Interkalibrerad läkemedelsanalys 2017
– ett samarbetsprojekt för ökad analyskvalité

Projektdeltagare: Högskolan Kristianstad, Umeå Universitet, Sveriges lantbruksuniversitet, Svenska Miljöinstitutet Stockholm, Aarhus Universitet Danmark

Projektledare: Ola Svahn & Erland Björklund
Forskningsgruppen i Analytisk Kemi MoLab, Högskolan Kristianstad

Uppdragsgivare: Havs- och Vattenmyndigheten – HaV

HÖGSKOLAN KRISTIANSTAD

Författare

Erland Björklund
Ola Svahn

Kontaktuppgifter

erland.bjorklund@hkr.se
ola.svahn@hkr.se

Omslagsbild

Elektrospray. Foto: O. Svahn.

Sammanfattning

Läkemedelsverket gav i september 2015 ut en rapport med titeln ”*Miljöindikatorer inom ramen för nationella läkemedelsstrategin (NLS)*”. Rapporten indikerar bland annat stora kvalitetsbrister i tidigare utförda analyser av läkemedel i miljön under åren 2002-2013, men betonar också vikten av att samordna framtida nationella läkemedelsanalyser för att bättre använda våra offentliga resurser. I rapporten skriver man följande:

> *”Allra högst prioriterad ansåg arbetsgruppen att indikatorn ”mäta halter av läkemedelssubstanser i miljö” vara. Detta beroende på att det utöver att det är av stor vikt att följa utvecklingen av läkemedelsrester i miljön över tid för att utvärdera effekten av genomförda insatser, så ansåg arbetsgruppen att det finns stora möjligheter att optimera användningen av de offentliga resurserna genom en bättre samordning av mätningar i miljön. Många mätningar har gjorts historiskt av olika offentliga aktörer utan någon samordning.”*

Mot bakgrund av detta, och som svar på ett nationellt behov, åtog sig Högskolan Kristianstad (HKR) genom Ola Svahn och Erland Björklund, båda verksamma vid MoLab, Krinova Incubator and Science Park i Kristianstad, att leda denna interkalibreringsstudie för läkemedelsanalys i miljö-vattenprover av olika typ. Arbetet har skett på uppdrag av Havs- och Vattenmyndigheten som finansierat arbetet via bidrag ur havs- och vattenmiljöanslaget och i samarbete med fyra andra analyslaboratorier vid Umeå Universitet (UU), Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU), Svenska miljöinstitutet Stockholm (IVL) samt Aarhus Universitet Danmark (AU). Total deltog därmed 5 laboratorier, alla med tidigare erfarenhet av läkemedelsanalys i miljöprover.

I Läkemedelsverket rapport rekommenderas 22 ämnen som ska följas årligen, och att framtida mätningar av dessa substanser bör komplettera de mätningar som naturvårdsverket redan idag gör. I denna interkalibrering valdes, i samråd mellan projektdeltagarna, totalt 10 ämnen ut från denna lista; carbamazepine, ciprofloxacin, citalopram, clarithromycin, diclofenac, ethinylestradiol, ibuprofen, metoprolol, sulfamethoxazole och tramadol. Totalt analyserades 5 olika provtyper innefattande två rena standarder (låg och hög koncentration), ett dammvatten spikat med kända halter av läkemedel, samt två autentiska miljöprover med okända halter, dels ett utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk, dels ett prov nedströms reningsverket i Hammarsjön som är en del av Unesco Biosfärsområde Kristianstads Vattenrike (Vattenriket®).

Redan vid analysen av de två rena standarderna framkom att fem av läkemedlen är förhållandevis enkla att analysera (carbamazepine, citalopram, diclofenac, metoprolol och sulfamethoxazole) medan fem är mer problematiska (ciprofloxacin, clarithromycin, ethinylestradiol, ibuprofen och tramadol). Detta var också i linje med de förväntningar laboratorierna hade på ämnena redan vid valet av dessa baserat på tidigare erfarenheter från läkemedelsanalyser. Svårigheterna att analysera läkemedlen ökade i det spikade dammvattnet pga. interfererande organiskt material i provet som skapar matriseffekter vid slutanalysen i form av så kallad ”ion suppression”. De redan problematiska ämnena blev generellt sett ännu svårare att mäta, men även analyserna av de fem

ämnen som fungerade relativt väl som rena standarder blev mer utmanande. Det ämne som var enklast att analysera i såväl standarder som i spikat dammvatten var sulfamethoxazole, medan ethinylestradiol var det mest problematiska.

Analys av de båda autentiska miljöproverna visade på ytterligare problematik, och några av laboratorierna kunde inte detektera vissa ämnen trots att både det renade avloppsvattnet och ytvattnet innehöll förhållandevis höga halter av ämnena i fråga. Några mer generella problem och slutsatser därav var i korthet följande:

> *Ett laboratorium hade problem med tillförlitligheten hos masspektrometern och hade därmed svårt att tillhandahålla analysdata under avtalad period. Instrumentproblem kan drabba all laboratorium och visar på vikten av att ha goda serviceavtal med snabb respons hos leverantören på den här typen av avancerad instrumentering. Detta är självklart kostsamt men nödvändigt vid kontinuerlig drift. Laboratoriet kompletterade analysdata i efterhand när masspektrometern åter fungerade tillfredsställande.*
>
> *Ett annat laboratorium redovisade konsekvent lägre koncentrationer än alla andra laboratorier med en faktor 2 lägre. Laboratoriet undersökte då i detalj sin analyskedja och fann att bristande kommunikation hade lett till att endast halva volymen internstandard hade tillsatts proverna, med åtföljande låga resultat. Denna typ av fel är mycket svåra att avslöja om man inte deltar i interkalibreringsövningar och visar på vikten av att ha så kallade "Standard Operating Procedures" på plats i sitt laboratorium och att dessa följs noggrant av den som utför analyserna för att undvika systematiska fel. Detta laboratorium uppdaterade också sitt dataset i efterhand.*
>
> *Ett tredje laboratorium hade svårt att detektera flera av ämnena vid låga koncentrationer vilket troligen var en konsekvens av förenklad provupparbetning. Därmed anrikades inte läkemedlen i tillräcklig mängd inför slutanalysen i masspektrometern och förblev därmed oupptäckta i proverna. Generellt sett är provupparbetningen vid organisk spåranalys helt avgörande för att reducera det interfererande organiska material som finns i proverna inför slutanalysen. Detta för att minska "ion suppression" och göra det enklare att detektera ämnet i fråga så det inte "försvinner" i bakgrundsbruset.*
>
> *Ett fjärde laboratorium uppvisade 4 gånger högre koncentrationer för ämnet tramadol än alla andra laboratorium i såväl avloppsvattnet som i ytvattnet. Detta var inte rimligt, och det visade sig att detta laboratorium inte tidigare analyserat tramadol. Att införliva nya läkemedel i sin portfölj tar tid och kräver att man kvalitetskontrollerar sin nya metodik. Interkalibreringsövningar är då ett mycket effektivt sätt att testa om den nya metodik som utvecklats fungerar vid analys av verkliga prover.*

Vid slutrapportering till HaV efterfrågas miljöeffekten av det genomförda arbetet. Det går inte att uppmäta en större reell momentan effekt, utöver att deltagande laboratorier blivit medvetna om vikten av att samarbeta och kontinuerligt ingå i interkalibreringsövningar för att säkerställa god nationell analyskvalité. Däremot är den förväntade långsiktiga effekten av projektet högst påtaglig då det leder till mer pålitliga resultat vid monitorering av läkemedelsrester i miljön.

Det är absolut essentiellt att kunna lita på de analysdata som presenteras från olika laboratorier i landet för att kunna göra korrekta bedömningar av miljöstatusen i olika typer av vatten. Ett exempel är *Havs- och vattenmyndighetens föreskrifter om klassificering och miljökvalitetsnormer avseende ytvatten (HVMFS 2013:19)* där årsmedelvärdet för läkemedlet diclofenac i inlandsytvatten inte ska överskrida 100 ng/L. För att som myndighet alls kunna bedöma detta behöver ytvattnen mätas flera gånger per år, samt att laboratorierna som utför analyserna under en längre tid konsekvent levererar data av god kvalitét. Annars leder detta oundvikligen till felaktiga bedömningar. Underestimering av koncentrationer från ett laboratorium får som konsekvens att man bedömer statusen på vattnet som god när den i själva verket är måttlig, medan överestimering av analysdata från laboratoriet leder till bedömningen måttlig status trots att den egentligen är god. Miljöinsatser för att förbättra statusen på inlandsvatten kan därmed felriktas och offentliga medel används då följaktligen inte effektivt.

Till sist är det tydligt att deltagande organisationers medvetenhet kring det egna laboratoriets styrkor och svagheter blivit tydligare, med därav följande kompetenshöjning. Detta är av stor vikt eftersom endast få aktörer bedriver organisk spåranalys av läkemedelsrester i miljön i Sverige och samarbetet dem emellan måste stärkas. Förhoppningsvis leder interkalibreringen också till kompetenshöjning genom ökad insikt om vikten av kemisk analys hos Havs- och Vattenmyndigheten och kanske även Naturvårdsverket och Läkemedelsverket som idag arbetar medvetet mot att minska läkemedelsbelastning i miljön och där goda analyser är en hörnpelare i att nå framgång. Projektets mer övergripande samhällsnytta kommer att bli analysdata av bättre kvalité och i och med det uppnås större jämförbarheten för att undvika den i många fall rådande bristande kvalitén i tidigare utförda nationella studier. Goda analysdata är av yttersta vikt för att kunna fatta välgrundade beslut i framtiden med avseende på t.ex. vattenkvalité men också för att kunna avgöra hur väl moderna reningstekniker klara av att avskilja läkemedelsrester från våra avloppsvatten, där stora medel kommer att utgå de kommande åren från regeringen. En mindre del av dessa medel borde avsättas till fortsatta interkalibreringsövningar.

Förkortningar

HaV = Havs- och Vattenmyndigheten
HKR = Högskolan Kristianstad
IVL = Svenska Miljöinstitutet Stockholm
LMV = Läkemedelsverket
LSS = Länsstyrelsen Skåne
NVV = Naturvårdsverket
SLU = Sveriges Lantbruksuniversitet Uppsala
UU = Umeå Universitet
AU = Aarhus Universitet

1. Rapportens tillkomst och deltagare

Denna rapport är resultatet av ett arbete utfört 2016-2017 inom ramen för medel beviljade av Havs- och Vattenmyndigeten; bidrag ur havs- och vattenmiljöanslaget, diarienummer 3343-2016. Projektbenämning:

Interkalibrerad läkemedelsanalys 2017 – ett samarbetsprojekt för ökad analyskvalité.

Sökande har varit Högskolan Kristianstad (HKR) med Forskare Ola Svahn som kontaktperson. Arbetet med att leda, planera och organisera genomförandet av projektet, samt sammanställa och utvärdera resultaten från de olika laboratorierna har primärt utförts av Senior forskare Ola Svahn med bidrag från Professor Erland Björklund på HKR. Fyra andra analyslaboratorier i Sverige och Danmark har deltagit i projektet; Umeå Universitet (UU), Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU), Svenska miljöinstitutet Stockholm (IVL) samt Aarhus Universitet Danmark (AU). Den geografiska spridningen av projektets deltagare framgår av **Bild 1**.

Bild 1. *Deltagande organisationers geografiska spridning i Sverige och Danmark, med Högskolan Kristianstad som huvudansvarig för projektets genomförande.*

2. Bakgrund

2.1 Läkemedel i avloppsvatten och i miljön

Läkemedel, antibiotika och hormoner kan detekteras i alla svenska avloppsvatten samt i många av de åar, sjöar och våtmarker där utsläpp av det renade avloppsvattnet sker. Detta är en konsekvens av att våra reningsverk inte är konstruerade att avlägsna dessa ämnen ur avloppsvattnet. Forskare världen över har under flera årtionden och med betydande ekonomiska resurser bedrivit forskning rörande förekomst och effekter av läkemedel i miljön, och idag är forskarsamfundet i stort sett enigt i att detta oavbrutna ämnesläckage från våra reningsverk kan ha en negativ miljöpåverkan. Omfattande nationell och internationell litteratur finns att tillgå i ämnet, men redovisas inte närmare i denna rapport. Som en konsekvens av detta genomgripande forskningsarbete har nu alltmer fokus hamnat på åtgärdssidan, där man ur ett svenskt perspektiv avsatt riktade medel för att utvärdera mer avancerad reningsteknik för att ta bort läkemedel från avloppsvattnet innan det når recipienten. Interkalibrerad läkemedelsanalys är en central del i detta åtgärdsarbete. Idag är flera svenska myndigheter engagerade i åtgärder av läkemedel i miljön, däribland Havs- och Vattenmyndigheten, Naturvårdsverket och Läkemedelsverket.

2.2 Utveckling av ny teknik för avancerad rening av avloppsvatten: Havs- och Vattenmyndigeten 2014-2017

På uppdrag av Sveriges regering har Havs- och Vattenmyndigeten (HaV) satsat 32 miljoner kronor under fyra år för att finansiera projekt som syftar till att utveckla teknik som renar avloppsvatten från läkemedelsrester och miljöfarliga ämnen. Totalt har HaV delat ut medel till åtta projekt enligt **Bild 2.**

Projekt som beviljats medel

Havs och Vatten myndigheten

Projektlista

	Organisation/Projektledare	Projekt	Projekttid
1.	JTI	Läkemedel och organiska miljöföroreningar i kretsloppet (LäK)	2014-2015
2.	Tekniska verken i Linköping AB	Pilotanläggning för ozonoxidation av läkemedelsrester i avloppsvatten	2014-2015
3.	Högskolan Kristianstad HKR	Fullskalig rening av mikroföroreningar (FRAM)	2014-2017
4.	IVL Svenska miljöinstitutet	Systemförslag för rening av läkemedelsrester och andra prioriterade svårnedbrytbara ämnen (SYSLÄK)	2014-2017
5.	Sweden Water Research, SWR	Rening av svårnedbrytbara föroreningar i avloppsvatten (RESVAV)	2014-2017
6.	Umeå universitet	Utvärdering av avancerad rening av avloppsvatten i fullskala	2014-2017
7.	Lunds universitet	Kunskapssammanställning om rening från läkemedelsrester och andra mikroföroreningar	2016
8.	Högskolan Kristianstad HKR	Interkalibrerad läkemedelsanalys (provningsjämförelse av analyser)	2017

Bild 2. *Lista över de 8 projekt som beviljats bidrag från HaV för avancerad rening av avloppsvatten. Denna rapport är resultatet av projekt 8 i listan; "Interkalibrerad läkemedelsanalys 2017".*

Projekten i **Bild 2** löper under åren 2014-2017 och omfattar både mindre och större reningsverk samt olika typer av behandlingstekniker såsom ozon och aktivt kol[1]. Resultaten från de olika projekten kommer att redovisas på "*Nationella konferensen Avlopp & Miljö*" i Linköping 31 januari till 1 februari 2018[2]. Projekt 8 i **Bild 2** är det senast beviljade projektet, och denna rapport är resultatet av detta projekt. Som framgår nedan är kemiska analyser en absolut förutsättning för att kunna utveckla ny teknik som på ett adekvat sätt avskiljer läkemedel från avloppsvattnet.

2.3 Förutsättningarna för användning av avancerad rening i syfte att avskilja läkemedelsrester från avloppsvatten: Naturvårdsverket 2017

Naturvårdsverket (NVV) har nyligen utrett förutsättningarna för användning av avancerad rening för att avskilja läkemedelsrester från avloppsvatten på uppdrag av regeringen. Detta uppdrag redovisades till regeringen den 27 april 2017 med hjälp av rapporten "*Avancerad rening av avloppsvatten för avskiljning av läkemedelsrester och andra oönskade ämnen.*"[3]. NVV slår fast att utsläpp av läkemedel kan förhindras genom att förse reningsverken med mer avancerad teknik som exempelvis kolfilter eller ozonbehandling. NVV skriver vidare att Sverige nu behöver gå vidare med att utreda var tekniken ska införas först och hur införandet ska bekostas. Centrala frågor är om det är stora eller mindre reningsverk som ska åtgärdas, eller om det är reningsverk med utsläpp i vattendrag som är mest känsliga som ska förbättras i ett första skede? Man skriver också följande utredande text i rapporten:

> *"Vid vilka och hur många avloppsreningsverk det finns ett behov av avancerad rening kan inte pekas ut med befintligt underlag, men faktorer som har stor betydelse för att prioritera var insatser behöver vidtas har identifierats. Vid implementering av kompletterande reningssteg för läkemedelsrester och andra oönskade ämnen behöver hänsyn tas till lokala förhållanden, såsom:*
>
> - *Mängden läkemedelsrester och andra persistenta föroreningar som släpps ut till recipienten.*
> - *Recipientens vattenomsättning, där de recipienter med låg initial utspädning och låg vattenomsättning riskerar att uppnå halter som värdena i bedömningsgrunderna för särskilt förorenande ämnen (SFÄ) och effektnivåer*
> - *Flera avloppsreningsverk med utflöde till samma recipient*
> - *Recipientens känslighet, såsom till exempel ekologisk känslighet*
> - *Variationer över året i vattenomsättning i recipienten och*
> - *Variationer i utsläppsmängder från avloppsreningsverket*

Väsentligt för de båda svenska myndigheterna NVV och HaV i deras målsättning att dels utvärdera om en specifik teknik fungerar (HaV), dels var eventuella åtgärder behöver sättas in (NVV), är tillgången på kemiska analysmetoder som kan mäta förekomsten av läkemedel i de prover som behöver tas vid såväl implementeringsfasen som övervakningsfasen under flera år framöver. Dessa metoder behöver vara såväl noggranna som robusta, samt kunna mäta tillräckligt

---

[1] https://www.havochvatten.se/hav/fiske--fritid/miljopaverkan/farliga-amnen/lakemedel/avancerad-rening-av-lakemedel.html

[2] http://www.svensktvatten.se/utbildning/konferenser--seminarier/svenskt-vatten/nam-18/

[3] Avancerad rening av avloppsvatten för avskiljning av läkemedelsrester och andra oönskade ämnen- Behov, teknik och konsekvenser - Rapport 6766 • APRIL 2017, Redovisning av ett regeringsuppdrag. Naturvårdsverket 88 sidor.

låga halter av ämnena i fråga. Detta faktum uppmärksammades redan 2015 i en rapport från Läkemedelsverket, vilket beskrivs nedan.

2.4 Mäta halter av läkemedelssubstanser i miljön: Läkemedelsverket 2015

Läkemedelsverket (LMV) gav i september 2015 ut en rapport med titeln ”*Miljöindikatorer inom ramen för nationella läkemedelsstrategin (NLS)*”[4]. Bakgrunden till denna rapport var att Sveriges regering och Sveriges Kommuner och Landsting (SKL) tillsammans med flera olika aktörer inom läkemedelsområdet, år 2011 arbetade fram den så kallade nationella läkemedelsstrategin (NLS). Syftet med NLS var att göra en gemensam kraftsamling rörande prioriterade satsningar inom läkemedelsområdet. Handlingsplanen inom NLS innefattade totalt 7 insatsområden där det sjunde insatsområdet var ”*Minska läkemedlens påverkan på miljön lokalt och globalt*”. Inom ramen för detta insatsområde tillsattes flera arbetsgrupper ”*i syfte att ge förslag på mätbara indikatorer för NLS på mål- och insatsnivå*”. Flera olika indikatorer föreslogs, men den allra viktigaste av dessa ansågs indikatorn ”*Mäta halter av läkemedelssubstanser i miljö*” vara. I rapporten skriver LMV följande:

> *”Allra högst prioriterad ansåg arbetsgruppen att indikatorn ”mäta halter av läkemedelssubstanser i miljö” vara. Detta beroende på att det utöver att det är av stor vikt att följa utvecklingen av läkemedelsrester i miljön över tid för att utvärdera effekten av genomförda insatser, så ansåg arbetsgruppen att det finns stora möjligheter att optimera användningen av de offentliga resurserna genom en bättre samordning av mätningar i miljön. Många mätningar har gjorts historiskt av olika offentliga aktörer utan någon samordning.”*

Vidare skriver LMV att:

> *”Arbetsgruppens fortsatta arbete kom att fokusera på att ta fram förslag på substanser som bör följas i miljön, d.v.s. mätning av förekomst av läkemedelssubstanser i vatten, slam, reningsverks ingående- och utgående vatten, biota etc.”.*

I rapporten rekommenderades slutligen 22 läkemedel vars koncentration man föreslår ska följas årligen i miljön. Det föreslås också att listan sänds till NVV för vidare hantering i syfte att dessa 22 ämnen kompletterar de mätningar som NVV redan gör. I sammanhanget kan nämnas att de föreslagna ämnena också följer *Europeiska Kommissionens bevakningslista över ämnen för unionsomfattande övervakning inom vattenpolitikens område (EU) 2015/495* [5], vars tillkomst inte diskuteras närmare här. I arbetet med miljöövervakning, men också interkalibrering är det en stor fördel att LMV pekat ut riktningen för vilka ämnen som är av nationellt intresse. I detta projekt valdes 10 av 22 ämnen ut enligt listan, vilket beskrivs nedan.

---

[4] Rapport från CBL-kansliet, Läkemedelsverket 2015-09-07 – Miljöindikatorer inom ramen för nationella läkemedelsstrategin (NLS); 7 sidor.

[5] KOMMISSIONENS GENOMFÖRANDEBESLUT (EU) 2015/495 av den 20 mars 2015 om upprättande av en bevakningslista över ämnen för unionsomfattande övervakning inom vattenpolitikens område i enlighet med Europaparlamentet och rådets direktiv 2008/105/EG; 3 sidor.

3. Syfte och mål

Syftet med projektet var att via gemensamma ansträngningar på ett nationellt plan, från söder till norr, kunna producera mätdata för organisk spåranalys av läkemedelsrester i renat avloppsvatten och ytvatten som kan jämföras och förenas.

Målet var att genom interkalibrering av analysmetoder och kunskapsutbyte mellan de ingående analyslaboratorierna uppnå ökad analyskvalité och ökad medvetenhet kring problem förknippade med spåranalys av läkemededelsrester i miljön. Samtliga deltagande laboratorier har moderna analytisk-kemiska laboratorier med förmåga att utföra organisk spåranalys av läkemedelsrester i vattenprover. I samtliga fall användes masspektrometri i kombination med vätskekromatografi för att utföra uppdraget. Målsättningen var således inte att utveckla nya tekniker eller arbetsmetoder inom ramen för detta projekt utan istället att jämföra de redan befintliga teknikernas, metodernas och laboratoriernas analysförmåga. På sikt kan teknik och arbetsmetodik behöva finjusteras i de olika laboratorierna baserat på erhållna mätdata, för att uppnå bättre analyskvalité i svenska laboratorier med avseende på läkemedelsrester i miljön. Detta är helt i linje med LMVs slutsatser i rapporten "*Miljöindikatorer inom ramen för nationella läkemedelsstrategin (NLS)*" (fotnot 4) som konstaterar att det historiskt (2002-2013) har utförts ett antal mätningar av läkemedelsförekomst i miljön men att samordning har saknats, och att kvalitén ofta inte varit tillfredsställande. De laboratorier som utför analyser behöver arbeta efter en fullständigt validerad analysmetod och relevanta valideringsdata ska inkluderas.

Över tid är förhoppningen att detta interkalibreringsprojekt ska kunna utgöra startskottet för fortsatta framtida nationella interkalibreringsövningar.

4. Genomförande och gemensamma möten

Projektets genomförande samt gemensamt avhållna möten var i korthet enligt följande:

2016

- 28 oktober – Ansökan från HKR inkommen till HaV.
- 4 november – HaV beslutar att bevilja ansökan.
- 6 december – Inledande Skype-möte mellan Ola Svahn (HKR), Jerker Fick (UU), Kai Bester (AU), Pablo Gago Ferrero (SLU) och Michael Cimbritz (Lunds Tekniska Högskola). IVL hade glömt bort mötestiden och deltog därför inte. Under mötet valdes 10 lämpliga läkemedel ut för analys, samt vilka halter som var relevanta att mäta. Diskussionen var intensiv och fördes i en konstruktiv anda. En diskussion fördes också om vilka provtyper som skulle vara bra att inkludera i mätdata för att få en så realistisk interkalibrering som möjligt. En arbetsgång togs därefter fram enligt nedan. Arbetsgången skickades också ut via mail, **Bilaga 1**.

2017

- 7 februari – Proverna tillreds på HKR och sänds ut till samtliga laboratorier, **Bild 3**.

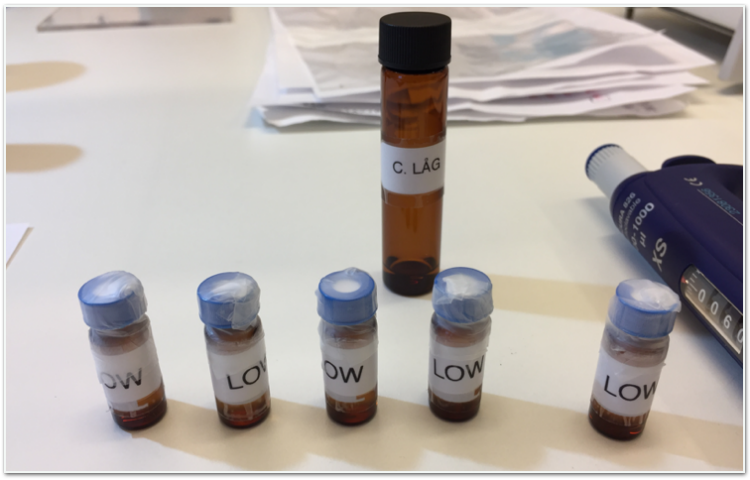


Bild 3. *Tillredning av prover på HKR, 7 februari 2017. Foto: E. Björklund.*

- 7 mars – Provsvar ska skickas in till HKR.
- 15 mars – Delrapport lämnas till HaV.
- 22-23 april – Inkomna analyssvar sammanställs av Ola Svahn på HKR.
- 24 april – Gemensamt möte på Krinova Incubator & Science Park, Stridsvagnsvägen 14 i Kristianstad, 9-13. Mötet arrangerades och leddes av Ola Svahn (HKR). På mötet deltog Erland Björklund (HKR), Jerker Fick (UU), Kai Bester (AU), Haitham El-taliawy (AU) samt Pablo Gago-Ferrero (SLU), **Bilaga 2**. Ingen representant från IVL hade tid att delta. Under mötet jämfördes och diskuterades analysdata för varje enskilt ämne i detalj för att påvisa likheter och skillnader i resultat. Mötet inbegrep också ett samtal om vikten av att ha kontinuerliga nationella interkalibreringar för att säkerställa god analyskvalité. Baserat på utförda analyser samt diskussionen på mötet tog arbetet med att förfärdiga denna rapport vid, för att under senhösten 2017 skickas ut till deltagande organisationer för eventuella kommentarer innan publicering i sin slutliga form.

5. Läkemedelssubstanser och provtyper

5.1 Läkemedelssubstanser

Valet av läkemedel baserades på den rapport som LMV gav ut i september 2015, ”*Miljöindikatorer inom ramen för nationella läkemedelsstrategin (NLS)*”, där 10 utav 22 ämnen valdes ut. Dessa ämnen innefattade både ämnen som har hög respons i masspektrometern samt visar god kromatografi, och som därför är förhållandevis enkla att analysera, t.ex. carbamazepine, men också ämnen som är kända för att vara problematiska både under provupparbetning och vid slutanalys, som t.ex. ciprofloxacin och ethinylestradiol. De valda ämnena ses i **Bild 4**.

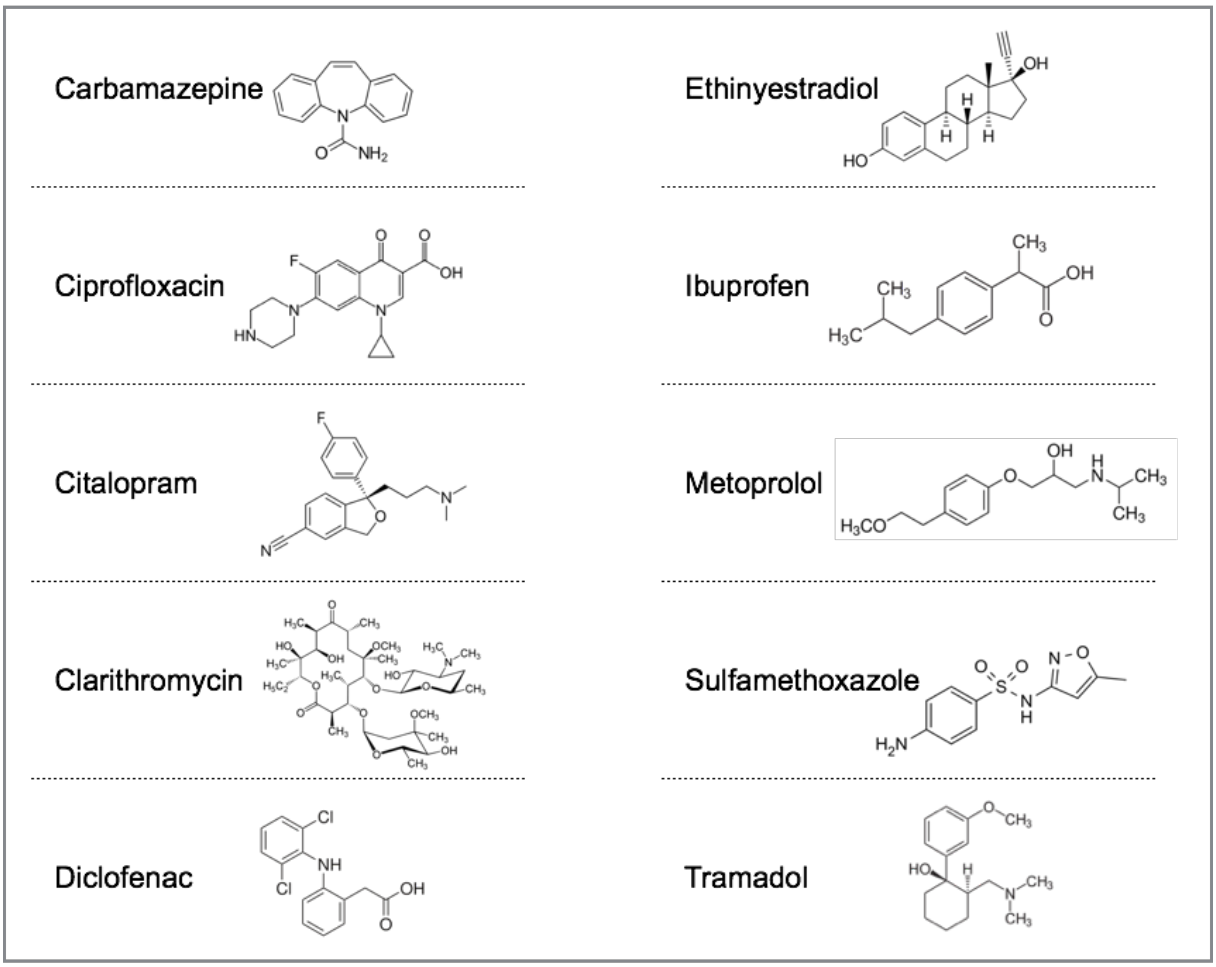


Bild 4. *Namn och kemisk struktur på de 10 läkemedel som ingick i interkalibreringen.*

De 10 utvalda ämnena representerar också ett brett spektra av fysikalisk-kemiska egenskaper. Exempelvis är diclofenac negativt laddad, oxazepam neutral och ciprofloxacin en zwitterjon. Även storleksmässigt representerar de ett relativt stort spann från ibuprofens 206,28 g/mol till clarithromycins 747,95 g/mol.

5.2 Provtyper

För att uppnå syfte och mål tillredde HKR 5 olika prover för analys av de 10 utvalda läkemedlen. Två rena standarder lösta i metanol ”*Standard 1 Låg koncentration*” och ”*Standard 2 Hög koncentration*” (Avsnitt 5.2.1) samt ”*Spikat dammvatten*” (Avsnitt 5.2.2) tillreddes med läkemedelsstandarder från HKRs laboratorium. Carbamazepine (Fluka Analytical standard

≥99.0% HPLC), ciprofloxacin (Fluka Pharmaceutical secondary standard), citalopram (Fluka Pharmaceutical secondary standard,), clarithromycin (Sigma-Aldrich), diclofenac (Fluka Analytical standard ≥98.5% HPLC), ethinylestradiol (Fluka VETRANAL™, analytical standard), ibuprofen (Sigma-Aldrich Pharmaceutical secondary standard), metoprolol (Fluka Pharmaceutical secondary standard), sulfamethoxazole (Fluka VETRANAL™, analytical standard) och tramadol (Actavis 50 mg Pharmaceutical standard). Metanol var av OPTIMA grade (Fisher Scientific). De båda standarderna fylldes till halsen i mörka glasvialer (2 mL storlek) med teflonlock, **Bild 3**. För ”*Spikat dammvatten*” (Avsnitt 5.2.2) samt de båda miljöproverna, ”*Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk*” och ”*Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket*” (Avsnitt 5.2.3) användes 100 mL plastflaskor (HDPE, Mellerud Plast) som fylldes till halsen. Samtliga prover transporterades i fryst tillstånd till respektive laboratorium.

5.2.1 Två standarder i låg och hög koncentration

Vid Skype-mötet (6 december 2016) beslutades att de två proverna av rena standarder lösta i metanol tillredda i två olika koncentrationsnivåer kunde spädas 10 gånger i valfritt lösningsmedel innan analys. De 10 ämnenas slutkoncentrationer, ”*Standard 1 Låg koncentration*” och ”*Standard 2 Hög koncentration*”, beskrivs i **Bild 5**.

Läkemedel	Standard 1 Låg koncentration µg/L	Standard 2 Hög koncentration µg/L	Läkemedel	Standard 1 Låg koncentration µg/L	Standard 2 Hög koncentration µg/L
Carbamazepine	0,50	50	Ethinyestradiol	1,7	170
Ciprofloxacin	1,3	130	Ibuprofen	2,0	200
Citalopram	0,70	70	Metoprolol	0,8	80
Clarithromycin	1,1	110	Sulfamethoxazole	1,0	100
Diclofenac	0,9	90	Tramadol	0,8	80

Bild 5. *Två standarder med 10 läkemedel i vardera tillredda i metanol i en låg och en hög koncentration.*

Varje utspädning och injektion utfördes i triplikat för båda standarderna vilket framgår av instruktionen i **Bilaga 1**.

5.2.2 Ett spikat dammvatten

Ett prov utgjordes av ett ”*Spikat Dammvatten*” i samma koncentrationer som kan förväntas i ett ytvatten nära ett reningsverk, ethinylestradiol undantaget. Dammvattnet hämtades från en 15 år gammal damm på Kivik, innehållande grund- och regnvatten, fritt från läkemedel. Dammen är omgiven av buskvegetation och innehöll därmed organiskt material i form av nedbrutna löv och grenar. Vattnet filtrerades igenom ett 45 µm filter för att ta bort partiklar innan läkemedlen tillsattes.

5.2.3 Två miljöprover

Två prover utgjordes av miljöprover, ett ”*Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk*” samt ett ”*Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket*”. Reningsverket i Kristianstad renade år 2016 totalt 8 186 000 m^3 vatten som släpptes i en ca 1500 m lång kanal. Vid kanalens slut pumpas allt detta vatten ungefär 2 m upp i Hammarsjön. Denna plats i Hammarsjön benämns ”Pynten” och här togs ytvattenprovet. Därefter transporteras vattnet vidare mot Hanöbukten i Östersjön via Helge Å. Provpunkternas placering framgår av gula punkter i **Bild 6**.

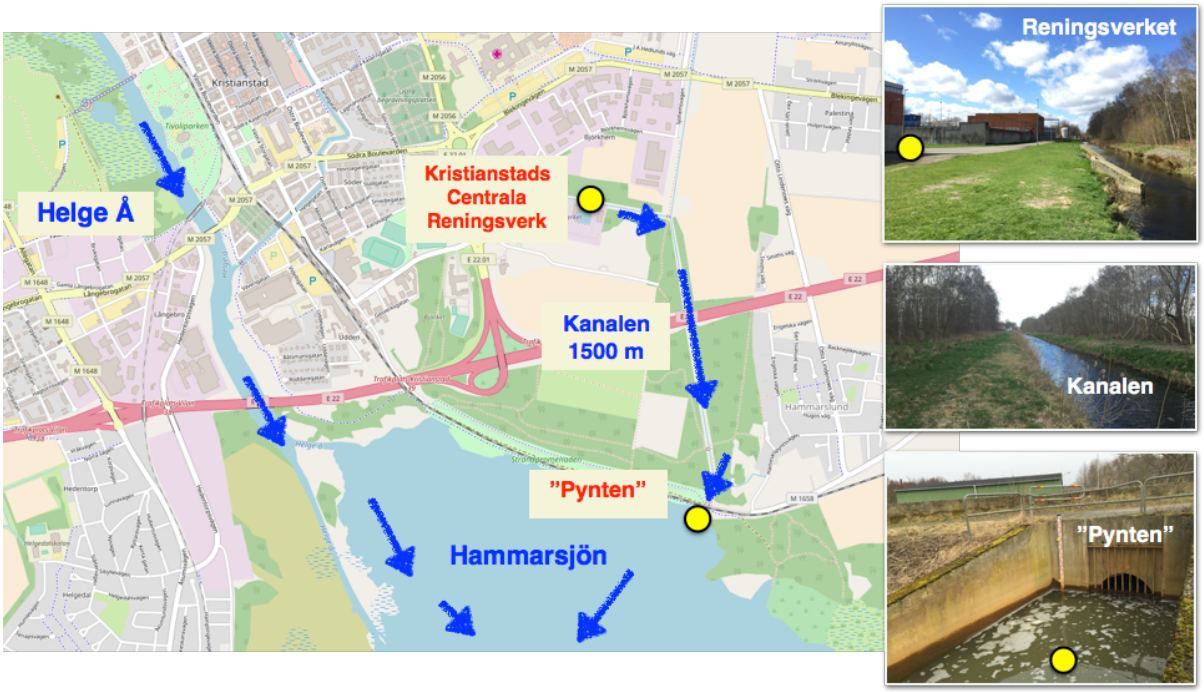


Bild 6. *Provtagningspunkter för två miljöprover, dels ”Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk”, dels ”Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket” ca 1500 m nedströms reningsverket på en plats där kanalens vatten pumpas ut i Hammarsjön, kallad ”Pynten”. Gul punkt indikerar provtagningsplats. Foto: E. Björklund.*

Båda dessa provtagningspunkter är väl undersökta av HKR sedan tidigare.

6. Laboratoriernas teknik och analysmetoder

De 5 laboratorierna har alla erfarenhet av läkemedelsanalys i miljöprover. Samtliga laboratorier fick själva kort beskriva de tekniker och metoder som använts, se nedan och **Tabell 1**. I tabellen motsvarar ”*LAB 1*” HKRs laboratorium ”MoLab” medan övriga laboratorier endast anges som ”*LAB 2 – LAB 5*”. En lista över laboratoriernas använda isotop-märkta standarder framgår av **Bilaga 3**. Samtliga laboratorier utom LAB 3 redovisade sina interna standarder.

HKRs analysmetod finns publicerad i *Journal of Chromatography B*[6] samt i avhandlingen ”*Tillämpad miljöanalytisk kemi för monitorering åtgärder av antibiotika- och läkemedelsrester i Vattenriket*”[7]. Metoden är validerad enligt en tidigare metod förfärdigad år 2007 av det Amerikanska Naturvårdsverket (United States Environmental Protection Agency, US EPA) för analys av läkemedel och personliga hygienprodukter i vatten, jord, sediment och biomaterial med hjälp av HPLC/MS/MS[8].

Övriga laboratorier valde att inte i detalj redovisa sina analysmetoder.

---

6 Svahn O. och Björklund E., Increased electrospray ionization intensities and expanded chromatographic possibilities for emerging contaminants using mobile phases of different pH, Journal of Chromatography B, 1033 (2016) 1–10.

7 Svahn O., Tillämpad miljöanalytisk kemi för monitorering och åtgärder av antibiotika- och läkemedelsrester i Vatteriket. Center for Environmental Studies and Climate Research, Lunds Universitet (2016) ISBN 978-91-7623-774-8

8 Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division (4303T), 1200 Pennsylvania Avenue, NW, Washington, DC 20460, EPA-821-R-08-002, December 2007; 72 sidor.

Tabell 1. *Kortfattad sammanställning av de 5 laboratoriernas använda tekniker. Till provupparbetning användes Solid Phase Extraction (SPE). De två separationstekniker som användes var Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) och High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Ämnena detekterades och kvantifierades med hjälp av masspektrometer av typen trippelkvadropol (MS/MS) och orbitrap (MS/HRMS).*

	Provupparbetning	**Separation**	**Detektion och kvantifiering**
LAB 1	SPE (Oasis HLB)	UPLC	MS/MS
LAB 2	SPE (ENV+)	HPLC	MS/MS, MS/HRMS (Orbitrap)
LAB 3	Ingen provupparbetning –	HPLC	MS/MS
LAB 4	SPE (Strata X/Strata Mix XCW, XAW, ENVI+)	HPLC	MS/MS
LAB 5	SPE (typ ?)	HPLC	MS/MS

7. Resultat och Diskussion

7.1 Analysresultat – två standarder i låg och hög koncentration

Resultaten för analys av de båda standarderna ”*Standard 1 Låg koncentration*” och ”*Standard 2 Hög koncentration*” redovisas individuellt för varje ämne nedan i **Figur 1-10**. En kort diskussion kring resultaten ges också för varje specifikt läkemedel. Det bör poängteras att detta endast är en inledande studie med en begränsad mängd data, samtidigt kan vissa trender pekas ut som är föremål för kommande studier i syfte att öka kvalitén på våra nationella läkemedelsanalyser de kommande åren. En viktig aspekt avseende resultaten i **Figur 1-10** är att de visar rena standarder utan inslag av större matris-effekter som stör slutanalysen. Det fanns därför en förväntan om att dessa inledande analyser skulle fungera förhållandevis väl för de flesta laboratorier och ämnen.

I **Figurer 1-10** redovisas sammanlagt 7 stycken analysvärden i varje figur. Fem av dessa värden är de resultat som inkom i en första analysomgång med benämningen LAB 1, LAB 2, LAB 3, LAB 4:1 och LAB 5:1. Dessa resultat var också de som diskuterades gemensamt under mötet den 24 april 2017 på Krinova Incubator & Science Park, Kristianstad. Under detta möte uppdagade LAB 3, LAB 4 och LAB 5 problem som de ville åtgärda.

LAB 3 hade problem att analysera några av ämnena i olika matriser och hade initialt funderingar på att komma in med nya analysvärden, men valde i slutändan att inte göra så.

I korthet var problemet för LAB 4 en konsekvens av förändrad tillsatts av intern standard i förhållande till de utförda beräkningarna. Detta ledde till att LAB 4 rapporterade in hälften av de koncentrationer som faktiskt analyserats, vilket korrigerades beräkningsmässigt i efterhand för samtliga analyserade 10 ämnen.

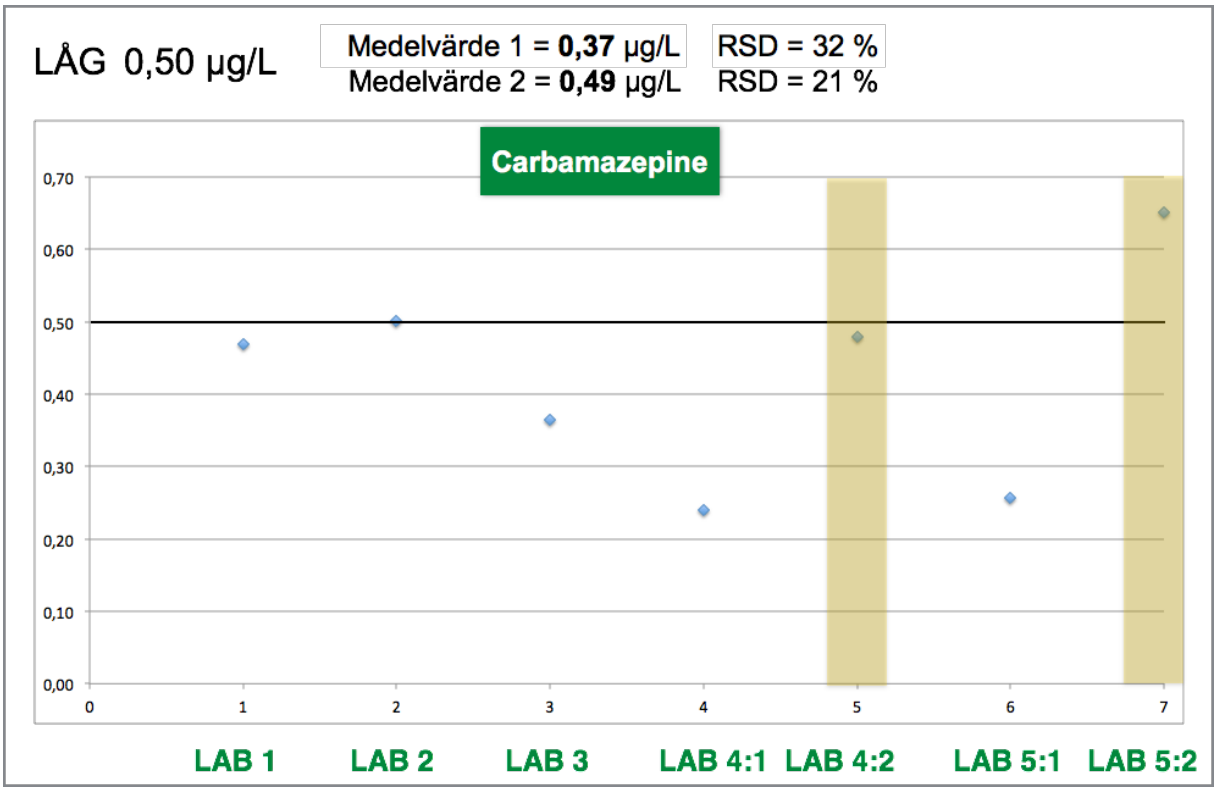
För LAB 5 var problemet teknik-relaterat, vilket innebar att masspektrometern inte presterade som den skulle i den första analysomgången. Därför analyserades samtliga 5 prover om vid ett senare tillfälle när instrumentet åter fungerade.

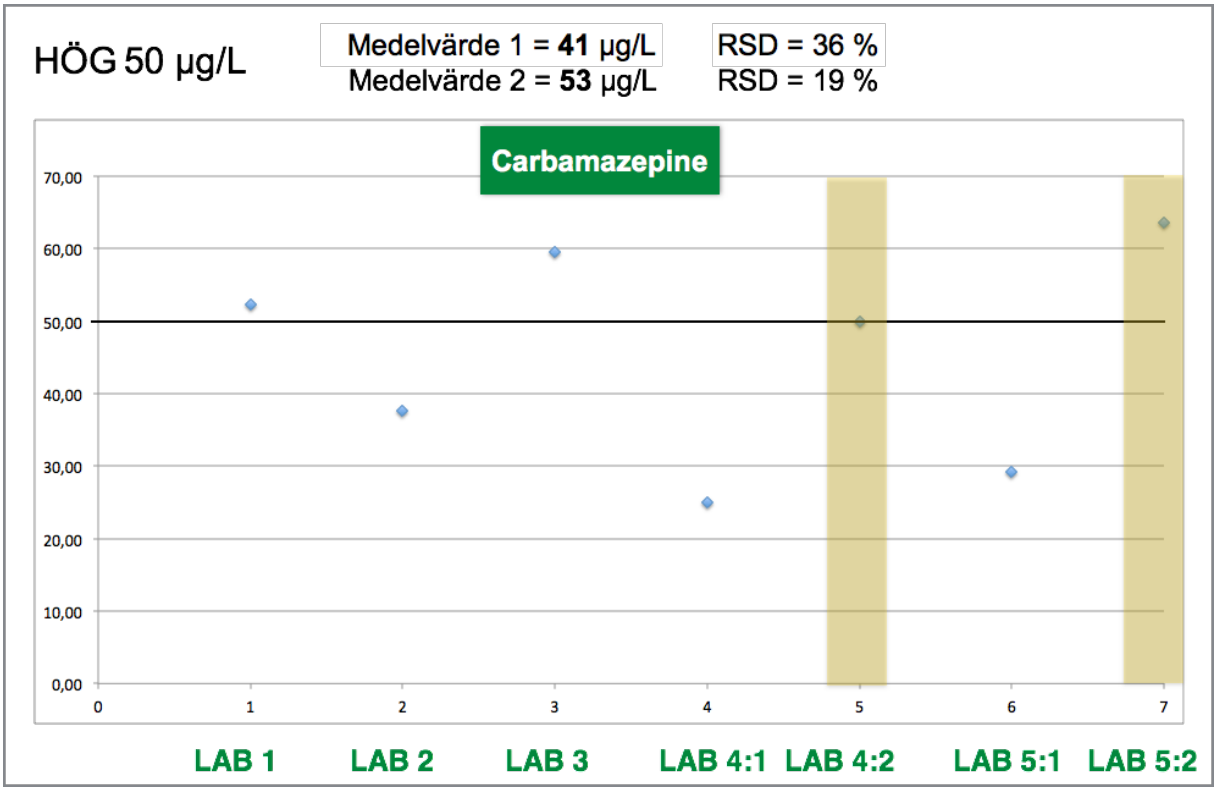
Det ledde till att LAB 4 och LAB 5 sände in två kompletterande set av analysvärden i efterhand som har benämningen LAB 4:2 och LAB 5:2 i **Figur 1-10**. De värden som rapporterats i efterhand är markerade på en ljust brunfärgad stapel i figurerna.

Baserat på de först insända analyserna (LAB 1, LAB 2, LAB 3, LAB 4:1 och LAB 5:1, n=5) kunde ett första medelvärde beräknas, vilket anges som Medelvärde 1. När de korrigerade värdena skickats in beräknades ett nytt medelvärde baserat på LAB 1, LAB 2, LAB 3, LAB 4:2 och LAB 5:2 (n=5) vilket anges som Medelvärde 2 i **Figur 1-10**.

7.1.2 Carbamazepine – standard låg och hög

Carbamazepine analyserades i koncentrationerna 0,50 och 50 µg/L, **Figur 1**.





Figur 1. *Analysresultat för carbamazepine i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

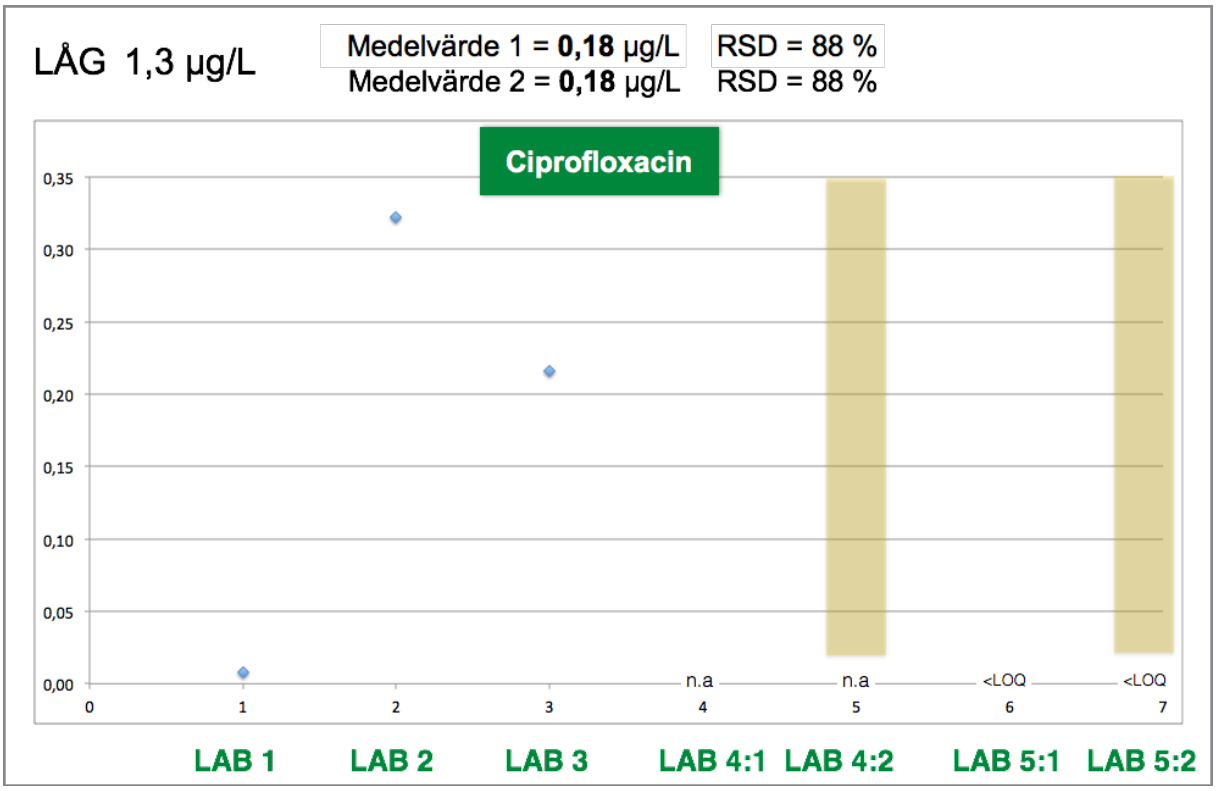
Carbamazepine används bland annat vid epilepsi samt alkoholabstinens. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att carbamazepine har hittats i dricksvatten och ytvatten. Carbamazepine är ett stabilt ämne som ofta analyseras.

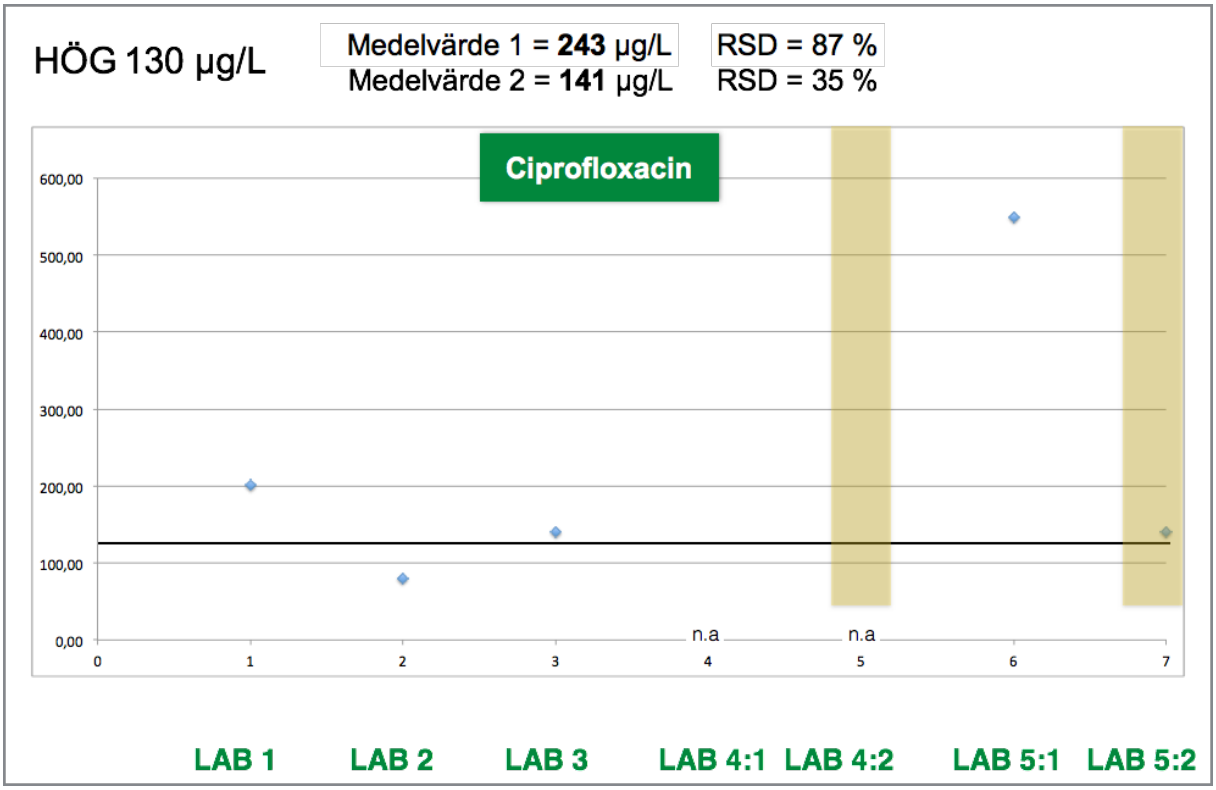
Av **Figur 1** framgår att samtliga laboratorier kunde analysera carbamazepine både vid 0,50 och 50 µg/L. De uppmätta koncentrationerna från LAB 4 och 5 låg något under övriga laboratoriers i första omgången vilket gav ett Medelvärde 1 på 0,37 µg/L (RSD = 32 %) respektive 41 µg/L (RSD = 36 %) för låg och hög standard.

Efter det att LAB 4 och 5 skickat in sina nya analysvärden erhölls nya Medelvärde 2 på 0,49 µg/L (RSD = 21 %) respektive på 53 µg/L (RSD = 19 %). Totalt sett fungerade analysen av carbamazepine väl vid både låg och hög koncentration, särskilt så efter det att LAB 4 och LAB 5 korrigerat för de problem man upplevt under analysomgång 1.

7.1.3 Ciprofloxacin – standard låg och hög

Ciprofloxacin analyserades i koncentrationerna 1,3 och 130 µg/L, **Figur 2**.





Figur 2. *Analysresultat för ciprofloxacin i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Ciprofloxacin är ett antibiotikum som tillhör gruppen kinoloner och är ett bredspektrumantibiotikum. Ämnet är verksamt mot många olika typer av bakterier. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att ämnet är persistent med påvisad resistensutveckling i miljön.

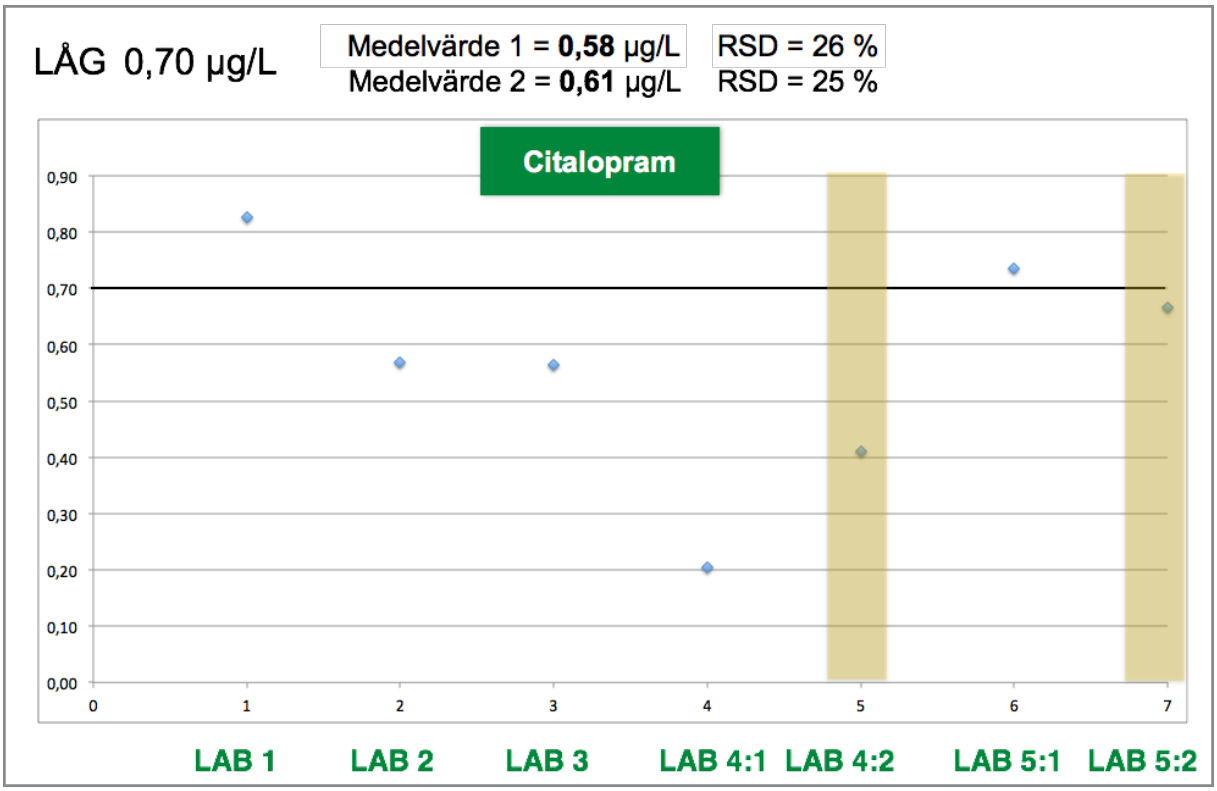
Ciprofloxacin är en zwitterjon och är problematisk att kromatografera vilket ofta ger upphov till, relativt sett, svansande toppar. Ciprofloxacin kräver därutöver stor omsorg vid provupparbetningen Ciprofloxacin analyserades av 4 laboratorier i den första analysomgången, LAB 1, LAB 2, LAB 3 och LAB 5. LAB 4 analyserade inte ämnet vid någon koncentration (n.a.). I **Figur 2** ses att vid den låga koncentrationen 1,3 µg/L kunde LAB 1, LAB 2 och LAB 3 detektera ciprofloxacin med ett lågt Medelvärde 1 på endast 0,18 µg/L (RSD = 88 %) medan LAB 5 låg under LOQ. Även vid ett andra försök låg LAB 5 under LOQ och Medelvärde 2 blev därför samma värde som Medelvärde 1.

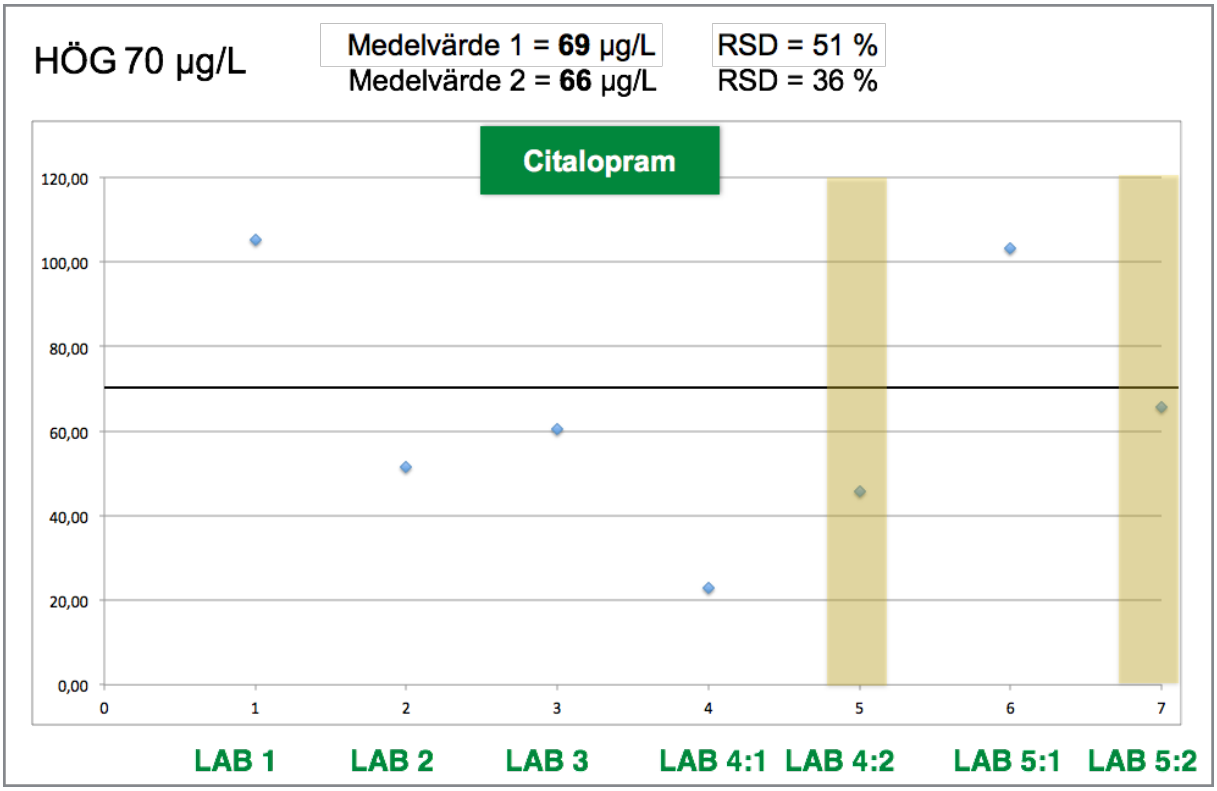
Vid den höga koncentrationen 130 µg/L blev Medelvärde 1 för ciprofloxacin 243 µg/L (RSD = 87 %). Det något höga medelvärdet var framförallt kopplat till LAB 5 som i första omgången rapporterade en koncentration på över 500 µg/L. Vid en ny analys av LAB 5 sjönk koncentrationen avsevärt och ledde till ett nytt Medelvärde 2 på 141 µg/L (RSD = 35 %) vilket överensstämmer betydligt bättre med den tillredda koncentrationen på 130 µg/L.

Generellt sett var ciprofloxacin en utmaning för samtliga laboratorier, speciellt vid lägre koncentrationer, där egentligen inget laboratorium lyckades särskilt väl. Något bättre resultat erhölls vid en hög koncentration även om LAB 4 inte analyserade ämnet alls, och det krävdes en omanalys av provet från LAB 5 för att få en koncentration i paritet med den tillredda koncentrationen. En viktig notering gällande den isotopmärkta standarden framkom på mötet; både O. Svahn (HKR) och J. Fick (UU) kan notera att den isotopmärkta standarden oförklarligt försvinner, till skillnad från ämnet, från tid till annan. Effekten är särskilt uttalad i närvaro av matris. Båda laboratorierna har för tillfället sett sig tvingade att använda substituenter som intern standard vid analys av ciprofloxacin. Mer samarbete föreslås för att komma till rätta med problemet.

7.1.4 Citalopram – standard låg och hög

Citalopram analyserades i koncentrationerna 0,70 och 70 µg/L, **Figur 3**.





Figur 3. *Analysresultat för citalopram i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Citalopram är ett antidepressivt läkemedel av typen SSRI (selektiva serotonin-återupptagshämmare). LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att ämnet har hittats i fisk och i dricksvatten och har en relativt stor användning.

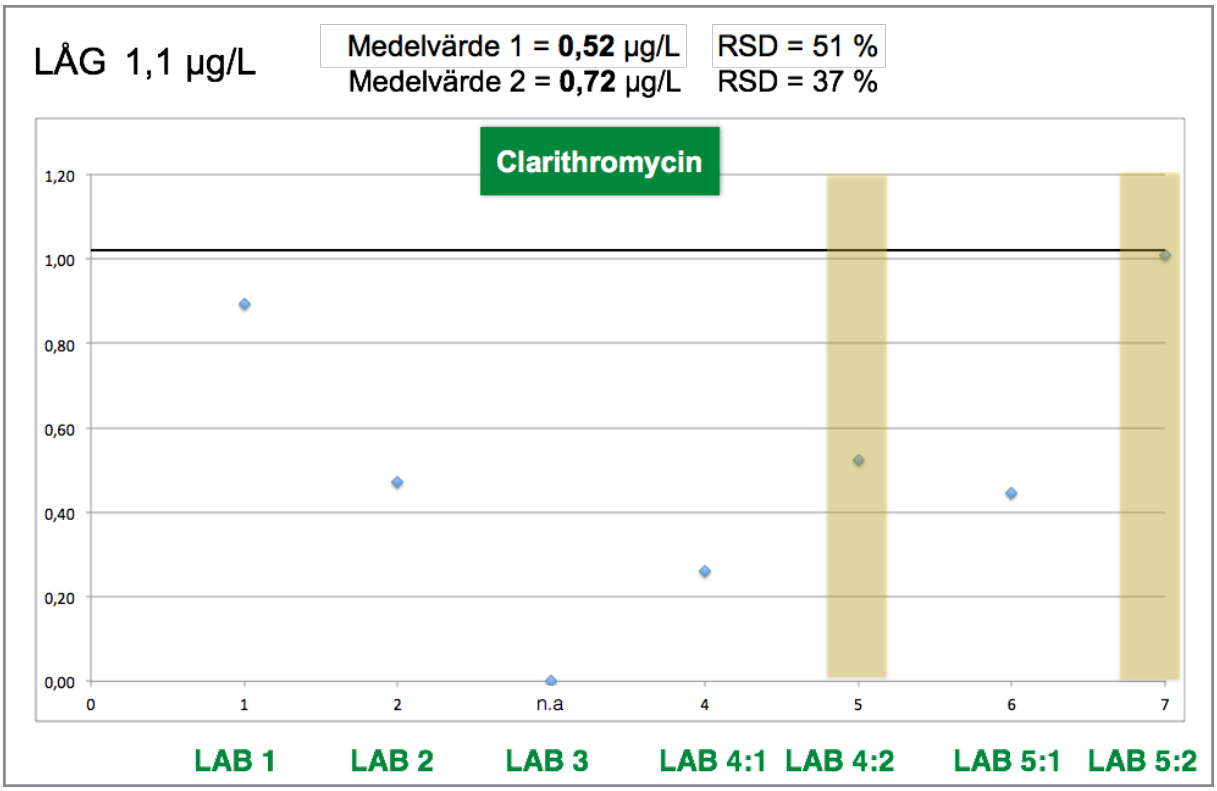
I **Figur 3** ses att citalopram kunde analyseras av samtliga laboratorier i den låga koncentrationen 0,70 µg/L. Inga specifika kommentarer förekom kring ämnet under diskussionen. I den första analysomgången erhölls ett Medelvärde 1 på 0,58 µg/L (RSD = 26 %), vilket endast förändrades marginellt när LAB 4 och LAB 5 rapporterade in nya koncentrationen i den andra omgången med ett Medelvärde 2 på 0,61 µg/L (RSD = 25 %).

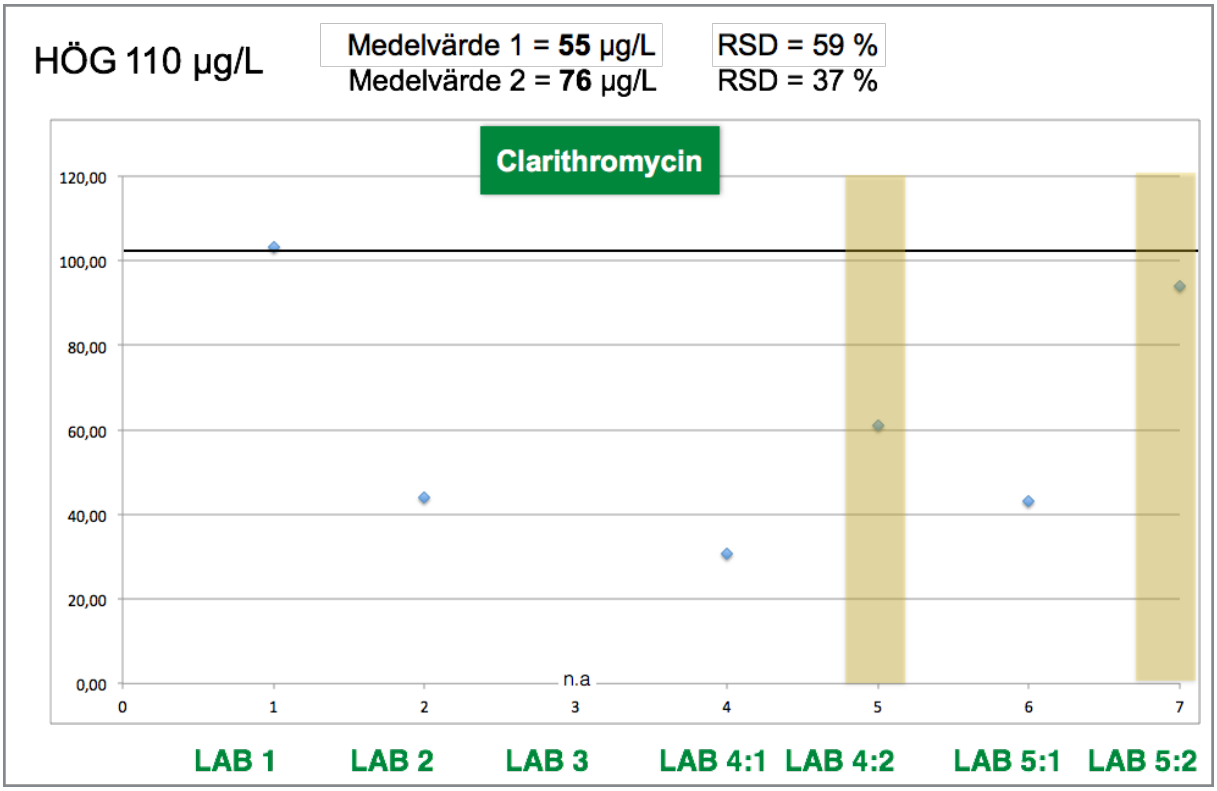
Vid den höga koncentrationen 70 µg/L blev Medelvärde 1 i första omgången 69 µg/L (RSD = 51 %). I andra omgången sjönk Medelvärde 2 till 66 µg/L med en något lägre relativ standardavvikelse på 36 %.

Analyserna av citalopram gav medelvärden ganska nära de tillredda koncentrationerna för både hög och låg koncentration i både analysomgång 1 och analysomgång 2. Den största förändringen var en betydligt lägre relativ standardavvikelse för den höga koncentrationen 70 µg/L i analysomgång 2 efter det att såväl LAB 4 som LAB 5 rapporterat in nya koncentrationer.

7.1.5 Clarithromycin – standard låg och hög

Clarithromycin analyserades i koncentrationerna 1,1 och 110 µg/L, **Figur 4**.





Figur 4. *Analysresultat för clarithromycin i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Clarithromycin är en så kallad makrolid och används för att behandla olika typer av bakteriella infektioner. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att den ingår på bevakningslistan enligt EU:s ramdirektiv för vatten (fotnot 5).

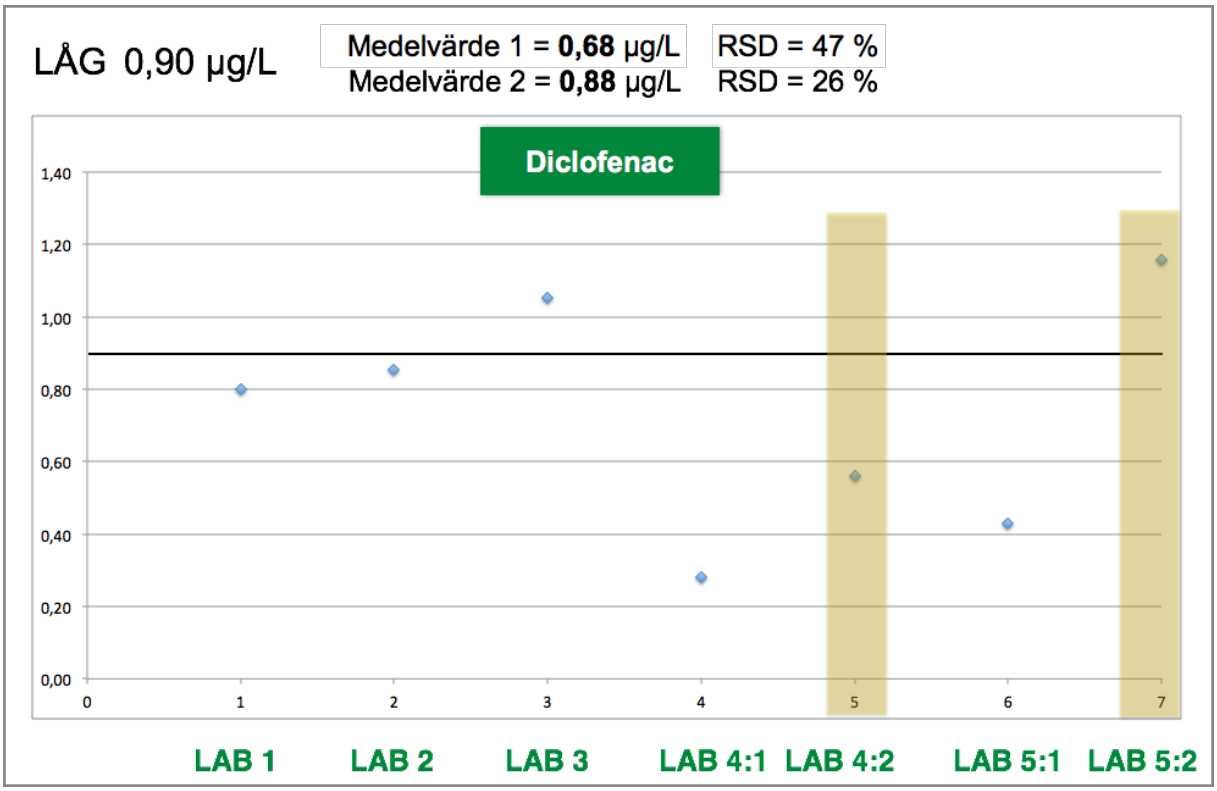
Clarithromycin är den största molekylen vi analyserar och kan ge upphov till breda kromatografiska toppar. Clarithromycin analyserades av 4 laboratorier i den första analysomgången, LAB 1, LAB 2, LAB 4 och LAB 5. LAB 3 rapporterade att den flyttat sig utanför fönstret och LAB 3 avstod därmed från att analysera den vidare.

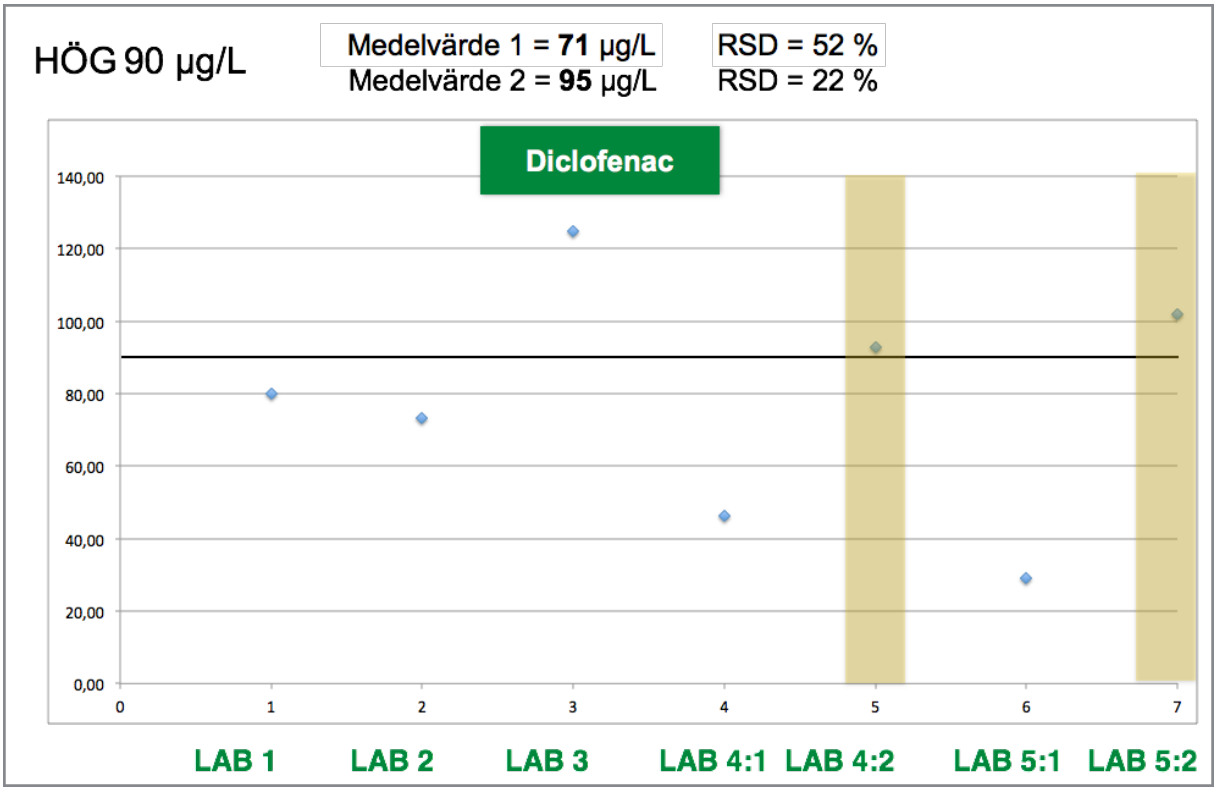
I **Figur 5** ses att vid såväl den låga koncentrationen 1,1 µg/L som den höga koncentrationen 110 µg/L rapporterade samtliga laboratorier utom möjligen LAB 1 i den första analysomgången relativt låga koncentrationer som låg under hälften av den tillredda koncentrationen. Medelvärde 1 för låg respektive hög koncentration blev därför 0,52 µg/L (RSD = 51 %) och 55 µg/L (RSD = 59 %). Medelvärde 2 steg något för såväl låg som hög koncentration efter det att LAB 4 och LAB 5 korrigerat respektive omanalyserat sina prover. Detta gav nya Medelvärde 2 på 0,72 µg/L (RSD = 37 %) och 76 µg/L (RSD = 37 %).

Med tanke på att Clarithromycin är ett ämne på bevakningslistan och därmed är centralt ur ett EU-perspektiv finns det anledning att se över metoderna för detta ämne så att de uppmätta koncentrationerna inte underskattar de koncentrationer som förekommer i miljön.

7.1.6 Diclofenac – standard låg och hög

Diclofenac analyserades i koncentrationerna 0,90 och 90 µg/L, **Figur 5**.





Figur 5. *Analysresultat för diclofenac i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Diclofenac är ett inflammationsdämpande NSAID-läkemedel (icke steroida antiinflammatoriska läkemedel) och har ett brett användningsområde innefattande bland annat migränhuvudvärk, tandvärk, menstruationssmärtor samt muskel- och ledvärk vid reumatiska sjukdomar.

Diclofenac är analyserad mycket frekvent i olika studier. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att den har hittats i dricksvatten och råvatten och har toxicitet vid relevanta halter. Vidare ingår diclofenac på bevakningslistan enligt EU:s ramdirektiv för vatten (fotnot 5).

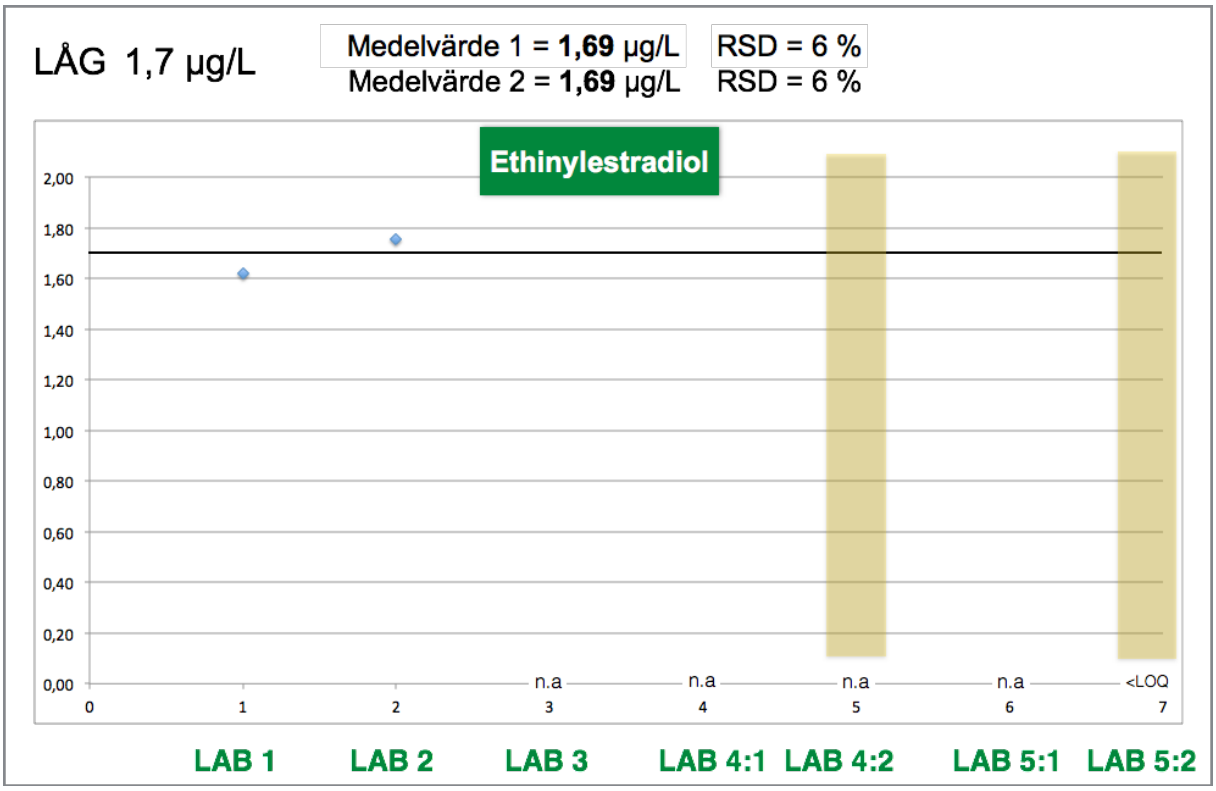
Av **Figur 5** framgår att samtliga laboratorier kunde analysera diclofenac både vid 0,90 och 90 µg/L. Precis som för carbamazepine låg de uppmätta koncentrationerna från LAB 4 och 5 något under övriga laboratoriers i första omgången vilket gav ett Medelvärde 1 på 0,68 µg/L (RSD = 47 %) respektive 71 µg/L (RSD = 52 %) för låg och hög standard.

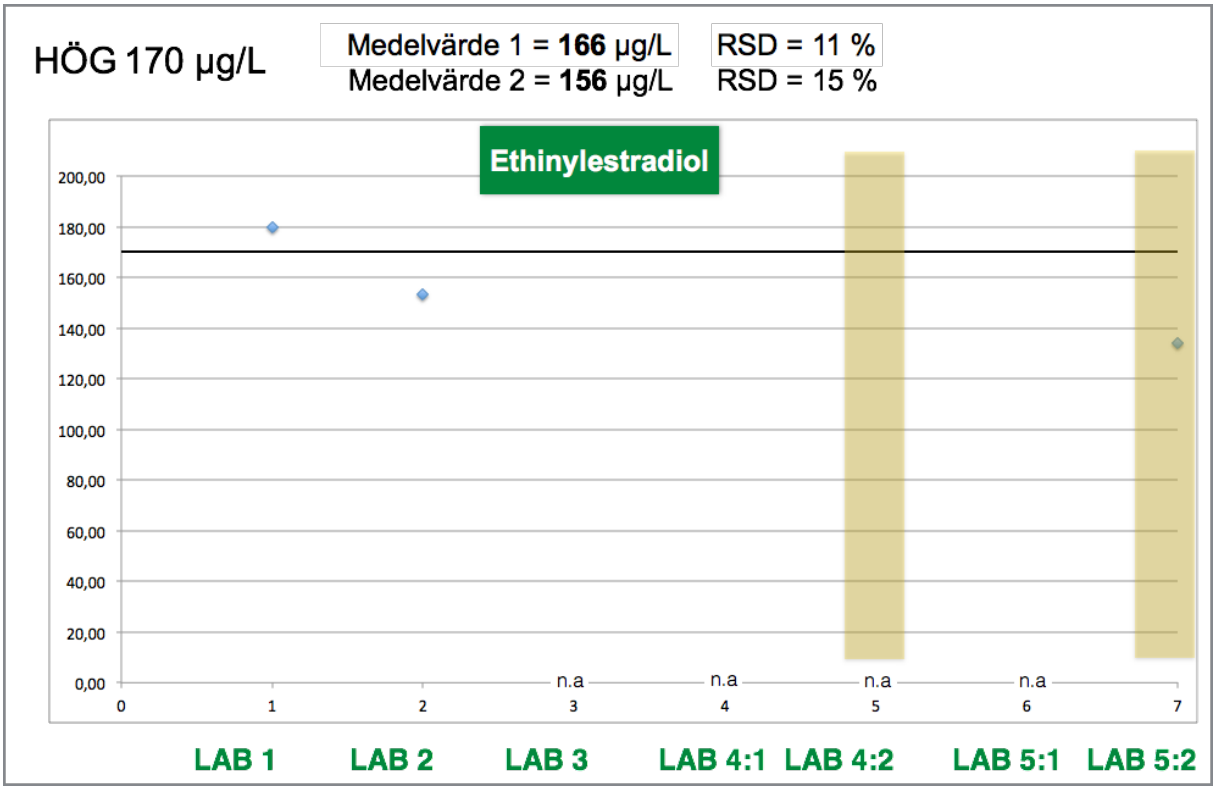
Medelvärde 2 ökade till 0,88 µg/L (RSD = 26 %) respektive 95 µg/L (RSD = 22 %) när LAB 4 och 5 skickat in sina nya analysvärden.

Totalt sett fungerade analysen av diclofenac väl, både vid låg och hög koncentration och då framförallt efter det att LAB 4 och LAB 5 korrigerat sina koncentrationer efter de problem man upplevt i analysomgång 1. Samtliga laboratorier utom LAB 3 redovisade att isotopmärkt diclofenac användes vid analyserna.

7.1.7 Ethinylestradiol – standard låg och hög

Ethinylestradiol analyserades i koncentrationerna 1,7 och 170 µg/L, **Figur 6**.





Figur 6. *Analysresultat för ethinylestradiol i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Ethinylestradiol är en av de aktiva substanserna som används i p-piller för att förhindra graviditet. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att det föreligger hög miljörisk och toxicitet vid relevanta halter. Vidare ingår ethinylestradiol på bevakningslistan enligt EU:s ramdirektiv för vatten (fotnot 5).

Ethinylestradiol är sannolikt det svåraste ämnet av alla i denna studie att analysera eftersom det är svårt att jonisera, vilket leder till, i storleksordningen, 100 gånger lägre känslighet jämfört med det naturliga könshormonet östrogen. Därtill är de krav på relevanta koncentrationer i miljön som bör mätas mycket låga. Enligt EUs bevakningslista är den högsta godtagbara detektionsgränsen för metoden 0,035 ng/l.

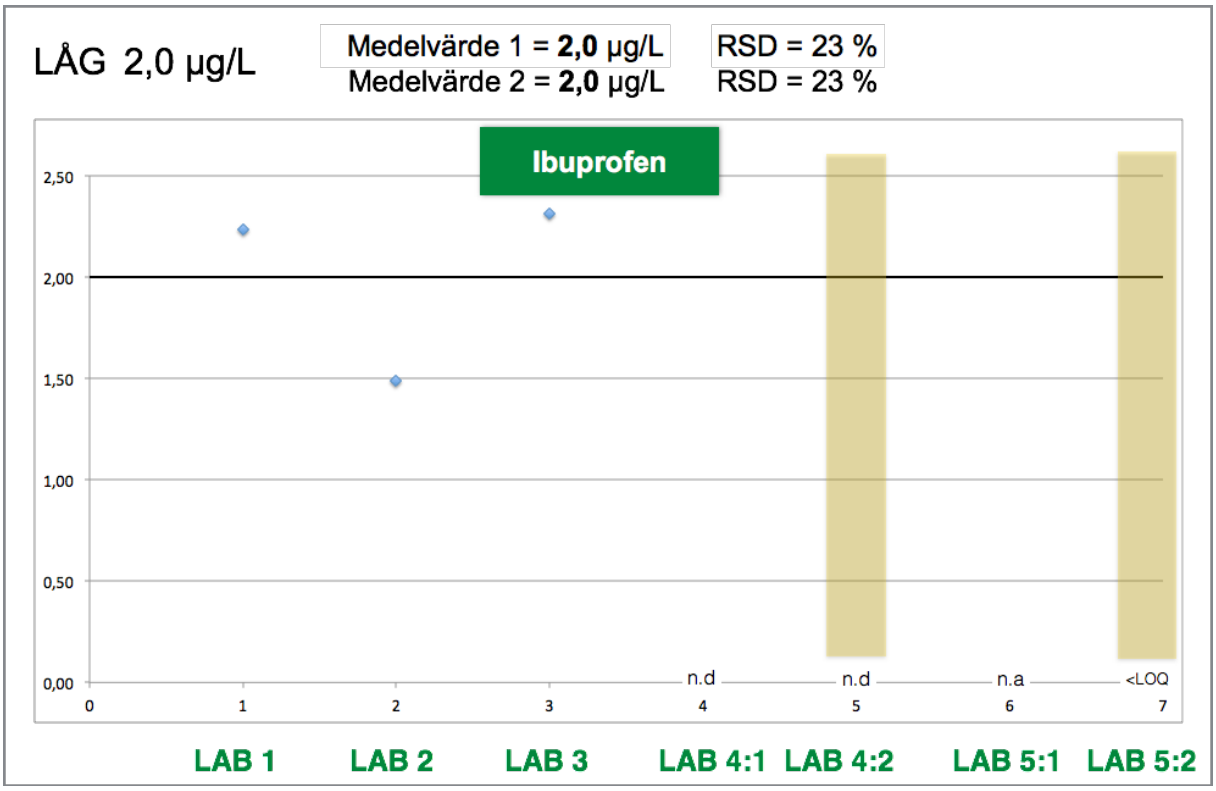
Ethinylestradiol analyserades av 2 laboratorier i den första analysomgången, LAB 1 och LAB 2. I den andra analysomgången försökte LAB 5 kvantifiera ämnet medan LAB 3 och LAB 4 inte analyserade ämnet vid någon koncentration (n.a.).

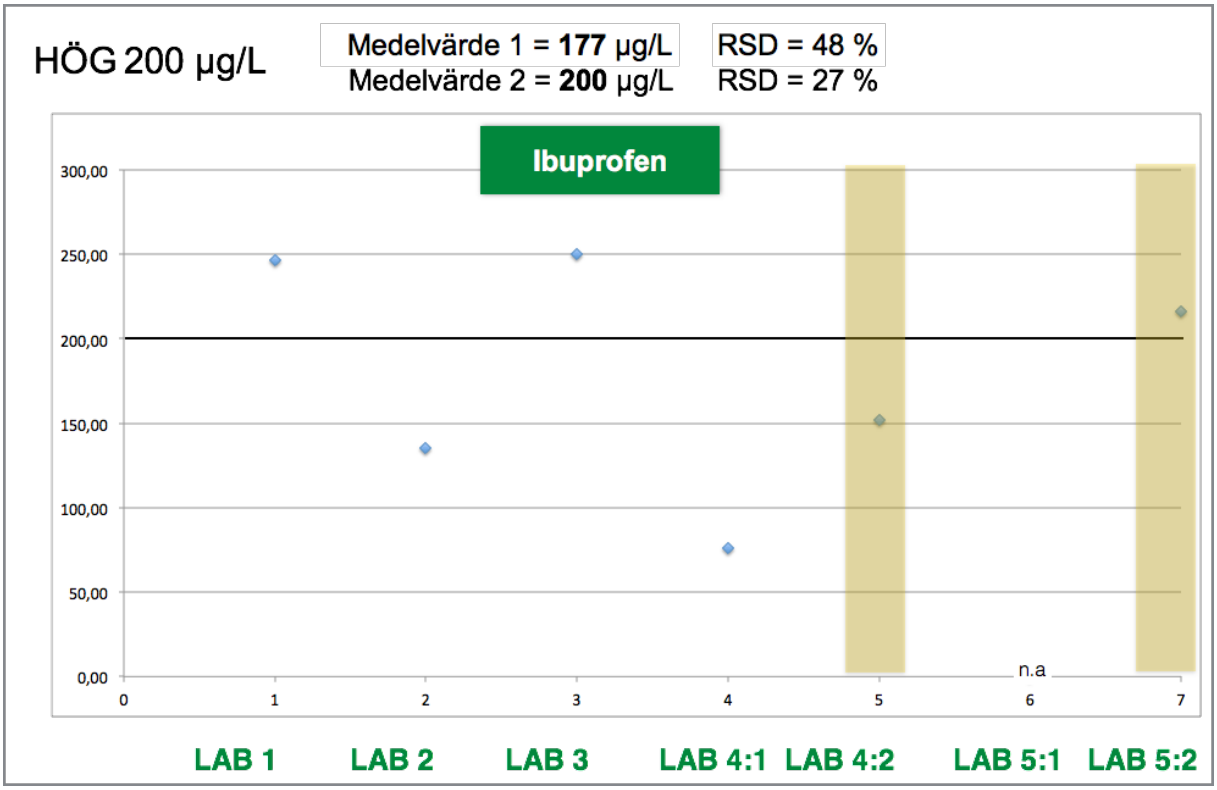
Av **Figur 6** framgår att både LAB 1 och LAB 2 kom nära den tillredda koncentrationen på 1,70 µg/L vid den låga koncentrationen med ett Medelvärde 1 på 1,69 µg/L (RSD = 6 %). Medelvärde 2 vid låg koncentration var oförändrat eftersom LAB 5 hamnade under LOQ i analysomgång två. Även vid den höga koncentrationen på 170 µg/L kom LAB 1 och LAB 2 nära detta värde i den första analysomgången med ett Medelvärde 1 på 166 µg/L (RSD = 11 %). När LAB 5 meddelade sitt resultat för den höga koncentrationen sjönk Medelvärde 2 något till 156 µg/L (RSD = 15 %).

Eftersom Ethinylestradiol finns med på bevakningslistan och är mycket central ur ett EU-perspektiv finns det stora möjligheter till förbättring, och inte minst med tanke på att två av laboratorierna inte ens kunde analysera standarderna, är det angeläget med samarbete som kan förbättra analyserna av detta ämne.

7.1.8 Ibuprofen – standard låg och hög

Ibuprofen analyserades i koncentrationerna 2,0 och 200 µg/L, **Figur 7**.





Figur 7. *Analysresultat för ibuprofen i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Ibuprofen är ett inflammationsdämpande NSAID-läkemedel (liksom diclofenac ovan). LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att det har stor användning, och att en stor andel säljs receptfritt samt att det har hittats i ytvatten.

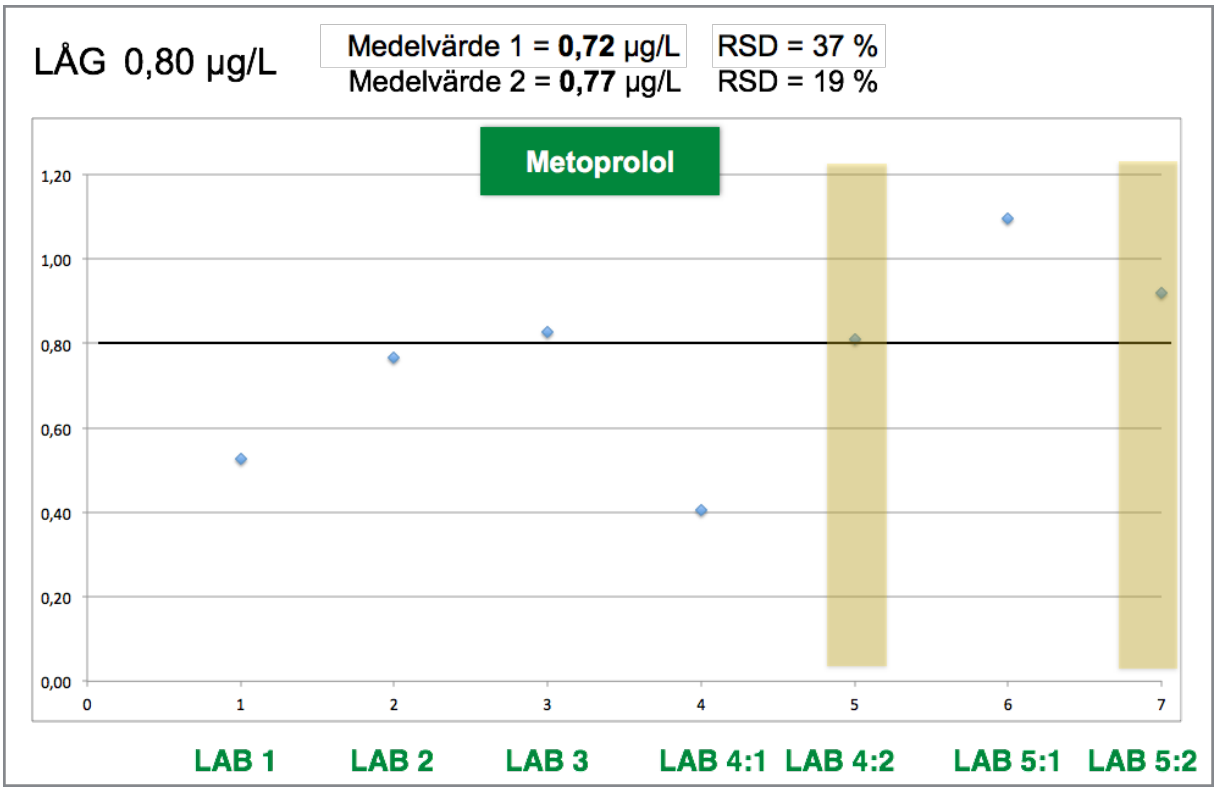
Ibuprofen är känt för att vara problematiskt vid kemiska analyser, där den mest försvagande omständigheten är att endast ett jon-fragment kan identifieras för ibuprofen. Vid analyser av det slag som beskrivs i detta arbete används normalt två jon-fragment för varje molekylslag; ett för att kvantifiera - och ett för att identifiera ämnet. Tre laboratorier använder klokt nog isotopmärkt ibuprofen som standard. Ibuprofen analyserade av 4 laboratorier i den första analysomgången, LAB 1, LAB 2, LAB 3 och LAB 4 medan LAB 5 inte analyserade ämnet (n.a.). Samtliga laboratorier rapporterade ett värde i den andra analysomgången.

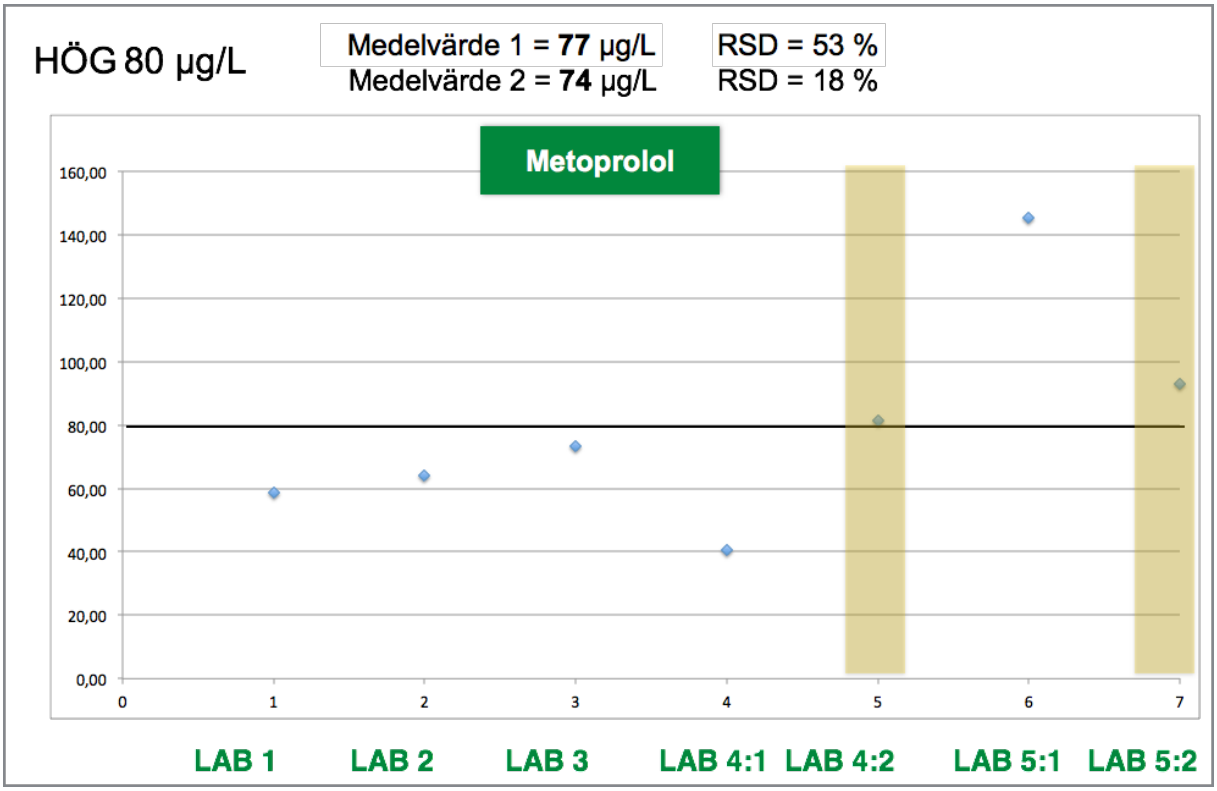
Som framgår av **Figur 7** kunde endast LAB 1, LAB 2 och LAB 3 detektera ämnet vid den låga koncentrationen, medan LAB 4 inte detekterade det (n.d.). LAB 5 analyserade inte ämnet i den första omgången (n.a.). Medelvärde 1 för den låga koncentrationen 2,0 µg/L var just precis 2,0 µg/L (RSD = 23 %). Medelvärde 2 var detsamma som Medelvärde 1 vid låg koncentration eftersom LAB 4 inte utförde en ny analys utan endast korrigerade sina värden beräkningsmässigt, samt det faktum att LAB 5 vid omanalys låg under kvantifieringsgränsen (LOQ). Vid den höga koncentrationen 200 µg/L rapporterade LAB 1, LAB 2, LAB 3 och LAB 4 in värden i den första analysomgången vilket gav ett Medelvärde 1 på 177 µg/L (RSD = 48 %). Efter korrigering av värdet från LAB 4 samt omanalys av provet av LAB 5 kunde ett nytt Medelvärde 2 beräknas till 200 µg/L (RSD = 27 %).

Ibuprofen förorsakade problem vid analys för några av laboratorierna vid den lägre koncentrationen.

7.1.9 Metoprolol – standard låg och hög

Metoprolol analyserades i koncentrationerna 0,8 och 80 µg/L, **Figur 8**.





Figur 8. *Analysresultat för metoprolol i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Metoprolol är en beta-blockerare som stänger av beta-receptorer i kroppen, och används bland annat mot högt blodtryck och kärlkramp. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att det har stor användning och har hittats i dricksvatten, ytvatten och slam.

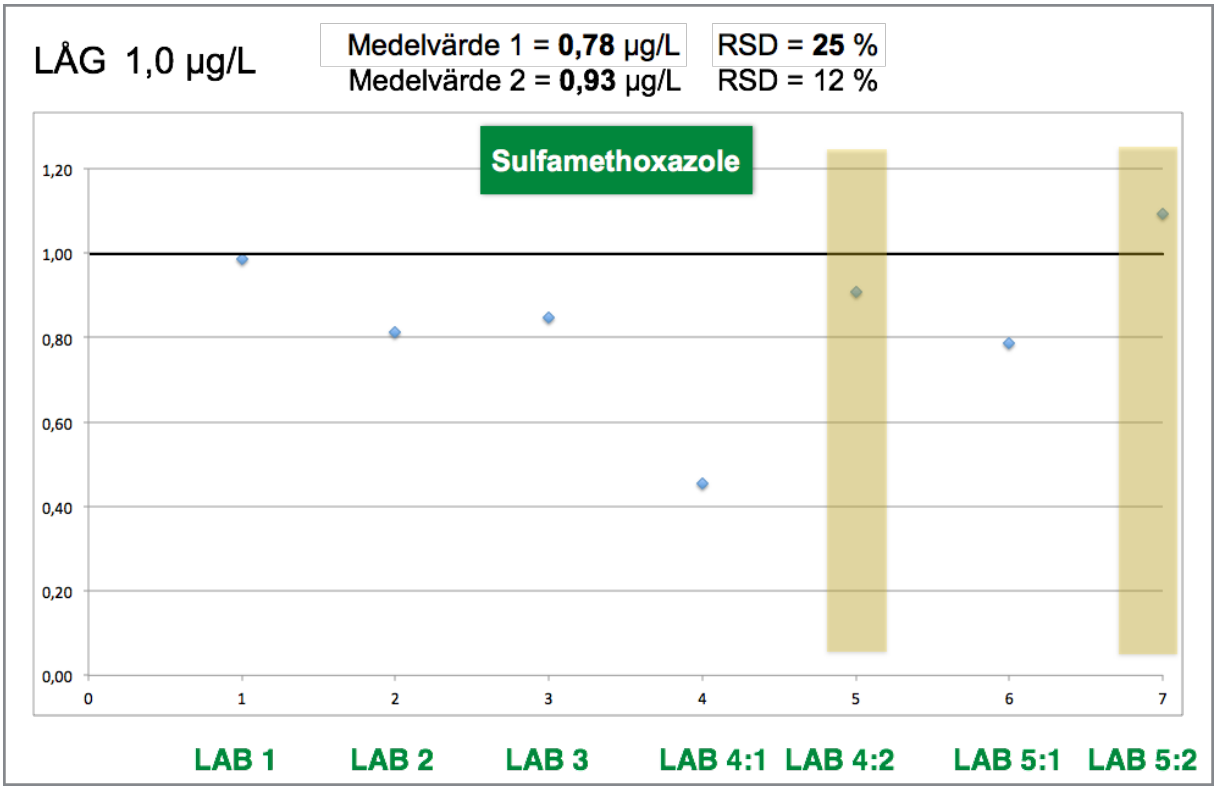
Inga specifika kommentarer kring analys av ämnet togs upp under mötet.

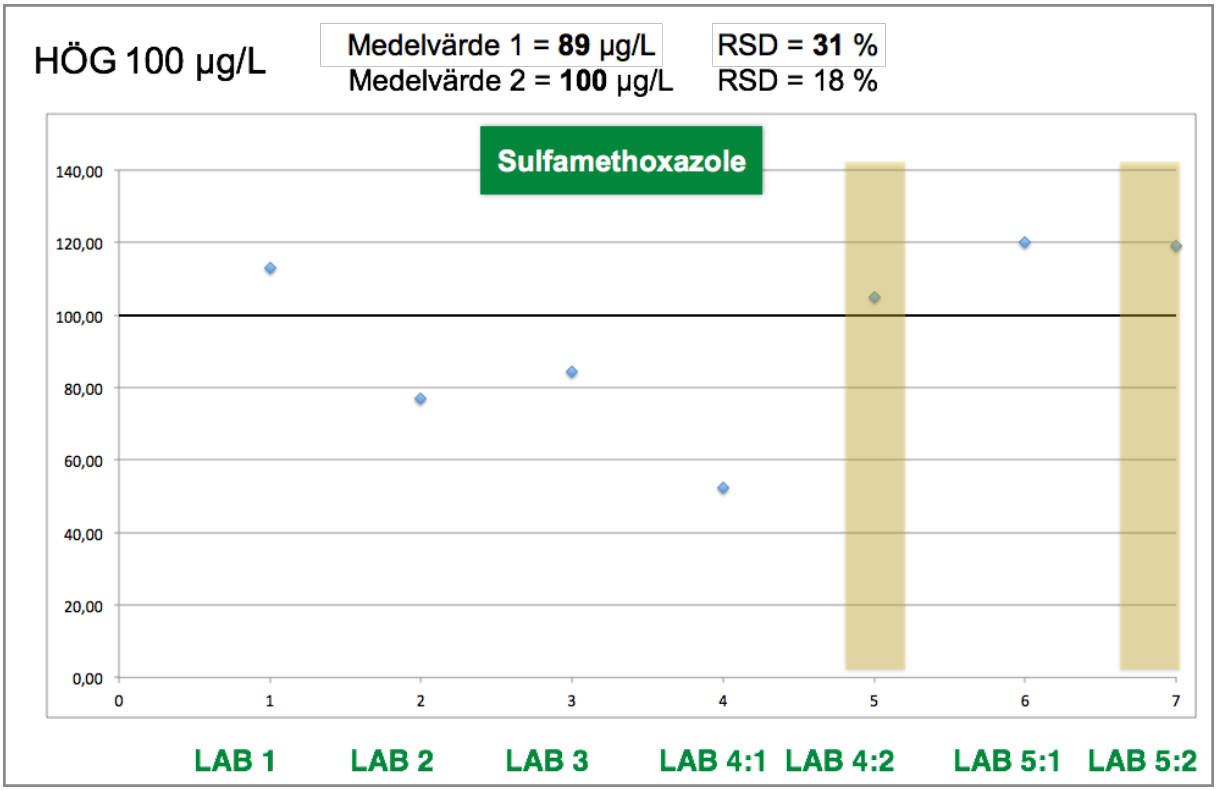
I **Figur 8** ses att metoprolol analyserades av samtliga laboratorier i den första analysomgången för både den låga koncentrationen 0,80 µg/L och den höga koncentration 80 µg/L. Medelvärde 1 beräknades till 0,72 µg/L (RSD = 37 %) och 77 µg/L (RSD = 53 %). Efter korrigering från LAB 4 och omanalys från LAB 5 erhölls nya likartade Medelvärde 2 på 0,77 µg/L (RSD = 19 %) och 74 µg/L (RSD = 18 %), men med lägre relativa standardavvikelser.

Generellt sett fungerade analysen av metoprolol väl efter det att problem identifierats och åtgärdats av LAB 4 och LAB 5, och det var också väntat givet dess goda respons i masspektrometern och kromatografi-vänlighet.

7.1.10 Sulfamethoxazole – standard låg och hög

Sulfamethoxazole analyserades i koncentrationerna 1,0 och 100 µg/L, **Figur 9**.





Figur 9. *Analysresultat för sulfamethoxazole i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Sulfamethoxazole är ett antibiotikum som ges i kombination med trimethoprim. Sulfamethoxazole tillhör gruppen sulfonamider och hämmar syntesen av folsyra hos bakterier. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att ämnet har hittats i ytvatten, fisk och slam.

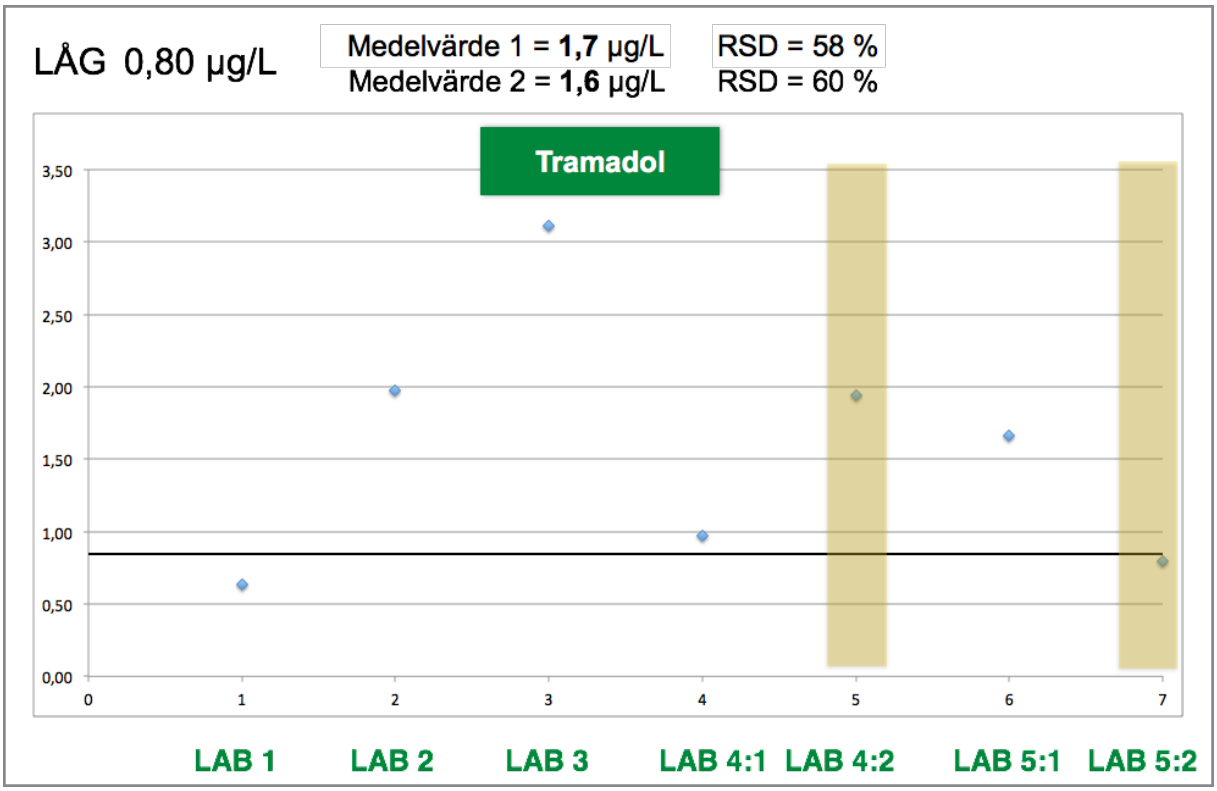
Sulfamethoxazole är ett av de mest analyserade ämnena i miljö-vattenprover. Inga kommentarer kring analys av ämnet förekom under mötet.

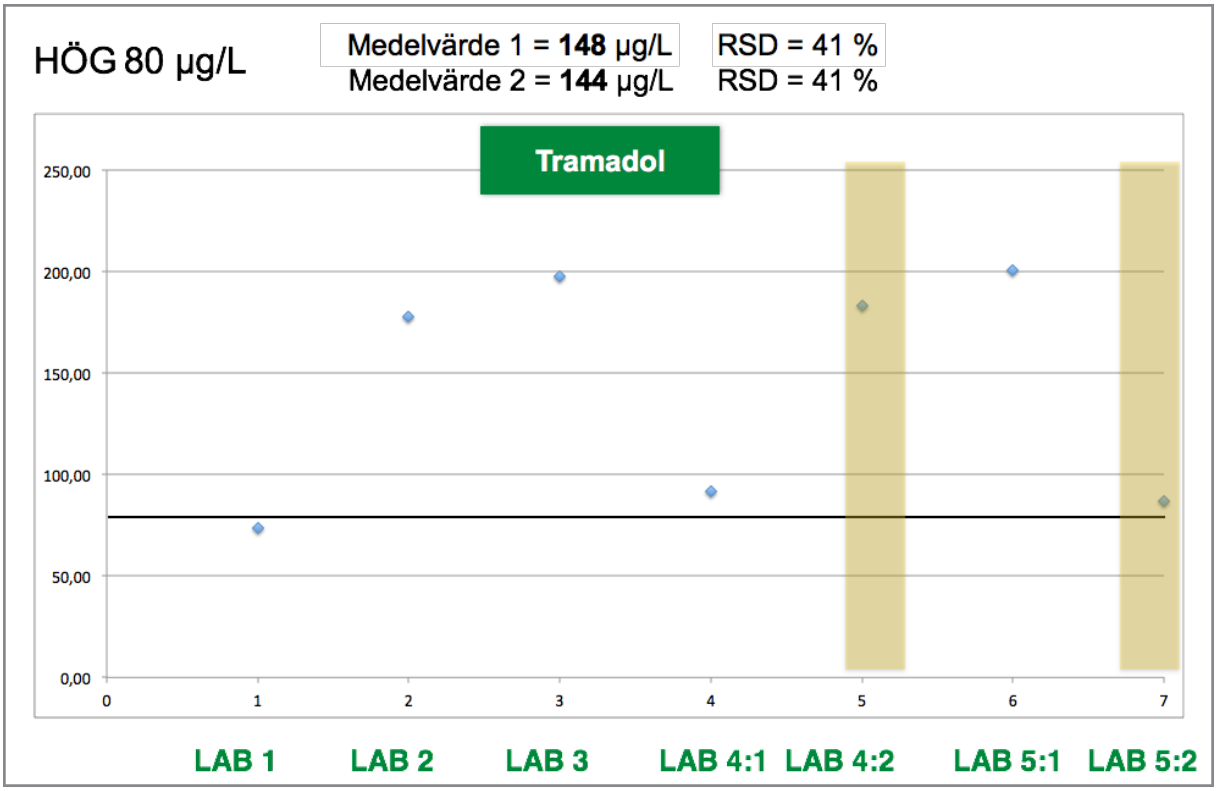
Av **Figur 9** framgår att sulfamethoxazole analyserade av samtliga laboratorier i den första analysomgången för både den låga koncentrationen och den höga koncentrationen. Medelvärde 1 beräknades till 0,78 µg/L (RSD = 25 %) för den låga koncentrationen och 89 µg/L (RSD = 31 %) för den höga koncentrationen. Efter korrigering från LAB 4 och omanalys från LAB 5 erhölls nya Medelvärde 2 på 0,93 µg/L (RSD = 12 %) och 100 µg/L (RSD = 18 %).

Generellt sett fungerade analysen av sulfamethoxazole väl efter det att problem identifierats och åtgärdats av LAB 4 och LAB 5.

7.1.11 Tramadol – standard låg och hög

Tramadol analyserades i koncentrationerna 0,8 och 80 µg/L, **Figur 10**.





Figur 10. *Analysresultat för tramadol i två standarder med låg respektive hög koncentration. Se text för förklaring angående dubbla rapporterade värden för LAB 4 och LAB 5 samt Medelvärde 1 och 2.*

Tramadol tillhör gruppen opioider och används som smärtstillande preparat. Ämnet är narkotikaklassat i Sverige. LMV skriver i sin rapport 2015 (fotnot 4) att tramadol har hittats i dricksvatten och ytvatten.

Tramadol visade sig vara relativt besvärligt att analysera baserat på de data som inrapporterades.

I **Figur 10** ses att tramadol analyserades av samtliga laboratorier i den första analysomgången för den låga koncentrationen 0,80 µg/L. Samtliga laboratorier utom LAB 1 fick koncentrationer över den tillredda koncentrationen vilket ledde till ett Medelvärdet 1 på 1,7 µg/L (RSD = 58 %). Efter det att LAB 4 korrigerat sitt resultat fick de ett ännu högre värde medan LAB 5 efter omanalys sänkte sin koncentration rejält. Detta gav ett nytt Medelvärde 2 på 1,6 µg/L (RSD = 60 %).

Även vid den höga koncentrationen 80 µg/L redovisade samtliga laboratorier utom LAB 1 koncentrationer över den tillredda koncentrationen vilket ledde till ett Medelvärdet 1 på 148 µg/L (RSD = 41 %). Efter det att LAB 4 korrigerat sitt resultat ökade deras koncentration medan LAB 5 efter omanalys återigen sänkte sin koncentration avsevärt. Detta gav ett nytt Medelvärde 2 på 144 µg/L (RSD = 41 %).

Generellt sett är tramadol problematiskt, eftersom flera laboratorier överskattar koncentrationen av ämnet redan i rena standardlösningar.

7.2 Generell kommentar till analys av två standarder i låg och hög koncentration

Baserat på de resultat som inkommit kan ämnena delas in i två grupper utifrån den lätthet med vilket ämnena kan analyseras. Fem av ämnena är förhållandevis enkla att analysera och fem är mer problematiska. Detta är också i linje med de förväntningar laboratorierna hade på ämnena redan vid valet av dessa baserat på tidigare erfarenheter från läkemedelsanalyser.

Till den ”enkla” gruppen av ämne vid analys av standarder hör:

- Carbamazepine
- Citalopram
- Diclofenac
- Metoprolol
- Sulfamethoxazole

Till den ”svåra” gruppen av ämnen vid analys av standarder hör:

- Ciprofloxacin
- Clarithromycin
- Ethinylestradiol
- Ibuprofen
- Tramadol

Detta är viktigt att beakta när ämnena ska analyseras i miljöprover där omfattande mängder matris förekommer i proverna vilket ytterligare försvårar analysen för samtliga ämnen.

7.3 Analysresultat – ett spikat dammvatten

Resultaten för analys av provet "*Spikat dammvatten*" redovisas nedan i **Tabell 2** och **Tabell 3**. **Tabell 2** redovisar värden från den första analysomgången medan **Tabell 3** redovisar värden efter det att LAB 4 korrigerat sina data och LAB 5 utfört omanalys av provet. En viktig aspekt avseende resultaten för det spikade dammvattnet är att detta har inslag av matris som stör slutanalysen i olika utsträckning. Läkemedlen tillsattes till dammvattnet i nivåer motsvarande halter som kan förväntas återfinnas i ytvatten nära ett reningsverk.

Tabell 2. *Uppmätta koncentrationer (ng/L) av 10 läkemedel spikade till dammvatten. För detaljer se avsnitt "5.2 Provtyper" samt avsnitt "5.2.2 Ett spikat dammvatten".*

Ämne	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5	*Spikat*	**Medelv.**	RSD
Carbamazepine	50	49	n.d.	42	59	*50*	**50**	14 %
Ciprofloxacin	118	54	n.d.	n.a	198	*130*	**123**	59 %
Citalopram	52	45	117	8	28	*70*	**50**	82 %
Clarithromycin	42	36	n.a	11	<LOQ	*110*	**30**	55 %
Diclofenac	83	58	164	46	206	*90*	**111**	63 %
Ethinyestradiol	147	160	n.a	n.a	n.a	*150*	**154**	6 %
Ibuprofen	260	160	377	76	n.a	*200*	**218**	59 %
Metoprolol	56	22	72	45	158	*80*	**71**	74 %
Sulfamethoxazole	122	84	138	58	128	*100*	**106**	32 %
Tramadol	95	360	n.d	64	347	*80*	**216**	73 %

Tabell 3. *Uppmätta koncentrationer (ng/L) av 10 läkemedel spikade till dammvatten. Korrigerade värden för LAB 4 och omanalyserat prov för LAB 5. För detaljer se avsnitt "5.2 Provtyper" samt avsnitt "5.2.2 Ett spikat dammvatten".*

Ämne	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5	*Spikat*	**Medelv.**	RSD
Carbamazepine	50	49	n.d.	83	74	*50*	**64**	27 %
Ciprofloxacin	118	54	n.d.	n.a	88	*130*	**87**	37 %
Citalopram	52	45	117	15	56	*70*	**57**	65 %
Clarithromycin	42	36	n.a	22	92	*110*	**48**	64 %
Diclofenac	83	58	164	91	76	*90*	**94**	43 %
Ethinyestradiol	147	160	n.a	n.a	106	*150*	**138**	21 %
Ibuprofen	260	160	377	152	166	*200*	**223**	43 %
Metoprolol	56	22	72	90	84	*80*	**65**	42 %
Sulfamethoxazole	122	84	138	116	103	*100*	**112**	18 %
Tramadol	95	360	n.d	128	76	*80*	**165**	80 %

7.3.1 Uppmätta koncentrationer av enskilda läkemedel – ett spikat dammvatten

I **Tabell 2** ses några generella trender med avseende på enskilda läkemedel. LAB 1 och LAB 2 kunde initialt analysera samtliga 10 ingående ämnen i det spikade dammvattnet. LAB 3 kunde endast analysera 5 av ämnena i närvaro av matris. De 5 ämnen som LAB 3 inte redovisade värden för innefattade det förhållandevis enkla ämnet carbamazepine samt de fyra mer svåranalyserade ämnena ciprofloxacin, clarithromycin, ethinylestradiol och tramadol. Av dessa fem ämnen hade LAB 3 sedan tidigare, vid analys i de rena standarderna, inte redovisat värden för clarithromycin (både låg och hög nivå) samt ethinylestradiol (både låg och hög nivå). LAB 4 analyserade 8 av ämnena men redovisade inga värden för ciprofloxacin eller ethinylestradiol. LAB 4 hade tidigare inte heller redovisat värden för dessa två ämnen i rena standarder, varken på låg eller hög nivå. LAB 5 analyserade 7 ämnen i en första omgång; inga värden för clarithromycin, ethinylestradiol eller ibuprofen redovisades. Efter det att LAB 3, LAB 4 och LAB 5 uppdagade problem med sina analyser inkom LAB 4 och LAB 5 med nya värden vilket redovisas i **Tabell 3**. LAB 3 avstod från vidare analyser, och kvarstod därmed vid att redovisa värden för endast 5 av 10 läkemedel. I **Tabell 3** redovisade LAB 4 återigen värden för 8 ämnen vars koncentrationer fördubblats som en konsekvens av en omräkningsfaktor, medan LAB 5 nu redovisade analysdata för samtliga 10 ämnen. Det kan också noteras att LAB 3 vid analyserna av de spikande vattnen inte genomförde någon provupparbetning, vilket skiljde sig från övriga laboratorier, se **Tabell 1**.

Från **Tabell 2** och **Tabell 3** ses att skillnader i redovisade koncentrationer förelåg mellan de olika laboratorierna. Dessa var olika stora beroende på ämne.

Carbamazepine (exklusive LAB 3) hade ett spikat värde på 50 ng/L och ett första medelvärde på just 50 ng/L med en låg relativ standardavvikelse på 16 %. LAB 1 och LAB 2 låg mycket nära det spikade värdet medan LAB 4 och LAB 5 avvek något initialt. Efter att nya värden inkommit från LAB 4 och LAB 5 steg såväl medelvärdet som den relativa standardavvikelsen till 64 ng/L respektive 27 %, som en konsekvens av att deras nya värden blev markant högre. Generellt sett fungerade analyserna av carbamazepine väl, även om LAB 4 och LAB 5 överskattade koncentrationen något samt att LAB 3 inte kunde detektera carbamazepine (n.d.). Carbamazepine var förhållandevis enkelt att analysera även som ren standard.

Ciprofloxacin (exklusive LAB 3 och LAB 4) hade ett spikat värde på 130 ng/L och ett första medelvärde på 123 ng/L med en hög relativ standardavvikelse på 59 %. LAB 1 låg nära detta värde medan LAB 2 och LAB 5 underskattade, respektive överskattade koncentrationen något. Efter att ett nytt värde inkommit från LAB 5 sjönk såväl medelvärdet som den relativa standardavvikelsen till 87 ng/L och 37 % som en konsekvens av att LAB 5 halverade sin koncentration till 88 ng/L. Ciprofloxacin förorsakade problem redan vid analys som ren standard, och var svåranalyserat även i spikat dammvatten, där LAB 3 inte kunde detektera ämnet (n.d.) och LAB 4 inte analyserade ämnet (n.a.). Med detta som utgångspunkt får medelvärdet i **Tabell 3** anses acceptabelt.

Citalopram analyserades av samtliga laboratorier och hade ett spikat värde på 70 ng/L och ett första medelvärde på 50 ng/L men med en hög relativ standardavvikelse på 82 %. LAB 1 och LAB 2 låg förhållandevis nära denna koncentration medan övriga laboratorier initialt avvek avsevärt från detta värde. Efter att nya värden inkommit från LAB 4 och LAB 5 steg medelvärdet till 57 ng/L medan den relativa standardavvikelsen sjönk till 65 % som en konsekvens av att LAB 5 rapporterade in ett fördubblat värde på 56 ng/L, medan även LAB 4 ökade sin koncentration. Citalopram fungerade relativt väl vid analys som ren standard, och efter det att LAB 4 och LAB 5 inkommit med nya värden får medelvärdet i **Tabell 3** anses acceptabelt även om den relativa standardavvikelsen är något hög, vilket kan förklaras med höga analysresultat från LAB 3 och låga från LAB 4. Samtliga laboratorier använder olika isotop-substitut som standarder.

Kommande samarbete skulle kunna undersöka om analyserna kan förbättras av en gemensamt införskaffad isotopmärkt citalopram-standard.

Clarithromycin (exklusive LAB 3) hade ett spikat värde på 110 ng/L och ett första medelvärde på 30 ng/L med en relativ standardavvikelse på 55 %. LAB 1 och LAB 2 låg närmast det spikade värdet medan LAB 4 initialt låg en faktor 10 under och LAB 5 låg under LOQ. Efter att nya värden rapporterats från LAB 4 och LAB 5 steg såväl medelvärdet som den relativa standardavvikelsen till 48 ng/L och 64 % som en konsekvens av att LAB 5 nu hamnade på en koncentration av 92 ng/L och även LAB 4 ökade sin koncentration. Clarithromycin var problematiskt redan vid analys av ren standard där LAB 3 inte analyserade ämnet (n.a.) samt flera laboratorier underskattade koncentrationen. Mot bakgrund av detta är medelvärdet i **Tabell 3** inte förvånande, men det är problematiskt att det tycks finnas en tendens att underskatta koncentrationen med minst en faktor 2. Den omedelbara förklaringen till de underskattade värdena kan förklaras med matriseffekter, vilka inte något av laboratoriernas val av isotop-substitut kunde kompensera för. Kommande samarbete skulle kunna undersöka om analyserna kan förbättras av en gemensamt införskaffad isotopmärkt clarithromycin-standard.

Diclofenac analyserades av samtliga laboratorier och hade ett spikat värde på 90 ng/L och ett första medelvärde på 111 ng/L men med en hög relativ standardavvikelse på 63 %. LAB 1 låg nära detta värde medan övriga laboratorier initialt avvek från denna koncentration. LAB 2 och LAB 4 underskattade koncentrationen medan LAB 3 och LAB 5 rapporterade koncentrationer som var ungefär en faktor 2 för höga. Efter att nya värden inkommit från LAB 4 och LAB 5 sjönk medelvärdet och den relativa standardavvikelsen till 94 µg/L respektive 43 % som en konsekvens av att LAB 4 fördubblade sin koncentration till 91 µg/L och LAB 5 rapporterade in ett mer än halverat värde på 76 µg/L. Diclofenac fungerade väl vid analys som ren standard, samtliga laboratorier (utom LAB 3) redovisade att isotopmärkt diclofenac användes som intern standard. När LAB 4 och LAB 5 inkommit med nya värden för spikat dammvatten blev medelvärdet i **Tabell 3** acceptabelt även om den relativa standardavvikelsen är hög, framförallt som en konsekvens av att LAB 3 hade ett högt värde.

Ethinylestradiol (exklusive LAB 3 och LAB 4) hade ett spikat värde på 150 ng/L och ett första medelvärde på 154 ng/L som initialt baserade sig enbart på värden från LAB 1 och LAB 2. Både LAB 1 och LAB 2 låg nära det spikade värdet. Efter att ett nytt värde på 106 ng/L inkommit från LAB 5 sjönk medelvärdet till 138 ng/L och den relativa standardavvikelsen till 21 %. Ethinylestradiol analyserades som standard endast av LAB 1, LAB 2 och LAB 5. De värden som rapporterades då var nära den tillredda standardens värde (hög nivå). Resultatet i **Tabell 3** visar att de tre laboratorier som analyserar ethinylestradiol i standarder också lyckas väl med detta i spikat dammvatten, men att det kräver omsorg om analysen i form av utvecklingsarbete. Man ska dock vara medveten om att de halter som analyseras i det spikade vattnet ligger mycket över de av EU eftersträvade nivåerna på 0,035 ng/L. Det är något problematiskt att LAB 3 och LAB 4 inte lämnade några analysresultat för ethinylestradiol (n.a.), som är av stor vikt ur ett miljöperspektiv. Det är tydligt att gemensamma ansträngningar skulle gagna samtliga parters analyser av ethinylestradiol.

Ibuprofen hade ett spikat värde på 200 ng/L och ett första medelvärde på 218 ng/L (RSD = 59 %) som i första omgången baserade sig på värden från samtliga laboratorier utom LAB 5. LAB 1 och LAB 2 låg relativt nära detta värde medan LAB 3 rapporterade en koncentration som var nästan två gånger över den spikade koncentrationen och LAB 4 mer än två gånger under denna koncentration. Efter att nya värden rapporterats från LAB 4 och LAB 5 steg medelvärdet till 223 ng/L och den relativ standardavvikelse sjönk till 43 %. Vid analys av den låga standarden rapporterade endast LAB 1, LAB 2 och LAB 3 in värden, medan samtliga laboratorier

analyserade den höga standarden. De resultat som presenteras för spikat dammvatten i **Tabell 3** liknar mycket de resultat som uppvisades för den höga standarden ibuprofen med undantag för LAB 3 som får en hög koncentration. Med detta som utgångspunkt är resultaten och medelvärdet i **Tabell 3** inte förvånande och får anses acceptabelt.

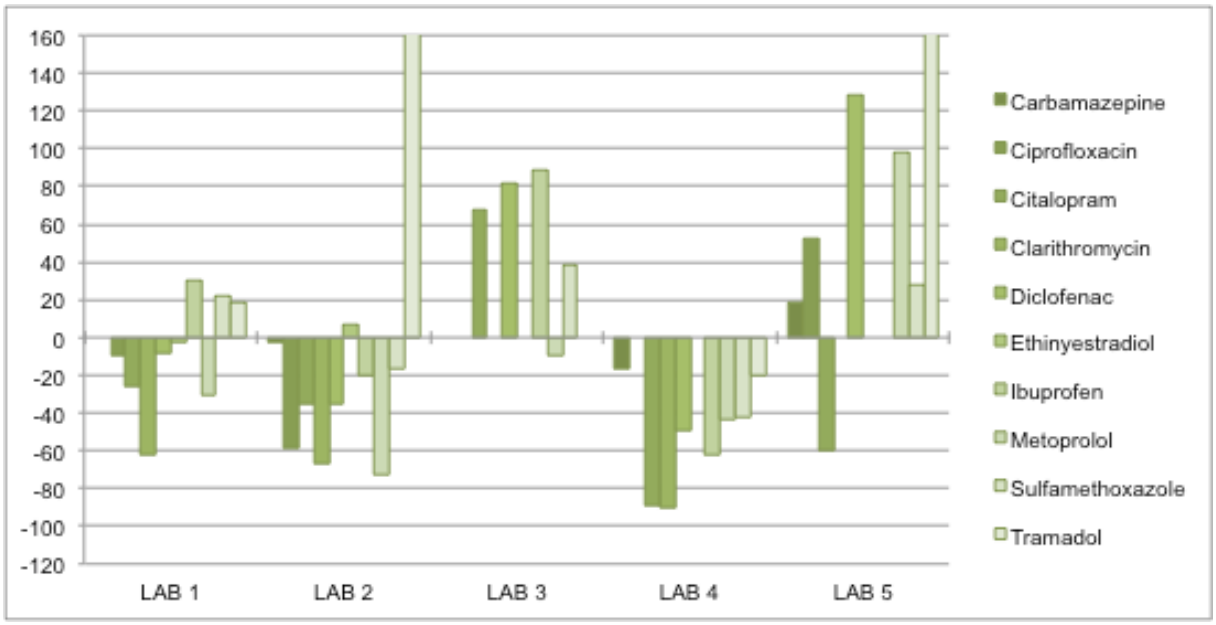
Metoprolol analyserades av samtliga laboratorier och hade ett spikat värde på 80 ng/L och ett första medelvärde på 71 ng/L men med en hög relativ standardavvikelse på 74 %. LAB 3 låg nära detta värde medan LAB 1 och LAB 4 underskattade koncentrationen något. LAB 2 avvek kraftigt och underskattade koncentrationen med en faktor nära 4. LAB 5 redovisade en koncentration som var dubbelt så hög som den spikade koncentrationen När nya värden rapporterades från LAB 4 och LAB 5 sjönk medelvärdet och den relativa standardavvikelsen till 65 ng/L respektive 42 % som en konsekvens av att LAB 5 rapporterade in en betydligt lägre koncentration på 84 ng/L. Metoprolol fungerade väl vid analys som ren standard, vilket åter igen belyser matrisens påverkan vid organisk spåranalys samt tillkomsten av provupparbetning. När LAB 4 och LAB 5 inkommit med nya värden för spikat dammvatten blev medelvärdet i **Tabell 3** acceptabelt, även om LAB 2 avviker avsevärt från den spikade koncentrationen.

Sulfamethoxazole analyserades av samtliga laboratorier och hade ett spikat värde på 100 ng/L och ett första medelvärde på 106 ng/L samt en relativ standardavvikelse på 32 %. Samtliga laboratorier låg förhållandevis nära detta värde och endast LAB 4 uppvisade en något låg koncentration. När nya värden rapporterades från LAB 4 och LAB 5 steg medelvärdet till 112 ng/L medan den relativa standardavvikelsen sjönk till 18 %. Detta beroende på att LAB 4 rapporterade in en fördubblad koncentration. Sulfamethoxazole fungerade väl vid analys som ren standard. De nya värden som rapporterades in av LAB 4 och LAB 5 gav ett bra medelvärde i **Tabell 3**. Av samtliga 10 ämnen är sulfamethoxazole det ämnen som uppvisade bäst resultat.

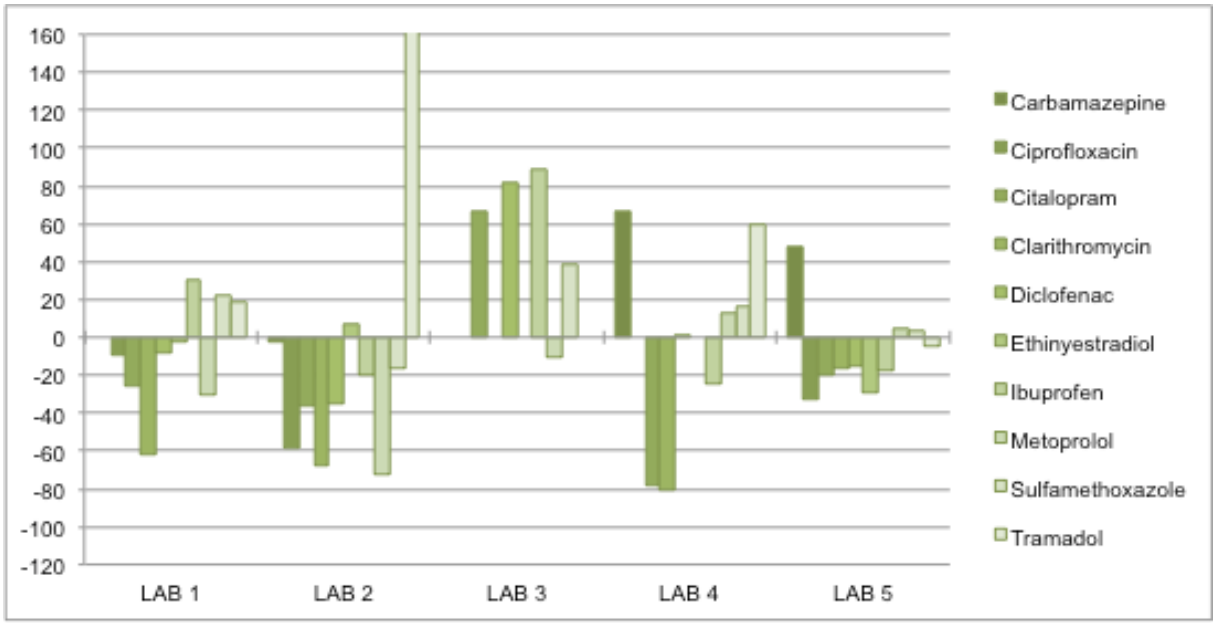
Tramadol (exklusive LAB 3) hade ett spikat värde på 80 ng/L och ett första medelvärde på 216 ng/L med en relativ standardavvikelse på 73 %. LAB 1 och LAB 4 låg närmast det spikade värdet medan LAB 2 och LAB 5 initialt låg en faktor 4 över denna koncentration. LAB 3 detekterade inte ämnet i sin analys (n.d.). Efter att nya värden rapporterats från LAB 4 och LAB 5 sjönk medelvärdet till 165 ng/L medan den relativa standardavvikelsen steg till 80 % som en konsekvens av att LAB 5 nu redovisade en koncentration på 76 ng/L. Tramadol var problematiskt redan vid analys av ren standard där flera laboratorier överskattade koncentrationen. Mot bakgrund av detta är medelvärdet i **Tabell 3** inte förvånande, med de största avvikelserna från LAB 3 som inte alls såg ämnet trots att de kunde analysera det i ren standard, och LAB 2 som överskattade koncentrationen kraftigt. Muntligen informerade LAB 2 att detta var första tillfället som Tramadol-analys genomfördes i skarpt läge, vilket delvis kan förklara det avvikande värdet. Vid mötet berättade O. Svahn och J. Fick att de noterat att vid närvaro av humushaltig matris kunnat notera en extra topp relativt nära tramadols retentionstid. Om kromatografin inte har tillräcklig upplösning skulle detta kunna ge upphov till co-eluering vilket i sin tur skulle kunna leda till en överskattning av halten tramadol. Mer samarbete behövs för att förstå orsaken till de inrapporterade skillnaderna i koncentration. Både LAB 4 och LAB 5 har isotopmärkt tramadol-standard vid sina analyser, vilket är en god utgångspunkt för det fortsatta arbetet.

7.3.1 Jämförelse mellan laboratorier – ett spikat dammvatten

För att få en mer överskådlig bild av hur väl de olika laboratoriernas redovisade koncentrationer överensstämde med de halter som dammvattnet spikats med beräknades den procentuella avvikelsen från det spikade värdet. Resultatet av detta framgår av **Figur 11** och **Figur 12**.



Figur 11. *Procentuell avvikelse från spikade koncentrationer av de 10 läkemedlen spikade i dammvatten baserat på data från Tabell 1.*



Figur 12. *Procentuell avvikelse från spikade koncentrationer av de 10 läkemedlen spikade i dammvatten baserat på data från Tabell 2.*

En övergripande översikt visar att för samtliga laboratorier och samtliga ämnen ligger den procentuella avvikelsen från den tillsatta koncentrationen i det spikade dammvattnet under 100 %. Detta är extra tydligt i **Figur 12** efter det att LAB 4 och LAB 5 rapporterat in sina nya värden. En av de största avvikelserna är tramadol som vid två tillfällen uppvisade en avvikelse på 350 % (LAB 2, **Figur 11**) och 334 % (LAB 5, **Figur 11**), vilket noterats tidigare.

LAB 1 analyserade 10 ämnen och detekterade samtliga 10 ämnen och hade en maximal positiv avvikelse på 30 % (ibuprofen) och en maximal negativ avvikelse på -62 % (clarithromycin), **Figur 11** och **Figur 12**. Om clarithromycin exkluderas hamnade samtliga ämnen inom ±30 %. I genomsnitt avvek koncentrationerna från LAB 1 med -7 % från den spikade koncentrationen för 10 analyserade ämnen. Ingen tydlig tendens kunde identifieras.

LAB 2 analyserade 10 ämnen och detekterade samtliga 10 ämnen och hade en maximal positiv avvikelse på 350 % (tramadol) och en maximal negativ avvikelse på -73 % (metoprolol), **Figur 11** och **Figur 12**. Om tramadol exkluderas är nästkommande positiva avvikelse 7 % (ethinylestradiol). I genomsnitt avvek koncentrationerna från LAB 2 med -33 % från den spikade koncentrationen för 9 analyserade ämnen (tramadol exkluderat). Generellt tycks LAB 2 underskatta de tillsatta koncentrationerna.

LAB 3 analyserade 8 ämnen men detekterade 5 ämnen och hade en maximal positiv avvikelse på 89 % (ibuprofen) och en maximal negativ avvikelse på -10 % (metoprolol), **Figur 11** och **Figur 12**. I genomsnitt avvek koncentrationerna från LAB 3 med 53 % från den spikade koncentrationen för 5 ämnen. Generellt tycks LAB 3 överskatta de tillsatta koncentrationerna men resultatet kan mycket väl ha blivit annorlunda om fler ämnen än 5 detekterats.

LAB 4 analyserade 8 ämnen och detekterade 8 ämnen och hade initialt inget ämne med positiv avvikelse medan den maximala negativa avvikelsen var -90 % (clarithromycin) innan korrigerade värden rapporterats in, **Figur 11**. I genomsnitt avvek koncentrationerna från LAB 4 med -51 % från den spikade koncentrationen för 8 analyserade ämnen. Generellt skulle en därmed kunna dra slutsatsen att LAB 4 har en tendens att underskatta de tillsatta koncentrationerna. När LAB 4 presenterade sina korrigerade koncentrationer blev resultatet annorlunda. För de analyserade 8 ämnena hade LAB 4 nu en maximal positiv avvikelse på 66 % (carbamazepine) och en maximal negativ avvikelse på -80 % (clarithromycin), **Figur 12**. I genomsnitt avvek koncentrationerna från LAB 4 nu istället med -3 % från den spikade koncentrationen för 8 analyserade ämnen. Ingen tydlig tendens kunde identifieras även om avvikelserna från de tillsatta koncentrationerna i några fall var relativt stora åt båda hållen.

LAB 5 analyserade 8 ämnen men detekterade 7 ämnen i första omgången och ha hade då en maximal positiv avvikelse på 334 % (tramadol) och en maximal negativ avvikelse på -60 % (citalopram) innan korrigerade värden rapporterats in, **Figur 11**. I genomsnitt avvek koncentrationerna från LAB 5 med 44 % från den spikade koncentrationen för 6 analyserade ämnen (tramadol exkluderat). Generellt skulle en nu dra slutsatsen att LAB 5 har en tendens att överskatta de tillsatta koncentrationerna. När LAB 5 presenterade sina korrigerade koncentrationer blev resultatet annorlunda. Nu analyserades och detekterades samtliga 10 ämnena och LAB 5 hade då en maximal positiv avvikelse på 48 % (carbamazepine) och en maximal negativ avvikelse på -32 % (ciprofloxacin), **Figur 12**. I genomsnitt avvek koncentrationerna från LAB 5 nu istället med -8 % från den spikade koncentrationen för 10 analyserade ämnen. Ingen stark tydlig tendens kunde identifieras mer än att flertalet ämnen möjligen underskattades något.

7.4 Analysresultat – två miljöprover

Resultaten för analys av provet ”*Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk*” redovisas nedan i **Tabell 4** och **Tabell 5** medan resultaten för analys av provet ” *Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket*” redovisas nedan i **Tabell 6** och **Tabell 7**. **Tabell 4** och **6** visar värden från den första analysomgången medan **Tabell 5** och **7** visar värden efter det att LAB 4 korrigerat sina data och LAB 5 utfört omanalys av provet.

7.4.1 Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk

Tabell 4. *Uppmätta koncentrationer (ng/L) av 10 läkemedel i ett "Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk". För detaljer se avsnitt "5.2 Provtyper" samt avsnitt "5.2.3 Två miljöprover".*

Ämne	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5	**Medelv.**	RSD
Carbamazepine	517	470	558	275	625	**489**	27 %
Ciprofloxacin	n.d	170	1855	n.a	358	**794**	116 %
Citalopram	347	370	365	59	293	**287**	46 %
Clarithromycin	27	31	n.a	8	6	**18**	71 %
Diclofenac	892	1200	1330	575	2205	**1240**	49 %
Ethinyestradiol	n.d	<8,1	n.a	n.a	n.a	**–**	–
Ibuprofen	64	43	250	570	n.a	**232**	105 %
Metoprolol	923	280	1210	1535	1621	**1114**	49 %
Sulfamethoxazole	197	130	184	95	381	**197**	56 %
Tramadol	595	3900	931	540	1787	**1551**	91 %

Tabell 5. *Uppmätta koncentrationer (ng/L) av 10 läkemedel i ett "Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk". Korrigerade värden för LAB 4 och omanalyserat prov för LAB 5. För detaljer se avsnitt "5.2 Provtyper" samt avsnitt "5.2.3 Två miljöprover".*

Ämne	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5	**Medelv.**	RSD
Carbamazepine	517	470	558	550	394	**498**	14 %
Ciprofloxacin	n.d	170	1855	n.a	155	**436**	183 %
Citalopram	347	370	365	117	216	**283**	40 %
Clarithromycin	27	31	n.a	15	18	**23**	33 %
Diclofenac	892	1200	1330	1150	1519	**1218**	19 %
Ethinyestradiol	n.d	<8,1	n.a	n.a	n.a	**–**	–
Ibuprofen	64	43	250	1140	200	**339**	134 %
Metoprolol	923	280	1210	3070	918	**1280**	83 %
Sulfamethoxazole	197	130	184	190	130	**166**	20 %
Tramadol	595	3900	931	1080	904	**1482**	92 %

Carbamazepine återfanns av samtliga laboratorier i det utgående renade avloppsvattnet. Det första medelvärdet beräknades till 489 ng/L (RSD = 27 %) i **Tabell 4** men ökade sedan till 498 ng/L (RSD = 14 %) i **Tabell 5** efter det att LAB 4 beräknat en ny halt medan LAB 5 sänkt sin koncentration med nästan 60 %. Den uppmätta koncentrationen av carbamazepine kan jämföras med två tidigare nationella studier som i texten nedan kommer att refereras till som *Stockholm Vatten 2010*[9] samt *Nationell Screening 2011*[10]. Resultat presenterade i *Stockholm Vatten 2010* visade att Henriksdals reningsverk hade en koncentration på 373 ng/L (RSD = 32 %), medan Bromma reningsverk hade 305 ng/L (RSD = 35 %). I *Nationell Screening 2011* varierade koncentrationerna mellan 460-1100 ng/L för de 4 ingående städerna, Skövde, Stockholm, Uppsala och Umeå. I en nyligen publicerad studie från Högskolan Kristianstad benämnd *LUSKA 2017*[11] analyserades totalt 8 skånska reningsverk, av mycket varierande storlek, på förekomsten av 21 läkemedel. I *LUSKA 2017* varierade koncentrationen för carbamazepine mellan 139 ng/L och 699 ng/L med ett medelvärde på 444 ng/L. De uppmätta koncentrationerna i denna interkalibreringsstudie verkar rimliga för samtliga laboratorier, vilket också stämmer överens med att carbamazepine var ett relativt enkelt ämne att analysera som ren standard och i spikat dammvatten, med undantag för LAB 3 som inte kunde detektera ämnet i dammvattnet, troligen som en följd av utesluten provupparbetning.

Ciprofloxacin analyserades av LAB 1, LAB 2, LAB 3 och LAB 5. LAB 1 kunde inte detektera ciprofloxacin i avloppsvattnet (n.d.) medan LAB 4 inte analyserade ämnet (n.a.), **Tabell 4**. Övriga tre laboratorier hade starkt åtskilda värden i en första omgång med LAB 3 som toppnotering på 1855 ng/L. I en andra omgång sänkte LAB 5 sitt värde från 358 ng/L till 155 ng/L vilket då kom att likna LAB 2 med en koncentration på 170 ng/L, **Tabell 5**. I *Stockholm Vatten 2010* redovisades mycket låga koncentrationer ut från Henriksdals och Brommas reningsverk på endast 20 ng/L (RSD = 50 %) och 40 ng/L (RSD = 44 %). På samma sätt varierade koncentrationerna av ciprofloxacin i *Nationell Screening 2011* mellan 0-65 ng/L för de fyra ingående städerna. Att ciprofloxacin inte återfanns i någon större utsträckning i utgående avloppsvatten, beror främst på att denna förening till stor del adsorberas till slammet. HKR (opublicerade data) och andra forskargrupper, har återfunnit ciprofloxacin från några hundra upp till några tusen µg/kg slam (*Stockholm Vatten 2010*). Baserat på detta är värdet från LAB 3 på 1855 ng/L troligen överskattat och ligger mer sannolikt någonstans i intervallet 0-200 ng/L. Ciprofloxacin var svåranalyserat redan som ren standard, och även så i spikat dammvatten, där LAB 3 inte kunde detektera ämnet (n.d.) och LAB 4 inte analyserade det (n.a.). Resultaten här förstärker bilden av att ciprofloxacin är ett komplicerat ämne att analysera och kräver fortsatt utveckling av robusta metoder som ger noggrannare resultat.

Citalopram återfanns av samtliga laboratorier i det utgående renade avloppsvattnet. Det första medelvärdet beräknades till 287 ng/L (RSD = 46 %) i **Tabell 4** men sänktes något till 283 ng/L (RSD = 40 %) i **Tabell 5** efter det att LAB 4 fördubblat sin halt samtidigt med att LAB 5 sänkt sin koncentration från 293 till 216 ng/L. *Stockholm Vatten 2010* visade att Henriksdals och Brommas reningsverk hade utgående koncentrationer på 196 ng/L (RSD = 44 %) och 140 ng/L (RSD = 56 %). Resultat från de fyra ingående svenska städerna i *Nationell Screening 2011* visade på förekomst av citalopram i ett intervall på 170-480 ng/L. I *LUSKA 2017* uppmättes koncentrationer mellan 80-217 ng/L i 8 skånska reningsverk med ett medelvärde på 128 ng/L, vilket var jämförbart med *Stockholm Vatten 2010*. De koncentrationerna som uppmätts i denna

---

9 Stockholm Vatten (2010) Läkemedelsrester I Stockholms vattenmiljö — Förekomst, förebyggande åtgärder och rening av avloppsvatten, 2010; 140 sidor.

10 IVL (2011) Results from the Swedish National Screening Programme 2010. Subreport 3. Pharmaceuticals. Swedish Environmental Research Institute. IVL Report B2014, December 2011; 56 sidor.

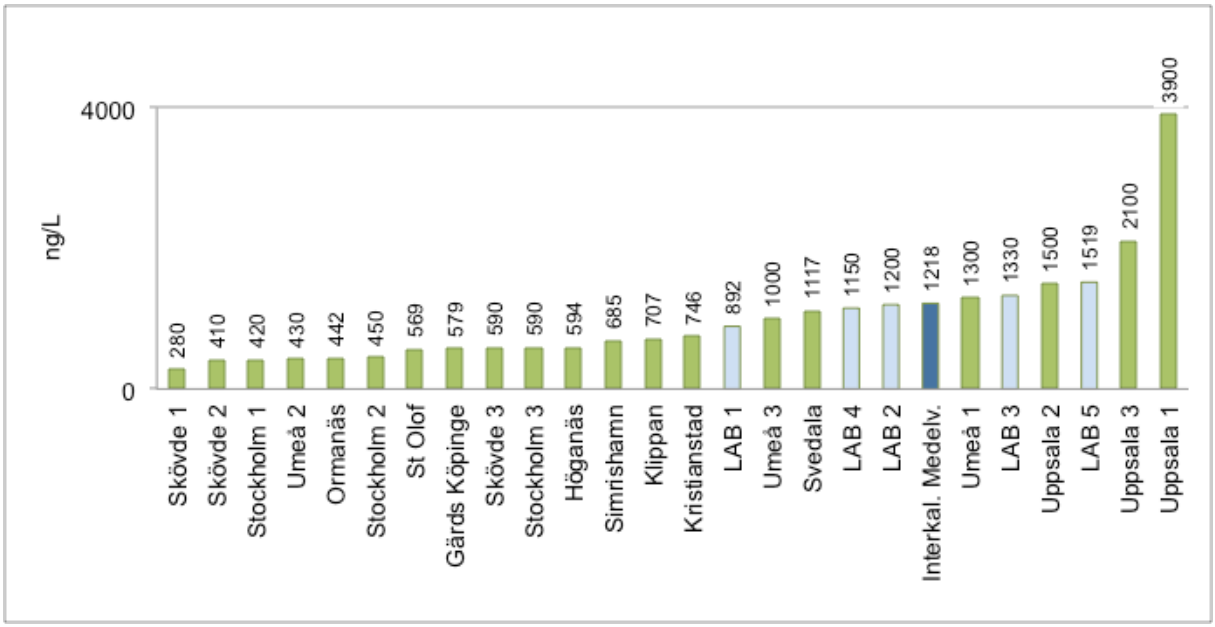
11 O. Svahn, E. Björklund, Läkemedelsutsläpp i Skånska Avloppsreningsverk 2017 - Ett utvecklings- och samverkansprojekt på Högskolan Kristianstad - i samarbete med Region Skåne och 6 skånska reningsverksaktörer; 56 sidor

interkalibreringsstudie tycks rimliga för samtliga laboratorier, och stämmer väl överens med att citalopram är förhållandevis enkelt att analysera som ren standard. Noterbart är dock att den relativa standardavvikelsen är något högre (40 %) för citalopram jämfört med t.ex. carbamazepine och diclofenac som också är ansedda som relativt enkla substanser. Även i spikat dammvatten var den relativa standardavvikelsen hög vilket möjligen kan föranleda att samtliga laboratorier bör se över sina citalopramanalyser.

Clarithromycin analyserades av LAB 1, LAB 2, LAB 4 och LAB 5. LAB 3 analyserade inte ämnet i avloppsvattnet (n.a.), **Tabell 4**. Övriga fyra laboratorier hade kraftigt åtskilda värden med LAB 1 och LAB 2 på ca 30 ng/L och LAB 4 och LAB 5 mellan 5-10 ng/L, **Tabell 4**. I den andra analysomgången ökade LAB 4 och LAB 5 sina koncentrationer till 15 ng/L respektive 18 ng/L. Medelvärdet för clarithromycin ökade då från 18 ng/L (RSD = 71 %) till 23 ng/L (RSD = 33 %), **Tabell 4** och **Tabell 5**. Clarithromycin analyserades inte i studien *Stockholm Vatten 2010*, men väl i *Nationell Screening 2011* där koncentrationerna för clarithromycin låg i intervallet 0-780 ng/L för de fyra undersökta reningsverken. I den skånska studien *LUSKA 2017* varierade koncentrationer mellan 0-213 ng/L med ett medelvärde på 64 ng/L. En tidigare mindre studie utförd specifikt på Kristianstads Reningsverks utgående vatten med avseende på makrolider och andra antibiotika[12] visade på en utgående koncentration på 24 ng/L, vilket ligger väldigt nära det slutliga medelvärdet i **Tabell 5** på 23 ng/L. Medelvärdet för clarithromycin i denna studie är sannolikt underskattat med tanke på att flera laboratorier underskattade koncentrationerna i såväl de rena standarderna som i det spikade dammvattnet. Att clarithromycin är problematiskt framgår också av att LAB 3 inte analyserade ämnet i standarder eller i spikat dammvatten. Arbete kvarstår, som tidigare nämnts, för att förbättra analyserna av clarithromycin och övriga makrolider på EUs bevakningslista.

Diclofenac återfanns av alla laboratorier i det utgående renade avloppsvattnet. Det första medelvärdet beräknades till 1240 ng/L med en förhållandevis hög relativt standardavvikelse på 49 %, **Tabell 4**. Detta berodde på att LAB 4 hade ett lågt värde, medan LAB 5 hade ett högt värde. Denna bild förändrades dock när LAB 4 ökade sin koncentration från 575 ng/L till 1150 ng/L och LAB 5 sänkte sin koncentration från 2205 ng/L till 1519 ng/L i en andra analysomgång, **Tabell 5**. Detta ledde till att medelvärdet sänktes något till 1218 ng/L med en avsevärt minskad relativ standardavvikelse på 19 %, **Tabell 5**. De rapporterade koncentrationerna i *Stockholm Vatten 2010* var endast 288 ng/L (RSD = 36 %) och 257 ng/L (RSD = 32 %) för Henriksdals respektive Brommas reningsverk. En möjlig orsak till de höga halterna uppmätta 2017 skulle kunna bero på en ökad försäljning av diclofenac från det att substansen blev receptfri i Sverige 2006. Diclofenac förekom också i samtliga mätningar i såväl den skånska studien *LUSKA 2017* och som i de fyra skånska städerna i *Nationell Screening 2011*. I *LUSKA 2017* var diclofenac det ämne som hade näst högst genomsnittlig utsläppskoncentration av samtliga 22 undersökta ämnen på listan enligt rapporten från LMV 2015 (näst efter metoprolol) och redovisas nedan. En jämförelse av de uppmätta koncentrationerna i denna studie i relation till *LUSKA 2017* och *Nationell Screening 2011* ses i **Figur 13**.

[12] O. Svahn, E. Björklund, and E. Ross, Analysis of Macrolides and Three Other Antibiotic Classes at Low ppt Levels in WWTP Effluent and Surface Waters by LC-MS/MS. © Waters Corporation, Technology Brief, May 2017; 3 sidor.



Figur 13. *Jämförelse av uppmätta koncentrationer av diclofenac (ng/L) i denna interkalibreringsstudie med uppmätta koncentrationer i "LUSKA 2017" för 8 skånska reningsverken samt i"Nationell screening 2011" för de 4 städerna Skövde, Stockholm, Uppsala och Umeå i utgående renat avlopps vatten i. Dessa 4 senare reningsverk analyserades 3 gånger vardera och indikeras med 1, 2 och 3. För tydlighet är värdena från denna interkalibrering markerade i en blå färgskala.*

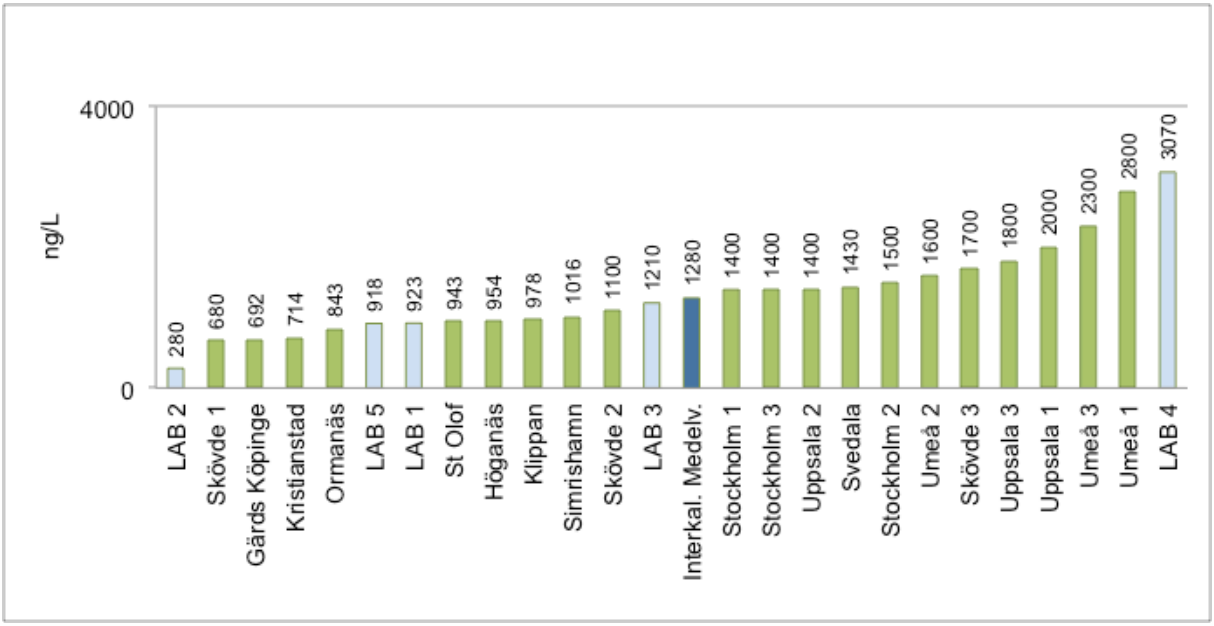
De uppmätta koncentrationerna i denna interkalibreringsstudie verkar rimliga för alla laboratorier, och ligger väl i linje med vad som påträffats i andra svenska reningsverk. Det stämmer också väl in med att diclofenac var ett relativt enkelt ämne att analysera som ren standard och även spikat dammvatten, även om den relativa standardavvikelsen för dammvatten var 43 %.

Ethinylestradiol är generellt ett stort problem i miljöprover. LAB 1 och LAB 2 gjorde ett försök att analysera ämnet med det kunde inte detekteras med befintlig metodik (n.d.). LAB 3, LAB 4 och LAB 5 analyserade inte ämnet (n.a.). Samlade insatser krävs för att lösa utmaningen med ethinylestradiol!

Ibuprofen kunde initialt återfinnas i det utgående renade avloppsvattnet av alla laboratorier utom LAB 5 som inte analyserade ämnet (n.a.). Medelvärdet för fyra laboratorier beräknades till 232 ng/L med en mycket hög relativt standardavvikelse på 105 %, **Tabell 4**. Detta berodde på att LAB 1 och LAB 2 hade låga värden runt 50 ng/L, medan LAB 3 och LAB 4 hade höga värden på 250 ng/L respektive 570 ng/L. Denna bild försämrades ytterligare när LAB 4 ökade sin koncentration till 1140 ng/L och LAB 5 rapporterade en koncentration på 200 ng/L i en andra analysomgång, **Tabell 5**. Det nya medelvärdet ökade då till 339 ng/L med en ännu högre relativ standardavvikelse på 134 %, **Tabell 5**. I studien *Stockholm Vatten 2010* visade Henriksdals reningsverk en koncentration på 42 ng/L (RSD = 136 %), medan Bromma reningsverk hade 80 ng/L (RSD = 108 %). Koncentrationerna i *Nationell Screening 2011* varierade kraftigt med värden från 42 ng/L upp till 990 ng/L för de fyra svenska städerna. I *LUSKA 2017* varierade koncentrationen i de 8 skånska reningsverken också mycket kraftigt precis som i *Nationell Screening 2011*, alltifrån att det inte kunde detekteras alls i tre av reningsverken till upp emot 1158 ng/L i ett reningsverk. Ibuprofen var problematiskt redan som standard men fungerade något bättre i det spikade dammvattnet. Rent generellt är ibuprofen ett problem i miljöprover. När koncentrationerna varierar så kraftigt både mellan olika laboratorier som analyserat samma prov, men också för samma laboratorium som analyserat flera olika reningsverk, är det svårt att dra

några generella slutsatser kring utgående koncentrationer. Detta kan ju dels bero på att metoderna för analys av ibuprofen inte är tillräckligt robusta, som diskuterats tidigare, men också på att reningsverk rent faktiskt har olika förmåga att avlägsna ämnet från avloppsvattnet. Gemensamma insatser föreslås för att utreda ibuprofens problematik.

Metoprolol återfanns av samtliga laboratorier i det utgående renade avloppsvattnet. I den första omgången beräknades medelvärdet till 1114 ng/L med en förhållandevis hög relativt standardavvikelse på 49 %, **Tabell 4**. Detta berodde på att LAB 2 rapporterade en låg koncentration på 280 ng/L, medan LAB 5 rapporterade en hög koncentration på 1621 ng/L. Denna situation försämrades när LAB 4 i den andra omgången ökade sin koncentration till 3070 ng/L parallellt med att LAB 5 sänkte sin koncentration till 918 ng/L, **Tabell 5**. Medelvärdet ökade då till 1280 ng/L liksom den relativa standardavvikelsen ökade till 83 %. *Stockholm Vatten 2010* uppmätte utgående koncentrationer på 1161 ng/L (RSD = 53 %) och 320 ng/L (RSD = 68 %) på Henriksdals respektive Brommas reningsverk. Metoprolol uppmättes också i alla mätningar i såväl den skånska studien *LUSKA 2017* och som i de fyra skånska städerna i *Nationell Screening 2011*. I *LUSKA 2017* var metoprolol det ämne som hade högst genomsnittlig utsläppskoncentration av samtliga 22 undersökta ämnen på listan enligt rapporten från LMV 2015. En jämförelse av de uppmätta koncentrationerna i denna studie i relation till *LUSKA 2017* och *Nationell Screening 2011* ses i **Figur 14**.



Figur 14. *Jämförelse av uppmätta koncentrationer av metoprolol (ng/L) i denna interkalibrerings studie med uppmätta koncentrationer i "LUSKA 2017" för 8 skånska reningsverken samt i "Nationell screening 2011" för de 4 städerna Skövde, Stockholm, Uppsala och Umeå i utgående renat avlopps vatten i. Dessa 4 senare reningsverk analyserades 3 gånger vardera och indikeras med 1, 2 och 3. För tydlighet är värdena från denna interkalibrering markerade i en blå färgskala.*

Koncentrationerna i *Nationell Screening 2011* varierade mycket med värden från 680 ng/L upp till 2800 ng/L för de fyra svenska städerna. I den skånska studien *LUSKA 2017* var den lägsta uppmätta koncentrationen 692 ng/L och den högsta 1430 ng/L. Medelvärdet för metoprolol på 1280 ng/L ligger i nivå med de som uppmätts i tidigare studier från svenska reningsverk. En osäkerhet kvarstår dock kring varför LAB 2 och LAB 4 skiljer med en faktor över 10. Även om det förekommer koncentrationer i samma storleksordning som såväl 280 ng/L som 3070 ng/L, är det mer troligt att den utgående koncentrationen snarare ligger runt 1000 ng/L baserat på värden från LAB 1, LAB 3 och LAB 4. Metoprolol är ett intressant exempel på hur ett ämne kan

fungera väl vid analys av rena standarder men sedan i takt med att matrisens komplexitet ökar så blir problemen med att analysera ämnet större i den meningen att olika laboratorier får mycket åtskilda analysresultat.

Sulfamethoxazole uppmättes i det utgående renade avloppsvattnet av samtliga laboratorier. Initialt beräknades medelvärdet till 197 ng/L med en hög relativ standardavvikelse på 56 %, **Tabell 4**. Detta beroende på att LAB 4 hade ett förhållandevis lågt initialt värde, medan LAB 5 hade ett högt värde. I en andra omgång ökade LAB 4 sin koncentration från 95 ng/L till 190 ng/L medan LAB 5 sänkte sin koncentration från 380 ng/L till 130 ng/L, **Tabell 5**. Detta resulterade i att medelvärdet sänktes till 166 ng/L med en betydligt lägre relativ standardavvikelse på 20 %, **Tabell 5**. Sulfamethoxazole återfanns av *Stockholm Vatten 2010* i Henriksdals reningsverk på 60 ng/L (RSD = 67 %) medan Bromma redovisade en koncentration på 52 ng/L (RSD = 54 %). I *Nationell Screening 2011* för 4 svenska städer var intervallen för sulfamethoxazole 30-290 ng/L, medan *LUSKA 2017* visade på skånska utsläpp från 8 reningsverk i intervallet 0-280 ng/L. Sulfamethoxazole var enkelt att analysera som ren standard, och var också det ämne som var enklast att analysera i spikat dammvatten. Mot bakgrund av detta är det erhållna medelvärdet för utgående renat avloppsvatten högst rimligt, där egentligen inget laboratorium avviker dramatiskt.

Tramadol kunde analyseras av samtliga laboratorier i utgående renat avloppsvatten. Initialt beräknades medelvärdet till 1551 ng/L med en hög relativt standardavvikelse på 91 %, **Tabell 4**. Detta berodde på att LAB 1 och LAB 4 rapporterade låga koncentrationer på 595 ng/L respektive 540 ng/L, **Tabell 5**, medan LAB 2 rapporterade en hög koncentration på 3900 ng/L. Situationen förändrades marginellt när LAB 4 i den andra omgången ökade sin koncentration till 1080 ng/L och LAB 5 sänkte sin koncentration från 1787 ng/L till 904 ng/L, **Tabell 5**. Medelvärdet sänktes därmed till 1482 ng/L medan den relativa standardavvikelsen ökade till 92 %. I *Stockholm Vatten 2010* rapporterade Henriksdals och Brommas reningsverk koncentrationer på 571 ng/L (RSD = 49 %) och 474 ng/L (RSD = 50 %) medan *Nationell Screening 2011* för fyra svenska städer visade på ännu högre koncentrationer i intervallet 730-3000 ng/L. I *LUSKA 2017* förekom tramadol i koncentrationer mellan 81-208 ng/L med ett medelvärde för 8 skånska reningsverk på 147 ng/L. Tramadol var problematiskt redan som ren standard där LAB 2, LAB 3 och LAB 4 överskattade koncentrationen med en faktor 2 eller mer, medan LAB 1 och LAB 5 låg nära den tillsatta koncentrationen. För spikat dammvatten överskattade LAB 2 koncentrationen med en faktor mer än 4. LAB 3 kunde inte detektera ämnet i det spikade dammvattnet (n.d) medan LAB 4 överskattade koncentrationen med 60 %. Baserat på detta är medelvärdet i denna interkalibrering osäkert, där speciellt LAB 2 avviker, liksom LAB 3 som inte kunde analysera ämnet i spikat dammvatten, men väl i utgående renat avloppsvatten. Troligen ligger koncentrationen av tramadol snarare i intervallet 600-1000 ng/L än däröver, också baserat på de koncentrationer som återfunnits i tidigare svenska studier. Tramadol är ett ämne som med gemensamma ansträngningar behöver utredas vidare i samtliga laboratorier för att kunna ge mer noggranna resultat.

7.4.2 Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket

Tabell 6. *Uppmätta koncentrationer av 10 läkemedel i ett " "Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket". För detaljer se avsnitt "5.2 Provtyper" samt avsnitt "5.2.3 Två miljöprover".*

Ämne	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5	**Medelv.**	RSD
Carbamazepine	406	350	594	230	327	**395**	38 %
Ciprofloxacin	n.d	16	1052	n.a	<LOQ	**267**	196 %
Citalopram	230	230	375	38	90	**218**	63 %
Clarithromycin	15	15	n.a	6	<LOQ	**12**	44 %
Diclofenac	711	760	1510	453	1080	**858**	53 %
Ethinyestradiol	n.d	<2,4	n.a	n.a	n.a		
Ibuprofen	50	37	215	339	n.a	**160**	90 %
Metoprolol	670	280	1490	980	916	**855**	60 %
Sulfamethoxazole	168	110	197	83	183	**139**	38 %
Tramadol	428	2500	1380	363	906	**1168**	86 %

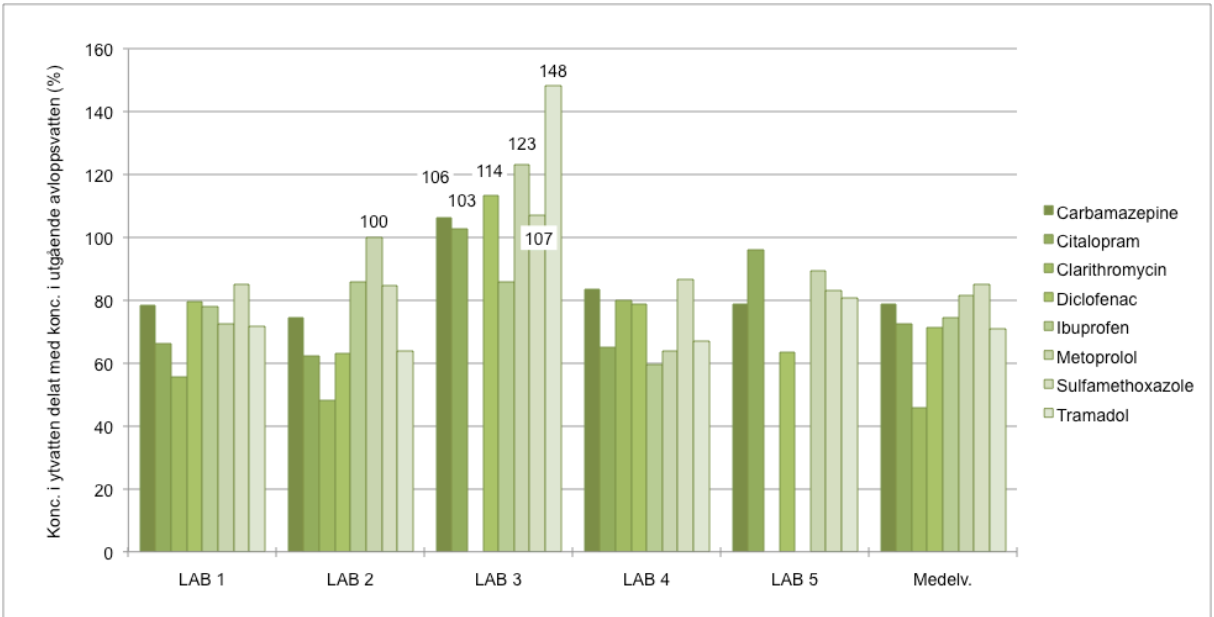
Tabell 7. *Uppmätta koncentrationer av 10 läkemedel i ett "Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket". Korrigerade värden för LAB 4 och omanalyserat prov för LAB 5. För detaljer se avsnitt "5.2 Provtyper" samt avsnitt "5.2.3 Två miljöprover".*

Ämne	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5	**Medelv.**	RSD
Carbamazepine	406	350	594	459	311	**424**	26 %
Ciprofloxacin	n.d	16	1052	n.a	<LOQ	**267**	196 %
Citalopram	230	230	375	76	208	**224**	62 %
Clarithromycin	15	15	n.a	12	<LOQ	**14**	37 %
Diclofenac	711	760	1510	905	965	**970**	47 %
Ethinyestradiol	n.d	<2,4	n.a	n.a	n.a	**–**	–
Ibuprofen	50	37	215	678	n.a	**245**	59 %
Metoprolol	670	280	1490	1960	822	**1044**	49 %
Sulfamethoxazole	168	110	197	165	108	**150**	35 %
Tramadol	428	2500	1380	726	729	**1153**	87 %

Det ytvattenprov som togs vid lokalen "Pynten" i Hammarsjön bestod till stor del av renat avloppsvatten som hade transporterats i den 1500 m långa kanalen i vilken reningsverket släpper ut sitt renade avloppsvatten. Denna kanal har visst tillflöde från andra kanaler och diken varför en mindre utspädning föreligger. Vattnet flödar dessutom inte helt kontinuerligt utan avstannar emellanåt till dess en viss nivå på vattnet i kanalen uppnås innan det pumpas ut i Hammarsjön. Sedimentation förekommer därmed i kanalen och undersökningar utförda på HKR har visat att t.ex. både carbamazepine och diclofenac finns i höga koncentrationer i kanalens sediment[13]. Därmed är det rimligt att förvänta sig att de koncentrationer som uppmäts i **Tabell 6** och **Tabell**

[13] E. Björklund, O. Svahn, S. Bak, S. Oppong Bekoe and M. Hansen, Pharmaceutical Residues Affecting the UNESCO Biosphere Reserve Kristianstads Vattenrike Wetlands: Sources and Sinks, Arch Environ Contam Toxicol (2016) 71:423–436

7 ska vara något lägre än de i **Tabell 4** och **Tabell 5**. Beroende på ämne har det visats tidigare att en reduktion på 30-35 % förekommer under transport i kanalen (HKR opublicerade data). För att få en överskådlig bild av hur den redovisade koncentrationen förändrats för varje enskilt laboratorium i provet *"Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket"* i **Tabell 7**, jämfört med *"Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk"* i **Tabell 5**, dividerades den föregående koncentrationen med den senare och multiplicerades med en faktor 100. På så sätt erhölls en procentuell förändring, vilket framgår av **Figur 15**. I figuren har ethinylestradiol samt ciprofloxacin lyfts ut då de hade begränsade dataset.



Figur 15. *Jämförelse av uppmätta koncentrationer i "Ytvatten från Hammarsjön nedströms reningsverket" i Tabell 7, jämfört med "Utgående renat avloppsvatten från Kristianstads Centrala Reningsverk" i Tabell 5, där den föregående koncentrationen dividerats med den senare och multiplicerats med en faktor 100 för att få en procentuell förändring. I figuren har ethinylestradiol samt ciprofloxacin tagits ut då de hade begränsade dataset.*

I **Figur 15** framträder ett mönster för varje laboratorium och för varje enskilt ämne. Ett av de tydligaste resultaten är att fyra av laboratorierna (LAB 1, LAB 2, LAB 4, LAB 5) för samtliga ämnen ser en reduktion av koncentrationerna i ytvattenprovet i Hammarsjön, medan LAB 3 kraftigt skiljer sig genom att man uppmäter högre koncentrationer nedströms reningsverket för nästan samtliga ämnen i **Figur 15**.

Den genomsnittliga koncentrationen av läkemedel nedströms i ytvattenprovet uttryckt som procent av de utgående koncentrationerna från Kristianstads reningsverk är mycket lika för LAB 1, LAB 2, LAB 4 och LAB 5, med medelvärden på 74 %, 73 %, 73 % och 70 %. I korthet innebär detta att samtliga dessa fyra laboratorier ser en reduktion nedströms reningsverket efter kanalen på mellan 26 och 30 %, eller i genomsnitt 27 %. Detta stämmer väl överens med tidigare erfarenheter och resultat från reduktion av läkemedel i kanalen. LAB 3 utmärker sig så till vida att man i genomsnitt istället ser 12 % högre koncentrationer i vattnet efter transport och utspädning i kanalen. Även i det spikade dammvattnet uppvisade LAB 3 en tydlig tendens att överskatta koncentrationerna när matris förekom i provet **Figur 12,** förmodligen som en följd av utesluten provupparbetning. Detta förstärker ytterligare vikten av provupparbetning, både som ett medel för att koncentrera prover och att reducera förekomsten av matris. Detta förefaller extra betydelsefullt när ett isotop-substitut används som intern standard.

I detta sammanhang är det viktigt att notera att även om LAB 1, LAB 2, LAB 4 och LAB 5 skulle skilja sig åt sinsemellan med avseende på vilka absoluta koncentrationer man mäter i det utgående vattnet från reningsverket samt i ytvattnet nedströms reningsverket så uppvisar samtliga dessa laboratorier samma relativa förändring, d.v.s. reduktion av ämnen i kanalen. Detta är helt centralt för att kunna utvärdera t.ex. effektiviteten hos nya reningssteg eller utspädningseffekter i känsliga recipienter, vilka båda efterfrågas av myndigheter som NVV.

Resultaten i **Figur 15** ger också en första bild av hur olika ämnen påverkas under sin transport genom kanalen. I denna diskussion har dock LAB 3 exkluderats i enlighet med ovanstående resonemang.

Carbamazepine hade nedströms koncentrationer i Hammarsjön på mellan 74-83 % av de som uppmättes i reningsverkets utgående vatten, med ett medelvärde på 79 %. Reduktionen i kanalen kan därmed beräknas till 21 %.

Citalopram hade värden på mellan 62-96 % där särskilt LAB 5 utmärker sig med ett högt värde. Övriga tre laboratorier hade alla värden mellan 62-66 %. Medelvärdet inkluderande LAB 5 höjs därmed till 74 %.

Clarithromycin hade värden på mellan 0-80 % där särskilt LAB 5 utmärker sig med att redovisa ett värde på 0 % nedströms eftersom analysen visade ett värde som under LOQ. Övriga tre laboratorier hade alla värden mellan 48-80 %. Medelvärdet inkluderande LAB 5 blev därmed 46 %.

Diclofenac hade värden på mellan 63-80 % där inget laboratorium utmärker sig. Medelvärdet blev därmed 71 %.

Ibuprofen hade värden på mellan 59-86 % exklusive LAB 5 som inte analyserade ibuprofen nedströms. Medelvärdet för LAB 1, LAB 2 och LAB 4 blev därmed 75 %.

Metoprolol hade värden på mellan 64-100 % där särskilt LAB 2 utmärker sig med ett högt värde på 100 %. Medelvärdet blev 81 %.

Sulfamethoxazole hade värden på mellan 83-87 % där inget laboratorium utmärker sig. Sulfamethoxazole är återigen ett ämne som uppvisar mycket likartade resultat oavsett laboratorium, med undantag för LAB 3. Medelvärdet blev 85 %.

Tramadol hade värden på mellan 64-81 % där inget laboratorium utmärker sig. Medelvärdet blev därmed 71 %.

8. Slutsatser

8.1 Identifierade problem under interkalibreringen

Totalt analyserades 10 läkemedel; carbamazepine, ciprofloxacin, citalopram, clarithromycin, diclofenac, ethinylestradiol, ibuprofen, metoprolol, sulfamethoxazole och tramadol. I grova drag kunde mötesdeltagarna konstatera att 5 av dessa ämnen (carbamazepine, citalopram, diclofenac, metoprolol och sulfamethoxazole) var mer lättanalyserade medan övriga 5 var förknippade med olika typer av problem. Under det gemensamma mötet den 24 april på Krinova Incubator & Science Park, Stridsvagnsvägen 14 i Kristianstad kl. 9-13 blev behovet av kunskapsutbyte tydligt och samtliga mötesdeltagare blev medvetna om både likheter och skillnader i problem som uppstår vid analys av läkemedelsrester i såväl rena standarder som mer komplexa miljömatriser. Tiden var allt för knapp till fördjupad analys av de olika laboratoriernas val av teknik och metod. Sådana fördjupade jämförelser kan ytterligare förklara de skillnader i resultat som presenterats i rapporten, men än viktigare, i ett längre perspektiv hjälpa laboratorierna till förbättrade analyser.

På mötet kom det också fram att ett antal möjliga felkällor kan förknippas med avancerad organisk spåranalys när LC MS/MS används som analysverktyg. Några av de viktigaste var följande:

1. Ett av laboratorierna hade stora problem med känsligheten hos sin masspektrometer (MS/MS) under den tidsperiod (7 feb – 7 mars) som proverna skulle analyseras. Alla laboratorier kan drabbas av att instrumenten ”går ner sig” i perioder, vilket visar på vikten av att ha goda serviceavtal med snabb respons hos leverantören. Detta är kostsamt men nödvändigt vid kontinuerlig drift. Detta laboratorium levererade i efterhand nya analysdata när instrumentet var välfungerande igen, men ledde samtidigt till förseningar i projektet.

2. Ett annat av laboratorierna redovisade konsekvent lägre halter än alla andra laboratorier. Vid närmare anblick under mötet blev det uppenbart att detta laboratoriums halter låg en faktor 2 lägre än övrigas mätdata. Laboratoriet undersökte då sin analyskedja mer i detalj och det visade sig att brist i kommunikation hade lett till att endast hälften volym internstandard hade tillsatts till proverna, som därmed avvek med en faktor 2 mot det normala. Denna typ av fel är mycket svåra att avslöja om man inte deltar i interkalibreringsövningar och jämför sina data med andra laboratorier. Det visar också på vikten av att ha så kallade SOPar (Standard Operating Procedures) på plats i sitt laboratorium och att dessa följs noggrant av den som utför analyserna för att undvika denna typ av systematiska fel. Detta laboratorium uppdaterat sitt dataset i efterhand.

3. Ett tredje laboratorium hade svårt att detektera flera av ämnena i låga halter vilket visade sig bero på att man utfört en förenklad provupparbetning. Därmed anrikades inte läkemedlen i tillräcklig mängd inför slutanalysen i masspektrometern och förblev därmed oupptäckta i proverna. Detta visar att beroende på provtyp är det viktigt att ha en provupparbetningsmetodik som är anpassad för syftet. Generellt kan man säga att just provupparbetningen vid organisk spåranalys är avgörande för att ta bort så mycket som möjligt av det interfererande organiska material som finns i proverna inför slutanalysen. Detta leder annars till ”ion suppression” och gör det svårt att detektera ämnet i fråga. Det ”drunknar” helt enkelt i bakgrundsbruset. På samma sätt behövs provupparbetningen för anrikning av ämnet. Noga utprovade och validerade provupparbetningsprotokoll är en mycket väsentlig del av den organiska spåranalysen. Baserat på resultaten från detta laboratorium blev en slutsats också att läkemedlen inte reducerades under sin transport i

den 1500 m långa kanalen utan tvärtom ökade sin koncentration, vilket inte är rimligt.

4. Ett fjärde laboratorium uppvisade mycket höga koncentrationer för ämnet tramadol, närmare bestämt 4 gånger högre än alla andra laboratorium i såväl avloppsvattnet som i ytvattnet. Dessa halter var inte rimliga och det visade sig att detta laboratorium inte tidigare analyserat tramadol. Att integrera nya läkemedel i sin portfölj av ämnen kan ta en del tid i anspråk och kräver att man kvalitetskontrollerar sin nya metodik. Interkalibreringsövningar är ett effektivt sätt att testa sin nya metodiks applicerbarhet på verkliga prover.

8.2 Bidrag till miljökvalitetsmålen samt att förbättra, skydda och bevara havs- och vattenmiljön

För att överhuvudtaget kunna avgöra om miljön i form av olika recipienter är utsatta för toxiska ämnen i skadliga nivåer behövs laboratorier som kan prestera såväl riktiga som noggranna mätdata för ämnena i fråga. Man kan alltså i vissa fall inte avgöra om miljömålen uppnås utan att kunna utföra ordentliga kemiska analyser. Kvalitén på de monitoreringar som utförts avseende läkemedel i miljön de senaste två decennierna är i bästa fall acceptabel vilket framgår av ”*Miljöindikatorer inom ramen för nationella läkemedelsstrategin (NLS)*”. Denna interkalibrering är central för att fortsätta resan mot förbättrad kvalité på läkemedelsanalyser i Sverige. Innan projektet genomfördes rådde brist på samordning av läkemedelsanalyser i miljön nationellt. Detta har oundvikligen lett till brister i analyskvalité. Efter genomfört projekt har vikten av samordning blivit uppenbar för samtliga aktörer som deltog vid mötet i Kristianstad den 24 mars 2017 och det fanns en god vilja att fortsätta detta kvalitetsarbete i framtiden för att ständigt kunna förbättra laboratoriernas prestationer. Kraven på riktiga analyser ökar ständigt med tanke på den ökande mängd kemikalier vi omger oss med och som på olika vägar letar sig ut till bland annat vattenmiljön. Teknikutvecklingen går också rasande snabbt och kontinuerlig dialog och möten mellan olika institutioner är nödvändiga för att inte riskera att drabbas av brister i utförda analyser.

8.3 Miljöeffekter av projektet

Enligt anvisningarna till HaVs slutrapportering menar man att effekten av det genomförda arbetet ska mätas i de miljöeffekter som förväntas eller uppmätts. Det går ännu inte att uppmäta en större reell effekt, utöver att de ingående laboratorierna medvetandegjorts om vikten av att samarbeta och kontinuerligt ingå i interkalibreringsövningar för att säkerställa god analyskvalité. Den förväntade långsiktiga effekten av projektet är däremot mer påtaglig då det kommer att leda till mer pålitliga resultat vid monitorering av läkemedelsrester i miljön. Det är självklart helt centralt att man kan lita på de analysdata som levereras från olika laboratorier i landet för att kunna göra riktiga bedömningar av miljöstatusen i olika typer av vatten. Ett sådant exempel är t.ex. Havs- och vattenmyndighetens föreskrifter om klassificering och miljökvalitetsnormer avseende ytvatten (HVMFS 2013:19) [14] där årsmedelvärdet för läkemedlet diclofenac i inlandsytvatten inte ska överskrida 100 ng/L. För att överhuvudtaget kunna göra denna bedömning som myndighet behöver ytvattnen mätas flera gånger per år vid olika flöden och det kräver att de analyserande laboratorierna konsekvent under en längre tid levererar data av god kvalité. Ovan nämnda problemställningar i form av underestimering eller överskattning leder oundvikligen till felaktiga bedömningar. I det första fallet finns en risk att man bedömer statusen på vattnet som god när den i själva verket är måttlig, medan data från det andra laboratoriet kan leda till bedömningen måttlig status trots att den egentligen är god. Eventuella miljöinsatser för att förbättra statusen på inlandsvatten kan därmed komma att felriktas.

[14] Havs- och vattenmyndighetens föreskrifter om klassificering och miljökvalitetsnormer avseende ytvatten. Havs- och vattenmyndighetens författningssamling; HVMFS 2013:19. Konsoliderad elektronisk utgåva. Uppdaterad 2015-05-01; 196 sidor.

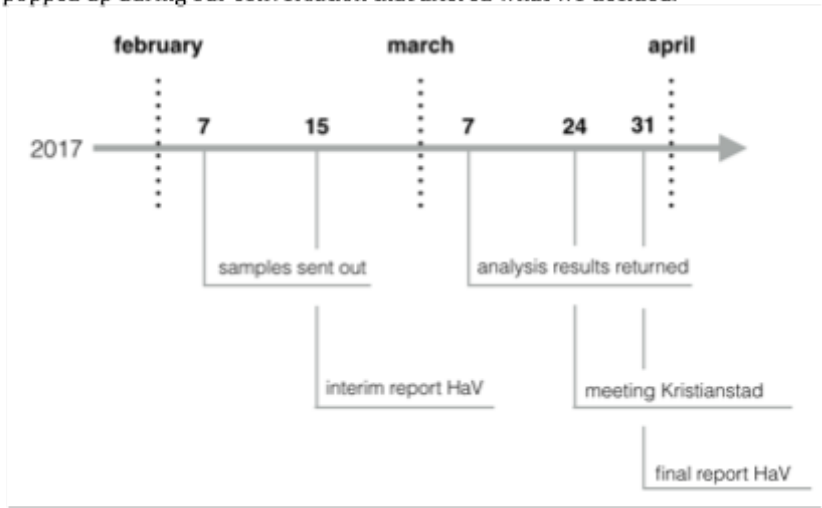
8.4 Samhällsnytta av åtgärden

Initialt har projektet lett till kompetenshöjning hos projektdeltagarna vilket är viktigt eftersom det i dagsläget finns få aktörer som bedriver organisk spåranalys av läkemedelsrester i miljön i Sverige. Det kommer med stor sannolikhet också att bidra med viss kompetenshöjning även hos deltagande institutioner samt för Havs- och Vattenmyndigheten själva. Förhoppningsvis kommer även Läkemedelsverket och Naturvårdsverket att få ny kunskap om de problem som finns förknippade med organisk spåranalys av läkemedelsrester i miljö-vattenprover. Samhällsnyttan kommer att bli analysdata av bättre kvalité och därmed större jämförbarhet nationellt för att undvika den rådande bristande kvalitén. Goda analysdata är av yttersta vikt för att kunna fatta välgrundade beslut i framtiden med avseende på t.ex. vattenkvalité men också för att kunna avgöra hur väl moderna reningstekniker klara av att avskilja läkemedelsrester från våra avloppsvatten.

Bilaga 1. Arbetsgången i Interkalibreringsprojekt utsänd via mail från Högskolan Kristianstad.

Interkalibrerad läkemedelsanalys –
ett samarbetsprojekt för ökad analyskvalitet *supported by HaV*

On the 6th of December at our Skype-session we agreed up on the following work order, and analysis content. Me and Jörgen spoke on the 7th of December; no new information popped up during our conversation that altered what we decided.



Samples
Five samples will be sent out on the 7th of February from Kristianstad.
Two standards in 2 ml vials including the 10 chosen substances dissolved in MeOH at 1000 ng/L and 100 000 ng/L. Each laboratory makes a ten times dilution, solvent is free of choice. Dilutions and injections are done in **triplicates**.

The other **three samples** have an individual volume of 100 ml. One sample consists of fortified pond water at pharmaceutical concentrations, which normally can be found in the literature. The second sample consists of effluent water from Kristianstad CRV and the third sample is surface water from Hammarsjön, taken from a spot near where the effluent enters the lake. Samples are processed as single analysis.

Meeting
We will meet and discuss the results in Kristianstad on March 24. More details relating to the meeting will follow later.

Payment
The simplest way to handle the money, according to our faculty economist, would be that you send us at HKR an invoice of 41.000.- SEK, then you are free to handle the sum the way you like. If would prefer a different solution, that suits your needs better, please feel free to communicate it to me.

Bilaga 2. Utdrag från Högskolan Kristianstads nyhetssida 2017-03-29 efter gemensamt möte på Krinova Incubator & Science Park, Stridsvagnsvägen 14 i Kristianstad, kl. 9-13.

29 mar 2017 | Nyhet | Forskning | Samverkan

Toppforskare på besök för gemensam kalibreringssatsning

Havs- och vattenmyndigheten (HaV) har gett 280 000 kr till Interkalibrerad läkemedelsanalys – ett samarbetsprojekt för ökad analyskvalitet. Projektet handlar om att med gemensamma ansträngningar förbättra svensk läkemedelsanalys och projektledare är Ola Svahn, forskare vid Högskolan Kristianstad.

Från vänster: Ola Svahn (HKR), Jerker Fick (Umeå universitet), Erland Björklund (HKR), Kai Bester (Aarhus universitet, Danmark), Haitham El-Taliawy (Aarhus universitet), Pablo Gago-Ferrero (SLU, Uppsala).

I fredags stod Högskolan Kristianstad värd för interkalibreringsprojektet. Forskare från Skandinaviens ledande laboratorier för organisk spåranalys träffades för att diskutera resultaten och dela med sig av erfarenheter som kommer att leda till förbättrade analysmetoder och mer tillförlitliga analysresultat.

– Vi på MoLab har fått i uppdrag av Havs- och vattenmyndigheten att leda detta nationella projekt, där även Danmark är med, avseende analys av läkemedelsrester i miljön. Förhoppningen är att detta ska bli en årlig återkommande övning, säger Ola Svahn, forskare vid Högskolan Kristianstad.

> – De problem som är förknippade med kemisk spåranalys är gemensamma, och då är det både lättare och effektivare att identifiera och lösa deessa svårigheter tillsammans, förklarar Ola.

Projektet innefattar landets fyra främsta analyslaboratorier: MoLab (Högskolan Kristianstad), Umeå Universitet, IVL (Stockholm), Lantbruksuniversitet (Uppsala), samt Aarhus Universitet (Danmark).

Text: Fabian Rimfors

Bilaga 3. Lista över laboratoriernas redovisade använda isotop-märkta standarder.

Ämne	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5
Carbamazepine	Carbamazepine-D10	[13C15N]-Carbamazepine	-	Irbesartan D7	Carbamazepine-D10
Ciprofloxacin	Ciprofloxacin-d8	[2D8]-Ciprofloxacin	-	n.a	Ciprofloxacin-13C3;15N / Carbamazepine-D10
Citalopram	Sulfamethoxazole_13C6	[13C15N]-Carbamazepine	-	Oxazepam D5	Tramadol-13C;D3
Clarithromycin	Atenolol-d7	[13C15N]-Carbamazepine	-	Atorvastatin D5	Amitryptiline-D6
Diclofenac	Diclofenac_13C6	[13C6]- Diclofenac	-	Diclofenac 13C6	Diclofenac-D4
Ethinylestradiol	Estrone-d4	[2D4]-Ethinylestradiol	-	n.a	Ethinyestradiol-13C2
Ibuprofen	Estrone-d4	[2D3]-Ibuprofen	-	Ibuprofen D3	Ibuprofen-13C3
Metoprolol	Metoprolol-d7	[13C15N]-Carbamazepine	-	Atenolol D7	Tramadol-13C;D3
Sulfamethoxazole	Sulfamethoxazole_13C6	[13C6]-Hydrochlorotiazide	-	Sulfamethoxazole D4	Sulfamethoxazole-13C6
Tramadol	Metoprolol-d7	[13C15N]-Carbamazepine	-	Tramadol 13C	Tramadol-13C;D3

HKR

HÖGSKOLAN KRISTIANSTAD