensitiv analysemetode for å kunne detektere disse stoffene i miljøet. Det har blitt arbeidet med å utvikle en metode basert på fast fase ekstraksjon med en ny type sorbent som gjør det mulig å ekstrahere svært store mengder vann (opp til hundrevis av liter om ønskelig). Det ble for vår del jobbet med 10 liter av praktiske hensyn, med muligheten til å oppskalere metoden når den var ferdig utviklet.

Forsøket med SSRIer må dessverre sies å være mislykket. Sorbentene vi har testet virker svært godt egnet til å ekstrahere store vannprøver, men kvantitative analyser av ekstraktene var ikke mulig å gjennomføre. Vi mistenker at sorbenten ikke tålte lutløsningen vi måtte tilsette prøvene for å få en effektiv ekstraksjon, og at sorbenten sakte løste seg opp under de basiske forholdene som prøven ga. Dette har antagelig ført til lekkasje av sorbent fra ekstraksjonskolonnen til prøven som skulle analyseres vha væskechromatografi. Hvis dette er tilfelle så vil det kunne forklare hvorfor kromatografien i analysen ble så dårlig at det ikke var mulig med noen mengdebestemmelse av legemidlene. For disse legemidlene har vi allikevel noen resultater fra en tidligere undersøkelse på Svalbard. Denne undersøkelsen fra 2007 ga oss noe overraskende resultater der konsentrasjonene av SSRIer i sjøen i Adventfjorden faktisk var høyere for enkelte stoffer enn det de var utenfor Tromsø som jo er en mye større by. Dette var bakgrunnen for at vi ville utvide analysene til også å gjelde flere legemidler og deres tilstedeværelse i området rundt Svalbard.

Tabell 3: SSRIer i sjø- og avløpsvann fra Longyearbyen og Tromsø, konsentrasjoner gitt i nanogram/liter.

	Avløpsvann Tromsø	Sjø Tromsø	Avløpsvann Longyearbyen	Sjø Longyearbyen
Citalopram	22 – 102	D	D	ND
Sertraline	4 – 11	ND	ND	D
Paroxetine	1 – 13	D	ND	0,6 – 1,4
Fluoxetine	0,6 – 5	ND	ND	ND
Fluvoxamine	D – 1,7	ND	ND	0,5 – 0,8
Norfluoxetinea	D – 2,5	ND	ND	ND
Desmetylertralinea	D - 11	ND	ND	ND
Desmetylcitaloprama	36 – 215	ND	D	ND
Didesmetylcitaloprama	0,9 - 10	ND	ND	ND

a: Nedbrytningsprodukter (metabolitter)

ND= Not Detected, ikke funnet i noen prøver, D= Detected, funnet, men i så lave konsentrasjoner at det ikke er mulig å mengdebestemme innholdet.

Benzodiazepiner

I tillegg til det planlagte arbeidet med NSAIDs og SSRIer fikk vi også muligheten til å starte arbeidet med å utvikle en metode for ekstraksjon av benzodiazepiner fra miljøprøver. Benzodiazepiner brukes for å behandle angst, nervøsitet, søvnløshet og epilepsi. 670.000 nordmenn ble foreskrevet benzodiazepiner eller benzodiazepin-ligne legemidler i 2007.

Vi har lagt fokus på "grønn kjemi" i dette arbeidet, der vi har forsøkt å ekstrahere stoffene fra miljøprøver uten bruk av organiske løsemidler. Med utgangspunkt i LPME som er kort beskrevet under avsnittet om NSAIDs ble ulike organiske faser testet ut som ekstraksjonsmedium for å undersøke om ulike oljer kan erstatte diheksyleter som normalt har blitt brukt. Som organisk fase ble følgende løsemidler og oljer testet: Diheksyleter, 1-oktanol, 3-oktanol, peppermynteolje, eukalyptusolje, solsikkeolje, peanuttolje, mandelolje, maisolje, sesamolje og rapsolje.

Resultatene viser at alle oljene unntatt peppermynte og eukalyptusolje kan benyttes under ekstraksjon. Det må likevel understrekes at ekstraksjonsutbyttene er lavere (og til dels langt lavere for noen oljer) enn for diheksyleter, noe som fører til dårligere følsomhet for å detektere lave konsentrasjoner i miljøprøver. Vi valgte derfor å fortsette å benytte oss av diheksyleter, men oljene kan absolutt vurderes brukt til denne typen analyser.

Bakgrunnen for dette arbeidet var hovedsakelig to aspekter. Det første at det rent miljømessig er ønskelig med så liten bruk av løsemidler som mulig, da løsemidler både er helseskadelig og utgjør et avfallsproblem. Ved bruk av LPME som ekstraksjonsmetode har man allerede minimert forbruket av løsemidler, men vi har nå vist at det i noen tilfeller kan være mulig å kutte det helt ut. I tillegg kan det per i dag være vanskelig å frakte med seg f.eks. brennbare løsemidler på fly når man reiser mellom ulike steder for å ekstrahere miljøprøver, og da er det langt enklere å kunne gå på nærmeste butikk og kjøpe det du trenger. I Longyearbyen har man det meste tilgjengelig på UNIS, men skal man fortsette arbeidet på andre små steder i nordområdene så kan dette bli av praktisk betydning.

De organiske løsemidlene 1-oktanol og 3-oktanol var heller ikke egnet for analyse av benzodiazepiner vha LPME.

Foreløpig har kun to avløpsvannsprøver fra Tromsø blitt analysert vha denne metoden, og resultatene er vist i tabell 3.

Tabell 4: Konsentrasjon, detekterbare (D) og ikke detekterbare (ND) analytter i prøver av avløpsvann i Tromsø

Analytes	January	April
7-Aminoclonazepam	ND	ND
1-Hydroxy Alprazolam	ND	ND
Zolpidem	3 ± 2,7	D
Midazolam	D	D
1-Hydroxy Midazolam	D	D
Alprazolam	ND	ND
Clonazepam	ND	ND

Kun Zolpidem er kvantifiserbar i en av prøvene. Dette stemmer også godt overens med at zolpidem er det legemiddelet det selges mest av av disse forbindelsene. Forøvrig hadde vi forventet å finne høyere konsentrasjoner sammenlignet med hva som har blitt funnet av SSRIer tidligere basert på salgstall. En av årsakene til at vi finner mindre enn forventet kan være at benzodiazepinene er mindre vannløselig enn SSRIene og dermed i større grad binder seg til partikler. Man bør dermed utvikle en metode for å analysere disse stoffene fra fast materiale i avløpsvannet. Dette er et generelt problem for legemidler, ulik vannløselighet fører til at de vil havne på ulike plasser i miljøet. De godt vannløselige vil forbli løst i vannfasen, mens de tungtløselige vil binde seg til partikler og sedimentere til bunnen, eller de vil i et renseanlegg bli filtrert bort fra det som slippes ut i havet og bli deponert på land.

Miljø og forvaltning

Internasjonalt foregår det mye når det gjelder utvikling av renseteknikker for avløpsvann, og hvorvidt det er mulig å fjerne legemidler i et kloakkrenseanlegg så de ikke havner i miljøet. Det diskuteres også hvorvidt det er renseanleggene sitt ansvar å fjerne legemidler fra avløpsvannet, eller om dette ansvaret ligger hos "forurenseren". Å gjøre noe med det sistnevnte er mulig å gjennomføre f eks hos sykehus, legemiddelfabrikk og lignende, men det vil være nær sagt umulig å gjøre noe med det som slippes ut fra private husholdninger gjennom legemiddelbruk i hjemmet.

Det finnes mange ulike avanserte renseteknikker i storbyene i Europa som inkluderer både kjemisk og biologisk rensing. Allikevel har man fortsatt et stykke igjen før man har teknikk på plass som fjerner alt av legemidler.

I Norge er ikke kravene til rensing like høy som i mange andre land i Europa, og det mest avanserte renseanlegget vi har for rensing av avløpsvann er drevet av Vestfjorden avløpsselskap (VEAS). Dette anlegget har både kjemisk og biologisk rensing. I Nord-Norge er kravene lavere, og i f eks Tromsø er det kun mekanisk filtrering av avløpsvannet, mens det i Longyearbyen ikke er noen behandling i det hele tatt.

Å ikke rense avløpsvann før det slippes ut i miljøet er i seg selv uheldig, men basert på våre resultater er det per i dag ikke nødvendig å innføre noen tiltak i forhold til avløp i Longyearbyen for å redusere utslippene av legemidler. Våre resultater tilsier at konsentrasjonene man kan finne av legemidler i Adventfjorden i umiddelbar nærhet til avløpsvannsutslippet ikke er høye nok til å utgjøre noen akutt trussel for marine organismer i området. Det påpekes likevel at dette er basert på dagens forskningsresultater som er mangelfulle når det kommer til langtidseksposering (flere år). Se for øvrig neste avsnitt om oppfølging.

Man bør også legge merke til at selv om konsentrasjonene av legemidler i avløpsvannet er lavere i Longyearbyen enn i Tromsø, som forventet ut i fra folketallet, så er konsentrasjonen i sjøen omtrent lik (og faktisk høyere for enkelte legemidler). Dette kan skyldes en saktere utskiftning av vannet i Adventfjorden sammenlignet med i området rundt Tromsø der det er kraftige tidevannsstrømmer. Samtidig er det som nevnt antagelig en langsommere UV-nedbrytning av legemidler jo lenger nord man kommer, og i tillegg er temperaturene lavere, noe som generelt fører til en langsommere kjemisk og biologisk nedbrytning av disse forbindelsene. Dette fører til at potensialet for opphopning av forbindelsene synes å være større utenfor Longyearbyen enn Tromsø som vi kan sammenligne med, noe som gjør at man bør være ekstra observant i forhold til oppfølging av dette.

Oppfølging

Det foreligger per i dag ingen forskning på hvordan legemidler i lave konsentrasjoner (miljørelevante konsentrasjoner) vil påvirke marine organismer over lang tid (år), da de fleste forsøk er gjort med høye konsentrasjoner over kort tid (vanligvis 2 uker) for å få raske resultater. Dersom/når denne type forskning blir gjennomført og resultatene viser at langvarig påvirkning av legemidler kan ha uheldige konsekvenser for det marine liv, så bør dette også følges opp i Longyearbyen, og hvorvidt det er nødvendig med rensing av avløpsvann med tanke på legemidler bør vurderes på nytt.

Det vil si at per i dag blir det viktigste oppfølgingstiltaket å holde seg oppdatert på forskningen som foregår internasjonalt rundt legemidlers toksisitet på marine organismer når de foreligger i lave konsentrasjoner, samt hvorvidt blandinger av legemidler kan ha andre og kanskje sterkere effekter enn et enkelt legemiddel alene. Ved menneskelig bruk ser man ofte uheldige og kraftigere bivirkninger når man kombinerer legemidler, og det er svært sannsynlig at man vil se den samme effekten i miljøet.

Når det gjelder krav til rensing av avløpsvann så strammes de jevnlig inn over hele Norge, og det er ikke usannsynlig at det før eller siden kommer krav til at også Longyearbyen må rense sitt avløpsvann. I et slikt tilfelle bør man være føre var og investere i renseteknologi som også i størst mulig grad kan fjerne legemidler innenfor de kostnadsrammer man har.