



**INSTITUTIONEN FÖR BIOLOGI OCH
MILJÖVETENSKAP**

INVERKAN AV HAVSFÖRSURNING PÅ PROTONERBARA ORGANISKA FÖRORENINGARAS EKOTOXICITET

Camilla Eriksson

Uppsats för avläggande av naturvetenskaplig kandidatexamen med huvudområdet miljövetenskap och kemi

ES1510, Examensarbete i miljövetenskap, 15 hp

Grundnivå

Termin/år: Vt 2024

Handledare: Ingela Dahllöf, Institutionen för biologi och miljövetenskap

Examinator: Göran Wallin, Institutionen för biologi och miljövetenskap

Innehållsförteckning

Förord.....	2
Abstract	3
Sammanfattning	4
Introduktion.....	5
Metod	8
Resultat.....	10
Diskussion	16
Slutsats	19
Referenser	20
Appendix	25

Förord

Tack till min handledare Ingela Dahllöf för entusiasm, uppmuntran och goda idéer!

Abstract

Resulting from anthropogenic carbon dioxide emissions, average surface seawater pH is estimated to decline from today's approximately 8.05 to between 7.78 and 8.03 towards 2100. For ionisable organic pollutants, changes in pH can lead to a change in the degree of ionisation, which could influence the ecotoxicity of a compound by altering its bioavailability.

In this study, potential changes in ecotoxicity of ionisable organic compounds resulting from ocean acidification are examined. This is achieved partly by conducting a literature review, analysing existing literature that investigates this relationship. Potential changes are also evaluated by examining marine ecotoxicity data for ionisable organic compounds on the watch list pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council, as well as on the list of priority substances according to the 2022 proposal for amending the Water Framework Directive (2000/60/EC). These data are related to the ionisation-degree for different pH when possible.

Results from the literature review indicate that ocean acidification can modulate the marine ecotoxicity of ionisable organic compounds. This modulation is seemingly dependent on the acidic or basic properties of a substance. In some cases there were uncertainties as to whether an increased toxicity was a result of an increased sensitivity of the test organism due to an acidic environment. The substances investigated in relation to ocean acidification so far are few and often had a pKa indicating only small changes in ionisation-degree would occur. This lack of data was also reflected in the results from examining EU-relevant ionisable organic compounds, where existing data on marine ecotoxicity linked to pH was very limited. Ionisation-degree seemed to correspond with toxicity for an acid on the priority list.

Combined results indicate a need for more marine data on ecotoxicity and bioaccumulation under future ocean acidification scenarios, specifically for ionisable organic compounds with pKa close to 8, in order to estimate risks these pollutants pose under ocean acidification.

Sammanfattning

Till följd av antropogena utsläpp av koldioxid väntas genomsnittligt pH i världshaven mot slutet av detta århundrade minska från dagens cirka 8,05 till mellan 7,78 och 8,03. För protonerbara organiska föroreningar med ett pKa runt 8 kan en ändring i pH påverka ämnets protoneringsgrad, vilket också kan ha inverkan på hur stor ekotoxikologisk effekt det har genom att till exempel ändra dess biotillgänglighet.

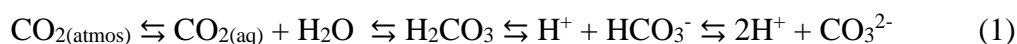
I denna studie undersöks eventuella ändringar i ekotoxicitet havsförurning medför för protonerbara organiska ämnen. Detta görs dels genom att utföra en litteraturstudie, där befintlig litteratur som undersöker denna relation analyseras. Det görs även genom att analysera marina toxicitetsdata för protonerbara organiska ämnen på bevakningslistan enligt Europaparlamentets och rådets direktiv 2008/105/EG, samt på listan över prioriterade ämnen enligt 2022 års förslag till ändring av Ramdirektivet för vatten (2000/60/EG). Denna data relaterades sedan till protoneringsgrad för olika pH när det var möjligt.

Litteraturstudien visar att det finns indikationer om att havsförurning modulerar ämnens toxicitet, och hur det moduleras verkar bero på ämnets sura eller basiska egenskaper. I vissa fall finns en dock osäkerhet i om ökad toxicitet snarare beror på en ökad känslighet hos testorganismen till följd av sur miljö. Därtill är de ämnen som hittills undersökts i relation till havsförurning få, och hade många gånger ett pKa som indikerar att endast liten ändring i protoneringsgrad kommer ske under framtida försurningsscenarioer. Bristen på data återspeglas även i resultatet av analysen av EU-relevanta protonerbara organiska ämnen, där befintliga data över marin toxicitet kopplat till pH var mycket begränsad. Protoneringsgrad verkade korrespondera med toxicitet för en syra på prioriteratslistan.

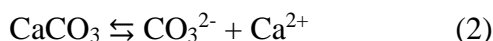
De samlade resultaten visar ett behov av mer marina data som visar ekotoxicitet och bioackumulering vid framtida försurningsscenarioer, för ämnen med pKa nära 8, för att med så realistiska resultat som möjligt kunna uppskatta riskerna havsförurning medför för dessa organiska föroreningar.

Introduktion

Till följd av antropogena utsläpp och ökade koldioxidhalter i atmosfären sker utöver de klimatförändringar vi ser idag även havsförurning, det vill säga en sänkning av pH i haven, på grund av den koldioxid som absorberas i marina miljöer. En förurning av havet sker när gasutbytet mellan koldioxid (CO_2) i atmosfär och vatten bringas till jämvikt under ett ökat partialtryck från koldioxid. När en ökad mängd koldioxid löser sig i havet sker en förändring av vattenkemin genom en rad jämviktsreaktioner (Doney m.fl., 2009; Feely m.fl., 2018), nedan summerade i ekvation (1).



Koldioxiden reagerar med vattenmolekyler i havet och bildar kolsyra (H_2CO_3), en svag syra vilken till en viss del dissocierar till vätekarbonat (HCO_3^-) och en vätejon (H^+). Vätekarbonaten kan sedan dissociera till en karbonatjon (CO_3^{2-}) och en vätejon. En ökad koncentration av vätejoner innebär en reduktion i pH (Doney m.fl., 2009; Feely m.fl., 2018). Jämvikterna i karbonatsystemet (ekvation (1)) utgör den största delen av havets buffertsystem, där förmågan att absorbera koldioxid beror bland annat av hur mycket kalciumkarbonat (CaCO_3) som kan frigöras till vattenkolumnen (Doney m.fl., 2009). Ekvation (2) visar dissociering av kalciumkarbonat i vatten.



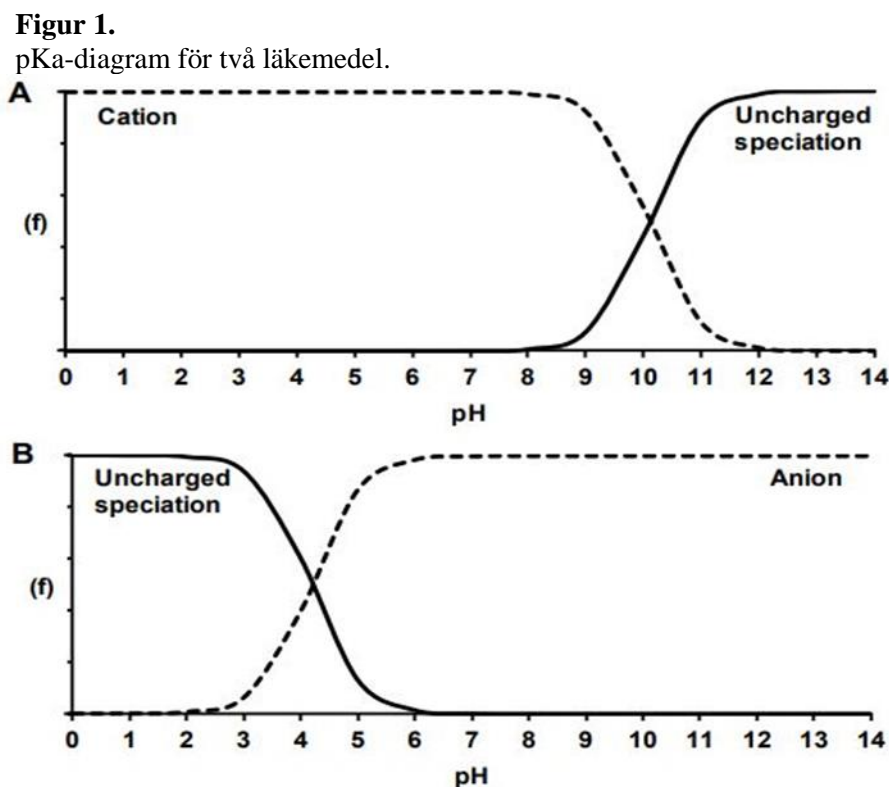
Nettoresultat av ökad tillförsel av koldioxid till havet innebär ökade koncentrationer av vätekarbonat och vätejoner, samt minskad koncentration av karbonatjoner (Feely m.fl., 2018).

Upp mot 30% av antropogena koldioxidutsläpp har under senare decennier (1994–2007) har tagits upp av haven (Gruber m.fl., 2019). Sedan 1990-talet har genomsnittligt pH i havens ytvatten minskat från cirka 8,1 till dagens cirka 8,05 (European Environment Agency, 2023). Som en följd av ett fortsatt koldioxidupptag i marina miljöer beräknas genomsnittligt pH i havens ytvatten mot slutet av detta århundrande minska till ungefär 8,03 för Representative Concentrations Pathway 2.6 (RCP2.6) och till ungefär 7,78 för RCP8.5 (IPCC, 2022). Dessa till synes små skillnader i pH är på grund av att pH-skalan är logaritmisk, av mycket större betydelse än de verkar - en sänkning av pH enligt RCP8.5 skulle innebära en ökning av vätejonskoncentrationen med cirka 85%.

Utöver ett ökat partialtryck för koldioxid bidrar även andra faktorer som variationer i uppvällning, vattentemperatur och fotosyntes till pH-värdet lokalt och över tid (Wootton & Pfister, 2012). I kustzoner kan även tillflöden av annat vatten via flodmynningar, och avrinning av ämnen bland annat kopplade till övergödning försura havet ytterligare (Cai m.fl., 2011; Doney m.fl., 2009; Vargas m.fl., 2016). I kombination med att det är i närheten av kusten som det rimligen är högst koncentration av föroreningar som sprids från till exempel vattenreningsverk, blir det relevant att undersöka vad ett reducerat pH tillsammans med föroreningar får för effekter på marina ekosystem.

Jämviktskonstanten för en syra-basreaktion, pK_a , är ämnesspecifikt och indikerar vid vilket pH ett ämne befinner sig i laddad respektive neutral form i lika stor koncentration. Det följer

att vilken form som blir dominant vid ett specifikt pH beror på ett ämnes pKa. Störst förändring i förhållandet mellan laddad och neutral form av ett protonerbart ämne sker nära dess pKa (se Figur 1).



Kommentar. Visualisering av hur fluoxetin (A) en svag bas med pKa 10,1 (Boström, 2019) och diklofenak (B), en svag syra med pKa ~4 (PubChem, 2024h), ändrar fraktion (f) av laddad respektive neutral form under varierande pH. Streckad linje representerar laddad form, och hel linje representerar neutral form av respektive ämne. Figurkälla: Boström, 2019.

Ungefär 40% av över 5000 REACH-registrerade organiska ämnen har konstaterats vara protonerbara (syror, baser, amfolyter) (Arp m.fl., 2017) och upp mot 80% av läkemedel uppskattas vara protonerbara (Manallack, 2007). För protonerbara föroreningar med miljömässigt relevant pKa, det vill säga med pKa nära genomsnittligt pH i haven (8,05) kan en försurning av haven i nivå med prognoser från IPCC innebära en förändring i toxicitet. Denna förändring beror på att utav de olika formerna (laddad respektive neutral) av ett protonerbart organiskt ämne tycks den neutrala formen generellt vara mer toxisk. Ett neutralt ämne får ökad lipofilitet, och därav en större förmåga att passera diffusivt över membran, vilket medför ökad bioackumulation och toxisk effekt. För svaga syror gäller följaktligen att toxicitet generellt ökar vid lägre pH, medan det motsatta sker för svaga baser (Rendal m.fl., 2011; Valenti Jr. m.fl., 2009).

Ett annat fenomen som uppstår för endast protonerbara kemikalier är så kallad ion trapping. Ion trapping sker när ett ämne i sin neutrala form passerar över ett membran, varpå det till följd av sitt pKa och skillnad i pH mellan ut- och insidan av ett membran, dissocierar inuti cellen eller organellen och följaktligen fastnar där då det i laddad form som har sämre förmåga att passera diffusivt över membran (Rendal m.fl., 2011). Vilken form en kemikalie befinner sig i kan även påverka dess persistens i den marina miljön, som i fallet med den

antimikrobiella ämnesgruppen sulfonamider, där den anjoniska formen är mindre benägen till hydrolys än dess katjoniska eller neutrala motpart (Bethke m.fl., 2023).

Trots att det idag är välkänt att protonerbarhet och pKa påverkar ekotoxiciteten hos organiska ämnen vid olika pH kvarstår en otydlighet kring beaktandet av detta faktum i OECD:s standardtester för marin ekotoxikologi. Av de standardtester OECD förmedlar framgår det endast tydligt i test nr. 203 att hänsyn ska tas till protonerbarhet och att kemikalien skall testas vid det pH där högst toxisk effekt uppvisas, inom intervallet 6,0 - 8,5 (OECD, 2019b). I övriga standardtester anges vanligen bara att ekotoxikologiska tester ska utföras under ett pH mellan 6,5 - 8,5 med en maximal variation på 0,5 enheter inom samma test (OECD, 1998, 2000, 2006, 2011). I det allmänt gällande vägledningsdokumentet om akvatisk toxicitetstestning på svåra kemikalier och blandningar (eng. titel *Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures*) tydliggörs relevansen av att testa vid ett relevant pH. Det framgår att protonerbara ämnen med pKa mellan 4 - 10 skall testas vid det pH där högst toxisk effekt uppnås (inom pH-intervall 6,0 - 8,5) (OECD, 2019a). Dock är vägledningsdokumentet från 2019 och äldre standardtester hänvisar inte till det (OECD, 1998, 2000, 2006, 2011).

Som konsekvens av den ovan beskrivna bristande följdriktigheten mellan olika OECD-dokument riskeras en under- eller överskattning av organiska protonerbara kemikaliers ekotoxicitet (Boström & Berglund, 2015) - ett faktum som kan bli än mer relevant under den havsförsurning vi redan ser idag, såväl som under framtida försurningsscenario (IPCC, 2022). För de kemikalier som riskerar att få en ändrad ekotoxicitet under försurade omständigheter, specifikt protonerbara organiska ämnen med pKa nära miljömässigt relevant pH, kan skillnaden mellan realitet och testresultat bli än mer dramatisk.

Som tydliggjorts av studierna utförda av Manallack (2007), och Arp m.fl. (2017) används protonerbara organiska kemikalier i hög grad, och det blir högst relevant att kunna göra realistiska riskbedömningar för dem. Det blir också relevant att veta hur ekotoxiciteten av dessa ämnen kommer förändras i framtiden på grund av försurning.

Den mesta forskningen rörande protonerbara organiska ämnen kopplat till reducerat pH behandlar idag sötvattensmiljöer (Bethke m.fl., 2023; Rendal m.fl., 2011; Valenti Jr. m.fl., 2009). Således är avsikten med denna uppsats att undersöka eventuella risker havsförsurning medför för den marina ekotoxiciteten hos protonerbara organiska ämnen. Hur ekotoxiciteten påverkas av ett reducerat pH kommer undersökas genom att kartlägga och analysera befintlig litteratur, samt att för särskilt utvalda ämnen med pKa nära miljömässigt relevant pH (pKa = 7,0 - 9,0) även undersöka hur förhållandet mellan protonerat och icke-protonerat ämne förändras vid olika pH. Relation mellan protonering och pH-värde kommer relateras till eventuella ändringar i ekotoxicitet för det specifika ämnet. Denna undersökning kommer göras för organiska protonerbara ämnen på bevakningslistan enligt Europaparlamentets och rådets direktiv 2008/105/EG, samt listan över prioriterade ämnen enligt 2022 års förslag till ändring av Ramdirektivet för vatten (2000/60/EG) (ämnen med EU-relevans).

Hypotesen lyder att havsförsurning kommer att leda till ökad protonering av ämnen i haven, och om protonering i högre grad leder till en större andel av ett neutralt ämne kommer det på grund av ökat diffusivt upptag genom cellmembran att få en ökad toxisk effekt.

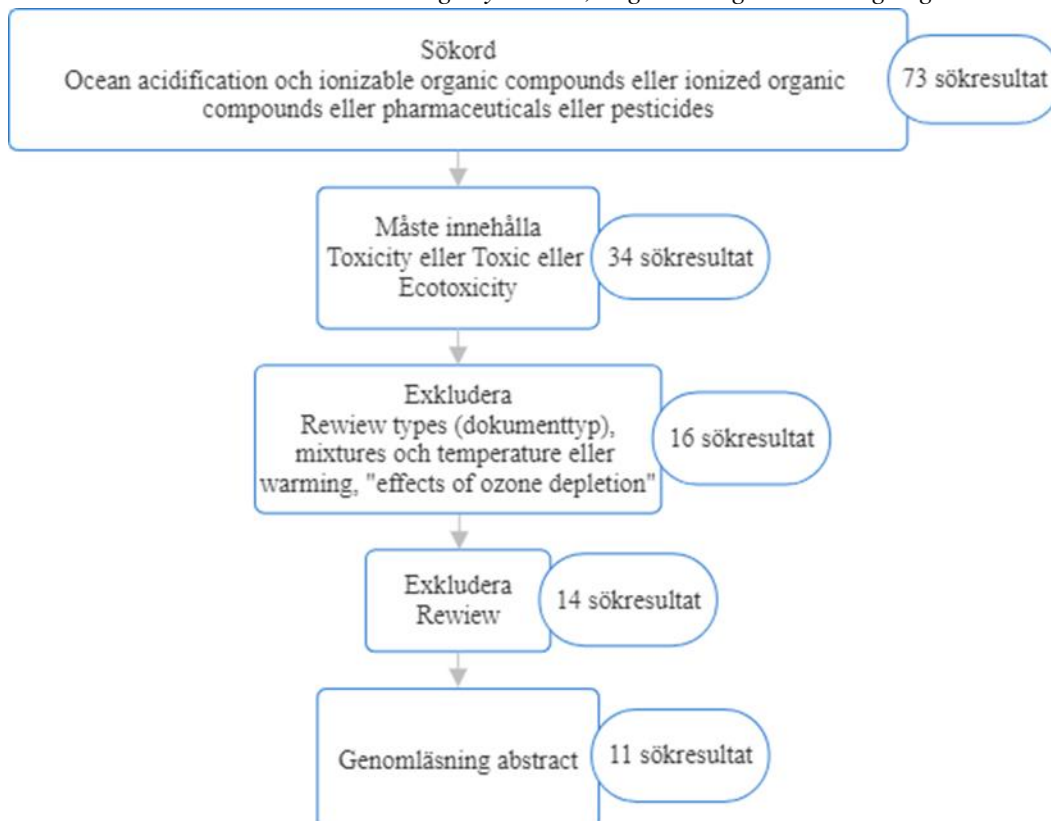
Metod

Litteraturstudie

Litteraturstudien utfördes via Web of Science. Utifrån frågeställningar identifierades följande nyckelord: *Ocean acidification*, *ionizable organic compounds*, *ionized organic compounds*, *pharmaceuticals*, och *pesticides*. Den initiala sökningen gav 73 resultat i form av artiklar och litteraturstudier med blandad relevans och begränsades därefter till att sökresultatet skulle innehålla orden *toxicity*, *toxic*, eller *ecotoxicity*, vilket gav 34 resultat. Sökningen begränsades sedan till att exkludera "review types", *review*, *temperature*, *warming*, *mixtures* och *effects of ozone depletion*, varvid 14 artiklar anträffades. Begränsningarna valdes utefter vilka resultat som erhållits dessförinnan och i syfte att få resultat med relevans för frågeställningen. Kombinerade faktorer som värme eller blandningar bedömdes göra det svårare att bedöma om ekotoxiciteten för enskilda ämnen påverkas av havsförsurning. Efter genomläsning av abstract kunde ytterligare tre resultat uteslutas då artiklarna inte berörde frågeställningen, och slutligen erhöles alltså elva artiklar, vilka valdes ut för analys. I det fall en artikel även behandlade ämnen som inte är protonerbara, uteslöts detta ämne ur analysen. En detaljerad visualisering av litteraturstudien visas i Figur 2, och resultaten visas i Tabell 1.

Figur 2.

Flödesschema över litteratursökning: nyckelord, begränsningar och slutgiltigt urval.



Analys av hur EU-relevanta protonerbara organiska ämnens protoneringsgrad och ekotoxicitet varierar med pH

Analysen utgick från två listor med kemikalier som övervakas inom EU: den bevakningslista som upprättats i enlighet med Europaparlamentets och rådets direktiv 2008/105/EG, samt listan över prioriterade ämnen enligt 2022 års förslag till ändring av Ramdirektivet för vatten (2000/60/EG) (Kommissionens genomförandebeslut 2022/1307, 2022; Europeiska Kommissionen, 2022). Utifrån dessa listor identifierades organiska ämnen med pKa inom intervallet 7,0 - 9,0: ett intervall som bedömdes ligga nära ett miljömässigt relevant pH för marina miljöer.

Data över pKa hämtades från Pubchem (PubChem, u.å.) och *referenstabell för pKa och pKb* hos AAT Bioquest Inc (AAT Bioquest, 2024). Från bevakningslistan identifierades fyra relevanta ämnen och från listan över prioriterade ämnen ytterligare fyra. Därefter kartlades och hämtades befintliga data över marin ekotoxicitet på United States Environmental Protection Agency ECOTOXicology Database (US EPA) (US EPA, 2024) för de utvalda ämnena. Resultaten redovisas i Tabell 2.

För det ämne (triclosan) där data över marin ekotoxicitet fanns tillgänglig tillsammans med ett angivet pH vid fler än en datapunkt beräknades protoneringsgrad för de olika pH-värdena med hjälp av Henderson-Hasselbalch ekvationen (3).

$$pH = pKa + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) \quad (3)$$

För triclosan där det även fanns mer än en datapunkt med avseende på *endpoint* (EC₅₀), beräknades ett genomsnitt för EC₅₀-värden som sedan jämfördes mot angivet pH. Resultatet för relationen mellan EC₅₀-värden och pH visualiserades i en graf utförd med Excel (Figur 3).

Resultat

Litteraturstudie

Totalt elva artiklar analyserades, vilka undersökte sammantaget nio olika kemikalier under olika försurningsscenarier, se Tabell 1.

Freitas m.fl. (2016) undersökte kroniska effekter av det antikonvulsiva läkemedlet Karbamazepin (KBZ) på musslan *Scrobicularia plana* under ett försurningsscenario (pH 7,1 och 7,8) och fann indikationer på att det sker interaktion mellan stressorerna sänkt pH och exponering för KBZ. Effekter syntes som högre mortalitet och oxidativ stress. Studien drar inga slutsatser om hur dessa interaktioner sker, utan resonerar att det kan bero på ändrad känslighet hos organismen eller en modulerad ekotoxicitet hos läkemedlet. De påpekar även att *S. plana* verkar ha fått ökad tolerans mot ett lägre pH.

Tabell 1.

Resultat från litteraturstudie. Kemikalier som undersökts, under vilka pH de undersökts, summerade effekter under reducerat pH samt referens.

BCF = biokoncentrationsfaktor. IE = ingen effekt.

Ämne	pH undersökt	Effekt av reducerat pH (summerat)	Referens
Karbamazepin	7,1 och 7,8	Toxicitet ökar	Freitas m.fl., 2016
Karbamazepin	7,5 och 7,8	IE	Almeida m.fl., 2018
Cetirizin	7,5 och 7,8	BCF minskar	
Karbamazepin	7,6 och 8,1	Toxicitet ökar	Mezzelani m.fl., 2021
Karbamazepin	7,6 och 8,0	BCF ökar	Almeida m.fl., 2022
Cetirizin	7,6 och 8,0	IE	
Crack-kokain	7,0, 7,5, 8,0 och 8,5	Toxicitet ökar	da Silva Souza m.fl., 2019
Crack-Kokain	6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0 och 8,3	Toxicitet minskar	da Silva Souza m.fl., 2021
Salicylsyra	7,6, 7,9 och 8,2	Toxicitet ökar	Dionísio m.fl., 2020
Fluoxetin	7,7 och 8,0	Toxicitet minskar	Lo m.fl., 2021
Losartan	7,3, 7,6 och 8,0	Toxicitet ökar	Pusceddu m.fl., 2022
Paracetamol	7,6, 7,9 och 8,2	Toxicitet ökar	Daniel m.fl., 2022
Koffein	7,7 och 8,1	IE	Munari m.fl., 2022
Diklofenak	7,7 och 8,1	IE	

Även Mezzelani m.fl. (2021) utredde kroniska effekter av KBZ under försurade omständigheter, där de undersökte inverkan på bioackumulation, exkretion och icke-dödliga effekter på musslan *Mytilus galloprovincialis*. Ingen signifikant skillnad i upptag av KBZ kunde uppvisas under vare sig normalt eller reducerat pH, vilket förklaras av att det höga pKa ämnet har (pKa 13,9) medför en mycket liten eller obefintlig ändring i protoneringsgrad under de testade pH-värdena (7,6 och 8,1). Trots detta rapporterar Mezzelani m.fl. (2021) tydliga bevis för att additiva eller synergistiska effekter uppstår mellan de kombinerade stressorerna. Denna modulering av ekotoxikologisk effekt uppvisades genom förändring i genuttryck och

påverkan i form av tidigarelagd immunrespons, inflammationsprocesser och apoptos bland andra effekter. Författarna noterar i sin slutsats att resultaten kan indikera på invecklade samband mellan biologisk effekt av försurning och KBZ.

Almeida m.fl. (2018) utvärderade effekterna av KBZ och antihistaminen cetirizin (CTZ) på musslan *Ruditapes philippinarum* under pH 7,5 och 7,8. Studien behandlade effekter relaterade till läkemedlens verkningsmekanism. Vid reducerat pH minskade biokoncentrationen av CTZ med 31% (båda läkemedlen biokoncentrerades vid kontroll-pH). Som en möjlig förklaring till den sänkta bioackumuleringen för CTZ uppger författarna vara de olika konformationerna (vikt respektive ovikt molekyl) hos zwitterjonen som förekommer vid de testade pH-värdena och som tros kunna ge upphov till olika polaritet och bioackumulering. I enlighet med Mezzelani m.fl. (2021) anger Almeida m.fl. (2018) att KBZ är i sin neutrala form under båda de testade pH-värdena, och förväntas därför inte fått förändrad biokoncentration. Inga signifikanta effekter på oxidativ stress rapporterades under studien, dock fann Almeida m.fl. (2018) förändringar i transkription av gener med relevans för verkningsmekanismen vid lågt pH, exponering mot läkemedlen och vid kombinationen av båda stressorer.

Även en senare studie undersöker effekter av både KBZ och CTZ på *R. philippinarum* under ett försurningsscenario (pH 7,6 och 8,0) (Almeida m.fl., 2022). Studien konstaterar att försurning per se ger upphov till negativa effekter hos organismen, och att kombinationen med något av läkemedlen inte förvärrade dessa effekter. De spekulerar i att till exempel ökad exkretion kan bidra till att tydlig effekt av läkemedlen uteblev. Dock noterar de att försurning ökade biokoncentrationsfaktorn (BCF) för KBZ, men inte för CTZ.

Lo m.fl. (2021) undersökte effekterna av det antidepressiva läkemedlet fluoxetin (FLX) (en svag bas) på sjöborren *Helicidaris crassispina* under dess utvecklingsstadier och under ett framtida försurningsscenario (pH 7,7 och 8,0). Författarna noterar att ett sänkt pH hade negativ inverkan på larverna per se. Samtidigt påverkades DNA hos de larver som utsatts för lägre pH och FLX i kombination till en mindre grad än de som utsatts för enbart läkemedlet eller enbart försurning, det vill säga att det förekom interaktioner mellan pH och FLX. Lo m.fl. (2021) skriver att detta kan vara till följd av den minskade biotillgängligheten hos FLX under reducerat pH, där mängden icke-protonerat läkemedel går från 3% till 0,78%. En annan anledning uppger de skulle kunna vara en ändring i energidistribuering som reaktion på stressorerna.

Effekter av det antihypertensiva läkemedlet losartan (LST) studerades på tidig utveckling samt lysosomal membranstabilitet hos sjöborren *Echinometra lucunter* och musslan *Perna perna* under pH 7,3, 7,6 och 8,0 (Pusceddu m.fl., 2022). Studien finner här tydliga bevis för att toxicitet hos LST, en svag syra med pKa på 5,5, ökar vid sänkt pH. Författarna uppger dock att det inte går att säga om den lilla procentuella ändringen i protonering (98,4% - 99,7%) skulle vara nog för att orsaka detta samband (Pusceddu m.fl., 2022). De uppger också ökning av kalciumjoner i hemolymfen som möjlig förklaring till minskad lysosomal stabilitet. Studien visar också att havsförsurning som enda stressor kan ge upphov till negativa effekter på *E. lucunter*, och att reducerat pH möjligen kan påverka organismens känslighet inför föroreningen påverkats av ett sänkt pH.

Dionísio m.fl. (2020), analyserade effekterna av det smärtlämpande läkemedlet salicylsyra på den marina gastropoden *Gibbula umbilicalis* under olika pH (7,6, 7,9 och 8,2). Under studien uteblev en inhibitorisk effekt på enzymet cyklooxygenas, vilket är

verkningsmekanismen för salicylsyra, vilket pekar på möjligheten att absorption från omkringliggande media varit hindrat på något sätt och att upptaget därför varit begränsat under studien. Trots detta visades att försurade omständigheter ökade toxiciteten för salicylsyra. Även enbart sänkt pH konstaterades kunna ändra vissa responser. Dionísio m.fl. (2020) drar slutsatsen att havsförsurning kan utgöra en betydande faktor till en ökad toxikologisk effekt hos läkemedel som också är svaga syror.

Effekten av olika koncentrationer av den illegala drogen Crack-kokain (CK) utvärderades på sjöborren *E. lucunter* under en rad olika pH (7,0, 7,5, 8,0 och 8,5) av da Silva Souza m.fl. (2019). Under studien undersöktes effekter på fruktsamhet och utveckling (embryolarvstadie). För fruktsamhet påvisades inte några signifikanta skillnader mellan de olika pH-värdena. För utveckling av embryo-larvstadie minskade EC₅₀ från 58,8 mg/L till 12,5 mg/L under reducerat pH, vilket visar att toxiciteten ökar med försurning under denna studie. Alla effekter som uppkom vid pH <7,0 kopplades däremot till försurningen.

Dessa resultat skiljer sig något från en senare studie, där *P. perna* exponeras mot olika koncentrationer av CK under varierande pH (6,0, 6,5, 7,0, 7,5, och 8,0) (da Silva Souza m.fl., 2021). Även här relaterades effekter vid reducerat pH (<6,5) till försurning, men effekter som uppstod vid högre pH (≥7,5) tillskrevs koncentrationen av CK. Vid surhetsgraden där emellan (pH 6,5 och pH 7,5) uppgavs effekterna vara till följd av en kombination av båda stressorerna. Författarna menar här att detta stämmer överens med de facto att vid ett högre pH förväntas en högre toxicitet, på grund av att en högre andel av den oladdade formen väntas förekomma då, och därav kommer högre absorption och bioackumulation uppstå hos organismer (pKa 8,5). da Silva Souza m.fl. (2021) noterar att det behövs ytterligare forskning kring bioackumulation hos marina musslor under försurning för att bekräfta denna hypotes.

För att undersöka effekterna av paracetamol (PAR), en svag syra, under havsförsurning (pH 7,6, 7,9 och 8,2) exponerade Daniel m.fl. (2022) den marina havsborstmasken *Hedesteria tricolor* för detta smärtstillande läkemedel. Deras resultat indikerar att det skett en möjlig modulering av absorptionen av PAR under försurade omständigheter, att en pH-reduktion per se inte haft någon större inverkan på de effekter som rapporterats, och att havsförsurning alltså kan medföra en ökning av toxiciteten redan vid relevanta koncentrationer av läkemedel som består av svaga syror.

Munari m.fl. (2022) exponerade sjöborren *Paracentrotus lividus* för miljömässigt relevanta koncentrationer av både koffein och diklofenak (DFK) under varierande pH (7,7 och 8,1), för att utvärdera effekterna på motilitet hos sperma samt fertilitet. Resultaten visar att pH-reduktion ledde till en signifikant minskning av fertiliserade ägg och motilitet hos sperma. Inga signifikanta effekter av föroreningarna rapporterades vid något av de testade pH-värdena, och inte heller något som tydde på en interaktion mellan stressorerna.

Analys av hur EU-relevanta protonerbara organiska ämnens protoneringsgrad och ekotoxicitet varierar med pH

Totalt åtta protonerbara organiska ämnen med pKa 7,0 - 9,0 identifierades från både bevakningslistan och listan över prioriterade ämnen (Tabell 2). Ämnena var i huvudsak antibiotika, men där fanns även ett kemikaliskt UV-filter och en biocid. På US EPA fanns det data över marin ekotoxikologi för fyra av dessa ämnen: Benzophenone-3, trimethoprim, erythromycin och triclosan. För den ekotoxikologiska data som gick att finna på US EPA

fanns sedan ett fåtal datapunkter för var kemikalie där denna data dessutom var knutet till ett pH-värde, se Tabell 3.

Tabell 2.

De polära organiska ämnen från EU:s bevakningslista och lista över Prioriterade ämnen som är protonerbara, begränsat till ämnen med pKa 7,0 - 9,0. I tabellen redovisas antalet resultat för marin ekotoxicitet från US EPA, samt hur många av dessa resultat där ett pH-värde rapporterats.

Ämnesnamn	CAS	Ämnes- kategori	pK _a	Resultat för marin ekotoxicitet (antal datapunkter)	Marin ekotoxicitet där enskilda data har pH angivet (antal datapunkter)
<i>Bevakningslista</i>					
Benzophenone-3	131-57-7	UV-filter	7,1 (PubChem, 2024k)	73	4
Clindamycin	18323-44-9	Antibiotika	7,6 (PubChem, 2024g)	0	0
Ofloxacin	82419-36-1	Antibiotika	8,13 (PubChem, 2024j)	0	0
Trimethoprim	738-70-5	Antibiotika	7,12 (AATBioquest, 2024)	27	1
<i>Lista över prioriterade ämnen</i>					
Azithromycin	83905-01-5	Antibiotika	8,74 (PubChem, 2024b)	0	0
Clarithromycin	81103-11-9	Antibiotika	8,99 (PubChem, 2024f)	0	0
Erythromycin	114-07-8	Antibiotika	8,9 (PubChem, 2024i)	29	1
Triclosan	3380-34-5	Biocid	7,9 (PubChem, 2024n)	115	6

För benzophenone-3 fanns data för fyra olika endpoints, där alla datapunkter var från samma studie och dokumenterade vid samma pH. För trimethoprim fanns en datapunkt över marin ekotoxicitet tillgängligt, tagen vid pH 8,2, med ackumulation uppgivet som den effekt som undersöktes. För erythromycin fanns endast ett dataintervall angivet med mortalitet som endpoint, och för ett pH som även det var angivet i form av ett intervall.

Tabell 3.

Data hämtad från US EPA (2024). LOEC = lowest observed effect concentration; NOEC = no observed effect concentration; EC₁₀ = effect concentration 10%; EC₅₀ = effect concentration 50%.

Bevakningslista						
Benzophenone-3 CAS: 131-57-7						
Artgrupp (vetenskapligt namn)	Koncentration (mg/L)	Effekt/Endpoint	Akut/ kroniskt test	pH	pK _a	Protonerings- grad (%)
Alg (<i>Isochrysis galbana</i>)	0,003	Population/EC ₁₀	Kroniskt	8	7,1	-
Alg (<i>Isochrysis galbana</i>)	0,014	Population/EC ₅₀	Kroniskt	8	7,1	-
Alg (<i>Isochrysis galbana</i>)	0,3	Population/ LOEC	Kroniskt	8	7,1	-
Alg (<i>Isochrysis galbana</i>)	0,03	Population/ NOEC	Kroniskt	8	7,1	-
Trimethoprim CAS: 738-70-5						
Artgrupp (vetenskapligt namn)	Koncentration (mg/L)	Effekt/Endpoint	Akut/ kroniskt test	pH	pK _a	Protonerings- grad (%)
Fisk (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	75	Akkumulation	N/A	8,2	7,12	-
Lista över Prioriterade ämnen						
Erythromycin CAS: 114-07-8						
Artgrupp (vetenskapligt namn)	Koncentration (mg/L)	Effekt/Endpoint	Akut/ kroniskt test	pH	pK _a	Protonerings- grad (%)
Crustacea (<i>Artemia franciscana</i>)	100– 800	Mortalitet	N/A	8,0–8,1	8,9	–
Triclosan CAS: 3380-34-5						
Artgrupp (vetenskapligt namn)	Koncentration (mg/L)	Effekt/Endpoint	Akut/ kroniskt test	pH	pK _a	Protonerings- grad (%)
Alg (<i>Phaeodactylum tricornutum</i>)	0,315	Population/EC ₁₀	Kroniskt	8,2	7,9	33
Alg (<i>Phaeodactylum tricornutum</i>)	0,413	Population/EC ₅₀	Kroniskt	8,2	7,9	33
Evertebrat (<i>Psammechinus miliaris</i>)	0,091	Morfologi/ EC ₅₀	Kroniskt	8	7,9	44
Evertebrat (<i>Psammechinus miliaris</i>)	0,097	Morfologi/ EC ₅₀	Kroniskt	8	7,9	44

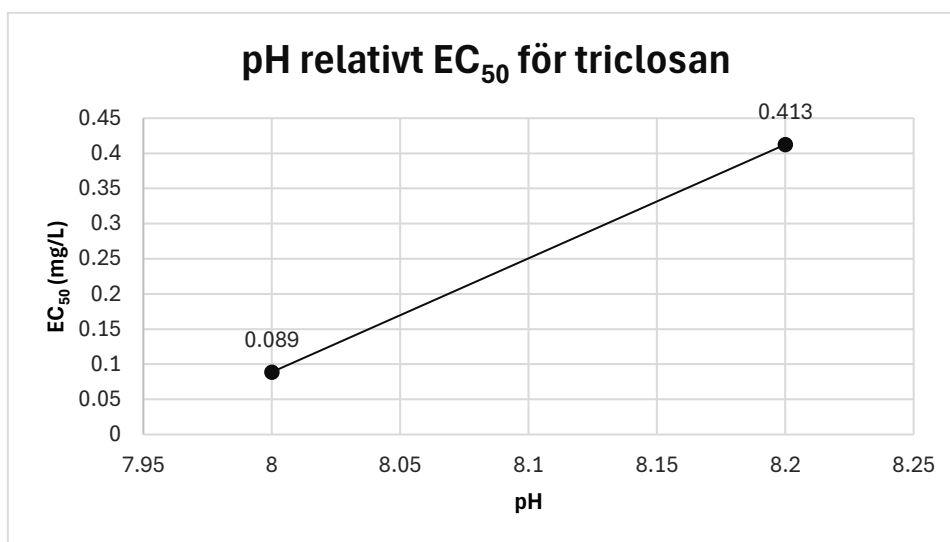
Evertebrat (<i>Psammechinus miliaris</i>)	0,078	Morfologi/ EC ₅₀	Kroniskt	8	7,9	44
Evertebrat (<i>Psammechinus miliaris</i>)	0,072	Morfologi/ NOEC	Kroniskt	8	7,9	44

Kommentar. Data på US EPA angavs med olika antal gällande siffror och har därför inte samma exakthet. I denna tabell är de avrundade till tre decimaler. pKa-värden är hämtade från Pubchem och AAT Bioquest, se Tabell 2.

För triclosan hittades den största andelen data hos US EPA, både vad gäller totalt antal marina data och data där ett pH-värde var angivet tillsammans med ekotoxicitet. För vardera pH som fanns angivet för triclosan (från två olika studier) fanns bland annat EC₅₀-värden (se Tabell 3) som jämfördes i sin relation till pH (Figur 3).

Figur 3.

Visar hur EC₅₀ för triclosan varierar med pH enligt data i Tabell 3.



EC₅₀ var för det högre pH-värdet (8,2) baserat på populationseffekter för alger och uppmätt till 0,413 mg/L. För det lägre pH-värdet (8) var EC₅₀ baserat på morfologiska effekter för en evertebrat och uppmätt till 0,072 mg/L - 0,097 mg/L, med ett medelvärde på 0,089 mg/L. All ekotoxikologiska data för triclosan gällde kroniska effekter. Protoneringsgrad beräknades för triclosan till 33% för pH 8,2 och 44% för pH 8. För triclosan, en syra på grund av sin fenolgrupp, betyder en protonering att ämnet går till sin neutrala form, och att en högre protoneringsgrad ger större andel av den neutrala formen i en lösning.

Diskussion

De artiklar som analyserats under litteraturstudien undersöker sammantaget ett litet antal kemikalier, nio stycken. De är till större delen ämnen som även om de är protonerbara, antingen har ett lägre pKa som diklofenak (DFK) ($pK_a \approx 4$ (PubChem, 2024h)), eller ett högre pKa som karbamazepin (KBZ) ($pK_a 13,9$ (PubChem, 2024d)). KBZ har i dessa artiklar fått särskilt mycket uppmärksamhet: ämnet var föremål för undersökning i fyra av de totalt elva artiklarna som analyserats. Av de ämnen som behandlats i litteraturstudien är Crack kokain (CK), cetirizin (CTZ) och paracetamol (PAR) med pKa 8,5, 8,27 (första pKa), respektive 9,38 (da Silva Souza m.fl., 2021; PubChem, 2024a, 2024e) de som ligger närmast genomsnittligt pH för havet (8,05). Eftersom störst förändring i ration mellan laddad och neutral form av ett protonerbart ämne sker nära dess pKa, kan också störst förändring i ekotoxicitet förväntas för ämnen med pKa nära miljömässigt relevant pH vid ett försurningsscenario. De blir därför mest relevanta att undersöka med avseende på ändrad marin ekotoxicitet.

En förklaring till att KBZ var ett av de mest undersökta ämnena är den mycket stora andelen av KBZ passerar genom vattenreningsverk, och dess höga förekomst i vattenmiljöer (Bahlmann m.fl., 2012; Calisto m.fl., 2011; Metcalfe m.fl., 2003; Zhang m.fl., 2008). Enligt Mezzelani m.fl. (2021), och Almeida m.fl. (2018), förväntas KBZ inte ändra sin protonering under undersökta pH-intervall. Trots detta ser flera av studierna sammanfattade i denna studie (se Tabell 1) en förändring i toxicitet eller BCF för KBZ vid ett sänkt pH (Almeida m.fl., 2022; Freitas m.fl., 2016; Mezzelani m.fl., 2021), vilket indikerar att det kan finnas andra förklaringsmodeller utöver att den neutrala fraktionen står för högre toxicitet.

I de artiklar som behandlade CK rapporterade da Silva Souza m.fl. (2019) ökad toxicitet under ett reducerat pH, medan da Silva Souza m.fl. (2021) rapporterade minskad. Sett till pKa för kokain, en basisk substans med pKa 8,5 och där crack-kokain är dess fribas-form, förväntas en minskad toxicitet (da Silva Souza m.fl., 2021). Diskrepanser mellan dessa resultat skulle kunna bero på att olika effekter undersöktes, olika känslighet hos de olika organismer som testades, och att da Silva Souza m.fl. (2019) testade koncentrationer mellan 6,25 mg/L - 100 mg/L, medan da Silva Souza m.fl. (2021) testade på miljömässigt relevanta koncentrationer mellan 0,0005 - 0,05 mg/L. Därtill undersökte da Silva Souza (2021) effekter på ett pH-intervall som sträckte sig längre ner på pH skalan (ner till pH 6,0).

När Munari m.fl. (2022) utvärderade effekter av DFK och koffein uteblev signifikanta effekter som berodde på någon av dessa ämnen i kombination med reducerat pH. DFK, en svag syra med pKa ~ 4 , och koffein, en svag bas med pKa 14 (PubChem, 2024c), undersöktes båda under miljömässigt relevanta koncentrationer (Munari m.fl. (2022)). Det låga respektive höga pKa-värdet indikerar att ett scenario för havsförsurning inte skulle medföra en större skillnad i protonerad fraktion för något av ämnena, vilket i överensstämmer med resultaten. Det kan också vara så att effekten eller organismen som undersökts under aktuell studie inte innehar en betydande känslighet för någon av föroreningarna, eller att de relativt låga testkoncentrationerna påverkade utfallet.

Vad gäller FLX, salicylsyra (SA), losartan (LST) och PAR motsvarar förändringen i ekotoxicitet förväntningarna utifrån tidigare studier (Rendal m.fl., 2011; Valenti m.fl., 2009): att baser minskar i toxicitet med reducerat pH, och tvärtom för syror. Dessa ämnen undersöktes vid miljömässigt relevanta koncentrationer, och syrorna (PAR, SA, LST) visade båda på en ökad toxicitet mot testorganismen, medan FLX visade en minskad. Intressant nog

har SA ett $pK_a < 3$ (PubChem, 2024m), vilket skulle indikera att en bara mycket liten förändring i protoneringsgrad skulle ha skett. Detsamma gäller för FLX som med sitt relativt höga pK_a och basiska egenskaper som under studien av Lo m.fl. (2021) bara ändrar sin protoneringsgrad med någon enstaka procent (från 3% till 0,78% neutral fraktion), och LST, en svag syra vars neutrala fraktion ökar med ungefär 1% (går från 98,4% till 99,7%) (Pusceddu m.fl., 2022).

Det svårt att med säkerhet säga huruvida de kumulativa effekter uppstått under de studier som analyserats här gjort så på grund av en modulerad toxicitet, eller på grund av att en testorganism till följd av reducerat pH får ökad känslighet för en förorenings toxiska egenskaper. Även andra faktorer kan spela in, såsom unika egenskaper och responsmekanismer hos testorganismer, eller för närvarande okända verkningsmekanismer.

Ändrad ekotoxicitet har rapporterats för flertalet kemikalier, även i fall där den teoretiska protoneringsgraden skiljer sig mycket lite mellan olika pH-scenarier och motsäger ett sådant resultat. Det fanns även fall då biokoncentrationen påverkats trots en mycket liten teoretisk skillnad i protoneringsgrad. Dessa resultat indikerar att neutral fraktion inte ensamt förutsäger hur toxiciteten hos en protonerbar organisk förorening ändras under havsförsurning. En sådan hypotes överensstämmer även med resultaten från Boström & Berglund (2015), vilka noterade att beräknade fraktioner av laddade respektive neutrala former inte motsvarade förändringarna i ekotoxicitet. Det är möjligt att andra faktorer som till exempel ion trapping, som skulle bidra till att bioackumuleringen ökar, spelar in. Det vore därför önskvärt med fler studier där biokoncentration utvärderas tillsammans med ämnesrelevanta effekter, i ett steg att bättre förstå i vilken utsträckning neutral fraktion kan förutsäga toxicitet, och under vilka omständigheter.

En kartläggning av marina ekotoxikologiska data för protonerbara organiska ämnen med pK_a 7,0 - 9,0 på EU:s bevakningslista och lista över prioriterade ämnen gav mycket få resultat. Utav totalt åtta ämnen var det bara för triclosan det fanns jämförbara värden, men även här var data bristfällig. Det fanns bara ett fåtal datapunkter (EC_{50}) och dessa data härrörde från tester utförda på olika effekter (population och morfologi) och vitt skilda artgrupper (alg respektive evertebrat). Dessa skillnader försvårar en jämförelse av data eftersom ett ämne kan ha olika inverkan och grad därav på olika effekter och organismer. Därtill var pH och EC_{50} angivet med olika antal gällande siffror vilket kan påverka exaktheten i beräkningar utförda i denna studie. Trots en rad osäkerheter överensstämmer resultaten för triclosan (pK_a 7,9) med hypotesen om en ökad ekotoxicitet vid reducerat pH för en svag syra: EC_{50} gick vid pH 8,2 från 0,413 mg/L till cirka 0,089 mg/L vid pH 8. Värdena korresponderade med en protoneringsgrad på 33% respektive 44%, vilket i alla fall delvis skulle kunna förklara den högre toxiciteten. Det är åter värt att notera att toxiciteten verkar öka mer än protoneringsgrad: toxiciteten är ungefär 4,6 gånger högre vid pH 8,2 än vid pH 8, medan protoneringsgraden är 1,3 gånger större. Denna beräknade skillnad i protoneringsgrad visar också på den höga vikten att undersöka just ämnen med pK_a nära ett miljömässigt relevant pH, och belyser en kunskapslucka såväl som ett behov av att ta reda på vilken effekt havsförsurning har på ämnen med ett sådant pK_a som befinner sig på EU:s listor.

Assessment factors är tänkta att kompensera för osäkerheter och möjliggör användandet av sötvattendata för en uppskattning av marin ekotoxicitet (ECHA, 2008). Men om än detta

är ett behjälpligt verktyg när data finns för det ena habitatet och inte det andra, uppnås högre realism och större relevans när tester utförs på marina organismer.

I allmänhet bör även noteras att pKa-värden dels beror av temperatur, dels att det finns diskrepanser i vilka värden som angivs hos olika källor. Dessutom varierar det i huruvida pKa anges vid en precis temperatur eller inte. Dessa osäkerheter kan påverka precisionen i beräkningar utförda i denna studie såväl som analysen av de artiklar som ingått i litteraturstudien.

De samlade resultaten från denna studie visar att den marina ekotoxiciteten för ett protonerbart organiskt ämne verkar kunna påverkas av omgivningens pH, där svaga syror generellt ökar i toxicitet med ett reducerat pH, och det motsatta gäller för svaga baser. Det följer att svaga syror kan utgöra en ökad risk mot marina ekosystem under havsförurning, då syror i linje med hypotesen för denna studie får en större andel neutralt ämne vid en högre grad av protonering. Hypotesen för denna studie kan därmed anses delvis bekräftad. Det återstår dock att undersöka till vilken grad protonering och ökat diffusivt upptag över cellmembran korresponderar med toxisk effekt.

Det blir viktigt att komma ihåg att en förändrad ekotoxicitet, utanför den reglerade laboriemiljön, sker i kontexten av blandningar av föroreningar, pseudopersistens, samt andra fysiokemiska och biologiska stressorer; att små ändringar därför kan verka kumulativt och således att små förändringar i bioackumulation eller toxicitet kan ha en stor inverkan på det marina ekosystemet. Därtill uppvisar kustnära vatten, det vill säga där utsläppen och koncentrationen av föroreningar är som störst, en känslighet för havsförurning på grund av unika omständigheter som utspelar sig på lokal skala. Därav understryks också vikten av att standardtester är så tydliga som möjligt med vilka förfaranden som är gällande. Om detta uppnås medföljer att protonerbara organiska kemikalier undersöks vid ett relevant pH och riskbedömningar når så hög realism som möjligt.

I en realitet där uppemot 80% av läkemedel och cirka 40% av industriella kemikalier består av protonerbara organiska ämnen (Arp m.fl., 2017; Manalack, 2007) är det högst angeläget att med så hög precision som möjligt veta hur dessa ämnen samspelar med både nuvarande och framtida förurning av marina miljöer.

Slutsats

Sammantaget syns utifrån dessa resultat en trend i att den marina ekotoxiciteten för ett protonerbart organiskt ämne påverkas av omgivningens pH. Det går till en viss utsträckning att förutsäga hur toxiciteten hos ett ämne kommer moduleras vid ett försurat scenario beroende på dess pKa i kombination med dess sura eller basiska egenskaper. Svaga syror verkar öka i toxicitet med reducerat pH, och det motsatta gäller för svaga baser. Det finns dock indikationer på att den neutrala fraktionen inte ensamt förklarar en förändring i ekotoxicitet. Därför efterfrågas mer forskning kring hur biokoncentrationen för organiska protonerbara föroreningar påverkas under havsförsurning. Resultatet indikerar dock att hypotesen om att en högre toxisk effekt uppstår när ökad protonering leder till större neutral andel av ett ämne i alla fall delvis kan bekräftas.

Resultatet från litteraturstudien i kombination med analysen av hur protoneringsgrad ändras med pH och toxicitet för EU-relevanta kemikalier understryker vikten av att studera hur protonerbara organiska ämnen med just pKa nära miljömässigt relevant pH påverkas under havsförsurning. Det noteras också att det finns en brist på sådan data i nuläget.

Referenser

- AAT Bioquest, Inc. (2024, 24 april). Quest Database™ *pKa and pKb Reference Table*. AAT Bioquest. Hämtad 24 april 2024, från <https://www.aatbio.com/data-sets/pka-and-pkb-reference-table>
- Almeida, Â., Calisto, V., Esteves, V. I., Schneider, R. J., Soares, A. M. V. M., & Freitas, R. (2022). Responses of *Ruditapes philippinarum* to contamination by pharmaceutical drugs under ocean acidification scenario. *Science of The Total Environment*, 824, 153591. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153591>
- Almeida, Â., Freitas, R., Calisto, V., Esteves, V. I., Schneider, R. J., Soares, A. M. V. M., Figueira, E., Campos, B., & Barata, C. (2018). Effects of carbamazepine and cetirizine under an ocean acidification scenario on the biochemical and transcriptome responses of the clam *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Pollution*, 235, 857–868. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.121>
- Arp, H. P. H., Brown, T. N., Berger, U., & Hale, S. E. (2017). Ranking REACH registered neutral, ionizable and ionic organic chemicals based on their aquatic persistency and mobility. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 19(7), 939–955. <https://doi.org/10.1039/C7EM00158D>
- Bahlmann, A., Carvalho, J. J., Weller, M. G., Panne, U., & Schneider, R. J. (2012). Immunoassays as high-throughput tools: Monitoring spatial and temporal variations of carbamazepine, caffeine and cetirizine in surface and wastewaters. *Chemosphere*, 89(11), 1278–1286. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.020>
- Bethke, K., Kropidłowska, K., Stepnowski, P., & Caban, M. (2023). Review of warming and acidification effects to the ecotoxicity of pharmaceuticals on aquatic organisms in the era of climate change. *Science of The Total Environment*, 877, 162829. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162829>
- Boström, M. (2019). *Uptake and bioaccumulation of ionizable pharmaceuticals in aquatic organisms* [Doktorsavhandling, Lunds universitet]. https://www.researchgate.net/publication/337160852_Uptake_and_bioaccumulation_of_ionizable_pharmaceuticals_in_aquatic_organisms
- Boström, M. L., & Berglund, O. (2015). Influence of pH-dependent aquatic toxicity of ionizable pharmaceuticals on risk assessments over environmental pH ranges. *Water Research*, 72, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.040>
- Cai, W.-J., Hu, X., Huang, W.-J., Murrell, M. C., Lehrter, J. C., Lohrenz, S. E., Chou, W.-C., Zhai, W., Hollibaugh, J. T., Wang, Y., Zhao, P., Guo, X., Gundersen, K., Dai, M., & Gong, G.-C. (2011). Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication. *Nature Geoscience*, 4(11), 766–770. <https://doi.org/10.1038/ngeo1297>
- Calisto, V., Bahlmann, A., Schneider, R. J., & Esteves, V. I. (2011). Application of an ELISA to the quantification of carbamazepine in ground, surface and wastewaters and validation with LC–MS/MS. *Chemosphere*, 84(11), 1708–1715. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.072>

- da Silva Souza, L., Bonnail, E., Maranhão, L. A., Pusceddu, F. H., Cortez, F. S., Cesar, A., Ribeiro, D. A., Riba, I., de Souza Abessa, D. M., DelValls, Á., & Pereira, C. D. S. (2021). Sub-lethal combined effects of illicit drug and decreased pH on marine mussels: A short-time exposure to crack cocaine in CO₂ enrichment scenarios. *Marine Pollution Bulletin*, *171*, 112735. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112735>
- da Silva Souza, L., Pusceddu, F. H., Cortez, F. S., de Orte, M. R., Seabra, A. A., Cesar, A., Ribeiro, D. A., Del Valls Casillas, T. A., & Pereira, C. D. S. (2019). Harmful effects of cocaine byproduct in the reproduction of sea urchin in different ocean acidification scenarios. *Chemosphere*, *236*, 124284. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.015>
- Daniel, D., Nunes, B., Pinto, E., Ferreira, I. M. P. L. V. O., & Correia, A. T. (2022). Assessment of Paracetamol Toxic Effects under Varying Seawater pH Conditions on the Marine Polychaete *Hediste diversicolor* Using Biochemical Endpoints. *Biology*, *11*(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/biology11040581>
- Dionísio, R., Daniel, D., Arenas, F., Campos, J. C., Costa, P. C., Nunes, B., & Correia, A. T. (2020). Effects of pH on salicylic acid toxicity in terms of biomarkers determined in the marine gastropod *Gibbula umbilicalis*. *Marine Environmental Research*, *158*, 104995. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.104995>
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. *Annual Review of Marine Science*, *1*(Volume 1, 2009), 169–192. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834>
- Europeiska kommissionen. (2022). Förslag till Europaparlamentets och Rådets Direktiv om ändring av direktiv 2000/60/EG om upprättande av en ram för gemenskapens åtgärder på vattenpolitikens område, direktiv 2006/118/EG om skydd för grundvatten mot föroreningar och försämring och direktiv 2008/105/EG om miljökvalitetsnormer inom vattenpolitikens område. COM(2022) 540 final. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/HTML/?uri=CELEX:52022PC0540>
- European Chemicals Agency (ECHA). (2008). Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment.
- European Environment Agency (EEA). (2023, april 28). *Ocean acidification*. European Environment Agency. Hämtad 2024-04-29 från <https://www.eea.europa.eu/en/analysis/indicators/ocean-acidification>
- Feely, R. A., Okazaki, R. R., Cai, W.-J., Bednaršek, N., Alin, S. R., Byrne, R. H., & Fassbender, A. (2018). The combined effects of acidification and hypoxia on pH and aragonite saturation in the coastal waters of the California current ecosystem and the northern Gulf of Mexico. *Continental Shelf Research*, *152*, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2017.11.002>
- Freitas, R., Almeida, Â., Calisto, V., Velez, C., Moreira, A., Schneider, R. J., Esteves, V. I., Wrona, F. J., Figueira, E., & Soares, A. M. V. M. (2016). The impacts of pharmaceutical drugs under ocean acidification: New data on single and combined long-term effects of

- carbamazepine on *Scrobicularia plana*. *Science of The Total Environment*, 541, 977–985.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.138>
- Gruber, N., Clement, D., Carter, B. R., Feely, R. A., van Heuven, S., Hoppema, M., Ishii, M., Key, R. M., Kozyr, A., Lauvset, S. K., Lo Monaco, C., Mathis, J. T., Murata, A., Olsen, A., Perez, F. F., Sabine, C. L., Tanhua, T., & Wanninkhof, R. (2019). The oceanic sink for anthropogenic CO₂ from 1994 to 2007. *Science*, 363(6432), 1193–1199.
<https://doi.org/10.1126/science.aau5153>
- Intergovernmental Panel On Climate Change (IPCC). (2022). *The Ocean and Cryosphere in a Changing Climate: Special Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (1:a uppl.). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009157964>
- Kommissionens genomförandebeslut (EU) 2022/1307 av den 22 juli 2022 om upprättande av en bevakningslista över ämnen för unionsomfattande övervakning inom vattenpolitikens område i enlighet med Europaparlamentets och rådets direktiv 2008/105/EG (delgivet med nr C(2022) 5098), 197 OJ L (2022).
http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2022/1307/oj/swe
- Kurerad toxicitetsdata hämtades från the ECOTOXicology Knowledgebase, U.S. Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/ecotox/> (2024-04-19).
- Lo, H. K. A., Chua, V. A., & Chan, K. Y. K. (2021). Near future ocean acidification modulates the physiological impact of fluoxetine at environmental concentration on larval urchins. *Science of The Total Environment*, 801, 149709.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149709>
- Manallack, D. T. (2007). The pK_a Distribution of Drugs: Application to Drug Discovery. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 1, 1177391X0700100003.
<https://doi.org/10.1177/1177391X0700100003>
- Metcalf, C. D., Koenig, B. G., Bennie, D. T., Servos, M., Ternes, T. A., & Hirsch, R. (2003). Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(12), 2872–2880.
<https://doi.org/10.1897/02-469>
- Mezzelani, M., Nardi, A., Bernardini, I., Milan, M., Peruzza, L., d’Errico, G., Fattorini, D., Gorbi, S., Patarnello, T., & Regoli, F. (2021). Environmental pharmaceuticals and climate change: The case study of carbamazepine in *M. galloprovincialis* under ocean acidification scenario. *Environment International*, 146, 106269.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106269>
- Munari, M., Devigili, A., dalle Palle, G., Asnicar, D., Pastore, P., Badocco, D., & Marin, M. G. (2022). Ocean Acidification, but Not Environmental Contaminants, Affects Fertilization Success and Sperm Motility in the Sea Urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/jmse10020247>
- National Center for Biotechnology Information (2024a). PubChem Compound Summary for CID 1983, Acetaminophen. Hämtad 17 maj 2024, från
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetaminophen>.
- National Center for Biotechnology Information (2024b). PubChem Compound Summary for CID

- 447043, Azithromycin. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azithromycin>.
- National Center for Biotechnology Information (2024c). PubChem Compound Summary for CID 2519, Caffeine. Hämtad 19 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Caffeine>.
- National Center for Biotechnology Information (2024d). PubChem Compound Summary for CID 2554, Carbamazepine. Hämtad 17 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carbamazepine>.
- National Center for Biotechnology Information (2024e). PubChem Compound Summary for CID 2678, Cetirizine. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cetirizine>.
- National Center for Biotechnology Information (2024f). PubChem Compound Summary for CID 84029, Clarithromycin. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clarithromycin>.
- National Center for Biotechnology Information (2024g). PubChem Compound Summary for CID 446598, Clindamycin. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clindamycin>.
- National Center for Biotechnology Information (2024h). PubChem Compound Summary for CID 3033, Diclofenac. Hämtad 17 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac>.
- National Center for Biotechnology Information (2024i). PubChem Compound Summary for CID 12560, Erythromycin. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Erythromycin>.
- National Center for Biotechnology Information (2024j). PubChem Compound Summary for CID 4583, Ofloxacin. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ofloxacin>.
- National Center for Biotechnology Information (2024k). PubChem Compound Summary for CID 4632, Oxybenzone. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oxybenzone>.
- National Center for Biotechnology Information (2024l). PubChem Compound Summary for CID 338, Salicylic Acid. Hämtad 19 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Salicylic-Acid>.
- National Center for Biotechnology Information (2024m). PubChem Compound Summary for CID 5564, Triclosan. Hämtad 16 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Triclosan>.
- OECD. (2019a). *Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures* / READ online. [oecd-ilibrary.org](https://read.oecd-ilibrary.org/environment/guidance-document-on-aquatic-toxicity-testing-of-difficult-substances-and-mixtures_0ed2f88e-en). Hämtad 21 april 2024, från https://read.oecd-ilibrary.org/environment/guidance-document-on-aquatic-toxicity-testing-of-difficult-substances-and-mixtures_0ed2f88e-en
- OECD. (2019b). *Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test* / READ online. [oecd-ilibrary.org](https://read.oecd-ilibrary.org).

- Hämtad 21 april 2024, från https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-203-fish-acute-toxicity-test_9789264069961-en
- OECD. (1998). *Test No. 212: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages* / *READ online*. [oecd-ilibrary.org. https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-212-fish-short-term-toxicity-test-on-embryo-and-sac-fry-stages_9789264070141-en](https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-212-fish-short-term-toxicity-test-on-embryo-and-sac-fry-stages_9789264070141-en)
- OECD. (2000). *Test No. 215: Fish, Juvenile Growth Test* / *READ online*. [oecd-ilibrary.org. https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-215-fish-juvenile-growth-test_9789264070202-en](https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-215-fish-juvenile-growth-test_9789264070202-en)
- OECD. (2006). *Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test* / *READ online*. [oecd-ilibrary.org. https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-201-alga-growth-inhibition-test_9789264069923-en](https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-201-alga-growth-inhibition-test_9789264069923-en)
- OECD. (2011). *Test No. 234: Fish Sexual Development Test* / *READ online*. [oecd-ilibrary.org. https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-234-fish-sexual-development-test_9789264122369-en](https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-234-fish-sexual-development-test_9789264122369-en)
- PubChem. (u.å.). PubChem. Hämtad 19 maj 2024, från <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Pusceddu, F. H., Guimarães, M. M., Lopes, L. O., Souza, L. S., Cortez, F. S., Pereira, C. D. S., Choueri, R. B., & Cesar, A. (2022). Biological effects of the antihypertensive losartan under different ocean acidification scenarios. *Environmental Pollution*, 292, 118329. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118329>
- Rendal, C., Kusk, K. O., & Trapp, S. (2011). Optimal choice of pH for toxicity and bioaccumulation studies of ionizing organic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(11), 2395–2406. <https://doi.org/10.1002/etc.641>
- Valenti Jr., T. W., Perez-Hurtado, P., Chambliss, C. K., & Brooks, B. W. (2009). Aquatic toxicity of sertraline to Pimephales promelas at environmentally relevant surface water pH. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2685–2694. <https://doi.org/10.1897/08-546.1>
- Vargas, C. A., Contreras, P. Y., Pérez, C. A., Sobarzo, M., Saldías, G. S., & Salisbury, J. (2016). Influences of riverine and upwelling waters on the coastal carbonate system off Central Chile and their ocean acidification implications. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 121(6), 1468–1483. <https://doi.org/10.1002/2015JG003213>
- Wootton, J. T., & Pfister, C. A. (2012). Carbon System Measurements and Potential Climatic Drivers at a Site of Rapidly Declining Ocean pH. *PLOS ONE*, 7(12), e53396. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053396>
- Zhang, Y., Geißen, S.-U., & Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73(8), 1151–1161. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.086>

Appendix

Uträkning av protoneringsgrad för triclosan, $pK_a = 7,9$

Henderson-Hasselbalch ekvationen: $pH = pK_a + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) \rightarrow$

$$\rightarrow F_{[A^-]} = F_{[HA]} \cdot 10^{(pH - pK_a)}$$

pH 8,0:

$$F_{[A^-]} = F_{[HA]} \cdot 10^{(0,1)}$$

$$\% \text{ protonerad: } 100 \cdot F_{[HA]} / (F_{[A^-]} + F_{[HA]})$$

$$\rightarrow \% \text{ protonerad: } 100F_{[HA]} / 10^{(0,1)}F_{[HA]} + F_{[HA]} =$$

$$= 100/2 \cdot 10^{(0,1)} =$$

$$= 44,2688366\dots\% \approx 44\%$$

pH 8,2:

$$F_{[A^-]} = F_{[HA]} \cdot 10^{(0,3)}$$

$$\% \text{ protonerad: } 100 \cdot F_{[HA]} / (F_{[A^-]} + F_{[HA]})$$

$$\rightarrow \% \text{ protonerad: } 100F_{[HA]} / 10^{(0,3)}F_{[HA]} + F_{[HA]} =$$

$$= 100/2 \cdot 10^{(0,3)} =$$

$$= 33,38605754\dots\% \approx 33\%$$