

Analyse av Selective Serotonine Reuptake Inhibitors i avløpsvann fra renseanlegg i Tromsø

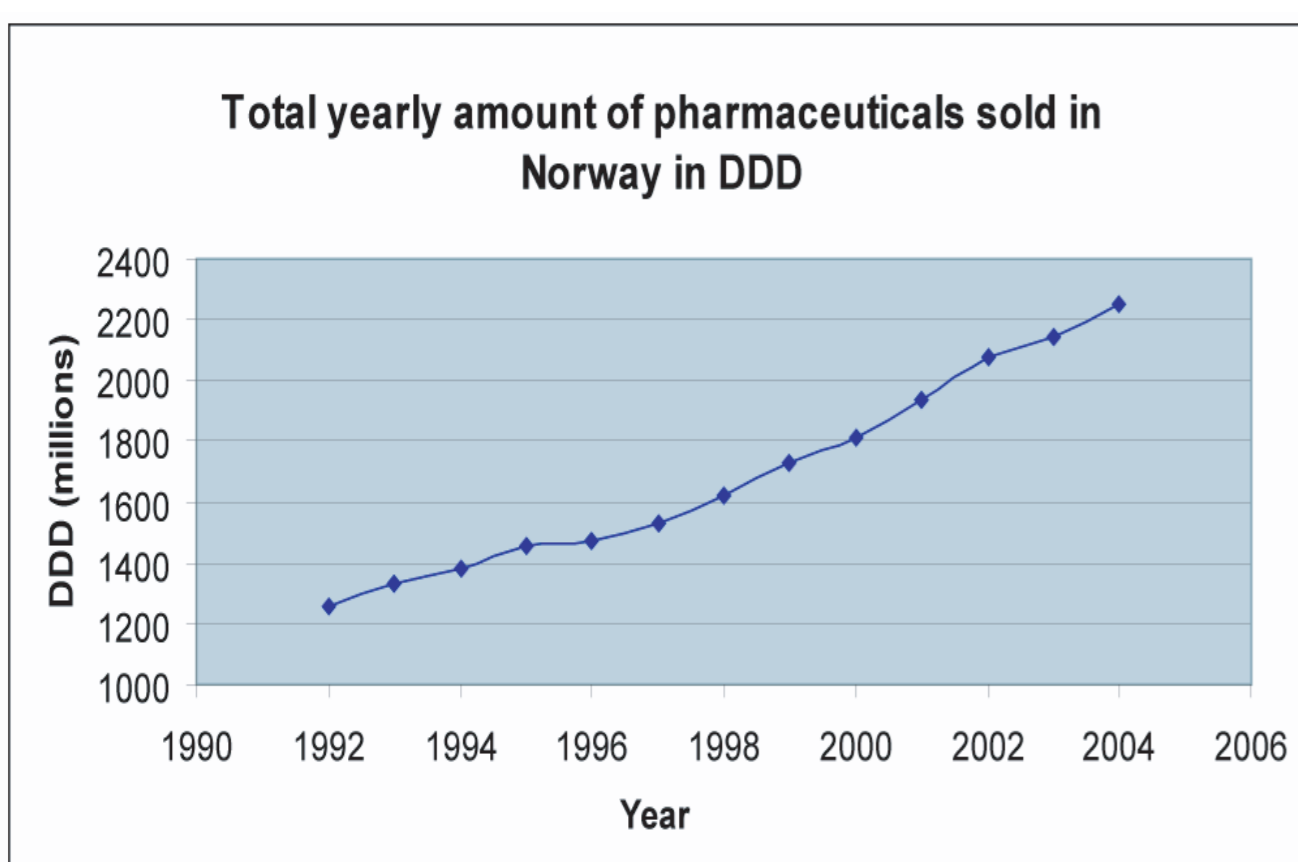


Terje Vasskog¹, Urs Berger², Per-Jostein Samuelsen¹, Einar Jensen¹
¹Institutt for Farmasi, Universitetet i Tromsø, ²Norsk Institutt for Luftforskning, Tromsø

INTRODUKSJON

Selective Serotonine Reuptake Inhibitors (SSRI) er kjent for å ha en uønsket effekt på marine organismer [1,2]. Vi har derfor utviklet en metode for analyse av SSRI'er i avløpsvann fra renseanlegg.

Samtidig vet vi at forbruket av legemidler øker raskt både i Norge og i resten av verden. Det har vært en femdobling av det totale forbruket av antidepressiva i Norge etter at SSRI'ene ble introdusert på markedet tidlig på 1990-tallet.



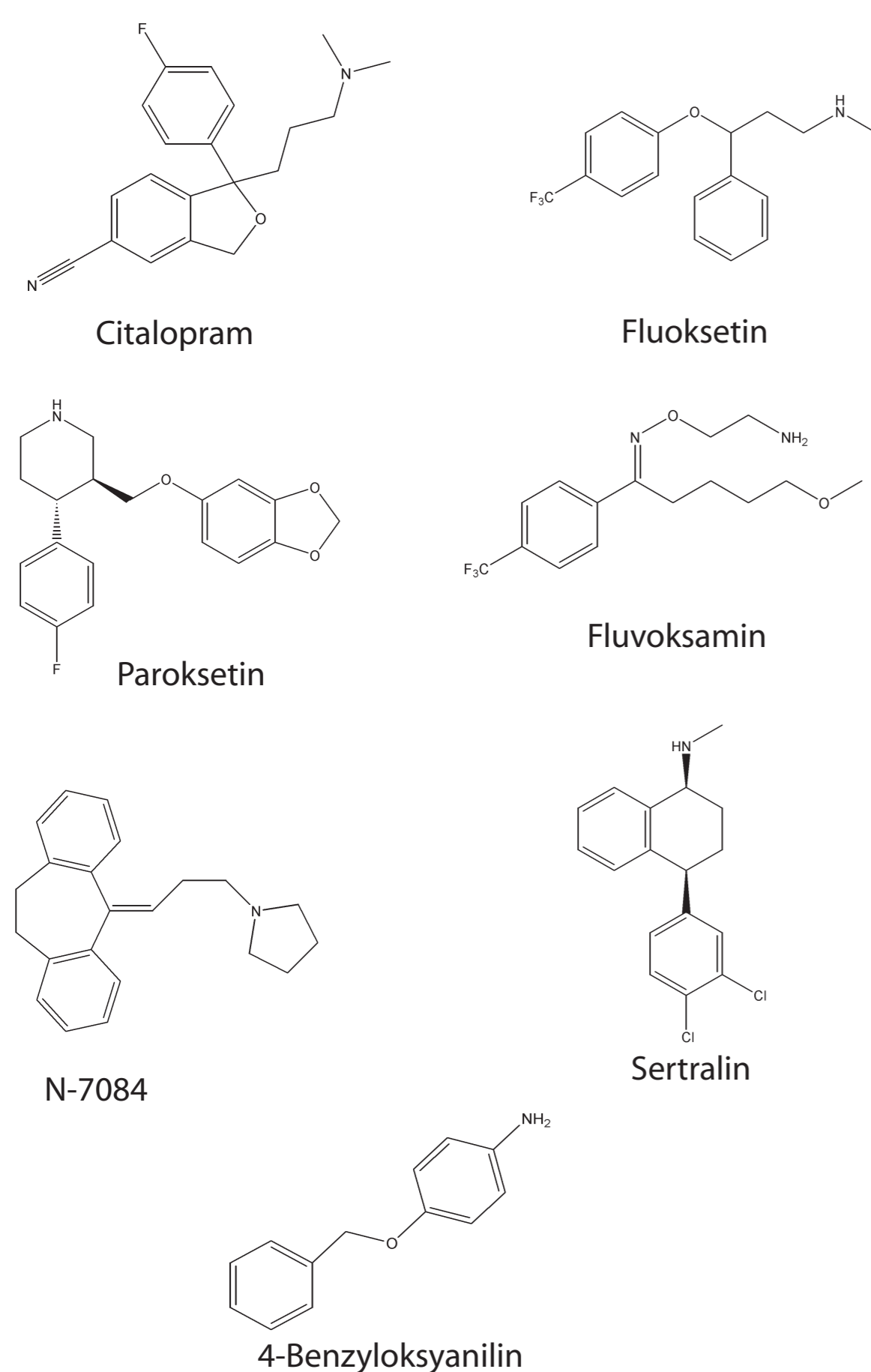
Figur 1: Den totale mengden legemidler solgt i Norge fra 1992 til 2004 uttrykt som definert døgndose (DDD). Det var en økning på 78,5 % i denne 12-års perioden (<http://www.legemiddelforbruk.no>, se nøkkeltall).

Det finnes fem SSRI'er på det norske markedet per i dag; citalopram, sertraline, fluoksetin, fluvoksamin og paroksetin (fig.2), og ca 180.000 personer bruker daglig ett av preparatene.

Renseanleggene for avløpsvann i Tromsø har ingen kjemisk eller biologisk nedbrytning i rensingen av vannet, kun filtrering. Dette fører trolig til at en forholdsvis større andel legemidler slipper ut enn i tilsvarende anlegg med biologisk og kjemisk nedbrytning.

MATERIAL OG METODER

Standardløsninger av SSRI'ene citalopram, sertraline, paroksetin, fluoksetin og fluvoksamin ble donert av Universitetssykehuset i Nord-Norge (UNN). Til metodeutvikling ble de ulike virkestoffene ekstrahert fra tabletter. Legemidlene som ble ekstrahert var Zolofit <<Pfizer>> (sertraline), Fevarin <<Solvay>> (fluvoksamin), Fluoxetin <<Ratiopharm>> (fluoksetin), Paroxat <<GEA>> (paroksetin) og Citalopram <<GEA>> (citalopram). N-7084 fra Lundbeck ble brukt som intern standard og 4-Benzylloksyanilin fra Sigma Aldrich ble brukt som recovery standard.



Figur 2: Molekylstruktur for SSRI'ene, intern standard og recoverystandard

De benyttede mobilfasene til HPLC bestod av acetonitril og vann tilsatt ammoniakk.

Gradienteluering ble benyttet med følgende mobilfaser:

A: vann + 0,1 % ammoniakk
 B: 90 % acetonitril + 10 % vann + 0,1 % ammoniakk

Gradient:

Tid	%A	%B	Flow (ml/min)	Curve
0.00	60	40	0,2	
1.00	60	40	0,2	6
8.00	30	70	0,2	6
18.00	20	80	0,2	6
25.00	10	90	0,2	6
33.00	0	100	0,2	6
38.00	0	100	0,2	6

Analysen ble gjort med en Waters 2695 HPLC og en Ace 3 2,1-150 mm C₁₈-kolonne, og med et Micromass Quattro LC massespektrometer i MRM modus som detektor.

Datterionene med høyest intensitet ble benyttet til kvantifisering, mens forholdet mellom datterionene med høyest intensitet og nest høyest intensitet ble benyttet til sikker identifisering av stoffene. Følgende overganger ble brukt:

Stoff	Ion til kvantifisering	Ion til identifisering
Citalopram	m/z 325 til m/z 109	m/z 325 til m/z 262
Sertraline	m/z 306 til m/z 275	m/z 306 til m/z 159
Paroksetin	m/z 330 til m/z 192	m/z 330 til m/z 70
Fluoksetin	m/z 310 til m/z 44	m/z 310 til m/z 148
Fluvoksamin	m/z 319 til m/z 71	m/z 319 til m/z 200

Prøver

Prøver ble hentet fra tre renseanlegg og en pumpestasjon i Tromsø. Renseanleggene ligger ved Langnes, Breivika og Hamna.

Pumpestasjonen ligger ved Sjølund og pumper bl.a. avløpsvannet fra Åsgård psykiatriske sykehus til renseanlegget ved Langnes (fig.3).

Prøvene ble hentet i starten av juli 2005.

Prøvene fra Langnes er tatt ut kontinuerlig over et helt døgn, mens de øvrige prøvene kun er tilfeldige uttak.

Det ble tatt ut 2,5 liter avløpsvann fra alle prøvene til analyse. Prøver ble tatt før og etter rensing.



Figur 3: Kart over Tromsøya med renseanlegg og pumpestasjoner hvor prøvene er hentet fra.

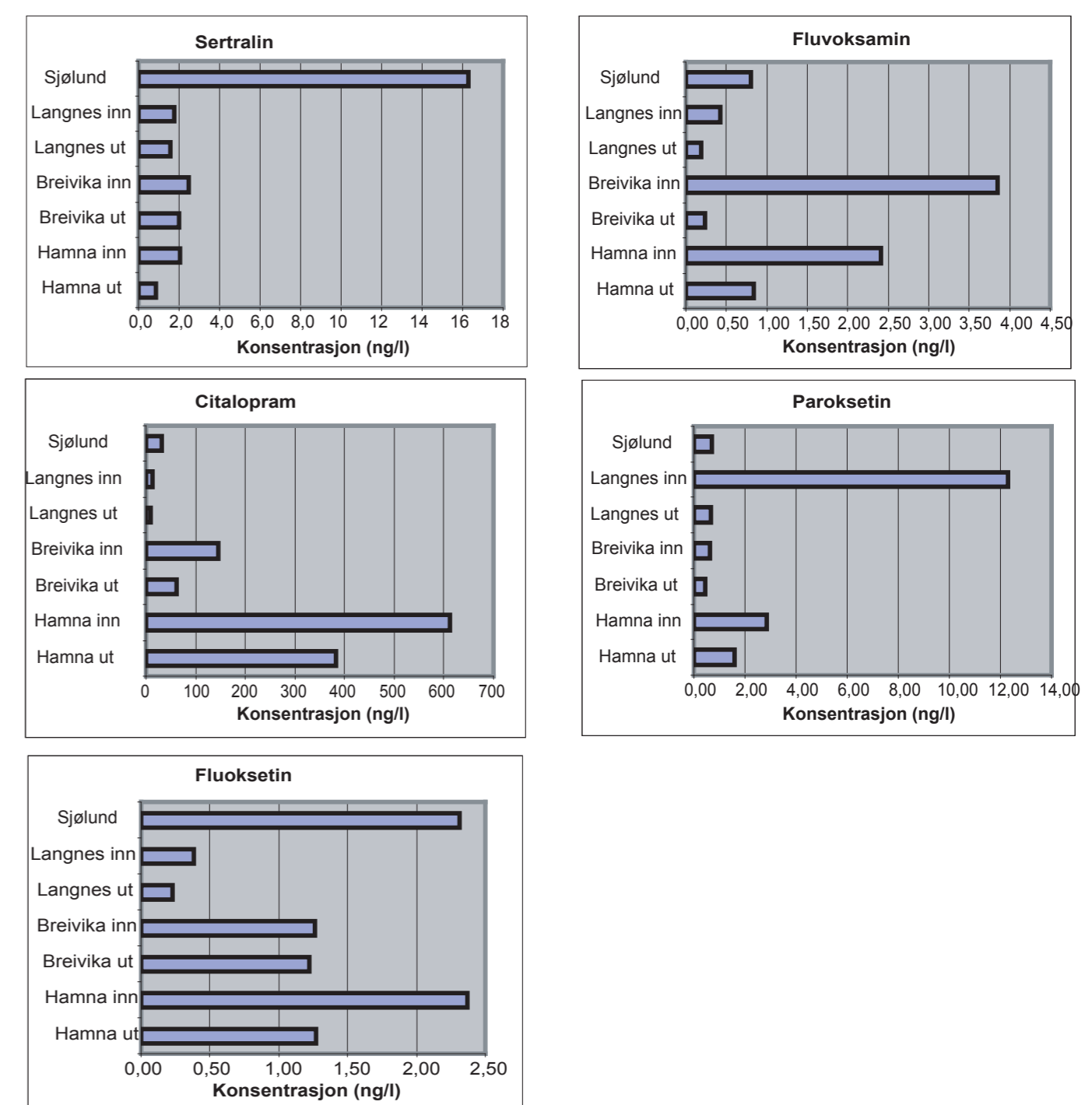
Ekstraksjon

Prøvene ble ekstrahert på en Bond Elut ENV fast fase ekstraksjonskolonne. Eluatet ble så tilsatt vann, og MeOH ble dampet av.

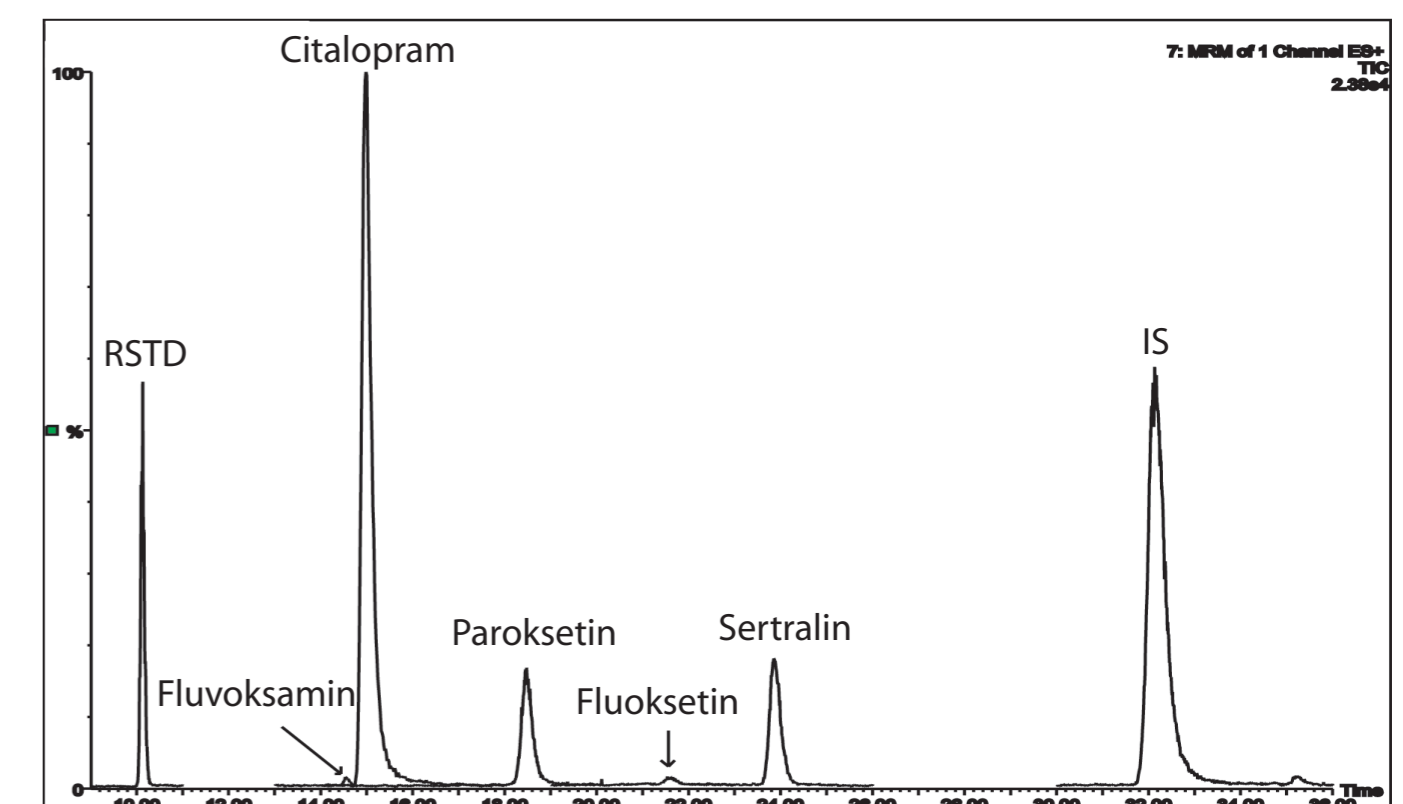
Vannfasen ble deretter ekstrahert med pentan under først sure, så basiske betingelser. Ekstraktet fra den basiske ekstraksjonen inneholdt da analyttene ettersom de har en pK_a-verdi på mellom 9,5 og 10,5. Pentanfasen ble så dampet inn til tørrhet og prøvene reoppløst i MeOH og vann og analysert på HPLC-MS.

Utbyttet for ekstraksjonen lå mellom 53 og 84% for alle forbindelsene.

RESULTATER



Figur 4: Grafisk fremstilling av konsentrasjonene i de ulike prøvene.



Figur 5: HPLC-MS kromatogram av prøven tatt fra Langnes renseanlegg for rensing. RSTD er recoverystandard og IS intern standard.

DISKUSJON OG KONKLUSJON

Som vi ser av resultatene finner man generelt mest citalopram. Dette er i overensstemmelse med at citalopram er det mest brukte av de analyserte legemidlene. Det bør bemerkes at konsentrasjonen er langt høyere enn forventet i noen av prøvene, uten at vi har funnet noen fornuftig forklaring.

Ved test av matrikseffekt på ionestrømmen ble det ikke funnet noe som tyder på at signalet til citalopram er forsterket, og forholdet mellom datterionet som brukes til kvantifisering og datterion som brukes til sikker identifisering var som det skulle være.

For de andre stoffene finner man konsentrasjoner fra nær deteksjonsgrensen (rundt 0,2 ng/l) og opp til noen få ng pr liter.

Vi så også en tendens til at konsentrasjonen etter rensing var noe lavere enn før rensing, men forskjellen er liten. Dette kan skyldes at stoffene har en tendens til å feste seg til partikler og dermed bli filtrert bort [3].

Det vil i løpet av høsten 2005 bli tatt flere døgnprøver og ukesprøver for å få et bedre bilde av det totale utslippet.



Figur 6: Renseanlegget ved Hamna på Tromsøya.

Takk til Tromsø Kommune og Universitetssykehuset i Nord-Norge for all hjelp.

Ref: 1: Theodore B. Henry, *Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in ceriodaphnia dubia*, Environmental Toxicology and Chemistry, 2004, 23(9): p. 2229-2233
 2: H.A.N. Perrault et al., *Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish*, Physiology & Behavior, 2003, 79(4-5): p.719-724
 3: J-W Kwon, *Persistence and fate of fluoxetine in aquatic environments*, Abstract of Papers, 229th ACS National Meeting, USA