

Miljøprojekt Nr. 799 2003

Hormonforstyrrende stoffer og lægemidler i spildevand

Jesper Kjølholt, Per Nielsen og Frank Stuer-Lauridsen
Cowi A/S

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Indhold

INDHOLD	3
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	5
SUMMARY AND CONCLUSIONS	8
1 INDLEDNING	11
1.1 BAGGRUND	11
1.2 FORMÅL	12
1.3 AKTIVITETER	12
1.4 DELTAGERE	12
2 HORMONFORSTYRRENDE STOFFER OG LÆGEMIDLER I SPILDEVAND	13
2.1 NATURLIGE OG SYNTETISKE KØNSHORMONER	13
2.2 HORMONFORSTYRRENDE INDUSTRIKEMIKALIER	14
2.3 LÆGEMIDDELSTOFFER	16
2.3.1 <i>Iboende egenskaber</i>	17
2.3.2 <i>Anvendelse af Definerede Døgn Doser (DDD)</i>	19
2.3.3 <i>Udvælgelse af stoffer til undersøgelsen</i>	22
3 ERFARINGER MED OZONBEHANDLING AF MILJØFREMMEDE STOFFER I SPILDEVAND	23
3.1 EFTERBEHANDLING AF SPILDEVAND MED OZON	23
3.2 ERFARINGER MED OZONBEHANDLING AF SPILDEVAND	25
3.3 ØKONOMI/OMKOSTNINGER VED OZONBEHANDLING	25
4 UNDERSØGELSESPROGRAM	27
4.1 VALG AF LOKALITETER	27
4.1.1 <i>Overordnede betragtninger</i>	27
4.1.2 <i>Usserød Renseanlæg</i>	28
4.1.3 <i>Kalundborg Centralrenseanlæg</i>	29
4.1.4 <i>Spildevandscenter Avedøre</i>	30
4.2 PRØVETAGNING OG KEMISKE ANALYSER	31
4.2.1 <i>Overordnede betragtninger</i>	31
4.2.2 <i>Prøvetagningssteder og -metoder</i>	32
4.2.3 <i>Kemisk karakterisering</i>	33
4.2.4 <i>Ozonbehandling</i>	34
5 RESULTATER OG DISKUSSION	35
5.1 PRØVETAGNING	35
5.2 KEMISK KARAKTERISERING	35
5.2.1 <i>Generelle spildevandsparametre</i>	35
5.2.2 <i>Hormoner og hormonforstyrrende stoffer</i>	37
5.2.3 <i>Lægemedelstoffer</i>	38
5.3 EFFEKT AF OZONBEHANDLING	40

6	OPSAMLING OG KONKLUSIONER	41
6.1	UNDERSØGELSENS STRATEGI OG METODER	41
6.1.1	<i>Lokaliteter</i>	41
6.1.2	<i>Metoder</i>	41
6.2	HORMONFORSTYRRENDE STOFFER OG LÆGEMIDLER I SPILDEVAND	42
6.3	EFFEKT AF OZONBEHANDLING	43
6.4	IMPLIKATIONER AF UNDERSØGELSEN - VIDERE ARBEJDE	44
7	REFERENCER	45

Sammenfatning og konklusioner

Denne rapport afrapporterer en undersøgelse, der har haft til formål at foretage en indledende karakterisering af indholdet af kønshormoner samt en række hormonforstyrrende industrikemikalier og lægemiddelstoffer i dansk byspildevand. Desuden har projektet skulle belyse den mulige reducerende effekt på disse stoffer af efterbehandling af det rensede spildevand med ozon.

Observationer af kønsforstyrrelser i naturen kædes i den internationale forskning ofte sammen med udledninger af det hunlige kønshormon (østrogen) og dermed beslægtede forbindelser samt visse industrikemikalier med østrogenlignende effekter. De naturlige østrogener er østron, østradiol og østriol (forkortes hhv. E1, E2 og E3), mens det vigtigste stof blandt de syntetiske østrogener (fra p-piller og lignende) i dag er 17a-ethinyløstradiol (forkortes EE2). Disse stoffer er i forskellige nyere undersøgelser påvist i udløb fra rensesanlæg for almindeligt spildevand. E2 og EE2 er de to stoffer, der udviser størst østrogen aktivitet i *in vitro* assays. E2 benyttes som referencestof ved sammenligning af forskellige stoffers østrogener aktivitet.

Desuden er det påvist, at en række industrikemikalier kan forårsage østrogenlignende effekter. Det drejer sig f.eks. om stoffer, der forekommer almindeligt i spildevand så som phthalater (blødgørere i plast mv.) og alkylphenoler (fra vaske- og rengøringsmidler mv.). Desuden kendes sådanne effekter fra stoffer som PCB, DDT og andre chlorerede pesticider, som imidlertid er mindre relevante i spildevandssammenhæng i Danmark.

Industristofferne har alle meget lavere østrogen potens/aktivitet i *in vitro* assays end de naturlige og syntetiske østrogener, men forekommer til gengæld i betydeligt højere koncentrationer i spildevandet og er ofte mere svært nedbrydelige i miljøet. Det blev derfor fundet relevant at inkludere et antal af disse stoffer i undersøgelsen.

Lægemiddelstoffer har også i de seneste år i stigende grad tiltrukket sig opmærksomhed i miljøssammenhæng. I første omgang har fokus overvejende været på de veterinære lægemidler (primært antibiotika), men også et antal lægemidler til mennesker er i nyere udenlandske undersøgelser blevet påvist i udløb fra rensesanlæg og i vandmiljøer. Lægemidlers miljøegenskaber er i almindelighed dårligt belyste, og der hersker derfor usikkerhed omkring de mulige effekter af udledninger af disse stoffer. Der er i forbindelse med dette projekt fokuseret på stoffer, der er blandt de mest anvendte i Danmark inden for de forskellige hovedgrupper af lægemidler.

I efteråret 2002 blev der gennemført en praktisk undersøgelse på følgende tre danske rensesanlæg for at karakterisere indholdet af hormonforstyrrende stoffer og humane lægemidler i urensset og rensset spildevand:

- Spildevandscenter Avedøre, der er et af de største danske rensesanlæg med et blandet opland omfattende både industri, boliger og to store sygehuse,
- Usserød Renssanlæg, der er et middelstort anlæg med et opland domineret af boligområder, men som tillige omfatter et sygehus, samt

- Kalundborg Centralrenseanlæg, der er et middelstort anlæg med et atypisk opland, hvor halvdelen af spildevandet stammer fra en enkelt virksomhed. Det er imidlertid det eneste i Danmark, der har installeret et anlæg til efterbehandling af rensed spildevand med ozon.

En række tekniske vanskeligheder og uforudseelige hændelser undervejs har medført, at det oprindeligt planlagte undersøgelsesprogram på de tre anlæg har måttet ændres undervejs i forløbet, således at det endelige program, der her afrapporteres, har omfattet følgende:

- Tre prøverunder (indløb og udløb) på såvel Avedøre som Usserød renseanlæg
- En prøverunde på Kalundborg Centralrenseanlæg, der omfattede prøver af indløb og udløb samt prøver fra test af effekten på de undersøgte stoffer af efterbehandling med ozon (tre doseringsniveauer).

Følgende stoffer har indgået i undersøgelsen:

Hormonforstyrrende stoffer

østron (E1)
 17 β -østradiol (E2)
 17 α -ethinyløstradiol (EE2)
 nonylphenol
 nonylphenoethoxylater (1-2 EO)
 octylphenol
 bisphenol A
 diethylphthalat (DEP)
 di-n-butylphthalat (DBP)
 butylbenzylphthalat (BBP)
 diethylhexylphthalat (DEHP)
 di-n-octylphthalat (DOP)
 di-iso-nonylphthalat (DINP)

Lægemedelstoffer:

acetylsalicylsyre (smertestillende)
 salicylsyre (nedbrydningsprodukt)
 ibuprofen (gigt (smertestillende))
 bendroflumethiazid (vanddrivende)
 terbutalin (astma)
 sulfamethizol (antibiotikum)
 paracetamol (smertestillende)
 penicillin V (antibiotikum)
 furosemid (blodtryksdæmpende mv.)
 enalapril (blodtryksdæmpende)
 ketoconazol (svampedræbende)

Østriol, E3, blev ikke taget med i analyseprogrammet fordi dette stofs østrogene aktivitet er meget lavere end de tre øvrige østrogener (E1, E2, EE2).

Blandt de hormonforstyrrende stoffer er alle, på nær octylphenol, blevet påvist i indløbene til de tre renseanlæg, mens flertallet af stofferne ikke har kunnet påvises i udløbene med de anvendte analysemetoder (dvs. med en detektionsgrænse på 1-2 ng/l for østrogener og 0,1-0,5 μ g/l for øvrige hormonforstyrrende stoffer). Kun østrogener, nonylphenoler, bisphenol A og DEHP blev detekteret i udløbet fra et eller flere renseanlæg (DEHP kun i en enkelt prøve), og alle i betydeligt reducerede koncentrationer ift. indløbet.

De observerede stoffkoncentrationer i spildevandet fra Avedøre og Usserød lå gennemgående på linie med angivelser i den internationale litteratur, mens værdierne på Kalundborg typisk var noget lavere, muligvis forårsaget af den omtalte atypiske spildevandssammensætning på dette anlæg. I forhold til NOVA-programmets analyser af phthalater og alkylphenoler i spildevand tenderer koncentrationerne i denne undersøgelse til at være lidt højere på indløbssiden og lidt lavere på udløbssiden end gennemsnittet for andre danske renseanlæg, men absolut inden for det almindelige interval.

For at sammenligne den relative betydning af den østrogene belastning af industristofferne (phthalater, alkylphenoler) med belastningen fra de egentlige østrogener (E1, E2 og EE2) er de målte indløbskoncentrationer omregnet til E2-ækvivalenter bestemt ved et *in vitro* assay; YES-assay'et. Beregningen viser, at industristoffernes østrogene aktivitet udgjorde 37% af den samlede østrogene aktivitet af de målte stoffer i indløbet til Kalundborg, mens de i Avedøre udgjorde 6-20% og i Usserød bare 5-10%. Det var i alle tilfælde indholdet af nonylphenoler, der var afgørende for den samlede østrogenbelastning fra industristofferne.

11 stoffer har indgået i undersøgelsesprogrammet for lægemidler. De to mængdemæssigt klart mest betydende lægemidler i Danmark, acetylsalicylsyre (incl. nedbrydningsproduktet salicylsyre) og paracetamol, der begge er smertestillende midler, er også de to stoffer, der er påvist i klart højeste koncentrationer i indløbene til alle tre renseanlæg. Til gengæld har de nævnte stoffer ikke kunnet påvises i nogen udløbsprøve og nedbrydes altså i renseanlægget eller tilbageholdes i slammet.

Tre af de fire stoffer i gruppen af "næstmest" anvendte lægemiddelstoffer, furosemid, ibuprofen og sulfamethizol, forekommer også i de næsthøjeste koncentrationer i indløbene, men er, i modsætning til acetylsalicylsyre og paracetamol, også blevet påvist i udløbene fra alle tre renseanlæg. Det fjerde af de næstmest almindelige stoffer, penicillin V, kunne ikke påvises i udløbsprøverne. To stoffer, bendroflumethiazid og enalapril, kunne hverken påvises i indløbs- eller udløbsprøver. De øvrige undersøgte stoffer blev påvist i lave koncentrationer i en eller flere indløbsprøver, men kunne ikke påvises i udløbene.

De påviste udløbskoncentrationer af lægemidler er så lave, at de for de fleste miljøfremmede stoffers vedkommende vil være under effektgrænsen for de traditionelt testede økotoxiske effekter. Da mange lægemidler imidlertid har specifikke virkningsmekanismer kan det dog ikke afgøres med sikkerhed, at det tilsvarende gør sig gældende for disse stoffer.

Undersøgelse af effekten af ozonbehandling kunne kun gennemføres ved en enkelt prøvetagning på Kalundborg, hvor de fleste af de analyserede stoffer oven i købet ikke kunne detekteres allerede i indløbet til ozonanlægget. Dermed kunne reduktionen ved udsættelse for ozondoser på 21,5 g O₃/m³; 53,5 g O₃/m³ og 88,4 g O₃/m³ kun bestemmes for nogle ganske få stoffer, nemlig nonylphenol og lægemidlerne furosemid, sulfamethizol og ibuprofen. Kun sidstnævnte stof kunne stadig påvises efter dosering på det laveste af de tre ozonniveauer, men forsvandt ved doseringen på 53,5 g O₃/m³.

Dette niveau er højt i forhold til de ozondoser, der anvendes til almindelig desinfektion af spildevand (5-15 g O₃/m³), men betydeligt lavere end de niveauer, der ellers er testet på anlægget til fjernelse af svært nedbrydeligt COD (over 150 g O₃/m³). Ozonbehandling synes således at kunne nedbryde miljøfremmede stoffer, men der kan ikke ud fra det gennemførte program konkluderes specifikt på potentialet af denne type efterbehandling i forbindelse med fjernelse af hormoner og hormonforstyrrende stoffer i spildevand.

Summary and conclusions

This report concerns investigations performed with the aim to make a first characterisation of Danish urban wastewater with regard to contents of natural and synthetic estrogens, industrial endocrine disruptors and selected pharmaceuticals. Further, it has been the intention to investigate the possible reducing effect on these substances by after-treatment of wastewater treatment plant (WWTP) effluents with ozone.

In the international literature, observations of endocrine disturbances are commonly related to releases into the (aquatic) environment of the female estrogens and certain industrial chemicals with estrogen-like activity. The natural estrogens are estron, estradiol and estriol (abbreviated E1, E2 and E3, respectively) whereas 17 α -ethinylestradiol (abbreviated EE2) is the most important common synthetic estrogen today. The mentioned substances have in recent studies all been detected in the effluent of treatment plants for urban wastewater. E2 and EE2 are the two most potent of the estrogens, and E2 is used as reference compound for comparison of the estrogenic activity of different compounds.

A number of industrial chemicals are also known to, or suspected to, exhibit estrogenic activity in the environment, e.g. alkylphenols, phthalates, PCBs, DDT and other chlorinated insecticides of which, however, the latter two groups are less relevant in relation urban wastewater in Denmark.

The estrogenic activity of the industrial chemicals is typically much lower than that of natural and synthetic estrogens but, on the other hand, the concentrations of the industrial chemicals in wastewater are usually much higher and many are also more persistent in the environment. Therefore, it was found relevant to include a number of such chemicals in the study.

In recent years, pharmaceuticals have received increasing attention as a possible environmental problem. Until now, the focus has mainly been on veterinary antibiotics but recent studies also report residues of human pharmaceuticals in wastewater and in the aquatic environment. For the majority of pharmaceuticals very little documentation on the environmental properties is available and, hence, the possible impact of the observed residues is uncertain. In this project, we have focused on investigating the substances, which are presently the most widely used in Denmark.

In the autumn of 2002, an investigation was carried out in which estrogens, selected endocrine disrupting industrial compounds and pharmaceuticals were measured in raw and treated wastewater at the following three plants:

- Avedøre WWTP, which is a major Danish WWTP receiving wastewater from both industries, residential areas and two large hospitals,
- Usserød WWTP, which is a medium size WWTP with a predominantly residential catchment, which also includes a hospital, and

- Kalundborg WWTP, which also is a medium size WWTP, however, with an atypical wastewater composition due to a single, major industry in the catchment. This plant is the only Danish urban WWTP that has installed a facility for after-treatment of the effluent with ozone.

Due to a number of technical difficulties and unforeseeable events during the project implementation, the originally planned sampling programme had to be modified, which resulted in the following final programme:

- Three sampling rounds at both Avedøre and Usserød (inlet + outlet).
- One sampling round at Kalundborg (inlet, outlet and ozone treatment at three dosage levels).

The following compounds were analysed in all samples:

Estrogens/endocrine disruptors:

estron (E1)
 17 β -estradiol (E2)
 17 α -ethinylestradiol (EE2)
 nonylphenol
 nonylphenol ethoxylates (1-2 EO)
 octylphenol
 bisphenol A
 diethylphthalate (DEP)
 di-n-butylphthalate (DBP)
 butylbenzylphthalate (BBP)
 diethylhexylphthalate (DEHP)
 di-n-octylphthalate (DOP)
 di-iso-nonylphthalate (DINP)

Pharmaceuticals:

acetylsalicylic acid
 salicylic acid (degradation product)
 ibuprofen
 bendroflumethiazid
 terbutalin
 sulfamethizol
 paracetamol
 penicillin V
 furosemid
 enalapril
 ketoconazol

Estriol, E3, was not included in the analytical programme because its estrogenic activity is much lower than those of E1, E2 and EE2.

Among the estrogens and endocrine disrupting compounds, all except one (octylphenol) were observed in the inlet to the WWTPs, whereas the majority of the compounds could not be detected in the outlets (limit of detection was 1-2 ng/l for estrogens and 0.1-0.5 μ g/l for industrial endocrine disruptors). The compounds that, at significantly reduced concentrations, could be detected also in the outlets at one or more of the WWTPs were the estrogens, nonylphenol, bisphenol A and DEHP (the latter only in one sample).

The observed concentrations in the wastewater from Avedøre and Usserød were generally at the same levels as reported in international literature while at Kalundborg they were typically somewhat lower, maybe due to the atypical catchment of this WWTP. Compared to the result of the national Danish surveillance programme for the aquatic environment (NOVA), the observed levels of phthalates and alkylphenols tended to be slightly higher in the inlets and slightly lower in the outlets than the average of the NOVA-results.

To compare the relative magnitude of the total estrogen activity resulting from estrogens and industrial chemicals, respectively, the inlet concentrations of the analysed compounds were transformed into E2-equivalents (as determined by the *in vitro* assay, YES). The transformed data showed that at Kalundborg the

estrogen activity of the industrial chemicals was 37% of the total estrogen activity of all compounds, while at Avedøre they constituted 6-20% and at Usserød only 5-10%. In all cases, the nonylphenol level determined the magnitude of the total estrogenic activity of the industrial chemicals.

11 compounds were included in the pharmaceuticals investigation programme. The two, quantitatively far most important pharmaceuticals in Denmark, acetylsalicylic acid (incl. the metabolite salicylic acid) and paracetamol were also the two compounds observed at the clearly highest concentrations in the raw wastewater at all three plants. However, none of the mentioned compounds were detectable in the outlets and, hence, they are either degraded in the WWTP or retained in the sewage sludge.

Three of the four compounds in the group of "second most" used pharmaceuticals - furosemid, ibuprofen and sulfamethizol - were also observed in the second highest concentrations in the inlets but were, in contrast to acetylsalicylic acid and paracetamol, also detected in the outlets at all three WWTPs. The fourth of the "second most common" compounds, penicillin V, could not even be detected in the inlet at any plant. None of the other pharmaceuticals analysed could be detected in the outlets.

The concentrations of the pharmaceuticals observed in the outlets are so low that they, if they were "general" xenobiotics, would be below the effect level of most compounds in traditional ecotoxic effects tests. However, many pharmaceuticals have specific modes of actions and, hence, it cannot be excluded that they, even at the low concentrations observed, can have an environmental impact.

Due to external factors, the investigation of the reducing effect of effluent after-treatment by ozonation had to be restricted to one round of sampling at which most of the compounds analysed could not be detected even at the inlet to the ozonation reactor. Hence, it was only possible to observe the effect on very few compounds at ozonation levels of 21.5 g O₃/m³; 53.5 g O₃/m³ and 88.4 g O₃/m³, namely nonylphenol and the pharmaceuticals furosemid, sulfamethizol and ibuprofen. Only the latter could still be detected after ozone treatment at the lowest of the three levels and it disappeared after treatment at 53.5 g O₃/m³.

This level is high compared to levels used for disinfection purposes (typically 5-15 g O₃/m³) but significantly lower than the levels tested at Kalundborg for the removal of refractory COD in the wastewater (more than 150 g O₃/m³). In conclusion, ozone treatment appears to be able to remove xenobiotics in urban wastewater but the required dosages and other specific conditions remain to be determined.

1 Indledning

1.1 Baggrund

Der har gennem de senere år været stigende opmærksomhed på indholdet af sundhedsskadelige stoffer i udledninger fra kommunale renseanlæg. Forbedrede rensemetoder har nedsat udledningerne af næringsstoffer og organisk stof, og som sidegevinst til den forbedrede spildevandsrensning er også udledninger til vandmiljøet af miljøfarlige stoffer reduceret væsentligt, idet mange af dem, i det omfang de ikke er blevet nedbrudt biologisk undervejs, især vil findes bundet til slamfasen.

Der er siden midten af 1990'erne opnået en betydelig viden om indhold af velkendte miljøfremmede stoffer i udledninger fra de kommunale renseanlæg, men der er på trods af den forbedrede rensning en stigende bekymring for mulige udledninger af sundhedsskadelige stoffer fra renseanlæg, især med fokus på "nye" stoffer så som naturlige og syntetiske kønshormoner og en række industrikemikalier med potentielt reproduktionsforstyrrende effekter.

Feminisering og andre kønsforstyrrelser hos fisk, som f.eks. påvist for nylig i en undersøgelse fra Århus Amt, mistænkes således at være forårsaget af udledninger af hormoner og stoffer med hormonlignende effekter til vandmiljøet (Christiansen et al. 2002).

Desuden har der i de seneste år været debat om de mulige miljøeffekter af rester af antibiotika og anden veterinær medicin, der udbringes på landbrugsjord med gylle, hvorfra stofferne også frygtes at kunne spredes til vandmiljøet. Denne debat har bredt sig til usikkerhed om, i hvilket omfang rester af lægemidler til mennesker kan passere gennem renseanlæg og dermed belaste vandmiljøet.

Der kan således eventuelt vise sig behov for at efterbehandle almindeligt rensed spildevand for at få fjernet disse stoffer. Der findes en række metoder til efterbehandling af spildevand. Disse er dog mest anvendt til hygiejnisering (UV-bestråling) eller til fjernelse af specifikke stoffer i mere veldefinerede industriudledninger (ozonering). Hvorvidt disse metoder også kan fjerne hormonstoffer eller lægemiddelrester er imidlertid dårligt belyst.

Der er derfor et behov for at få karakteriseret hormonforstyrrende stoffer og lægemiddelrester i spildevand og udledninger fra renseanlæg for at få et indtryk af, i hvilket omfang vandmiljøet belastes med disse stoffer. Desuden bør det undersøges, om stofferne kan fjernes eller reduceres ved hjælp af kendte efterbehandlingsmetoder som UV-bestråling og ozonering.

1.2 Formål

Formålet med projektet er:

- At karakterisere rensset spildevand fra kommunale renselanlæg mht. indholdet af hormoner og udvalgte stoffer med lignende effekter på menneskets reproduktion samt af udvalgte typer af lægemidler.
- At undersøge effekten af udvalgte efterbehandlingsmetoder på rensset spildevand med hensyn til ovennævnte stoffer.

I praksis har sidstnævnte delformål måttet reduceres til kun at omfatte efterbehandling med ozon, idet der ikke p.t. findes UV-anlæg i Danmark, der har tilstrækkeligt dokumenteret effekt til at kunne indgå i undersøgelsen.

1.3 Aktiviteter

Projektet har omfattet følgende hovedaktiviteter:

- 1) Begrænset litteraturgennemgang til udvælgelse af relevante analyseparametre samt beskrivelse af erfaringer med ozonbehandling.
- 2) Detailplanlægning af undersøgelsesprogram incl. valg af laboratorier og lokaliteter.
- 3) Gennemførelse af prøvetagning og kemiske analyser.
- 4) Evaluering af resultater og afrapportering.

Af en række årsager måtte det oprindeligt planlagte undersøgelsesprogram modificeres flere gange undervejs i projektforløbet, hvilket der er redegjort nærmere for i rapportens kapitel 4.

1.4 Del tagere

Projektet er gennemført af en projektgruppe i COWI bestående af Jesper Kjølholt (projektansvarlig), Per Henrik Nielsen og Frank Stuer-Lauridsen.

Der har været nedsat en følgegruppe for projektet med deltagelse af Line W. Hollesen (formand) og Linda Bagge, begge Miljøstyrelsen, Jes la Cour Jansen, eget konsulentfirma, Bo Neergaard Jacobsen, Spildevandscenter Avedøre, Sorin Lupan, Hørsholm Kommune og Torben Jørgensen, Kalundborg Kommune.

Prøvetagning af rensset og urensset spildevand er foretaget af COWI sammen med Rovesta Miljø I/S, der også har forestået analyserne af de generelle spildevandsparametre. Eurofins Danmark (Albertslund afd.) har stået for analyserne af hormonforstyrrende industristoffer og medicinrester, mens Danmarks Farmaceutiske Højskole har haft ansvaret for analyserne af naturlige og syntetiske østrogener.

Et projekt om karakterisering af smitstoffer i spildevand og undersøgelse af deres fjernelse ved ozonbehandling er gennemført parallelt og koordineret med dette projekt, men afrapporteres særskilt.

2 Hormonforstyrrende stoffer og lægemidler i spildevand

Projektets formål har været at undersøge forekomsten af hormonforstyrrende stoffer og lægemidler i spildevand i Danmark. I det følgende gives en kort oversigt over den eksisterende viden om sådanne stoffer i miljøsammenhæng med fokus på spildevand, og der argumenteres for udvælgelsen af specifikke stoffer til undersøgelsesprogrammet. Naturlige og syntetiske kønshormoner indgår også som en kategori blandt de øvrige lægemidler (Gruppe G), men gennemgås særskilt i dette kapitel.

2.1 Naturlige og syntetiske kønshormoner

I lighed med den internationale forskning og undersøgelser vedrørende miljøeffekter af kønshormoner og kønshormonlignende kemiske stoffer fokuseres der i dette projekt på det hunlige kønshormon, østrogen, og deraf afledte forbindelser.

Der findes tre naturlige østrogener hos mennesker og andre hvirveldyr; østron (kaldet E1), østradiol (17 β -østradiol; kaldet E2) og østriol (kaldet E3). Disse hormoner produceres og udskilles i følge sagens natur langt overvejende af kvinder, men også i mindre omfang af mænd (omtrent samme mængde som kvinder efter overgangsalderen). De tre nævnte østrogener samt en række afledede forbindelser, der dannes metabolisk, udskilles efter endt funktion overvejende med urinen i form af konjugater med sulfat eller glukoronider. En mindre del udskilles med fæces i form af ukonjugerede metabolitter (Christiansen et al. 2002).

Svangerskabsforebyggende midler er i vore dage baseret på det syntetiske østrogen 17 α -ethinyløstradiol (kaldet EE2). Dette stof udskilles, i lighed med de naturlige østrogener, overvejende på konjugeret, inaktiv form.

Det er således overvejende de konjugerede, hormonalt inaktive former af både naturlige og syntetiske østrogener, der udskilles og tilføres kloaksystemer for sanitært spildevand. På grund af den store bakterielle aktivitet i såvel selve kloaknettet som på renseanlæggene kan de konjugerede forbindelser imidlertid blive spaltet tilbage til de oprindelige, aktive østrogener (Bjerregaard 2002, Christiansen 2002). Disse vil således kunne påvirke naturlige vandsystemer i det omfang, de ikke nedbrydes eller bindes til slam i renseanlæggene.

Den østrogene aktivitet af de naturlige og syntetiske østrogener er forskellig. I *in vitro* assays til bestemmelse af den relative østrogene aktivitet af kemiske stoffer (incl. østrogenene selv) benyttes 17 β -østradiol (E2) som referencestof, hvis aktivitet derfor sættes = 1,0. Derudover bestemmes som regel også østron (E1), hvis aktivitet er noget lavere end E2's, men stadig betydende, hvorimod der sjældent måles for E3, fordi det har en aktivitet, der kun er ca. en tusindedel af E2's (Takigama et al. 2000). Afledede forbindelser af østrogener bestemmes tilsyneladende kun sjældent, formodentlig fordi de ikke i sig selv er hormonalt aktive og desuden er vanskelige at håndtere analyseteknisk.

Aktiviteten af 17a-ethinyløstradiol (EE2) er mindst lige så stor som E2's (Murk et al. 2002), og dette stof bestemmes derfor næsten også altid i forbindelse med miljøundersøgelser af (køns)hormonforstyrrende stoffer.

På baggrund af ovenstående er det i dette projekt valgt at begrænse analyserne for naturlige og syntetiske kønshormoner til tre stoffer; E1, E2 og EE2.

I tabel 2-1 vises nogle resultater fra litteraturen om forekomsten af østrogener i urensset og rensset spildevand i en række europæiske lande samt USA.

Tabel 2-1 Koncentrationer af østrogener i indløb til og udløb fra offentlige renseanlæg i forskellige lande, angivet som E2-ækvivalenter (ng/l).

Land	Indløbskoncentration (ng/l)	Udløbskoncentration (ng/l)	Antal prøver (ind/ud)	Reference
Danmark	ikke målt	<l.o.d. - 26*	0/ukendt	Andersen et al. 2002
Holland	<l.o.d. - 25 32 ± 31	<l.o.d. - 0,6 3,1 ± 2,4	8 / 9 15 / 9	Vethaak et al. 2002 Murk et al. 2002
Tyskland	56 - 58 17	5,6 - 11 10,5	2 / 2 1 / 1	Holbrook et al. 2002
Italien	16 - 28	2,9 - 7,5	3 / 3	Holbrook et al. 2002
England	ikke målt	0,4 - 6,6**	0 / 7	Holbrook et al. 2002
U.S.A.	18 - 24	5,0 - 10,6	3 / 3	Holbrook et al. 2002

l.o.d. = Limit of detection (detektionsgrænsen).

* Beregnet ud fra middelværdier og aktivitetsfaktorer for YES-assay angivet af Murk *et al.* (2002).

** Et enkelt, meget afvigende resultat på 46,7 ng/l er udeladt.

2.2 Hormonforstyrrende industrikemikalier

En række industrielle kemikalier har vist sig også at have forskellige former for hormonforstyrrende egenskaber, hvoriblandt der i miljösammenhæng i særlig grad har været fokus på de hunlige (østrogener) kønshormonale egenskaber. Nordisk Ministerråd udgav allerede i 1996 en rapport, TemaNord 1996:580, der beskrev stofferne dibutylphthalat (DBP), butylbenzylphthalat (BBP), bisphenol A, octylphenol og nonylphenol (og -ethoxylater) med hensyn til kilder, forekomst, spredning, skæbne og (østrogenlignende) effekter i miljøet.

Også andre phthalater end de nævnte og stofgrupper som chlorerede pesticider, chlorerede biphenyler (PCB), chlorerede dioxiner, organiske tinforbindelser (især tributyltin) og parabener (estere af p-hydroxybenzoesyre) vides at omfatte enkeltstoffer med større eller mindre grad af østrogen aktivitet (Bjerregaard, 1999 og 2002). Den østrogener aktivitet af disse industrikemikalier - såkaldte xeno-østrogener - er dog mange gange lavere end E2's, men til gengæld er koncentrationerne i rensset spildevand ofte meget højere (det gælder især phthalater, phenoler og parabener). De relativt mest potente blandt industristofferne er alkylphenoler og bisphenol A. Phthalater har noget svagere effekt, men forekommer til gengæld typisk i højere koncentrationer.

I en ny rapport, Miljøprojekt nr. 729 fra Miljøstyrelsen (Christiansen et al. 2002), gennemgås den eksisterende viden om østrogener og østrogenlignende kemiske stoffer med hensyn til effekter på (vand)miljøet og forekomst og skæbne i spildevandssystemer og i naturen. Rapporten omhandler naturlige og syntetiske østrogener samt alkylphenoler og bisphenol A.

Derudover har det hollandske "National Institute of Inland Water Management and Waste Water Treatment" (RIZA) for nylig udgivet en omfattende rapport (Vethaak et al. 2002), der afrapporterer et stort studie af østrogener og xeno-østrogener i det akvatiske miljø i Holland. I dette studie er der, ud over de stoffer, der indgår i det danske litteraturstudie, også foretaget undersøgelser af en række phthalater og polybromerede diphenylethere (PBDE) i spildevand og overfladevand. Hvad angår sidstnævnte gruppe af stoffer, er den væsentligste hormonforstyrrende effekt imidlertid ikke af østrogen karakter, men overvejende thyroid-hormonal (indvirkning på skjoldbruskkirtlens hormonsystem, dvs. reguleringen af stofskiftet).

I tabel 2-2 gives en oversigt over en række industrikemikaliers østrogener aktivitet i forhold til E2, primært baseret på resultater fra Murk et al. (2002).

Tabel 2-2 Relativ østrogen aktivitet af naturlige og syntetiske østrogener samt en række hormonforstyrrende industrikemikalier målt i forhold til E2 ved forskellige *in vitro* assays.

Stof	YES*	ER-CALUX*	ER-binding assay*	MVLN** (E-screen)
E1 (østron)	0,1	0,056	0,07	-
E2 (17 β -østradiol)	1	1	1	1
EE2 (17a-ethinyl-østradiol)	1,2	1,2	0,8	-
Nonylphenoethoxylater (NPE)	4,0 x 10 ⁻⁶	3,8 x 10 ⁻⁶	1,0 x 10 ⁻⁵	-
Octylphenoethoxylater (OPE)	4,0 x 10 ⁻⁶	0	4,0 x 10 ⁻⁶	-
Nonylphenol (NP)	5,7 x 10 ⁻⁴	2,3 x 10 ⁻⁵	5,0 x 10 ⁻⁴	5,6 x 10 ⁻²
Octylphenol (OP)	1,0 x 10 ⁻⁵	1,4 x 10 ⁻⁶	5,0 x 10 ⁻⁵	5,4 x 10 ⁻⁴
Bisphenol A	1,0 x 10 ⁻⁵	7,8 x 10 ⁻⁶	1,0 x 10 ⁻³	2,7 x 10 ⁻³
Diethylphthalat (DEP)	5,0 x 10 ⁻⁷	3,2 x 10 ⁻⁸	5,0 x 10 ⁻⁷	-
Di-n-butylphthalat (DBP)	1,0 x 10 ⁻⁷	1,8 x 10 ⁻⁸	> sol.	-
Butylbenzylphthalat (BBP)	1,0 x 10 ⁻⁶	1,4 x 10 ⁻⁶	> sol.	4,8 x 10 ⁻⁴
Diethylhexylphthalat (DEHP)	0	0	> sol.	2,7 x 10 ⁻⁶
Di-n-octylphthalat (DOP)	0	0	> sol.	-

>sol. = effektniveauet ligger højere end opløseligheden (sol. = solubility) af stoffet.

* Murk et al. (2002)

** Itoh et al. (2000).

På baggrund af ovenstående er det i dette projekt valgt kun at undersøge forekomst og skæbne af alkylphenoler (incl. små ethoxylater), bisphenol A og phthalater i forbindelse med renseanlæg.

I tabel 2-3 gives en oversigt over rapporterede koncentrationer af de nævnte kemikalier i indløb til og udløb fra renseanlæg for kommunalt spildevand.

Det fremgår ved sammenligning af tabel 2-3 med tabel 2-1, at de klart mest østrogen aktive industrikemikalier (nonylphenol og bisphenol A, jf. tabel 2-2) forekommer i koncentrationer i udløb fra renseanlæg, der er omkring eller lidt under 1000 gange højere end de naturlige og syntetiske østrogener (opgjort som E2-ækvivalenter). Da østrogenes aktivitet omvendt er ca. 1.000 - 10.000 gange større end de nævnte phenolers, kan det forventes, at bidraget fra sidstnævnte stoffer til den samlede østrogen aktivitet (i *in vitro* test) af spildevand typisk vil være i størrelsesordenen 10-50%.

Tabel 2-3 Alkylphenoler, bisphenol A og phthalater i indløb og udløb fra offentlige renselanlæg. De danske værdier er middelværdier af målinger foretaget under NOVA-2003 (det nationale overvågningsprogram for vandmiljøet), mens de øvrige angiver intervaller for de fundne koncentrationer.

Stofnavn	Land	Indløbskonc. (µg/l)	Udløbskonc. (µg/l)	Reference
Nonylphenoethoxylater (NPE)	Danmark Holland	4,7 <0,82 - 125	1,2 <1,9 - 2,2	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002
Octylphenoethoxylater (OPE)	Danmark Holland	ikke målt <1,1 - 24	ikke målt <0,65	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002
Nonylphenol (NP)	Danmark Holland England Tyskland USA	3,7 <0,24 - 19 - - -	0,35 <0,55 - 1,5 <0,2 - 330 0,025 - 0,77 <1 - 33	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002 Christiansen et al 2002 Christiansen et al 2002 Christiansen et al 2002
Octylphenol (OP)	Danmark Holland England Tyskland	<l.o.d. <0,27 - 13 - -	<l.o.d. <0,45 - 1,3 <1 0,0022 - 73	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002 Christiansen et al 2002 Christiansen et al 2002
Bisphenol A	Danmark Holland England Canada	1,2 0,25 - 5,6 - -	0,51 <0,04 - 4,1 0,018 - 0,702 0,010 - 1,08	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002 Christiansen et al 2002 Christiansen et al 2002
Diethylphthalat (DEP)	Danmark Holland	5,3 <4,1 - 44	0,77 <0,91 - 0,93	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002
Dibutylphthalat (DBP)	Danmark Holland	1,6 <0,38 - 51	0,90 <0,42 - 0,84	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002
Butylbenzylphthalat (BBP)	Danmark Holland	0,96 0,56 - 4,9	0,31 <0,07 - 0,29	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002
Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP)	Danmark Holland	17 <13 - 101	2,8 <0,47 - 2,4	Miljøstyrelsen 2002 Vethaak et al. 2002

2.3 Lægemiddelstoffer

Der er påvist rester af mere end 100 lægemiddelstoffer i miljøet (Ingerslev, 2000). Traditionelle miljøeffekter er sjældent påviselige, men det kan ikke udelukkes, at nogle af disse stoffer ikke bare påvirker mennesker, men også miljøet. En række af de mest anvendte aktivstoffer i Danmark vurderes at have potentiale for effekter på miljøet (Stuer-Lauridsen et al., 2002; Halling-Sørensen et al., 1998), og tilsvarende vurderinger er gjort i Tyskland (Henschel et al., 1997), Østrig (Sattelberger, 1999) og England (Jones et al., 2002).

I Danmark er der mere end 4000 lægemidler med ca. 1000 forskellige aktivstoffer på markedet. Der er tale om et relativt dynamisk marked, hvor nye midler med nye aktivstoffer erstatter gamle og opnår store markedsandele. Det vil sige en meget anderledes situation end den, der gælder for almindelige industrikemikalier, og snarere noget i retning af situationen på bekæmpelsesmiddelområdet. I en række publicerede undersøgelser har det, for at begrænse omfanget, derfor været almindelig at tage udgangspunkt i de mest anvendte stoffer opgjort som definerede døgndoser (DDD), typisk Top 25. DDD kan opfattes som den samlede "effektstyrke" eller "potens" af et aktivstof i landet.

Der er endnu ret begrænsede datasæt med hensyn til lægemidlers forekomst, skæbne og effekter i miljøet og der er ikke et simpelt og entydigt datagrundlag for at udpege "de værste" (udover DDD). En udvælgelse af specifikke

lægemidler til et analyseprogram må tage udgangspunkt i den iboende farlighed af stoffet samt den risiko, som stoffets farlighed i sammenhæng med den mulige forekomst i miljøet kan medføre. Hertil kommer praktiske, analysetekniske og økonomiske hensyn.

2.3.1 Iboende egenskaber

De iboende egenskaber, som normalt vurderes ved en miljøfareklassificering af et stof, er en række parametre, som normalt ikke umiddelbart er offentligt tilgængelige for lægemiddelaktivstoffer:

- Fysisk-kemiske egenskaber som molvægt, fordampelighed, opløselighed, oktanol-vandforhold ($\log K_{ow}$) m.v.
- Biologiske egenskaber som toksicitet, nedbrydelighed og bioakkumulering.

Det kan med god grund antages at aktivstoffers biotilgængelighed ikke er begrænset af molekylvægt, høj fordampelighed o. lign. De vigtigste parametre er vandopløseligheden og oktanol-vandforholdet, som er indbyrdes forbundne. En overordnet vurdering kan derfor i en snæver vending baseres på blot den ene. Begge egenskaber kan normalt modelleres med acceptable resultater ud fra stoffernes kemiske struktur.

Med hensyn til vurdering af biologiske forhold er databegrænsningen mere kritisk. Lægemidler er, som bekæmpelsesmidler, specifikt virkende og en vurdering af økotoksicitet burde i bedste tilfælde baseres på både standard økotoksikologiske tests og tests, som tager højde for stoffets "mode of action". For de mest anvendte stoffer er der i løbet af de sidste få år kommet et begrænset og inhomogent datasæt til rådighed, som kan anvendes til at beregne nul-effektkoncentration (PNEC).

Nedbrydelighedsdata er kun sjældent til rådighed og kan ikke umiddelbart modelleres for så komplicerede molekyler, som aktivstoffer gerne er.

Potentialet for bioakkumulering af et stof kan estimeres ud fra oktanol-vandforholdet. Lægemiddelaktivstoffer er typisk så tilpas fedtopløselige, at de let passerer cellemembraner, men omvendt ikke så meget, at de ikke kan udskilles i urin.

En udpegning af kandidater til et analyseprogram alene på basis af nedbrydningsdata og oktanol-vandforholdet vil være præget af, at der for en række stoffer ingen data er til rådighed for bionedbrydelighed. Hvis der ved udpegningen fokuseres på manglende bionedbrydning, samt at stoffet skal være på Top 25-listen (se tabel 2-6), vil en liste se således ud:

Ibuprofen
Nitrazepam
Paracetamol
Østrogen

For en række stoffer, som anvendes i større mængder, er der dog ingen data for nedbrydelighed, heriblandt bendroflumethiazid, budesonid, citalopram, desogestrel, digoxin m.fl.

I tabel 2-4 gives en oversigt over $\log K_{ow}$ samt oplysninger om nedbrydelighed for en række lægemiddelaktivstoffer på det danske marked.

Tabel 2-4 Oktanol-vand fordelingskoefficient (LogK_{ow}) og nedbrydelighed for en række aktivstoffer på det danske marked.

Navn	$\text{LogK}_{ow} \pm 95\%$ konfidensinterval	Nedbrydelighed
Acetylsalicylsyre	1,19	Let bionedbrydelig
Amlolidin	3	Ingen nedbrydningsdata
Ampicillin	1,35	Iboende bionedbrydelighed
Bendroflumethiazid	1,19	Ingen nedbrydningsdata
Budesonid	1,36±0,42	Ingen nedbrydningsdata
Citalopram	2,86±0,48	Ingen nedbrydningsdata
Codein fosphat	-	Ikke bionedbrydelig
Cyclophosphamid	0,63±0,40	Ikke bionedbrydelig
Desogestrel	6,59 ± 0,39	Ingen nedbrydningsdata
Dextropropoxyphen	4,18	Ikke bionedbrydelig
Diazepam	2,82	Ingen nedbrydningsdata
Digoxin	1,26	Ingen nedbrydningsdata
Enalapril	4,22±0,58	Ingen nedbrydningsdata
Ephedrin (blandet gr.)	0,93	Let bionedbrydelig*
Erythromycin	2,54	Ikke bionedbrydelig
Estradiol	4,01	Ingen nedbrydningsdata
Furosemid	2,03	Ingen nedbrydningsdata
Gestoden	3,62±0,40	Ingen nedbrydningsdata
Hydrochlorthiazid	-0,07	Ingen nedbrydningsdata
Ibuprofen	3,5	Iboende bionedbrydelighed
Ifosfamid	0,86	Ikke bionedbrydelig
Ketoconazol	4,35	Ingen nedbrydningsdata
Meprobamat	0,7	Ikke bionedbrydelig
Methotrexat	2,28	Ikke let bionedbrydelig
Methyldopa	0,12±0,38	Ikke bionedbrydelig
Metronidazol	-0,02	Ikke bionedbrydelig
Naproxen	3,18	Ikke bionedbrydelig
Nitrazepam	2,25	Ingen nedbrydningsdata
Nicotinamid (vitamin)	-0,37	Let bionedbrydelig
Paracetamol	0,46-0,49	Ikke let bionedbrydelig*
Salbutamol	0,01±0,37	Ingen nedbrydningsdata
Salicylsyre (metabolit)	2,24 /2/	Let nedbrydelig
Sulfamethoxazol	0,89	Ikke bionedbrydelig
Sulfasalazin	3,18±0,48	Ikke bionedbrydelig
Tetracyclin	-1,3	Ikke bionedbrydelig
Terbutalin	0,48±0,36	Ingen nedbrydningsdata
Theophyllin	-0,02	Let bionedbrydelig
Tolbutamid	2,34	Ikke bionedbrydelig
Zopiclon	2,25	Ingen nedbrydningsdata
Xylometazolin	4,91±0,36	Ingen nedbrydningsdata
Østrogen	5,07	Ikke bionedbrydelig

* let efter akklimatisering

Der foreligger kun relativt få offentligt tilgængelige resultater fra økotoksicitetstest med lægemiddelaktivstoffer eller formulerede lægemidler. Den amerikanske "Food and Drug Administration, FDA" har analyseret standard økotoksikologiske testresultater fra forsøg med humane lægemidler. En analyse af testresultaterne viste, at for mere end 90% af alle udførte test

(278 testresultater på 76 stoffer) var de fundne koncentrationer for 50% effekt højere end 1 ppm (mg/l), mens resten af testresultaterne lå mellem 1 ppm og 1 ppb (µg/l). De beregnede eller eksperimentelt bestemte "ingen effekt niveauer" (no-effect concentration (NOEC), minimum inhibitory concentration, lowest observed effect concentration) var alle over 1 ppb (µg/l). FDA konkluderede herudfra, at lægemidler i koncentrationer på mindre end 1 ppb normalt ikke vil have nogen betydende effekt på relevante testorganismer og ikke vil have nogen signifikante effekter i miljøet.

Det skal dog nævnes, at det er usikkert om disse standardtest er i stand til at afsløre specifikt virkende lægemidlers effekter, jf. de effekter af kønshormoner, som kan observeres i det lave ng/l område i ikke-standardtest. Det er også vist for visse antibiotika, at deres giftighed er 100-1000 gange større over for blågrønalger end over for grønalgen *Selenastrum capricornutum* (Halling-Sørensen 2000).

Tabel 2-5 Danske Top 25 aktivstoffer af lægemidler, som PNEC kan beregnes for (Stuer-Lauridsen et al 2000)

Aktivstof	PNEC µg/l
Paracetamol	9,2-136
Acetylsalicylsyre	61
Østrogen, standard test	1,09
Østrogen, ikke-standard test	0,005
Ibuprofen	5,9
Diazepam	4,2
Digoxin	21,2

Østrogens PNEC er, når beregningen baseres på ikke-standard test, kun 5 ng/l. PNEC er i øvrigt relativt lav, ofte under 10 µg/l. Når der sammenlignes med forekomst, skønnes digoxin og diazepam ikke at udgøre problemer.

2.3.2 Anvendelse af Definerede Døgn Doser (DDD)

Udvælgelsen af stoffer er begrænset til de mest anvendte, men anvendelse af Definerede Døgn Doser (DDD) som basis er dog plaget af et indbygget problem, når der tages udgangspunkt i de 25 mest anvendte lægemidler. Lægemidler grupperes efter ATC-systemet (Anatomical Therapeutical Chemical Classification System), som inddeles med 14 hovedgrupper inden for den medicinske behandling og aktivstofferne henføres hertil. De 14 anatomiske grupper er:

- A Fordøjelse og stofskifte
- B Blod og bloddannende organer
- C Hjerne og kredsløb
- D Hud
- G Kønshormoner m.m.
- H Hormoner til systemisk brug
- J Infektionssygdomme
- L Cancer m.m.
- M Muskler, led og knogler
- N Centralnervesystemet

- P Parasitmidler
- R Åndedrætsorganer
- S Sansorganer
- V Diverse

Tabel 2-6 De mest solgte lægemiddel stoffer i den primære sundhedssektor i år 2000. Stoffer der årligt anvendes i mere end 1000 kg er mærket med ^A.

Aktivstof	Middel til behandling og/eller forebyggelse af	Mio. DDD	Kg aktiv stof
Furosemid	Forhøjet blodtryk, væskeansamling og nyresvigt	95,3	3812 ^A
Paracetamol	Smerter	93	279000 ^A
Acetylsalicylsyre	Smerter	75,6	309900 ^A
Bendroflumethiazid	Vanddrivende	71,3	178
Gestoden og østrogen	Graviditet (p-piller)	48,3	48,3/0.78
Amlodipin	Forhøjet blodtryk	39,5	198
Ibuprofen	Gigt	28	33600 ^A
Budesonid	Astma	27,9	41,85
Desogestrel og østrogen	Graviditet (p-piller)	26	5.2/0,78
Kaliumchlorid	Kaliummangel	25,2	75600
Citalopram	Depression	24	480
Enalapril	Forhøjet blodtryk og hjertesvigt	23,1	231
Estradiol	Klimakterielle gener	23	46
Terbutalin	Astma	22,7	454
Zopiclone	Søvnløshed	19,8	148.5
Xylometazolin	Hævede næseslimhinder	19,4	15.5
Nitrazepam	Søvnløshed	17,7	88.5
Ketoconazol	Svampeinfektioner (hud)	17,5	7000 ^A
Diazepam	Angst- og urotilstande	17,3	173
Omeprazol	Mavesår	16,7	334
Metoprolol	Hjertesygdom	15,4	2310 ^A
Lactulose	Forstoppelse	15,4	103180
Digoxin	Hjertesygdom	14,9	3.8

De fleste grupper er repræsenteret på Top 25. Dog kan grupper, som samlet kan have et stort forbrug i DDD, men hvor forbruget er fordelt på flere forskellige lægemidler, risikere ikke at blive fanget af en DDD-screening. I de danske opgørelser mangler f.eks. midler til behandling af infektionssygdomme.

Målt på stoffets "styrke", forstået som DDD, ligger furosemid og bendroflumethiazid højt sammen med de smertestillende præparater og kønshormonerne. Ved rangordning alene efter forbrug i kg/år ligger de smertestillende præparater stadig i top. Der er i øvrigt stor forskel på de anvendte mængder af lægemidlers aktivstoffer: Fra de to mest anvendte stoffer, acetylsalicylsyre og paracetamol, til nummer tre, ibuprofen, er der en faktor 10 og yderligere en faktor 10 til furosemid på fjerdepladsen. Alt i alt falder mængden næsten en faktor 1000 fra godt 300.000 kg til 300 kg og videre til p-pille midlerne på omkring 3 kg/år blandt de 25 mest anvendte stoffer (Stuer-Lauridsen et al., 2002).

En pragmatisk udvælgelse alene baseret på forbruget kan f. eks. pege på de seks stoffer, hvoraf der årligt anvendes mere end 1000 kg (mærket med ^A). Hvis man i stedet ser på lægemiddelforbruget målt i DDD, og lister f.eks. de ti mest anvendte tilføjes bendroflumethiazid, amlodipin, budesonid, citalopram, enalapril og desogestrel, gestoden og østrogen, som er aktive i meget lave koncentrationer. Det giver en liste med følgende stoffer:

Acetylsalicylsyre + salicylsyre
Furosemid
Bendroflumethiazol
Enalapril
Ketoconazol
Metoprolol
Ibuprofen
Paracetamol
Citalopram
Terbutalin
Budesonid
Amlodipin
Desogestrel, gestoden og østrogen

Hvis det medtages, at antibiotika ikke vil komme ind på Top 25 pga. af anvendelsen af mange forskellige præparater og aktivstoffer, kan eksempler på antibiotika overvejes til et analyseprogram:

phenoxymethylpenicillin (= Penicillin V)
sulfamethizol
amoxicillin
erythromycin

Beregninger af koncentrationer i udløb fra renseanlæg giver, selv med ret konservative forudsætninger, "worst case"-koncentrationer på under 1 µg/l for en betragtelig del af Top 25-lægemidlerne (Stuer-Lauridsen et al 2002). Dog ikke de smertestillende midler acetylsalicylsyre, paracetamol og ibuprofen samt furosemid, som teoretisk vil kunne forekomme i koncentrationer op til mg/l niveauet, hvilket er noget over de beregnede PNEC-værdier.

Fjernelsesgraden for 14 lægemidler og metabolitter ved passage af et biologisk renseanlæg er blevet undersøgt i Tyskland. Fjernelsesgraderne varierer fra blot 7% op til 96%, men fjernelsen af 10 ud af de 14 stoffer er større end 60%. For flertallet af stofferne er der ingen præcise informationer om deres nedbrydelighed eller fordeling mellem vand og slam, og det er derfor vanskeligt at vurdere, hvorvidt fjernelsen skyldes nedbrydning eller sorption til slamfasen. Forfatteren konkluderer også, at dette ikke kan afgøres på det foreliggende grundlag, men det antages, at lav $\log K_{ow}$ og høj elimination er en indikation på nedbrydelighed. For tre stoffer på den danske liste er der givet fjernelsesprocenter:

- acetylsalicylsyre: 81%
- ibuprofen: 90%
- metoprolol: 83%

Metoprolol, som ikke var på den danske liste i 2000, er der ikke umiddelbart en analysemetode for, som kan honorere kravene til detektion, dvs. kvantificerbarhed ved de forventede koncentrationer i spildevand.

Det vurderes, at lægemidler eller metabolitter med $\log K_{ow} > 3$ i betydeligt omfang vil fordele sig til slamfasen i et typisk dansk renseanlæg. Af lægemidlerne på Top 25 har kønshormonerne $\log K_{ow}$ over 3, det gælder også for ibuprofen, enalapril, ketoconazol and xylometazolin. En række lægemidler har $\log K_{ow}$ mellem 2 og 3, hvor adsorption til slam også kan være betydningsfuld. Dette gælder furosemid, amlolidin, diazepam, citalopram, zopiclon og acetylsalicylsyre-metabolitten salicylsyre.

2.3.3 Udvalgelse af stoffer til undersøgelsen

Baseret på den overordnede vurdering vil et bud på lægemidler, der i lyset af det tilgængelige materiale bør undersøges, som minimum omfatte

- acetylsalicylsyre
- ibuprofen
- furosemid
- bendroflumethiazid
- kønshormoner og
- paracetamol.

I den danske undersøgelse af Top 25 lægemidler (Stuer-Lauridsen et al 2000) er det paracetamol, acetylsalicylsyre, ibuprofen og østrogen, som kommer ud som med mulige miljøeffekter. En vurdering af Top 25 lægemidler i England (Jones et al 2002) viste tilsvarende, at paracetamol, ibuprofen, amoxicilin og mefenaminsyre havde risikokvotienter større end eller lig 1 (dvs. forholdet mellem forventet miljøkoncentration og beregnet nul-effekt-koncentration, PEC/PNEC, =1).

De lægemiddelaktivstoffer, der herunder foreslås til undersøgelsesprogrammet i dette projekt, repræsenterer et kompromis mellem formodet forekomst, potentiale for miljøeffekter samt et ønske om at dække spektret af forskellige anvendelseskategorier for lægemidler. Listen vil i praksis blive begrænset yderligere af de aktuelle analysetekniske muligheder, hvilket der redegøres nærmere for i afsnit 4.2.3.

Forslag til lægemidler, der vil være relevante at undersøge i dansk spildevand (lægemiddelgruppe er angivet i parentes):

acetylsalicylsyre (B + N)
 furosemid (C)
 bendroflumethiazid (C)
 enalapril (C)
 ketoconazol (D)
 phenoxymethylpenicillin (penicillin V) (J)
 sulfamethizol (J)
 amoxicillin (J)
 erythromycin (J)
 ibuprofen (M)
 paracetamol (N)
 citalopram (N)
 terbuthalin (R)
 budesonid (R)

3 Erfaringer med ozonbehandling af miljøfremmede stoffer i spildevand

3.1 Efterbehandling af spildevand med ozon

Ozon bliver produceret, når iltmolekyler ved hjælp af en energikilde bliver opsplittet i enkelte iltatomer, for efterfølgende at kolliderer med et iltmolekyle (O_2) og derved producere en ustabil gas bestående af ozon (O_3). Denne kan benyttes til desinfektion af spildevand. Ozon til desinfektion af spildevand produceres oftest ved at påtrykke en højspændt vekselstrøm (6-20 kV) over et gnistgab i en iltrig gas. Ozon produceres på stedet, idet den er meget ustabil og henfalder til elementær ilt kort efter dannelsen. Ozon er meget stærkt oxiderende og er stærkt virucid i koncentreret form.

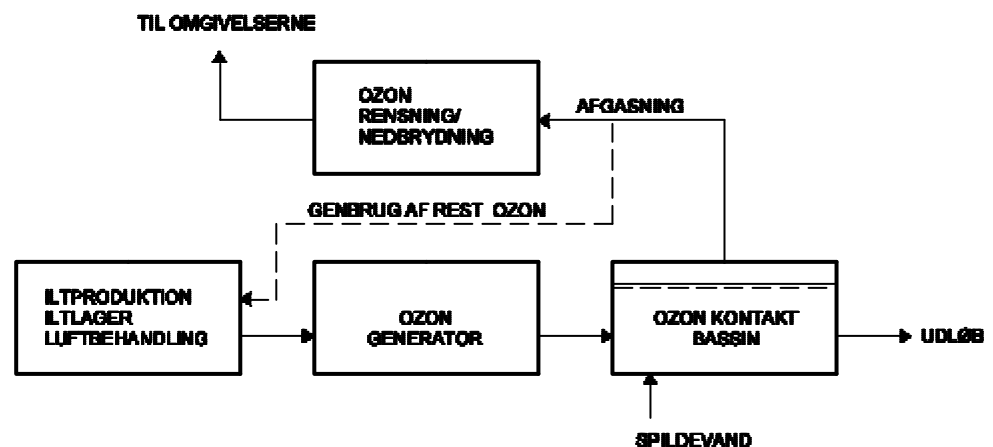
Ozon virker desinficerende på følgende måde:

- Direkte oxidation/destruktion af cellevæggene med efterfølgende udsivning af cellemateriale.
- Reaktioner med frie radikaler grundet ozon-nedbrydning
- Skader på cellernes kernemateriale (puriner og pyrimidiner)
- Nedbrydelse af kulstof-/kvælstofbindinger med efterfølgende depolymerisering

Når ozon henfalder i vand, opstår der frie radikaler i form af hydrogenperoxid (H_2O_2) og hydroxid (OH). Disse radikaler har en stor oxiderende virkning og spiller en aktiv rolle i desinfektionsprocessen. Det er den generelle opfattelse at bakterierne bliver nedbrudt hovedsagelig på grund af oxidation og dermed resulterende cellevægsnedbrydning. Effektiviteten af desinfektionen er afhængig af de enkelte organismers modstandsdygtighed, kontakttiden og koncentrationen af ozon.

Figur 3-1 viser et skematisk diagram for den typiske ozon-produktionsproces.

Figur 3-1 Typisk ozon-produktionsproces



De enkelte komponenter i et ozon-desinfektionsanlæg består af fødegasanlæg, ozon-generator, ozon-kontaktbassin og afgasningssystem.

Luft eller ren ilt bliver oftest benyttet som fødegas og pumpet ind i ozon-generatoren ved et forudbestemt flow. Energikilden til produktionen af ozon sker ved elektrisk udladning i en gas, der indeholder ilt.

Ozon-generatoren kendetegnes typisk ved:

- Kontrolenhed (enten strømstyring eller frekvensregulering)
- Køleenhed (enten vand, luft eller vand/olie-system)
- Placering af selve ozon-generatoren (enten vertikalt eller horisontalt)
- Fabrikat

Ozon-produktion ved elektrisk udladning er den mest benyttede metode.

Ekstrem tør luft eller ren ilt bliver eksponeret til en kontrolleret, ensartet højspændt udladning af enten høj- eller lavfrekvens. En gasstrøm produceret af luft vil normalt indeholde ½-3 % ozon (vægtprocent), hvor ren ilt vil kunne give en gasstrøm med 2-4 gange højere koncentration af ozon.

Efter at ozonen er produceret, introduceres den i et kontaktbassin, der indeholder det vand, der skal desinficeres. Hovedformålet med kontaktbassinet er at transportere ozonen fra glasboblerne til væsken og samtidig sikre tilstrækkelig kontakttid for gennemførelsen af desinfektionen.

De mest almindelige former for kontaktbassiner er udstyret med finboblet beluftsudstyr og er ofte mekanisk omrørt. Idet ozon optages meget hurtigt, må det sikres, at fordelingen sker så ensartet som muligt.

Afgasningen fra kontaktbassiner skal behandles, for herved at sikre, at overskuds-ozon er fjernet, før den udledes til omgivelserne. Det er derfor essentielt, at styringen af ozon-anlægget effektiviseres mest muligt. Når der bruges ren ilt som fødegas, er det ofte muligt at genbruge afgasningen fra kontaktbassiner som fødegas i ozon-produktionsanlægget eller alternativt som ilttilskud i luftningstanke.

Processen styres typisk med følgende parametre:

- Ozon-dosering
- Mixning
- Kontakttid

Ozon-desinfektionssystemer forsøges optimeret til maksimal opløselighed af ozonen i spildevandet, idet desinfektionen er afhængig af den specifikke overførelse af ozon. Den mængde ozon, der vil blive optaget i spildevandet ved en bestemt temperatur, er en funktion af partialtrykket af ozon over vandoverfladen eller i gasfødestrømmen.

3.2 Erfaringer med ozonbehandling af spildevand

Ozon som desinfektionssystem for spildevand er ikke meget udbredt. De mest benyttede systemer er i dag UV-systemer eller mere traditionelle kloringsystemer.

Ozonanlæg finder en del anvendelse ved industrielle anlæg samt specielt i svømmehaller, hvor en kombination af ozonering og klorering kan sikre en optimal desinfektion af vandet. Også i drikkevandssektoren har ozonanlæg nogen udbredelse, blandt andet i Sverige, USA, m.fl. Ozon til desinfektion af spildevand doseres typisk i mængder på 5-15 g/m³.

Den begrænsede udbredelse af ozon anlæg skyldes dels de generelt relativ høje anlægsomkostninger og driftsomkostninger og dels de arbejdsmiljømæssige forhold, der er gældende ved brug af det stærkt korrosive og giftige ozon.

Da ozon virker stærkt oxiderende kan ozon anlæg benyttes ved rensning af mere specielt spildevand. Der er gode erfaringer med rensning af spildevand, hvor indholdet af specielt COD er højt i forhold til indholdet af BOD. Der vil her typisk være tale om anlæg med en forholdsvis høj industriel belastning. Det er ved hjælp af ozon anlæg muligt at oxidere en del af COD og dermed overholde gældende udlederkrav.

I disse anlæg er det ofte hovedsigtet at reducere indholdet af COD, men en positiv sideeffekt er at spildevandet herved også bliver delvis desinficeret. Der hersker dog nogen uklarhed om, hvorvidt et højt indhold af COD i spildevandet vil have en negativ effekt på desinficeringen (Wojtenko et al, 2001). Analyserne, der er gennemført i forbindelse med nærværende projekt viser, at der, på trods af et højt indhold af COD, kan opnås en betydelig grad af desinfektion. I anlæg, hvor der er en stor belastning fra farveindustri, er der også opnået positive resultater med ozonbehandling til reduktion af farvestoffer i spildevandet.

Det er konstateret, at der selv ved lave doseringer af ozon (14 g/m³) sker en reduktion af COD og TOC. En anden effekt er en meget kraftig reduktion af H₂S også ved lave doseringer af ozon (Absi et al 199?). I almindelighed vil fjernelse af kemiske stoffer i spildevand dog kræve noget højere doseringer end desinfektion, men det nødvendige niveau vil afhænge af såvel de specifikke stoffer, der ønskes fjernet, som spildevandets karakter i øvrigt.

Det må generelt konkluderes, at ozon grundet pris og arbejdsmiljømæssige forhold finder størst udbredelse i forbindelse med industrielle anlæg (Wojtenko et al, 2001).

3.3 Økonomi/omkostninger ved ozonbehandling

Både etableringsomkostningerne og driftsomkostningerne ved et ozon anlæg er betydelige. Det har været den generelle opfattelse, at ozonanlæg er dyrere end både UV-anlæg og specielt kloranlæg til desinfektion af spildevand. Det har dog vist sig at der er meget store udsving i de aktuelle priser og det kan ikke umiddelbart konkluderes, at et ozonanlæg altid vil være mere omkostningstungt med hensyn til anlæg og drift end UV-anlæg. Den efterfølgende prissætning af et tænkt ozonanlæg kan kun opfattes som et meget overordnet overslag. Lokale betingelser og den aktuelle konkurrencesituation vil være meget betydelige faktorer.

Der er taget udgangspunkt i et anlæg på størrelse med anlæggene i Kalundborg og Usserød, det vil sige ca. 10.000 til 15.000 m³ behandlet spildevand pr. dag. Det forudsættes, at spildevandet inden ozonanlægget er rensat til gennemsnitlige udledninger fra danske renseanlæg. Det vil sige under Vandmiljøhandlingsplanens krav. Det forudsættes endvidere, at der ikke er tale om store mængder COD eller BOD i det rensede spildevand.

Hovedkomponenter

Ozon generator	1.500.000 DKK
Installation og rørarbejder	800.000 DKK
Kontakt bassin	1.200.000 DKK
Bygning etc.	700.000 DKK
Projektering etc.	600.000 DKK
Diverse uforudsete udgifter 15%	700.000 DKK
 Samlet	 5.500.000 DKK

Driftsomkostningerne ved et tilsvarende anlæg vil også være meget varierende, men der anslås en størrelsesorden på 500.000 til 1.000.000 DKK pr. år. En meget betydelig del af disse udgifter vil udgøres af el-udgifter. Der må dog også påregnes en betydelig udgift til ilt, hvis udstyret ikke bruger atmosfærisk luft. Der vil dog i dette tilfælde være en reduceret udgift til elforbrug.

På en række større ozon anlæg er der etableret særskilt fabrikation af ren ilt for hermed at reducere driftsomkostningerne.

4 Undersøgellesprogram

Dette projekt har fra starten været tænkt som en indledende undersøgelse af den mulige miljøbelastning fra nogle "nye" kemiske stoffer ved udledning af byspildevand, og opgavens budget har naturligvis afspejlet denne tilgang. Det har derfor været nødvendigt allerede på et meget tidligt tidspunkt i forløbet at træffe en række valg med hensyn til undersøgelsens omfang og metoder, som der kort vil blive redegjort for i det følgende.

Desuden rummer kapitlet konkrete beskrivelser af de valgte lokaliteter (renseanlæg) samt af de anvendte metoder til prøvetagning og analyse.

4.1 Valg af lokaliteter

4.1.1 Overordnede betragtninger

Projektet har, som nævnt i indledningen, haft som hovedformål dels (1) at karakterisere hormonlignende stoffer og lægemiddelrester i rensset og urensset spildevand og dels (2) at undersøge effekten af udvalgte efterbehandlingsmetoder på disse stoffer.

Delformål 1 ville blive tjent bedst ved at udvælge anlæg, der med hensyn til teknologi, drift og oplandsforhold kunne siges at være repræsentative for hovedparten af renseanlæg i Danmark, mens der til delformål 2 især burde fokuseres på de mest realistiske udstyrstyper og driften af dem.

Imidlertid findes der næsten ingen renseanlæg for byspildevand i Danmark, der har etableret efterbehandlingsanlæg, og der har derfor reelt ikke været nogen valgmuligheder med hensyn til delformål 2. Da projektets samlede ressourcer ikke kunne række til en optimal dækning af begge delformål, måtte de anlæg, der kunne benyttes til delformål 2 nødvendigvis blive bestemmende for det samlede valg.

Det var fra starten hensigten, at undersøgelsesprogrammet både skulle omfatte et renseanlæg med ozonbehandling og et med UV-behandling. Det blev imidlertid klart i løbet af projektets indledende fase, at der ikke fandtes et UV-anlæg i Danmark, der var tilstrækkeligt indkørt til at kunne anvendes.

Undersøgelsen af effekten af efterbehandling har derfor måttet begrænses til effekten af ozonbehandling på Kalundborg Centralrenseanlæg, der p.t. er det eneste kommunale anlæg i Danmark, der råder over et sådant anlæg (pilotanlæg, fuldskala anlæg er under opførelse). Oplandet til renseanlægget er noget atypisk, idet omkring halvdelen af den samlede spildevandsmængde, der tilføres, stammer fra en enkelt industrivirksomhed.

Usserød Renseanlæg (Hørsholm) var angiveligt undervejs med et anlæg til UV-behandling af det rensede spildevand og blev derfor valgt som det andet anlæg til undersøgelsen. Oplandet er relativt lille og det samlede spildevand er domineret af bidrag fra private boliger, mens andelen af industrielt spildevand er meget begrænset. Oplandet omfatter desuden et sygehus.

Det viste sig efterfølgende, at UV-anlægget på Usserød ikke kunne nå at blive etableret inden projektperiodens udløb. Et nyt UV-anlæg på Bov renseanlæg (sensommeren 2002) levede ikke op til de lovede specifikationer (de nye EU badevandskrav), mens den praktiske del af projektet blev afviklet, og kunne derfor ikke indgå som alternativ til Usserød. I konsekvens heraf blev Usserød fastholdt som anlæg i undersøgelsen på grund af oplandets karakter og med henblik på eventuelle senere muligheder for at studere UV-anlæggets funktion.

På grund af ombygningsarbejder måtte Kalundborg Renseanlæg udgå af undersøgelsen efter første prøvetagningsrunde, og blev erstattet af Spildevandscenter Avedøre. Dette store renseanlæg, der betjener de vestlige og sydlige omegnskommuner til København, har et stort, blandet opland omfattende både boliger, industri og andet erhverv samt Københavns Amts sygehuse i Herlev og Glostrup.

De tre anlæg, der har indgået i undersøgelsen er altså:

- Usserød Renseanlæg i Hørsholm kommune. Fortrinsvis belastet med husholdningsspildevand samt et sygehus.
- Kalundborg Centralrenseanlæg. Et middelstort renseanlæg med en betydelig industriel belastning.
- Spildevandscenter Avedøre. Danmarks næststørste renseanlæg med en belastning fra både husholdninger, industrier og to store sygehuse.

4.1.2 Usserød Renseanlæg

Anlægget er placeret i Hørsholm kommune og behandler spildevand fra Hørsholm kommune samt dele af Karlebo og Birkerød kommuner. Kloakoplandet er på ca. 1.150 hektar, hvoraf de 792 hektarer er fælleskloakeret. Anlægget er fortrinsvis belastet med husholdningsspildevand samt let industri og et sygehus. Kloaksystemet er opbygget med henblik på minimering af aflastning af spildevand til recipienten.

Anlægget udleder til Nive Å-systemet. Renseanlægget er opbygget som et fuldt biologisk aktivt slamanlæg for fjernelse af organisk materiale, kvælstof og fosfor. En mindre mængde fosfor fjernes ved kemisk fældning.

Anlægget har en nominel kapacitet på 50.000 PE og er aktuelt belastet med 25.000 – 30.000 PE.

Anlægget er opbygget med en mekanisk rensning bestående af rist, sandfang og forklaringsstanke til fjernelse af større partikler samt fedt, grus og bundfældeligt slam.

Den mekaniske rensning efterfølges af den biologiske rensning, som ovenfor nævnt.

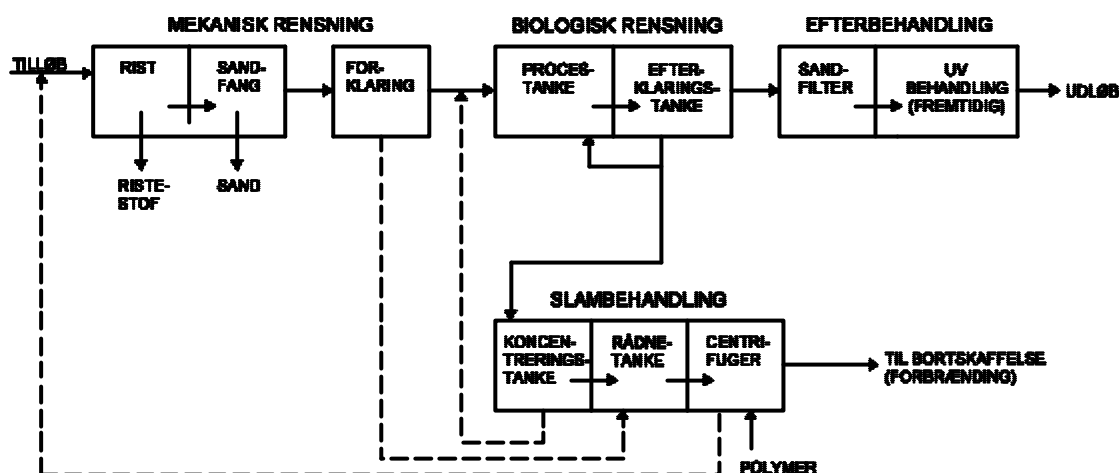
Spildevandet renses yderligere i et sandfiltreringsanlæg inden udledning til recipienten. Det er endvidere planlagt at installere et UV-desinfektionsanlæg.

Anlægget er et typisk mellemstort renseanlæg med en sikker overholdelse af alle gældende udløbskrav.

Tabel 4-1 Typisk ind- og udløbsparametre for Usserød renselanlæg

	Indløb	Udløb
Hydraulisk belastning		11.000 m ³ /d
Organisk belastning BOD	145 mg/l	1 mg/l
COD	350-400 mg/l	22 mg/l
Total N	35 mg/l	4,5 mg/l
Total fosfor	8 mg/l	0,3 mg/l
Suspenderet stof		1 mg/l

Talmateriale fra 2001



Figur 4-1 Principskitse af opbygningen af Usserød renselanlæg.

4.1.3 Kalundborg Centralrenseanlæg

Anlægget behandler spildevand fra Kalundborg samt en betydelig mængde industrielt spildevand. Kloaksystemet er opbygget med henblik på minimering af aflastning af spildevand til recipienten. Anlægget leder det rensede spildevand til Kalundborg Fjord.

Renselanlægget er opbygget som et fuldt biologisk aktivt slamanlæg for fjernelse af organisk materiale og kvælstof. Fosfor fjernes ved kemisk fældning udført som simultanfældning.

Anlægget har en nominel kapacitet på 50.000 PE og er aktuelt belastet med ca. 25.000 PE. Det er opbygget med en mekanisk rensning bestående af rist og sandfang til fjernelse af større synlige partikler samt fedt, grus og bundfældeligt slam. Den mekaniske rensning efterfølges af den biologiske rensning, som ovenfor nævnt.

Spildevandet skal i fremtiden renses yderligere i et ozonanlæg inden udledning til recipienten. Ozonanlægget vil blive etableret med henblik på reduktion af COD-indholdet i det rensede spildevand. Der er for tiden etableret et ozon-pilotanlæg på renselanlægget. Det høje COD-indhold skyldes den store industrielle belastning af anlægget, primært fra en enkelt virksomhed.

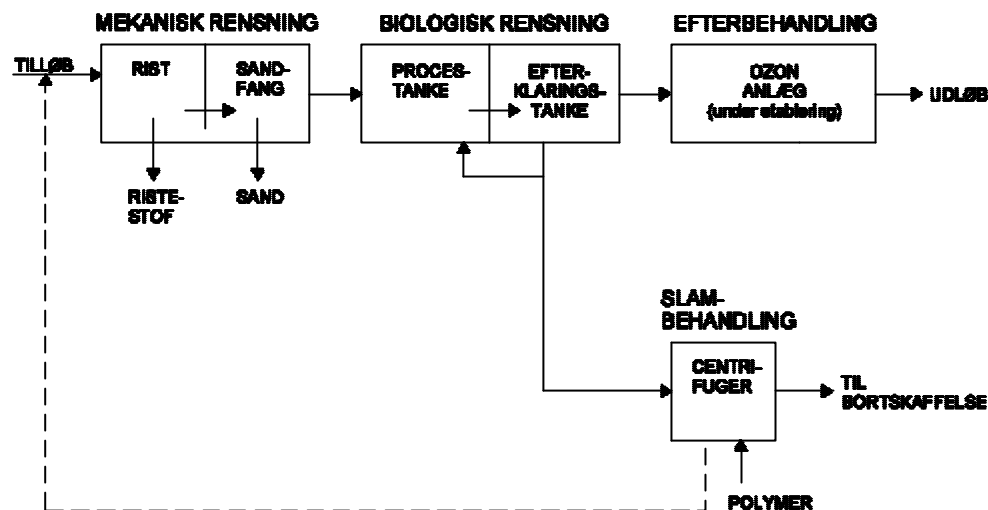
Anlægget er atypisk ved den temmelig store industrielle belastning, og udledningen af både kvælstof og COD er meget høj, og der sker til tider overskridelser af udlederkravene.

Tabel 4-2 Typisk ind- og udløbsparametre for Kalundborg Centralrenseanlæg

	Indløb	Udløb
Hydraulisk belastning		12.600 m ³ /d
Organisk belastning BOD	113 mg/l	3.5 mg/l
COD	400-500 mg/l	159 mg/l*
Total N	38 mg/l	10 mg/l
Total fosfor	6 mg/l	0.5 mg/l
Suspenderet stof		1 mg/l

Talmateriale fra 2001

* Talmateriale fra 2000



Figur 4-2 Principskitse af opbygningen af Kalundborg Centralrenseanlæg.

4.1.4 Spildevandscenter Avedøre

Spildevandscenter Avedøre er belastet med ca. 345.000 personækvivalenter. Omkring 70% af belastningen er fra husholdningsspildevand, mens resten af belastninger stammer fra industriel belastning samt to store sygehuse (Herlev og Glostrup). Oplandet omfatter omkring 10 kommuner i det vestlige og sydlige København.

Spildevandet renses mekanisk, biologisk og kemisk. Sideløbende med disse rensprocesser sker der en omfattende slambehandling med afsluttende forbrænding. Det mekaniske renselinje fjerner større partikler (klude, plastikposer, vatpinde mv.) samt renses for fedt, grus og bundfældeligt slam.

Det biologiske/kemiske renselinje fjerner organisk stof og næringsalte (kvælstof og fosfor). Det rensede vand pumpes via en 1 km lang rørledning ud i Køge Bugt og udledes 6 m under havoverfladen.

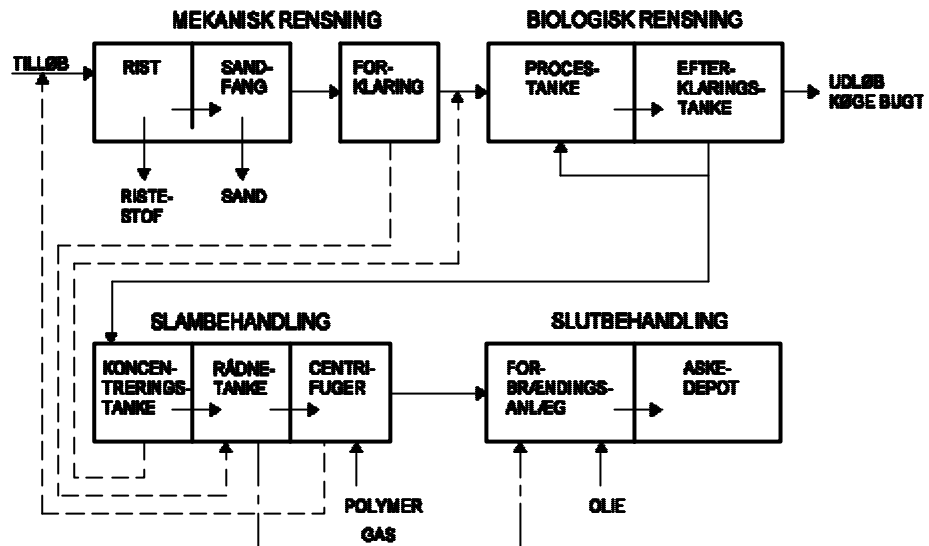
Slambehandlingen foregår dels i et traditionelt anlæg bestående af rådnetanke og slamafvanding, dels i et slamforbrændingsanlæg hvor slammet forbrændes. Askeresten fra forbrændingen deponeres på anlægget. Opbygningen af renselinjet på Spildevandscenter Avedøre fremgår af figur 4-3.

Anlægget er et typisk stort renselinje med en sikker overholdelse af alle gældende udløbskrav. Typiske ind- og udløbsparametre for anlægget (MBNKD) fremgår af tabel 4-3.

Tabel 4-3 Typiske ind- og udløbsdata for Spildevandscenter Avedøre.

	Indløb	Udløb
Hydraulisk belastning		73.000 m ³ /d
Organisk belastning BOD	285 mg/l	4.5 mg/l
COD	500 mg/l	46 mg/l
Total N	45 mg/l	5.5 mg/l
Total fosfor	9 mg/l	1 mg/l
Suspenderet stof		13 mg/l

Talmaterialet er fra 2001



Figur 4-3 Principskitse af opbygningen af Spildevandscenter Avedøre.

4.2 Prøvetagning og kemiske analyser

4.2.1 Overordnede betragtninger

Det blev fra starten valgt at prioritere prøvetagnings- og analyseindsatsen inden for projektets ressourcer i retning af flere prøvetagninger på få anlæg frem for end én prøvetagning på et større antal anlæg. I realiteten indebærer dette valg, at der kunne gennemføres tre prøvetagningsrunder af spildevand i indløb og udløb på to anlæg med henblik på karakterisering af hormonforstyrrende stoffer og medicinrester.

Effekten af ozonbehandling skulle efter den oprindelige plan undersøges når resultaterne af den første karakterisering forelå, sådan at analyseprogrammet kunne optimeres til formålet. Der var planlagt undersøgelse først ved tre forskellige doseringsniveauer og derefter ved to forskellige kontakttider. På grund af nedlukning af ozonanlægget i forbindelse med de nævnte ombygninger i Kalundborg måtte afprøvningen af effektiviteten af ozonbehandling imidlertid afvikles i forbindelse med første prøvetagning og kom kun til at omfatte doseringsniveauer.

Det realiserede prøvetagningsprogram kom derfor til at omfatte følgende: En prøvetagningsrunde på Kalundborg Centralrenseanlæg og tre runder på såvel Spildevandscenter Avedøre som Usserød Renseanlæg.

Prøvetagningen til dette projekt har skullet udføres parallelt med et projekt om smitstoffer i spildevand, der afrapporteres særskilt. Mikrobiologiske prøver tages som stikprøver, mens flowproportionale døgnprøver foretrækkes til

kemisk karakterisering, som i dette projekt. Det gælder især indløbsprøverne, hvor de største fluktuationer i spildevandets sammensætning forekommer. Som kompromis mellem de to hensyn er det valgt at udtage indløbsprøverne som såkaldte "kvalificerede stikprøver", se afsnit 4.2.2, en fremgangsmåde, der i et vist omfang udjævner de nævnte fluktuationer.

Analyseprogrammet skulle i følge projektformålet omfatte to grupper af stoffer; hormonforstyrrende stoffer og humane lægemiddelstoffer.

EU-Kommissionen har i en kommunikation til Rådet og Europaparlamentet (ref, 2001) udpeget ca. 550 stoffer, der med større eller mindre grad af sikkerhed vides eller mistænkes for at besidde hormonforstyrrende egenskaber. Danmarks Farmaceutiske Højskole har på den anden side, i forbindelse med en høring om hormonforstyrrende stoffer i foråret 2002, fremhævet, at omkring 90% af den samlede kønshormonale effekt i spildevand hidrører fra naturlige og syntetiske østrogener.

Det har derfor været oplagt at inddrage de væsentligste østrogener i undersøgelsen, mens Kommissionens liste har måttet reduceres til nogle få stoffer med rimelig veldokumenteret effekt og samtidig relevans for spildevandsforhold i Danmark. Herved kunne f.eks. et betydeligt antal chlorerede pesticider og beslægtede stoffer udelades.

Tilsvarende er der på lægemiddelsiden principielt et stort antal stoffer, der anvendes og i betydelig grad tilføres afløbssystemerne, når stofferne udskilles fra kroppen, primært med urinen. I realiteten er de mængder, der anvendes af de fleste lægemidler, dog så små, at de resulterende koncentrationer i spildevandet vil være umålelige.

Der blev derfor til dette indledende projekt primært satset på de mest anvendte stoffer inden for de vigtigste terapeutiske kategorier. Imidlertid er den analysekemiske erfaring med medicin stoffer meget begrænset, og den opstillede stofliste måtte derfor af tekniske (samt økonomiske) årsager begrænses til 11 stoffer.

4.2.2 Prøvetagningssteder og -metoder

Prøverne til kemisk karakterisering af spildevandssammensætningen i indløbet blev på alle tre anlæg udtaget efter spildevandets passage af risteværk og sandfilter/fedtfang. Dette skyldtes dels praktiske forhold (især i Kalundborg), men giver også et bedre indtryk af selve renseprocessernes evne til at fjerne eller reducere de undersøgte stoffer. Omvendt er en vis del af råspildevandets totalindhold af stofferne altså blevet frasepareret før analyse.

Indløbsprøverne blev, som begrundet i afsnit 4.2.1, udtaget ved såkaldt "kvalificeret stikprøvetagning" efter "Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer und zur Anpassung der Anlage des Abwasserabgabengesetzes" (Bundesgesetzblatt Jahrgang 1997 Teil I Nr. 19, Bonn, 25. März 1997). I denne standard foreskrives udtagning af en samleprøve bestående af fem lige store delprøver udtaget med mindst 2 minutters intervaller inden for et samlet tidsrum af maksimalt 2 timer.

Udløbsprøverne blev udtaget nedstrøms iltningsstrappen efter efterklaringsbassinerne (dog i målebrønd MB03 på Kalundborg, der udleder gennem trykledning til Kalundborg Fjord).

4.2.3 Kemisk karakterisering

Spildevandsprøverne er blevet karakteriseret med hensyn til almindelige spildevandsparametre samt indholdet af udvalgte specifikke stoffer inden for tre grupper: Naturlige og syntetiske kønshormoner (østrogener), hormonforstyrrende industrikemikalier og lægemiddelstoffer.

4.2.3.1 Generelle spildevandsparametre

For at kunne sammenligne de udtagne prøver med hinanden og med spildevand fra andre danske renseanlæg er der for alle prøver blevet bestemt et antal almindelige spildevandsparametre, der fremgår af tabel 4-4.

Tabel 4-4 Oversigt over analysemetoder for generelle spildevandsparametre

Parameter	Analysemetode
pH	DS 287
Suspenderet stof	DS 207
COD	DS 217, 1991
Total-N	DS 221 + FIA
Total-P	DS 292

4.2.3.2 Hormoner og hormonforstyrrende stoffer

Naturlige og syntetiske østrogener

Analyseprogrammet for denne gruppe af stoffer har omfattet E1, E2 og EE2. Stofferne blev bestemt efter en metode, hvor vandprøven membranfiltreres før videre oparbejdning og kun de frie østrogener bestemmes (der findes p.t. ikke rutinemæssigt benyttede metoder til bestemmelse af konjugerede former af østrogener). Metodens videre forløb består af en surgøring til pH 3 og efterfølgende fastfase-ekstraktion (SPE) på C₁₈-kolonne. Ekstraktet oprenses på kiselgelsøjle, derivatiseres og analyseres herefter ved gaschromatografi med tandem massespektrometrisk detektion (GC-MS/MS).

Ved den anvendte metode var detektionsgrænsen for E1 2 ng/l, mens den for E2 og EE2 var 1 ng/l. Præcisionen i bestemmelserne er angivet til 20-30% (RSD = relativ standardafvigelse), men dog op til 50% ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse.

Industrielle hormonforstyrrende stoffer

Analyseprogrammet omfattede følgende stoffer/stofgrupper:

- Nonylphenol samt små -ethoxylater (NPE, 1-2 EO)
- Octylphenol
- Bisphenol A
- Phthalater: DEP, DBP, BBP, DEHP, DOP, DINP

Stofferne blev bestemt ved en fælles metode, hvor en delprøve (uden filtrering) ekstraheres med dichlormethan, hvorefter ekstraktet inddampes og analyseres ved GC-MS.

Ved denne metode var detektionsgrænsen for de fleste af stofferne 0,1 µg/l, dog var detektionsgrænsen for DEP 0,2 µg/l og for DBP og DEHP 0,5 µg/l. Præcisionen angives til 15% (RSD), dog op til 50% ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse.

4.2.3.3 Lægemiddelstoffer

Lægemiddelstoffer blev analyseret efter en dobbeltmetode baseret på multi-analysemetoder for pesticider i vand.

Ved den første delmetode blev vandprøven membranfiltreret og ekstraheret ved pH 6 på en SPE-kolonne bestående af divinylbenzen/vinylpyrrolidon. Ekstraktet blev herefter analyseret ved væskechromatografi med detektion ved hhv. massespektrometri (LC-MS) med negativ ionisering og tandem massespektrometri (LC-MS/MS) med positiv ionisering. Ved denne metode blev følgende stoffer bestemt:

- Bendroflumethiazid
- Terbutalin
- Sulfamethizol
- Paracetamol
- Penicillin V (= phenoxymethylpenicillin)
- Furosemid
- Enalapril
- Ketoconazol.

Metodens præcision angives til 20-25% RSD, dog op til 50% ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse. Detektionsgrænsen varierede mellem 0,1-0,3 µg/l for de forskellige stoffer. Analyseusikkerheden på indløbsprøver må forventes at være højere end ovenstående pga. det høje indhold af partikulært materiale.

Den anden delmetode var baseret på væske-væskeekstraktion med dichlormethan efter forudgående justering af pH til 2 og efterfølgende analyse af ekstraktet ved GC-MS. Ved denne delmetode blev følgende stoffer bestemt:

- Salicylsyre
- Acetylsalicylsyre
- Ibuprofen

Præcisionen af metoden angives til 15-20% RSD, dog op til 50% ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse. Analyseusikkerheden på indløbsprøver må forventes at være højere end ovenstående pga. det høje indhold af partikulært materiale.

Der var således fire af de ideelt ønskede stoffer jf. afsnit 2.3.3 - amoxicillin, erythromycin, citalopram og budesonid - der ikke kunne bestemmes ved metoden. Det vil kræve udvikling af specielle metoder at kunne bestemme disse stoffer i en kompliceret matrix som spildevand.

4.2.4 Ozonbehandling

Effekten af ozonbehandling på den miljøkemiske kvalitet af det rensede spildevand på Kalundborg Centralrenseanlæg er blevet testet på tre forskellige niveauer; nominelt hhv. 20, 50 og 80 g/m³. Yderligere planlagte test har måttet aflyses pga. ozonanlæggets nedlukning midt i undersøgelsesperioden.

5 Resultater og diskussion

5.1 Prøvetagning

En oversigt over de gennemførte prøvetagninger på de tre anlæg fremgår af tabel 5-1 herunder. Ved alle prøvetagninger havde vejret i dagene op til prøvetagningstidspunktet været tørt, og prøverne repræsenterer derfor spildevand uden påvirkning af overfladeafstrømning. Dog var det begyndt at regne kort inden sidste prøvetagning på Usserød Renseanlæg (12-11-2002), og visuelt bedømt var den deraf følgende overfladeafstrømning begyndt at påvirke flow'et i indløbet.

Tabel 5-1 Oversigt over prøvetagningstidspunkter på Kalundborg, Avedøre og Usserød renseanlæg samt vejrbetainger

	04-09-2002	09-10-2002	06-11-2002	12-11-2002*
Kalundborg	Tid: 10-12.30 25 grader, sol, tørvejrperiode	ingen prøver	ingen prøver	ingen prøver
Avedøre	ingen prøver	Tid: 9.30-10.30 5 grader, sol tørvejrperiode	Tid: 9.30-10.30 3 grader, letskyet tørvejrperiode	Tid: 10-10.45 5 grader, skyet begyndende regn
Usserød	ingen prøver	Tid: 11.15-12 7 grader, sol tørvejrperiode	Tid: 11.15-12 4 grader, letskyet tørvejrperiode	Tid: 11.30-12.15 6 grader, skyet let regn

* Ingen regn de sidste par dage op til prøvetagningen

Indløbsprøverne er på alle tre anlæg udtaget umiddelbart efter sand-/fedtfang, hvorfor der er sket en vis (mindre) frafiltrering af råspildevandets indhold af kemiske stoffer.

Som nævnt i afsnit 4.2.1 er prøvetagningen til dette projekt gennemført samtidig med prøvetagningen til et parallelt projekt om smitstoffer i spildevand. Af hensyn til nævnte projekt, hvortil der blev krævet akkrediteret prøvetagning i form af stikprøver, er alle indløbsprøver udtaget som såkaldte "kvalificerede stikprøver" (afsnit 4.2.2) for bedst muligt at udjævne fluktuationer i sammensætningen af det indkommende spildevand.

Ved alle prøvetagninger blev prøverne afleveret til de respektive laboratorier mindre end 2 timer efter udtagningen af den sidste prøve på renseanlægget.

5.2 Kemisk karakterisering

5.2.1 Generelle spildevandsparametre

Resultater af analyser for almindelige spildevandsparametre i indløb og udløb fremgår af tabellerne 5-2, 5-3 og 5-4 for hhv. Kalundborg, Avedøre og Usserød renseanlæg.

Tillige er der for Kalundborg angivet niveauerne efter ozonbehandling ved nominelle niveauer på 20, 50 og 80 gram ozon/m³, der faktisk blev bestemt til hhv. 21,5; 53,5 og 88,4 g/m³. Kontakttiden var 15 minutter.

Tabel 5-2 generelle spildevandsparametre på Kalundborg Centralrenseanlæg (indløb og udløb samt efter ozonbehandling på tre niveauer)

Parameter	Enhed	Indløb	Udløb	Ozon-21,5*	Ozon-53,5*	Ozon-88,4*
pH	-	7,99	7,97	8,06	7,91	7,81
Susp. stof	mg/l	280	18	11	9,7	13
COD	mg O ₂ /l	310	170	150	140	120
total-N	mg N/l	33	13	13	13	13
total-P	mg P/l	4,02	0,58	0,94	0,91	0,93

* Ozondosering i g/m³.

Vedrørende bestemmelsen af COD skal det bemærkes, at den benyttede standardanalysemetode (DS 217) ikke er optimal til analyse af spildevandet på Kalundborg da dette spildevand har et meget højt indhold af chlorid. Dette er først blevet oplyst, efter at undersøgelsesprogrammet var iværksat. Imidlertid har data for COD fra anlæggets prøvetagning til egenkontrol, udtaget i samme døgn som prøverne til dette projekt, vist sig at stemme rimeligt overens med COD-værdierne i tabel 5-2 (hhv. 350 mg/l og 130 mg/l for indløb og udløb bestemt efter DIN38409).

Tabel 5-3 generelle spildevandsparametre på Spildevandscenter Avedøre

Parameter	Enhed	Avedøre 1		Avedøre 2		Avedøre 3	
		indløb	udløb	indløb	udløb	indløb	udløb
pH		7,63	7,31	7,67	7,56	7,78	7,99
Susp. stof	mg/l	490	5,7	400	6,1	410	4,7
COD	mg O ₂ /l	890	41	710	44	580	33
total-N	mg N/l	71	4,6	64	6,4	62	3,7
total-P	mg P/l	11,1	1,34	9,73	0,76	9,07	0,52

Tabel 5-4 generelle spildevandsparametre på Usserød renseanlæg

Parameter	Enhed	Usserød 1		Usserød 2		Usserød 3	
		indløb	udløb	indløb	udløb	indløb	udløb
pH		7,71	7,34	7,69	7,53	7,50	7,90
Susp. stof	mg/l	440	1,7	520	1,9	880	1,2
COD	mg O ₂ /l	750	25	880	24	1480	24
total-N	mg N/l	69	3,3	62	3,7	46	3,3
total-P	mg P/l	12,9	0,19	12,5	0,12	17,7	0,12

Man bemærker, at der er nogen forskel mellem niveauerne på de tre anlæg, især adskiller Kalundborgs spildevand sig ved kun at have omkring halvt så meget suspenderet stof, COD, N og P i indløbet som de to andre anlæg, men betydeligt mere rest-COD efter rensning. Dette skyldes formentlig den store mængde spildevand fra en enkelt industriel kilde i oplandet.

De målte niveauer af de almindelige spildevandsparametre svarer i øvrigt generelt til tyndt husspildevand på Kalundborg, mens koncentrationerne på både Avedøre og Usserød kan betegnes som svarende til moderat/tykt spildevand. Sidste prøve på Usserød må dog betegnes som tykt spildevand. Niveauerne af COD i indløbene til Avedøre og Usserød ligger noget over de værdier, som anlæggene selv har angivet som typiske (afsnit 4.1.2 og 4.1.4). Dette kan skyldes, at anlæggenes egne tal stammer fra døgnprøver, mens data i tabel 5-3 og 5-4 er fremkommet ved stikprøvetagning på et tidspunkt af dagen (morgen/formiddag), hvor belastningen formodentlig er høj.

De gennemsnitlige rensegrader for suspenderet stof, COD, total-N og total-P på Spildevandscenter Avedøre er beregnet til hhv. 98,7%; 94,5%; 92,5% og 91,5%, mens de tilsvarende rensegrader på Usserød er opgjort til 99,7%; 97,4%; 94% og 99%. Der bemærkes især meget lave udløbsværdier på Usserød for suspenderet stof og total-P, formodentlig opnået gennem den afsluttende sandfiltrering.

Hormoner og hormonforstyrrende stoffer

Analyseresultaterne for de undersøgte naturlige og syntetiske østrogener samt industristoffer med lignende effekter er vist i tabellerne 5-5, 5-6 og 5-7. Værdierne i tabel 5-5 repræsenterer kun én prøvetagning, mens de to øvrige dækker tre prøvetagninger hver.

Tabel 5-5 Kønshormoner og hormonforstyrrende industrikemikalier på Kalundborg Centralrenseanlæg (indløb og udløb samt efter ozonbehandling på tre niveauer)

Parameter	Enhed	Indløb	Udløb	Ozon-21,5*	Ozon-53,5*	Ozon-88,4*
<i>Kønshormoner</i>						
østron	ng/l	<2	<2	<2	<2	<2
17β-østradiol	ng/l	5,2	<1	<1	<1	<1
17α-ethinyl østradiol	ng/l	<1	<1	<1	<1	<1
<i>Hormonforstyrrende industristoffer</i>						
Nonylphenoler	µg/l	6,1	0,21	<0,10	<0,10	<0,10
NPE, 1-2 EO	µg/l	1,2	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Octylphenol	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Bisphenol A	µg/l	0,79	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Diethylphthalat	µg/l	4,1	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Di-n-butylphthalat	µg/l	1,1	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Butylbenzylphthalat	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Diethylhexylphthalat	µg/l	9,5	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Di-n-octylphthalat	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Di-iso-nonylphthalat	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10

* Ozondosering angivet i g/m³.

Ved prøvetagningen på Kalundborg er der generelt kun påvist lave niveauer af de målte stoffer i indløbet, dette gælder både østrogener og industrikemikalier. Niveauerne af østrogener i Kalundborgs spildevand er betydeligt lavere end på de to andre anlæg i denne undersøgelse og i forhold til angivelser i litteraturen jf. afsnit 2.1. Også niveauerne af de øvrige stoffer er lavere end gennemsnittet for danske renseanlæg jf. afsnit 2.2. Dette skyldes formodentlig delvis den særlige sammensætning af spildevandet i Kalundborg, der for ca. halvdelen vedkommende stammer fra en enkelt virksomhed, som ikke vurderes at bidrage med de pågældende stoffer i betydende omfang.

I konsekvens af de lave indløbskoncentrationer er også udløbets indhold af østrogener og andre hormonforstyrrende stoffer meget lavt, faktisk under detektionsgrænsen i alle tilfælde på nær et (nonylphenoler).

Tabel 5-6 Kønshormoner og hormonforstyrrende industrikemikalier på Spildevandscenter Avedøre

Parameter	Enhed	Avedøre 1		Avedøre 2		Avedøre 3	
		indløb	udløb	indløb	udløb	indløb	udløb
<i>Kønshormoner</i>							
østron	ng/l	19	11	40	7	75	5
17β-østradiol	ng/l	6,5	4,5	6,1	<1	27	<1
17α-ethinyløstradiol	ng/l	1,1	5,2	<1	<1	1,7	1,2
<i>Hormonforstyrrende industristoffer</i>							
Nonylphenoler	µg/l	4,2	0,21	3,5	0,31	4,1	<0,20
NPE, 1-2 EO	µg/l	4,9	<0,10	2,3	<0,20	4,9	<0,10
Octylphenol	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Bisphenol A	µg/l	0,95	1,4	2,8	0,35	2,7	0,14
Diethylphthalat	µg/l	10	<0,20	10	<0,20	11	<0,20
Di-n-butylphthalat	µg/l	2,6	<0,50	1,5	<0,50	2,5	<0,50
Butylbenzylphthalat	µg/l	1,5	<0,10	0,78	<0,10	0,69	<0,10
Diethylhexylphthalat	µg/l	46	<0,50	43	<0,50	45	<0,50
Di-n-octylphthalat	µg/l	0,19	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Di-iso-nonylphthalat	µg/l	0,24	<0,10	<0,10	<0,10	<0,20	<0,10

Tabel 5-7 Kønshormoner og hormonforstyrrende industrikemikalier på Usserød renseanlæg

Parameter	Enhed	Usserød 1		Usserød 2		Usserød 3	
		indløb	udløb	indløb	udløb	indløb	udløb
<i>Kønshormoner</i>							
østron	ng/l	30*	<2	61	<2	37	<2
17β-østradiol	ng/l	22*	<1	17	<1	8,8	<1
17α-ethinyløstradiol	ng/l	4,8*	1,1	1,7	<1	2,7	<1
<i>Hormonforstyrrende industristoffer</i>							
Nonylphenoler	µg/l	2,7	0,12	3,0	<0,20	3,0	<0,20
NPE, 1-2 EO	µg/l	6,4	<0,10	3,4	<0,10	2,0	<0,10
Octylphenol	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,30	<0,10
Bisphenol A	µg/l	1,3	<0,10	1,3	<0,10	1,1	<0,10
Diethylphthalat	µg/l	14	<0,20	16	<0,20	11	<0,20
Di-n-butylphthalat	µg/l	2,4	<0,50	2,1	<0,50	2,3	<0,50
Butylbenzylphthalat	µg/l	0,91	<0,10	1,1	<0,10	0,64	<0,10
Diethylhexylphthalat	µg/l	22	<0,50	27	0,61	22	<0,50
Di-n-octylphthalat	µg/l	0,24	<0,10	<0,10	<0,10	<0,20	<0,10
Di-iso-nonylphthalat	µg/l	0,19	<0,10	<0,20	<0,10	<0,3	<0,10

* Forøget analyseusikkerhed pga. lav genfindning ved oparbejdning.

På såvel Avedøre som Usserød er indløbskoncentrationerne af østrogener betydeligt højere end på Kalundborg og ligger på linie med angivelser i den internationale litteratur jf. tabel 2-1. Samtidig observeres en betydelig variation i niveauer fra den ene prøvetagningsrunde til den næste.

Renseprocesserne på de to anlæg indebærer en reduktion i spildevandets indhold af østrogener, der dog er noget varierende på Avedøre, mens fjernelsen på Usserød er næsten fuldstændig.

Hvad angår de industrielle hormonforstyrrende stoffer er forskellen mellem Kalundborg og de to andre anlæg mindre, men niveauet er dog lavere på Kalundborg på nær nonylphenoler. For industrikemikalierne er niveauerne på Avedøre og Usserød temmelig ens og variationerne mellem prøvetagningerne er desuden meget mindre, end de var for østrogenerne. Niveauerne svarer rimeligt til de, som er påvist på andre danske renseanlæg (se tabel 2-3), dog med en tendens til, at indløbskoncentrationerne i denne undersøgelse er højere, mens udløbskoncentrationerne er lavere.

Der er også for industrikemikalierne en tendens til, at stoffjernelsen er bedre på Usserød end på Avedøre. Det er dog kun ganske få stoffer, der, med de opnåede detektionsgrænser på 0,1-0,5 µg/l, overhovedet har kunnet påvises i udløbene på de to anlæg. Det drejer sig om nonylphenoler, bisphenol A og DEHP, der er påvist i hhv. 3, 3 og 1 udløbsprøve (ud af i alt 6) og typisk i koncentrationer på ca. 1/10 - 1/20 af de tilhørende indløbskoncentrationer.

5.2.2 Lægemiddelstoffer

Analyseprogrammet for lægemiddelstoffer er gennemført med en metode til prøveoparbejdning og analyse, der blev udviklet og indkørt til formålet. Der er således ikke tale om en fuldt ud valideret standardmetode, men der er opnået en acceptabel analysepræcision og -følsomhed for de 11 stoffer, der har kunnet bestemmes kvantitativt ved metoden jf. afsnit 4.2.3.3. Resultaterne fremgår af tabellerne 5-8, 5-9 og 5-10.

Tabel 5-8 Lægemiddelstoffer i spildevand på Kalundborg Centralrenseanlæg (indløb og udløb samt efter ozonbehandling på tre niveauer)

Parameter	Enhed	Indløb	Udløb	Ozon-20*	Ozon-50*	Ozon-80*
Salicylsyre	µg/l	12	<0,20	0,27	0,23	<0,20
Acetylsalicylsyre	µg/l	1,1	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Ibuprofen	µg/l	1,9	0,14	0,13	<0,10	<0,10
Bendroflumethiazid	µg/l	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30
Terbutalin	µg/l	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Sulfamethizol	µg/l	2,7	0,76	<0,20	<0,20	<0,20
Paracetamol	µg/l	93	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30
Penicillin V	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Furosemid	µg/l	2,7	0,45	<0,10	<0,10	<0,10
Enalapril	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Ketoconazol	µg/l	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20

* De reelle niveauer var hhv. 21,5 g/m³, 53,5 g/m³ og 88,4 g/m³.

Som for de øvrige målte stoffer, er der også for lægemiddelstofferne en tendens til, at niveauerne i indløbet til Kalundborg Centralrenseanlæg er lavere end på de to andre undersøgte anlæg. Det er dog ikke særlig markant på nær for salicylsyre. Ud af de 11 målte stoffer kunne kun tre genfindes i udløbet fra anlægget. Det drejer sig om ibuprofen, sulfamethizol og furosemid i koncentrationer på hhv. ca. 7%, 28% og 17% af indløbskoncentrationerne.

Noget uforklarligt er salicylsyre blevet påvist i to af de ozonerede prøver (Ozon-20 og Ozon-50), selv om dette stof ikke kunne detekteres (heller ikke som spor) i udløbsprøven fra den almindelige spildevandsrensning (= indløbet til ozonanlægget). Det vides ikke, om stoffet evt. kan dannes ved ozonering f.eks. gennem oxidation af benzaldehyd til benzoesyre (salicylsyre er det samme som o-hydroxy-benzoesyre) eller måske ud fra o-cresol.

Tabel 5-9 Lægemiddelstoffer i spildevand (indløb og udløb) på Spildevandscenter Avedøre

Parameter	Enhed	Avedøre 1		Avedøre 2		Avedøre 3	
		indløb	udløb	indløb	udløb	indløb	udløb
Salicylsyre	µg/l	110	<0,20	56	<0,20	70	<0,20
Acetylsalicylsyre	µg/l	1,5	<0,20	2,9	<0,20	2,5	<0,20
Ibuprofen	µg/l	2,3	0,30	4,5	<0,10	6,1	<0,10
Bendroflumethiazid	µg/l	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30
Terbutalin	µg/l	0,32	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Sulfamethizol	µg/l	5,5	3,2	1,6	1,8	2,4	1,7
Paracetamol	µg/l	160	<0,30	97	<0,30	95	<0,30
Penicillin V	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Furosemid	µg/l	10	2,5	1,6	3,5	2,4	4,2
Enalapril	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Ketoconazol	µg/l	0,20	<0,20	<0,20	<0,20	0,27	<0,20

Tabel 5-10 Lægemiddelstoffer i spildevand (indløb og udløb) på Usserød renseanlæg

Parameter	Enhed	Usserød 1		Usserød 2		Usserød 3	
		indløb	udløb	indløb	udløb	indløb	udløb
Salicylsyre	µg/l	99	<0,20	58	<0,20	26	<0,20
Acetylsalicylsyre	µg/l	3,2	<0,20	3,0	<0,20	1,5	<0,20
Ibuprofen	µg/l	3,5	<0,10	3,7	<0,10	2,0	<0,10
Bendroflumethiazid	µg/l	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30
Terbutalin	µg/l	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Sulfamethizol	µg/l	2,1	2,9	0,52	1,2	0,72	2,1
Paracetamol	µg/l	72	<0,30	74	<0,30	58	<0,30
Penicillin V	µg/l	<0,10	<0,10	0,43	<0,10	0,31	<0,10
Furosemid	µg/l	4,0	2,0	4,4	2,5	2,5	3,3
Enalapril	µg/l	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Ketoconazol	µg/l	<0,20	<0,20	1,1	<0,20	<0,20	<0,20

På alle tre anlæg observeres de højeste indløbskoncentrationer for de to mest anvendte smertestillende midler i Danmark; acetylsalicylsyre (primært i form af metabolitten salicylsyre) og paracetamol. Disse stoffer er påvist i betydeligt højere koncentrationer end nogen af de andre målte stoffer; salicylsyre således op til 110 µg/l og paracetamol helt op til 160 µg/l. Både (acetyl)salicylsyre og paracetamol fjernes imidlertid effektivt fra spildevandet under passagen gennem renseanlæggene (formodentlig nedbrydes de næsten fuldstændigt) og har i intet tilfælde kunnet påvises i udløbsprøverne.

Acetylsalicylsyre og paracetamol er som nævnt de mængdemæssigt mest betydende lægemidler i Danmark. De solgte mængder er ca. 10 gange større end de næstmest anvendte stoffer, som er furosemid og ibuprofen samt antibiotika som sulfamethizol og penicillin V. Det er da også disse stoffer (på nær penicillin V, der er let nedbrydeligt), der påvises i de næsthøjeste indløbskoncentrationer dvs. koncentrationer i størrelsesordenen 2-10 µg/l.

Imidlertid tilbageholdes de tre nævnte stoffer ikke nær så godt i anlæggene som salicylsyre og paracetamol, og både furosemid og sulfamethizol er blevet påvist i samtlige udløbsprøver fra alle tre renseanlæg, mens ibuprofen er påvist i den enlige udløbsprøve på Kalundborg og én af udløbsprøverne på Avedøre. Fjernelsesgraden for ibuprofen er i alle tilfælde mindst 87%.

Det bemærkes, at for både sulfamethizol og furosemid er koncentrationen i udløbet i flere tilfælde højere end i indløbet, hvilket næppe er sandsynligt. Disse resultater kan være fremkommet ved en kombination af en beskedent fjernelsesgrad hen over renseanlægget og en eller flere af følgende faktorer:

- betydelig analyseusikkerhed ved lave koncentrationer
- det er ikke det samme vand, der måles på i indløb og udløb (prøverne er udtaget samtidig, men opholdstiden i anlægget er typisk et døgn)
- de nævnte stoffer kan frigives fra partikulært materiale eller fra konjugater som en afledt effekt af renseprocessen.

De øvrige analyserede stoffer har ikke kunnet påvises i udløbsprøverne og to stoffer - bendroflumethiazid og enalapril - er heller ikke detekteret i nogen indløbsprøve. Terbutalin og ketoconazol er hver kun påvist i en enkelt indløbsprøve (på hhv. Avedøre og Usserød).

5.3 Effekt af ozonbehandling

Grundlaget for vurdering af effekten af ozonbehandling må betegnes som spinkelt, da der kun har kunnet foretages målinger ved en enkelt lejlighed. Der kunne observeres en mindre reduktion i suspenderet stof og COD, og især var COD-reduktionen tydeligt dosisafhængig. På det højeste niveau (88,4 gram O_3/m^3) opnåedes en reduktion på ca. 30% i forhold til indløbskoncentrationen.

De hormonforstyrrende stoffer var alle på nær ét væk allerede i indløbet til ozonanlægget, og det sidste stof, nonylphenol, forsvandt ved laveste ozondoseringsniveau (21,5 g/m^3). Blandt lægemiddelstofferne blev ibuprofen, sulfamethizol og furosemid fundet i indløbet, men kun ibuprofen kunne stadig detekteres efter laveste ozondosering. Dvs. fjernelsen af de to øvrige var mindst 75%. Ibuprofen forsvandt ved 53,5 g/m^3 og var da reduceret med mindst 30% i forhold til indløbskoncentrationen.

6 Opsamling og konklusioner

6.1 Undersøgelsens strategi og metoder

Den gennemførte undersøgelse har haft to hovedformål - karakterisering af forskellige stoffer i byspildevand samt undersøgelse af effekten af ozonbehandling - der reelt er uafhængige og altså ikke nødvendigvis kan løses optimalt med det samme program for indsamling og udtagning af prøver.

Yderligere har projektet skullet løses parallelt og koordineret med en tilsvarende undersøgelse af smitstoffer, hvortil der var stillet krav med hensyn til prøvetagning, der retter sig specifikt mod håndtering af mikroorganismer og ikke mod kemiske stoffer. Indløbsprøverne blev derfor taget som stikprøver (sammenstukket af 5 delprøver) og ikke f.eks. flowproportionale døgnprøver, som man almindeligvis ville vælge til kemiske analyser.

6.1.1 Lokalteter

Det blev meget tidligt klart, at lokaliteterne til undersøgelsen hovedsageligt måtte udvælges ud fra, hvilke renseanlæg, der overhovedet var udstyret med efterbehandlingsanlæg. Herved måtte Kalundborg Centralrenseanlæg nødvendigvis inddrages i undersøgelsen (eneste danske anlæg med ozon efterbehandling), selv om dette anlæg har en meget atypisk spildevandssammensætning grundet tilstedeværelsen af enkelt dominerende industrivirksomhed i oplandet.

Usserød blev valgt som det andet anlæg på grund af en forventet installation af et UV-behandlingsudstyr, som imidlertid er blevet udskudt længere end forventet. Effekten af UV-behandling har derfor ikke kunnet indgå i undersøgelsen. Usserød er dog et anlæg, der udmærket kan repræsentere danske anlæg med relativt lav industribelastning.

Som følge af uforudset nedlukning af ozonanlægget på Kalundborg pga. ombygningsarbejder måtte dette renseanlæg udgå midtvejs i projektforløbet. Det blev erstattet af Spildevandscenter Avedøre, der må anses for mere repræsentativt for danske renseanlæg mht. spildevandssammensætning og således i højere grad kunne tilgodese projektets karakteriseringsdel.

Med tre prøvetagninger på både Avedøre og Usserød må grundlaget for karakteriseringsdelen af projektets formål siges at være blevet rimeligt tilgodeset under de givne forhold, mens grundlaget for effektdelen med kun én prøvetagning på Kalundborg må betegnes som spinkelt.

6.1.2 Metoder

Grundlæggende har den krævede fremgangsmåde til parallelprojektet om smitstoffer - stikprøvetagning - været bestemmende for prøvetagningen af miljøfremmede stoffer i dette projekt, selv om det ideelle havde været udtagning af flowproportionale døgnprøver. Stikprøvetagningen i indløbene er dog foretaget ved sammenstikning af fem delprøver udtaget med nogle

minutters mellemrum for at sikre mod for store fejl pga. pludselige variationer i spildevandets sammensætning. Det vurderes, at denne fremgangsmåde har givet et acceptabelt resultat taget i betragtning, at projektformålet var at foretage en indledende karakterisering og ikke at fastlægge massebalancer på de valgte anlæg.

På analysesiden må bestemmelsen af belastningen med hormonforstyrrende stoffer betegnes som rimeligt dækket med de udvalgte naturlige og syntetiske østrogener samt en række industristoffer. De valgte stoffer er på det foreliggende vidensgrundlag blandt dem, der udviser størst østrogen aktivitet samtidig med, at de er relevante i dansk spildevandssammenhæng.

Hvad angår lægemiddelstofferne har der i høj grad været tale om det muliges kunst, idet der ikke ved projektstarten fandtes indkørte analysemetoder på kommercielle laboratorier i Danmark (og knap nok i udlandet) for disse stoffer i en kompleks matrix som spildevand. Det er alligevel lykkedes at få udviklet brugbare metoder i løbet af projektet og derved at få bestemt en række af de mest anvendte lægemidler i Danmark, hvilket må betegnes som meget tilfredsstillende.

6.2 Hormonforstyrrende stoffer og lægemidler i spildevand

Projektet har omfattet kvantitativ bestemmelse af 3 naturlige og syntetiske østrogener, yderligere 10 industristoffer med bevist eller mistænkt østrogenlignende effekt samt 11 almindeligt anvendte lægemiddelstoffer (heraf 1 metabolit).

Den foreliggende viden om disse stoffer i dansk spildevand er yderst begrænset, hvad angår naturlige/syntetiske østrogener og nærmest ikke-eksisterende, hvad angår lægemidler. Derimod foreligger der fra NOVA-programmet et pænt antal målinger af de valgte industristoffer (alkylphenoler og phthalater) i spildevand (Miljøstyrelsen 2002).

De påviste niveauer af østrogener ligger nogenlunde på linie med, hvad Andersen et al. (2002) har fundet i en mindre undersøgelse af spildevand i Århus og København. Tilsvarende stemmer indholdet af alkylphenoler og phthalater overens med NOVA-resultaterne, dog med en tendens til, at indløbskoncentrationer ligger lidt over og udløbskoncentrationerne lidt under de tilsvarende gennemsnitskoncentrationer fra NOVA (Miljøstyrelsen 2002).

Det fremgår af tabel 2-2, at den østrogene aktivitet (bestemt ved *in vitro* test, f.eks. YES) af de naturlige og syntetiske østrogener, især E2 og EE2, er mindst tre størrelsesordener højere end de hormonforstyrrende industristoffers østrogene aktivitet. Omvendt er koncentrationerne i urensede spildevand (dvs. indløb) af flere af industristofferne tre størrelsesordener højere end af de naturlige og syntetiske østrogener.

Det er derfor relevant at sammenligne den samlede østrogene effekt af hver af de to grupper af stoffer, hvilket er forsøgt i omstående tabel 6-1 på basis af omregningsfaktorerne for YES-assay'et (se tabel 2-2). Belastningerne er sammenlignet ud fra indløbskoncentrationerne fordi udløbskoncentrationerne i de fleste tilfælde er under de anvendte analysemetoders detektionsgrænser.

Tabel 6-1 Den østrogene belastning af urensset spildevand (indløb) med hhv. naturlige/syntetiske østrogener og østrogenlignende industristoffer (i E2-ekvivalenter (EEQ) i ng/l) samt sidstnævnte gruppes andel af den samlede, målte østrogene belastning.

	K1	A1	A2	A3	U1	U2	U3
EEQ-Ø*	5,9	9,8	10,7	36,5	30,8	25,1	15,7
EEQ-I**	3,5	2,4	2,0	2,4	1,6	1,7	1,7
EEQ-I/EEQ(I+Ø)	37%	20%	16%	6%	5%	6%	10%

K = Kalundborg; A = Avedøre; U = Usseø

* EEQ-Ø = sum af østrogenerne E1, E2 og EE2

** EEQ-I = sum af industristofferne NPE, NP, (OP), Bisphenol A, DEP, DBP, BBP, (DEHP, DOP).

Det fremgår af tabellen, at industristofferne i de fleste tilfælde kun tegner sig for en ret beskedent del af den samlede østrogene belastning af spildevandet, og dette forventes også at gøre sig gældende for det rensede spildevand. Dette formodentlig endda i endnu mere udtalt grad eftersom nonylphenol, som er den dominerende komponent i EEQ-I, har betydeligt højere affinitet til slam end EEQ-Ø-stofferne. Dette er i overensstemmelse med observationer i andre lande, f.eks. Tyskland (jf. Andersen et al. 2002).

Det bemærkes, at industristoffernes relative andel af østrogenbelastningen er betydeligt større på Kalundborg end på de to andre anlæg. Dette skyldes, at koncentrationen af nonylphenoler er større her, hvilket har afgørende betydning, da dette stof i alle de analyserede prøver bidrager med >95% af den samlede størrelse af EEQ-I.

Af 11 analyserede lægemiddelstoffer kunne de 9 påvises i indløbene til et eller flere af renselanlæggene, mens bendroflumethiazid og enalapril allerede her var på et niveau under analysemetodens detektionsgrænse. De mængdemæssigt to mest betydende stoffer, (acetyl)salicylsyre og paracetamol, forekom i klart de højeste koncentrationer.

Derimod blev kun tre stoffer, ibuprofen, sulfamethizol og furosemid, påvist i udløbsprøver fra anlæggene. Ibuprofen blev kun fundet i to prøver i væsentligt reduceret mængde, mens niveauerne af sulfamethizol og furosemid reelt var uforandrede fra indløb til udløb.

6.3 Effekt af ozonbehandling

Grundlaget for vurdering af den reducerende effekt af ozonbehandling på hormonforstyrrende stoffer og lægemidler i spildevand må betegnes som spinkelt, da der kun har kunnet foretages målinger på ét anlæg ved en enkelt lejlighed.

Kun fire stoffer kunne påvises i indløbet i ozonanlægget: Nonylphenol samt lægemiddelstofferne ibuprofen, sulfamethizol og furosemid. Nonylphenol, sulfamethizol og furosemid blev allerede ved laveste ozondoseringsniveau (21,5 g/m³) reduceret til under detektionsgrænsen, mens ibuprofen stadig (akkurat) kunne påvises efter behandling med denne ozondosis. Ibuprofen forsvandt ved næste testede doseringsniveau; 53,5 g/m³.

Der er således indikationer på, at miljøfremmede stoffer i (renset) spildevand kan fjernes ved ozonbehandling, men der er for få data til rådighed til at kunne konkludere noget mht. nødvendig dosering og driftsbetingelser i øvrigt.

6.4 Implikationer af undersøgelsen - videre arbejde

Med hensyn til østrogener og stoffer med østrogenlignende effekter peger undersøgelsens resultater på, at den altdominerende del af den østrogene virkning i dansk byspildevand må tilskrives de naturlige og syntetiske østrogener, mens kun nonylphenol blandt de øvrige stoffer kan tilskrives nogen betydning i almindelighed. Eventuelle yderligere undersøgelser af østrogen belastning og effekt i vandmiljøet forårsaget af udledninger af almindeligt byspildevand bør derfor fokusere på disse stoffer.

Hvis det er muligt bør de specifikke analyser suppleres med et assay til bestemmelse af samlet østrogen aktivitet for at sikre, at ukendte belastningstyper ikke bliver overset. Så vidt vides er der dog p.t. ingen danske laboratorier, der tilbyder at udføre sådanne assays på spildevand.

Niveauerne af østrogener i det rensede spildevand ligger gennemgående i den nedre ende af kendte effektniveauer i miljøet (Christiansen et al., 2002), men der er dog så store variationer, at det bør undersøges på et større antal anlæg, hvordan situationen på landsplan er. Desuden bør det undersøges nærmere, hvad det er for faktorer og driftsparametre på renseanlæggene, der er bestemmende for fjernelsen af østrogener fra spildevandet, samt i hvilket omfang stofferne nedbrydes eller blot overføres til slamfasen.

Lægemiddelstofferne er kun påvist i koncentrationer, der er så lave, at det for de fleste miljøfremmede stoffer vil være under effektgrænsen for almindelige toksiske effekter. Der er dog kun meget få tilgængelige data i litteraturen om lægemiddelstoffers økotoksikologiske og andre miljømæssige egenskaber. Da lægemidler generelt er stoffer med specifikke virkningsmekanismer kan det derfor ikke umiddelbart siges med sikkerhed, at der ikke kan forekomme effekter ved de observerede koncentrationer.

Effekten af efterbehandlingsmetoder som ozonering og UV-bestråling på miljøfremmede stoffer, herunder hormonforstyrrende stoffer og lægemidler, kan ikke siges at være tilfredsstillende belyst i nærværende projekt, og bør derfor undersøges nærmere førend man kan konkludere på potentialet af sådanne metoder i forhold til efterbehandling af byspildevand. I mangel af egnede fuldsalanlæg kan dette evt. ske ved hjælp af forsøg under mere kontrollerede betingelser, f.eks. ved addition af kendte mængder teststoffer til spildevandsmatricen før behandling.

7 Referencer

Absi, F., Gamache, F., Gehr, R., Liechti, P., Nicell, J. *Pilot Plant Investigation of Ozone Disinfection of Physico-Chemically Treated Municipal Wastewater.*

Andersen, H., Halling-Sørensen, B., Ingerslev, F., Nilesen, S.N. (2002). Renseanlægs bidrag til østrogene stoffer i det danske vandmiljø. Indlæg i: Teknologirådet (2002), pp. 143-148.

Bjerregaard, P. (1999). *Hvilke stoffer og stofgrupper har oestrogen virkning?* Indlæg i Miljøforskning nr. 40, pp. 14-20. Udgivet under det Strategiske Miljøforskningsprogram, december 1999.

Bjerregaard, P. (2002). *Fokus på hormonforstyrrende stoffer.* Indlæg i: Teknologirådet (2002), pp. 107-114.

Casey, P., Mackne, C., Lake, A. (1998). *Ozone Disinfection.* Fact Sheet by the National Small Flows Clearinghouse.

Christiansen, L.B., Winther-Nielsen, M., Helweg, C. (2002). *Feminisation of fish - The effect of estrogenic compounds and their fate in sewage treatment plants and nature.* Environmental Project No. 729, 2002. Udgivet af Miljøstyrelsen.

Food and Drug Administration (1996). *Retrospective review of ecotoxicity data submitted in environmental assessments for public display.* Docket no. 96N-0057.

Halling-Sørensen B. (2000). *Algal Toxicity of antibacterial agents used in intensive farming.* Chemosphere 40:731-9.

Halling-Sørensen, B. S. Nors Nielsen, P.F. Lanzky, F. Ingerslev, H.C. Holten Lützhøft & S.E. Jørgensen (1998). *Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - a review.* Chemosphere 36, p 357-393.

Henschel, K.P., Wenzel, A., Didrich, M. & Fliender, A. (1997). *Environmental Hazard Assessment of Pharmaceuticals.* Regulatory Toxicology and Pharmacology Vol. 18 pp 220-225.

Holbrook, R.D., Novak, J.T., Grizzard, T.J., Love, N.G. (2002). *Estrogen Receptor Agonist Fate during Wastewater and Biosolids Treatment Processes: A Mass Balance Analysis.* Environmental Science and Technology, 36, 4533-4539.

Itoh, S., Ueda, H., Naasaka, T., Nakanishi, G., Sumitomo, H. (2000). *Evaluation variation of estrogenic effect by drinking water chlorination with the MVLN assay.* Water Science and Technology, Vol. 42 (7-8), pp. 61-69.

Jones, O.A.H., Voulvoulis, N. and Lester, J.N. (2002). *Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals.* Water Research 36: 5013-5022.

Miljøstyrelsen (2002). *Punktkilder 2001*. Fagdatacenterrapport for det nationale program for overvågning af vandmiljøet. Orientering fra Miljøstyrelsen nr. 7, 2002.

Murk, A.J., Legler, J., van Lipzig, M.M.H., Meerman, J.H.N., Belfroid, A.C., Spenkelink, A., van der Burg, B., Rijs, G.B.J., Vethaak, D. (2002). *Detection of estrogenic potency in wastewater and surface water with three in vitro assays*. Environmental Toxicology and Chemistry, vol. 21 no. 1, pp. 16-23.

Nordic Council of Ministers (1996). *Chemicals with Estrogen-like Effects*. TemaNord 1996:580. Rapport, 278 pp.

Sattelberger, R. (1999). *Arzneimittelrückstände in der Umwelt*. Umweltbundesamt GmbH, Wien, report R-162.

Stuer-Lauridsen, F., Birkved, M., Hansen, L., Holten Lützhøft, H.C. & Halling-Sørensen, B. (2000). *Environmental Risk Assessment of Human Pharmaceuticals in Denmark after Normal Therapeutic Use*. Chemosphere 40: 783-793.

Stuer-Lauridsen, F., Hansen, L., Birkved, M., Kjølholt, J., Mikkelsen, S. (2002). *Litteraturudredning vedrørende human medicin i miljøet*. Miljøprojekt nr. 661. Udgivet af Miljøstyrelsen.

Takigami, H., Taniguchi, N., Matsuda, T., Yamada, M., Shimizu, Y., Matsui, S. (2000). *The fate and behaviour of human estrogens in a night soil treatment process*. Water Science and Technology, Vol. 42 (7-8), pp. 45-51.

Teknologirådet (2002). *Hormonforstyrrende stoffer*. Resumé og redigeret udskrift af høring i Folketinget 25. april 2002.

Ternes, T. (1998). *Occurrence of Drugs in German Sewage Treatment Plants and Rivers*. Wat Res 32, p 3245-3260.

Vethaak, A.D., Rijs, G.B.J., Schrap, S.M., Ruiter, H., Gerritsen, A., Lahr, J. (2002). *Estrogens and xeno-estrogens in the aquatic environment of the Netherlands - Occurrence, Potency and Biological Effects*. RIZA/RIKZ-report no. 2002.001.

Wojtenko, I., Stinson, M.K., Field, R. (2001). *Performance of Ozone as a Disinfectant for Combined Sewer Overflow*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 31(4):295-309 (2001).