

Prøvetagning ved
Karrebæksmunde.
Foto: Forfatterne

Kort over Danmark
med koordinater
indtegnet for prøve-
tagningssteder:



Forfatterne



Cæcilie Heedal Dinsen
er kandidatstuden-
de i Environmental
Science
heedal@ruc.dk



Esther Shruti Haase
Øllgaard er kandi-
datstuderende i En-
vironmental Science
shruti@ruc.dk



Tor Salomonsen
Bachelor i Miljø Biologi
og TekSam Miljøplan-
lægning
salomonsen@ruc.dk



Lasse Aggerholm,
kandidatstuderende i
Chemical Biology
aggerholm@ruc.dk



Vejleder på projektet:
lektor Per Meyer Jepsen
pmjepsen@ruc.dk.
Alle ved Roskilde
Universitet.



HOVEDPINEPILLER

– en hovedpine for miljøet?

Når vi bruger hovedpinepiller med paracetamol, kan dette stof havne i vandmiljøet. En gruppe studerende fra RUC har som del af deres bachelorprojekt undersøgt, hvor meget paracetamol, der faktisk findes i danske farvande, og hvordan paracetamol kan påvirke organismer som vandlopper.

Har du nogensinde over-
vejet, hvor dine hovedpi-
nepiller forsvinder hen,
efter at du har indtaget
dem. Og er de så ufarlige som vi
tror? De spørgsmål har vi undersøgt
som en del af vores bachelorprojekt
på Roskilde Universitet.

Når du tager en Panodil eller tilsva-
rende hovedpinepille, så er det, der
lindrer din smerte, et kemisk stof
der hedder Paracetamol. Paraceta-
mol tager en tur gennem kroppen

via blodstrømmen, hvor lægemidlet
bliver primært nedbrudt i leveren,
hvorefter paracetamolen samt dens
nedbrydningsprodukter også kaldet
metabolitter, transporteres yderli-
gere via blodstrømmen til nyrerne,
hvorfra de udskilles, hovedsageligt
i urinen. Spildevandet fra dit toilet
behandles på et renseanlæg, men
på trods af dette forbliver en del af
paracetamolen og stoffets metabo-
litter i vandet efter spildevandsbe-
handlingen. Det rensede spildevand
frigives løbende til vandmiljøer, hvor

det kan påvirke de organismer, der
lever i vandet. Når paracetamol ad
denne vej er kommet ud i vandmil-
jøet, kan det bundfældes og på den
måde binde sig til sediment- eller
jordpartikler og med tiden sive ned
og forurene grundvand og dermed
drikkevand.

Feltprøver og vandloppesforsøg
Mennesker over hele verden i alle
aldre tager paracetamol. Paraceta-
mol anses for at være ufarligt, når
man tager den anbefalede dosis.

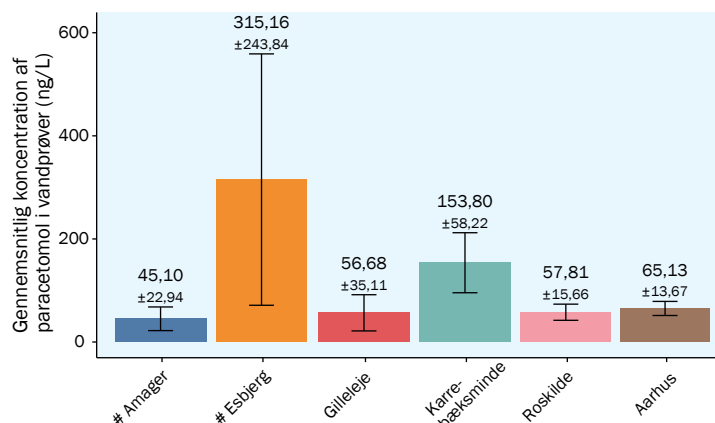
Det er endda blevet anbefalet af WHO som et sikkert og omkostningseffektivt lægemiddel. Der er dog nyere undersøgelser på mus, der viser en sammenhæng mellem moderens eksponering for paracetamol og ændringer i seksuel adfærd, testosteronniveauer, udvikling af testikler m.m. hos afkommet.

På baggrund af denne viden om det store forbrug af paracetamol, den konstante frigivelse til vandmiljøer og potentielle effekter hos afkommet af mus, fandt vi det interessant at undersøge først og fremmest de nuværende koncentrationer af paracetamol i dansk havvand – mere specifikt koncentrationen på 6 forskellige danske kyststrækninger. Men dernæst også interessant at undersøge, hvordan afkommet af den vandlevende vandloppe, *Acartia tonsa*, bliver påvirket af forskellige paracetamolkoncentrationer som en test af, hvordan paracetamol generelt kan påvirke små vandlevende organismer.

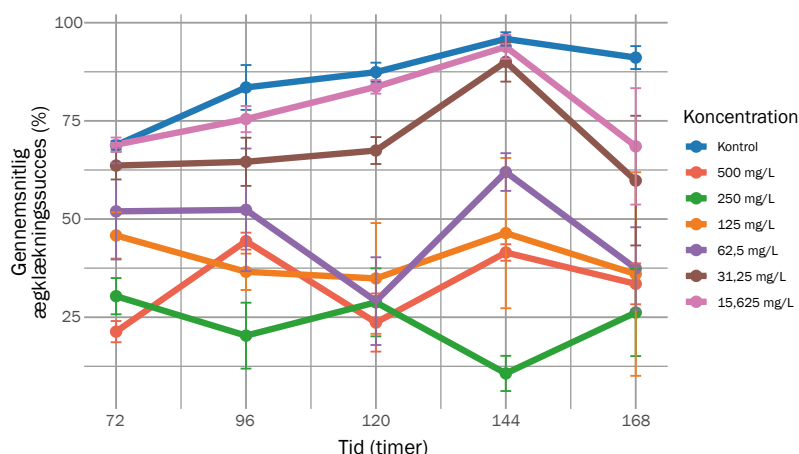
For at få en geografisk spredning på prøverne, så de repræsenterer de fleste danske farvande, tog vi prøver ved Amager, Esbjerg, Gilleleje, Karrebæksminde, Roskilde og Aarhus. Fælles for alle prøveudtagningsstederne er, at de ligger i nærheden af renseanlæg, hvor vi vil forvente at finde de højeste koncentrationer. Vandprøverne blev efter indsamling filtreret, og dernæst analyserede vi paracetamolkoncentrationen.

Paracetamol i alle prøver

Vores analyse viste, at der var paracetamol i alle de indsamlede vandprøver. Der var mest paracetamol i prøverne fra Esbjerg med 315 ng/L og Karrebæksminde med 153 ng/L (se figur 1). Vores resultater peger altså på, at paracetamol har fundet vej til det danske havmiljø. Der er dog visse usikkerheder forbundet med resultaterne for analysen. Som tidligere nævnt fjerner renseanlæg ikke al paracetamol fra vandet, hvorfor man kan forvente, at der er højere koncentrationer af paracetamol omkring et renseanlæg, fordi



Figur 1. Gennemsnitlig paracetamolkoncentration af tre prøver fra hver lokalitet. Bemærk, at prøveudtagningslokaliteter markeret med et hashtag (#) betyder, at disse prøver ikke blev kørt sammen med de andre. Dette er en potentiel fejlkilde, da man ikke kan være sikker på, at prøverne har haft præcis samme behandling. De tynde lodrette bjælker angiver standardafvigelsen, dvs. hvor stor variation der er mellem de tre prøver for hver lokalitet. Som det fremgår, målte vi den højeste koncentration ved Esbjerg, men her finder vi også klart den største spredning på de tre prøver.



Figur 2. Gennemsnitlig procentvis ægklækningssucces for vandloppeæg udsat for høje koncentrationer af paracetamol (mg/L) over tid. Vi startede med cirka 25.000 vandloppeæg fordelt i 21 kolber med 6 forskellige koncentrationer af paracetamol samt 1 kontrol. Vi lod æggene blive i kolberne i 72 timer, hvorefter vi tog en prøve på 10 mL fra kolben, hældte det ud i en petriskål og talte antallet af æg og larver i prøven. Ægklækningssuccesen blev på den måde målt i de enkelte petriskåle. Dette gjorde vi med 24 timers interval i 4 dage, i alt 168 timer.

På figuren kan man se, at de 2 laveste koncentrationer, 15,625 mg/L (lyserød) og 31,25 mg/L (brun) samt kontrollen (blå) – alle har en ægklækningssucces på 60 % eller derover gennem hele forsøgsperioden. Til sammenligning ligger ægklækningssuccesen for de 4 højeste koncentrationer (lilla, orange, grøn og rød) under 60 % gennem forsøget på nær et enkelt punkt på den lilla kurve, der er 62%.

de er et samlingspunkt for spildevand, der indeholder paracetamol. På den anden side kan der generelt være meget mere paracetamol i havvandet end vores fundne koncentrationer. Paracetamol kan nemlig transformeres i miljøet, både af

rent fysiske processer forårsaget af for eksempel sollys eller bevægelse og biologisk af dyr eller andre organismer i miljøet. Dette kan ændre på det oprindelige eller nedbrudte paracetamol-molekyle. Nogle af disse biotransformerede former for



Laboratoriemetoder

For at bestemme mængden af paracetamol i vores prøver skulle vi først have paracetamolen skilt fra havvandet. Det gjorde vi ved at lade prøverne løbe gennem et filter med en porestørrelse, der er egnet til at filtrere det ønskede stof fra (det kaldes på fagsproget for fastfase-separation). I vores tilfælde var porestørrelsen 8 nanometer. Da alt havvandet var løbet igennem, befandt paracetamolen sig i filtret. Filtret kunne vi derefter skylle med et opløsningsmiddel (metanol), som fik paracetamol til at løbe igennem filtret. Resultatet var dermed en blanding af metanol og paracetamol, som vi dernæst kunne analysere ved hjælp af en metode kaldet massespektrometri. I et massespektrometer bringes molekylerne, der skal analyseres, på gasform og ioniseres. Ionerne vil derefter vandre gennem apparatet med forskellig hastighed afhængig af deres vægt. Ved hjælp af en computer registreres det, hvornår partikler er kommet igennem apparatet, hvorefter komponenterne af molekylet kan analyseres. Ved hjælp af massespektrometri kan man undersøge mange forskellige substanser, for eksempel indholdet af paracetamol i en vandig opløsning.



Hvad er en vandloppe?

Vandloppe er en gruppe af zooplankton, der kan findes i både fersk- og saltvandsmiljøer. Under gruppen af marine vandloppe findes arten *Acartia tonsa*, som er hjemmehørende i Danmark. Livscyklussen for *A. tonsa* tager cirka 2 til 3 uger, hvor vandloppen efter ægklækning når larvestadiet nauplii. Herefter følger 5 stadier af såkaldte copepoditter, før vi har en fuldvoksen vandloppe.
← Larve (nauplius) af vandloppen *A. tonsa*. Foto: Forfatterne.

paracetamol, såsom p-aminophenol og p-benzoquinon, kan være endnu mere giftige end den oprindelige form af paracetamol.

I vores analyse undersøgte vi kun koncentrationen af paracetamol. Hvis vi også havde inkluderet metabolitterne fra nedbrudt eller biotransformeret paracetamol i analysen, ville de samlede koncentrationer formentlig have været endnu højere, end dem vi fandt.

Kan hæmme vækst af vandloppe

For at undersøge, hvordan de danske koncentrationer af paracetamol påvirker hjemmehørende akvatiske organismer, brugte vi som tidligere nævnt vandloppen *Acartia tonsa*. Vandloppe er en vigtig forbindelse mellem det mikroskopiske planteplankton (fytoplankton) og dyr lænere oppe i fødekæden i de marine økosystemer, og derfor er de en relevant testorganisme.

I vores undersøgelse brugte vi 500 mL glaskolber til at lave forskellige opløsninger af paracetamol i havvand, både med koncentrationer svarende til dem, vi havde målt på de 6 kyststrækninger, og væsentlig højere koncentrationer. I disse kolber anbragte vi en ens mængde vandloppeæg, og efter 72 timer tog vi hver 24. time en prøve ud for at bestemme antallet af klækkede æg, og hvor meget vandloppelarverne (kaldet nauplii) voksede.

Eksperimentet viste, at jo højere koncentration af paracetamol, jo færre æg klækkede og desto mindre voksede vandloppelarverne – for den højeste koncentration var der en negativ vækst (figur 2 og 3). Vores forsøg tyder altså på, at paracetamol hæmmer væksten og ægklækningen af vandloppen *A. tonsa*, når koncentrationen bliver høj nok.

For de koncentrationer, der var miljørelevante – altså dem, der repræsenterer hvad vi målte i felten – var der dog ikke en signifikant effekt på vandloppernes vækst i

forhold til kontrolgruppen (figur 4). Når vi i vores forsøg testede højere koncentrationer end dem, vi havde målt i felten, er det fordi, vi dels ville teste, om der overhovedet ses en effekt på vandlopperens vækst og ægklækning ved eksponering til højere paracetamol-koncentrationer, og i bekræftende fald, hvor høj koncentrationen skal være, før *A. tonsa* faktisk bliver påvirket. Dette er også interessant, fordi man kan bruge den viden til at forsøge at forudsige effekten hos *A. tonsa*, hvis koncentrationen af paracetamol i miljøet bliver meget højere i fremtiden på grund af den stadige tilførsel af paracetamol med det rensede spildevand.

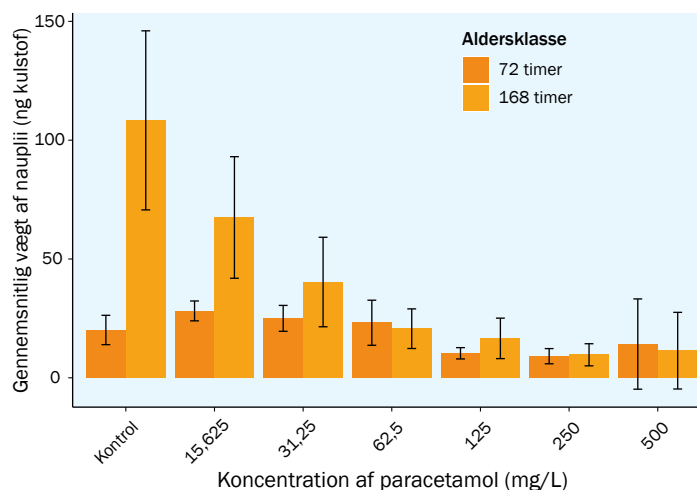
Hvilke konkrete mekanismer, der får paracetamol til at hæmme vækst og klækning af æg hos denne vandloppe, fortæller vores forsøg ikke noget om. Men ved at søge i litteraturen, kan vi få et bud på mulige forklaringer. Når vandloppeæg oplever ugunstige forhold, kan de som en form for overlevelsesmekanisme gå i dvale. Og hvis det er det, der er sket i vores forsøg, vil det jo netop kunne ses som et fald i vækst og ægudvikling. Hvis de ugunstige forhold er forbigående, kan vandlopperne komme ud af deres dvale igen, og man vil så opleve, at vækst og udvikling normaliseres.

En anden mulig forklaring kan være, at paracetamolen forhindrer DNA-replikation i en bestemt fase af celledelingsprocessen (S-fasen) i vandlopperne. Herved forbliver cellerne i S-fasen, og derfor hæmmes celledeling og dermed vækst og ægklækning.

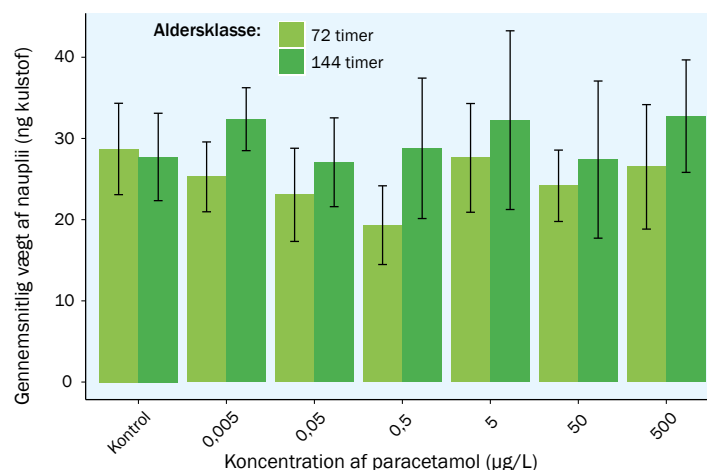
Uanset hvilken mekanismer, der er på spil, er konklusionen, at vandloppen *Acartia tonsa* ikke reagerer positivt på paracetamol i miljøet.

Behov for mere regulering?

Er paracetamol så ufarligt, som vi tror? Vores forsøg viser, at der er en klar sammenhæng mellem høje koncentrationer af paracetamol og hæmning af vækst samt udvik-



Figur 3 viser den beregnede gennemsnitlige vægt af klækkede vandloppelarver udsat for forskellige høje paracetamolkoncentrationer efter henholdsvis 72 timer og 168 timer. De sorte bjælker viser standardafvigelsen. Det er tydeligt, at vandloppelarvernes vækst er mindre, jo højere paracetamolkoncentrationen er.



Figur 4 viser til sammenligning den beregnede gennemsnitlige vægt af klækkede vandloppelarver ved miljørelevante koncentrationer (altså svarende til dem, vi målte på de 6 lokaliteter). Bemærk, at koncentrationen her er angivet i mikrogram (altså en faktor 1000 mindre end i den anden figur), og at eksponeringstiden er henholdsvis 72 og 144 timer. De sorte bjælker viser standardafvigelsen. Der ses ikke nogen signifikant forskel på væksten af larverne ved disse koncentrationer i forhold til kontrolgruppen.

lingen hos vandloppen *A. tonsa*. Det er dog vigtigt at bemærke, at ved de koncentrationer, vi faktisk har målt på de 6 kyststrækninger, kunne vi ikke observere signifikante effekter på vandlopperne. Men det betyder ikke, at der ikke er grund til bekymring. Det konstante globale forbrug og deraf følgende udledning via spildevandsudledning kan medføre en ophobning af paracetamol i vandmiljøet og dermed en risiko for utilsigtede langtidseffekter på akvatiske organismer.

Europa-Parlamentet har på nuværende tidspunkt ikke fastsat nøjagtige grænseværdier for mikroforurenende lægemidler i spildevandet fra renseanlæg, og derfor er paracetamol i miljøet en problemstilling, der hidtil er gået under radaren. Vores bachelorprojekt giver et fingerpeg om, at der kan være behov for mere regulering på området, så vi kan tage hovedpinepiller uden at vi dermed giver miljøet en utilsigtet hovedpine. ■