

Ophobes nanopartikler i fødekæden?

Nanopartikler findes i et stigende antal forbrugerprodukter og kan over tid ende i vandmiljøet. Men er der grund til bekymring? Bliver partiklerne optaget og akkumuleret i vandlevende organismer, og transporteres de op gennem fødekæden og ender i de fisk, som vi spiser?

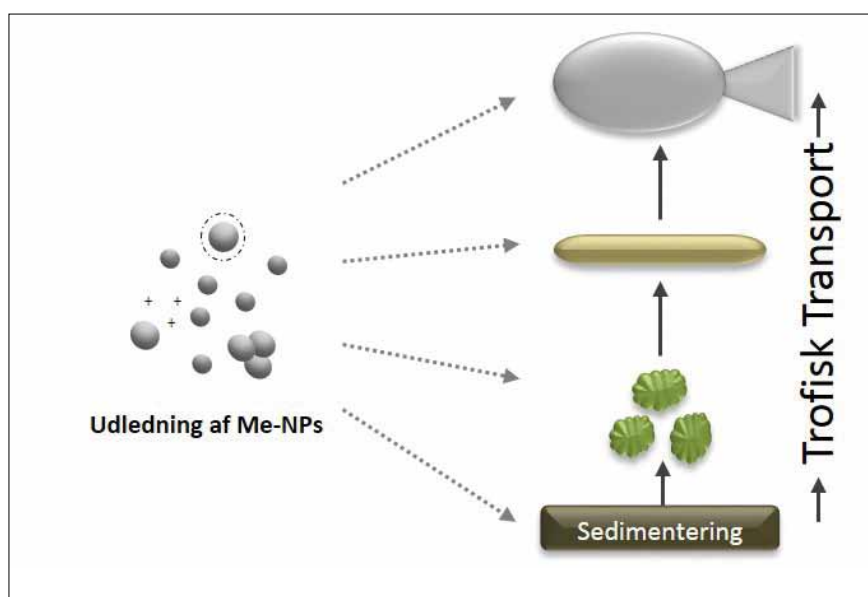
STINE ROSENDAL TANGAA, FARHAN R. KHAN, MARGRETHE-WINTHER NIELSEN, & HENRIETTE SELCK

Hvad er nanopartikler?

Nano er en størrelsesbetegnelse ligesom centi eller milli og 1 nanometer svarer til 0,000000001 meter. Det er så småt, at vi ikke kan se det med det menneskelige øje. Faktisk skal der bruges specielle elektronmikroskoper for at kunne "se" ting i nanostørrelse. Mange materialer bliver i dag fremstillet i nanostørrelse som nanopartikler eller nanomaterialer, da man ved at gøre materialerne mindre opnår helt nye egenskaber, som åbner en verden af nye anvendelsesmuligheder. Det er især metaller som sølv, guld og kobber, der fremstilles i nanopartikelform. Et af de mest brugte nanomaterialer er nanosølv, som bl.a. anvendes som et antibakterielt middel /1/. Det tilsættes f.eks. sokker, for at mindske lugten af bakterier fra sure tæer. Andre produkter, der ofte tilsættes nanopartikler, er solcreme, elektroniske enheder og maling. Problemet med det øgede forbrug af nanopartikler er, at vi i dag ikke kender de risici, der kan være ved deres brug. Det er især nanopartiklernes lille størrelse, der øger deres anvendelighed, der giver forøget reaktivitet. Men det er også denne reaktivitet, der bevirker, at de kan være farlige for organismer og miljø. Studier har vist, at nogle nanopartikler kan optages i celler, medføre toksiske effekter og dermed påføre skade på diverse organismer.

Transport gennem fødekæden

Den akvatiske fødekæde består, helt simpelt, af byttedyr og predatorer. Nederst findes alge-



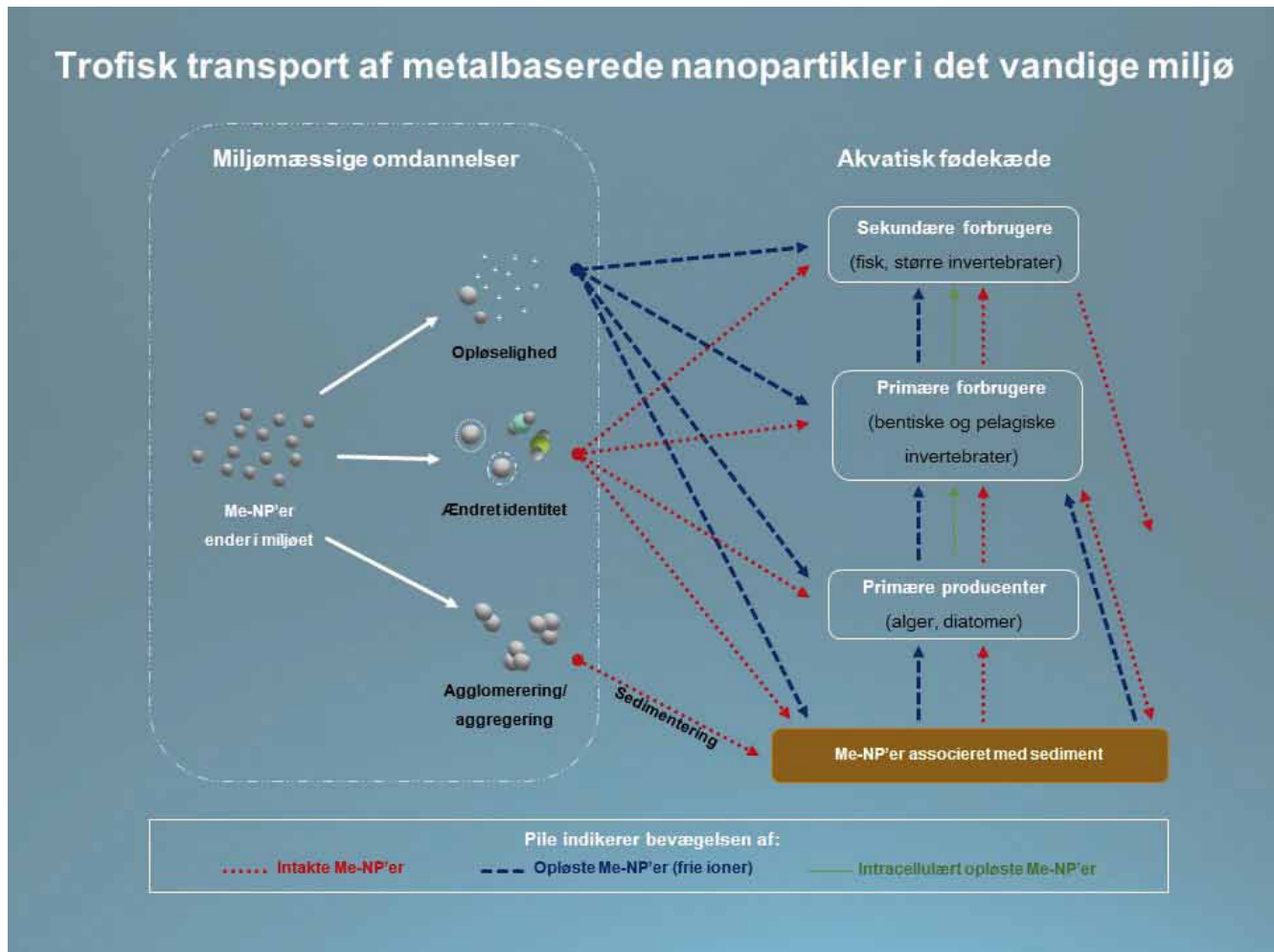
Figur 1: Illustration af hvordan metalbaserede nanopartikler (Me-NPs) kan bevæge sig op gennem den simple akvatiske fødekæde.

me efterfulgt af de mindste dyr (zooplankton) og i den øvre del af kæden findes fisk og pattedyr. Allerøverst placerer mennesket sig. De fleste studier der undersøger effekten af kemiske stoffer såsom nanopartikler, kigger på de første led i fødekæden, dvs. alger eller zooplankton. Vi ved derfor en hel del om, hvordan nanopartikler kan påvirke disse organismer. Men vi mangler viden omkring de større dyr, samt en forståelse af hvordan nanopartikler ophobes og påvirker flere led i fødekæden. Processen hvor stoffer, som f.eks. nanopartikler, bevæger sig op gennem fødekæden, kaldes for trofisk transport. Det er vigtigt at forstå om, og hvordan, dette sker for at få et fuldt billede af, hvilke risici der er ved udledning af f.eks. nanopartikler til miljøet. Studier med andre materialer (f.eks. kviksølv) har vist, at det er muligt for miljø-

fremmede stoffer at bevæge sig op gennem fødekæden og påvirke organismer negativt. Et kendt eksempel er fra Japan, hvor udledningen af kviksølvholdige stoffer til vandmiljøet medførte, at mennesker fik kviksølvforgiftning – den såkaldte Minamata-disease /2/. Nogle frygter, at nanopartikler kan bevæge sig gennem fødekæden fra alger til zooplankton og fisk og samtidig blive opkoncentreret for hvert led i fødekæden. Hvis det sker, vil nanopartiklerne udgøre en større risiko jo højere op i fødekæden man kommer, og dermed også for mennesker, der spiser fisk.

Hvad gjorde vi?

Vi ville undersøge om metalbaserede nanopartikler (Me-NP) bliver transporteret op gennem fødekæden i det vandige miljø, og i så fald om det er noget, vi skal bekymre os



Figur 2: Skematisk repræsentation af relevante eksponeringsveje og miljømæssige forandringsprocesser i forhold til trofisk transport af metalbaserede nanopartikler i det vandige miljø. Efter partiklerne introduceres til vandmiljøet, gennemgår de forskellige reaktioner: opløselighed leder til frigivelsen af metalioner; ændret identitet refererer til reaktionen med ligander og organisk materiale, som derved leder til ændrede partikeloverflader; agglomerering/aggregering resulterer i sedimentering af partikler. Efter sedimentering, kan partiklerne reagere med forskellige komponenter og derved blive yderligere omdannet. Derudover kan partiklerne blive udskilt af de sedimentlevende organismer efter optag, hvilket fører til indirekte udledning tilbage til vandmiljøet. Røde pile indikerer bevægelse af intakte partikler (direkte og indirekte), blå pile indikerer bevægelse af opløste partikler (metalioner) og grønne pile indikerer bevægelse af intracellulært opløste partikler (metalioner) i byttedyr (til predatorer)]

Artiklen er et resumé af en peer reviewet artikel: Tangaa et al: Trophic transfer of metal-based nanoparticles in aquatic environments: a review and recommendations for future research focus, *Environ. Sci.: Nano*, 2016, 3, 966-981

om. Vi udførte derfor et dybdegående litteraturstudie, som omfattede alle studier, der var udgivet omkring trofisk transport af Me-NP'er i vandmiljøet. Dette viste sig (i 2015/16) at være mindre end 20 studier, og vi valgte derfor at inddrage studier omkring trofisk transport af konventionelle metaller, som er et område, der har været forsket i gennem årtier. Derudover kan viden om de mekanismer, der styrer, hvordan metaller transporteres op gennem fødekæden give et indblik i, hvilke faktorer der skal undersøges for Me-NP'er. Baseret på litteraturstudiet lavede vi en oversigt over hvad der vides i dag, og hvor der er videnshuller i forskningen. Vores analyse viste, at man generelt kan beskrive de forhold der har betydning for trofisk transport af Me-NP'er, ved at betragte fire hoved-

områder: (1) Miljømæssige parametre, der påvirker nanopartiklernes skæbne i miljøet (dvs. hvor de transporteres hen), (2) optag og akkumulering i byttedyr, (3) intern skæbne inklusiv lokalisering af partiklerne i byttedyr (hvilke organer nanopartiklerne lagres i), og (4) optag i predatorer. En skematisk oversigt, over hvordan de fire hovedområder påvirker trofisk transport af Me-NP'er, er vist i Figur 2.

Faktorer der påvirker trofisk transport

(1): *Miljømæssige parametre, der påvirker nanopartiklernes skæbne*

Der er mange forskellige faktorer, der har indflydelse på, hvor nanopartikler transporteres hen efter udledning til vandmiljøet. Derudover sker der en række reaktioner, der gør, at

nanopartiklerne ændrer form og/eller speciering. Naturligt, flukturerende parametre som pH, temperatur og salinitet udgør blot nogle af de faktorer der påvirker nanopartiklerne. pH-ændringer kan f.eks. medføre at partiklerne frigiver metalioner og derved bliver mindre. Nanopartiklernes reaktion med naturligt forekommende materialer, såsom organisk materiale, kan ændre partiklernes overflade og dermed deres biologiske "identitet". Biologisk identitet er en overordnet betegnelse for, hvordan partiklerne opfattes af biota. F.eks. kan adsorption af proteiner eller ligander "forklæde" partiklen (dække overfladen med en ny coating), så de ligner naturligt organisk materiale. Dette kan øge optaget af nanopartikler i vandlevende organismer. Ændring af overfladeladningen kan medføre, at partik-

lerne klumper sammen og danner større enheder, kaldet agglomerater eller aggrater. Agglomerater er klumper af partikler holdt sammen af svage fysiske kræfter, som kan adskilles igen. Aggregater er partikler, der er tæt bundet og opfører sig som én enhed. Aggregater kan per definition ikke adskilles igen /3/. Agglomerering og aggregering vil ofte føre til at partiklerne sedimenterer ud af vandfasen og ophober sig i sedimentet. Uanset hvilke reaktioner partiklerne udsættes for, er det vigtigt at understrege, at når først Me-NP'er er udledt til vandmiljøet, vil de findes som en blanding af ioner, agglomerater/aggregater og nanopartikler.

(2): Optag og akkumulering i byttedyr

Når partiklerne er blevet udledt til miljøet, vil de være tilgængelige for optag i organismene. De dyr der lever i det vandige miljø, vil blive udsat for nanopartikler i de førnævnte former, og optagelsen vil afhænge af både partikeltype og byttedyret. Der er lavet mange studier omkring optag og akkumulering i byttedyr især for pelagiske organismer såsom daphnier og alger. Også benthiske organismer kan optage partiklerne, hvis de ender i sedimentet. Derfra kan de transporteres videre til fisk, eller blive reintroduceret til vandmiljøet via udskillelse på sedimentoverfladen. Uanset om partiklerne indtages via føden og ophobes i tarmen på organismene, eller adsorberes til overfladen af dyret, er der mulighed for, at de optages og transporteres ind i cellerne. Og der er enighed om, at den mest sandsynlige mekanisme for optag af nanopartikler over cellemembranen er via endocytose /4/. Endocytose er en proces i cellen, hvor et fremmedlegeme optages via dannelsen af en vesikel omkring legemet, efterfulgt af transport ind i cellen. For nanopartikel optag betyder det, at cellen danner en vesikel omkring nanopartiklen, transporterer vesiklen ind i cellen og herefter frigiver partiklen. Khan et al. (2015) har lavet en god illustration af denne proces, se /4/. Inde i cellen kan partiklen så frigive metalioner eller forblive som en intakt partikel. Hvis nanopartiklen forbliver på partikelform, enten inde i cellen, tarmen eller på organismens yderside, vil den efterfølgende kunne optages af en predator. Sker dette, vil nanopartiklen blive transporteret gennem fødekæden. Grundet de mange påvirkninger partiklerne udsættes for i det vandige miljø, er der størst sandsynlighed for at finde Me-NP'er i sedimentet. Herfra kan de blive transporteret videre som partikler, ved at blive optaget i benthiske organismer, som så spises af fisk. Dette er efter vores overbevisning den mest sandsynlige måde hvorpå trofisk transport af

Me-NP'er vil foregå.

(3): Intern skæbne og lokalisering af partiklerne i byttedyr

For at kunne adressere trofisk transport af Me-NP'er, er det vigtigt, at partiklerne forbliver som partikler i byttedyrene. Som beskrevet, vil nanopartiklerne ændre form, når de indtages og optages i byttedyr, hvilket vil påvirke om partiklerne er tilgængelige for videre transport til de højere organismer. Da forskningen på dette område stadig er meget ny, har vi kigget nærmere på, hvilke faktorer og processer der bestemmer om konventionelle metaller bliver transporteret op i fødekæden. En metode til at bestemme biotilgængeligheden af metaller er bl.a. subcellulær fraktionering, som er opdeling af metaleksponerede celler i mindre dele eller fraktioner. Dette gøres ved, at en eksponeret organisme (f.eks. en alge) nedfryses og homogeniseres. Herefter centrifugeres algemassen over flere omgange, således at de forskellige fraktioner adskilles. Disse fraktioner indeles så efter opløselighed, toksisk potentiale eller trofisk biotilgængelighed /5/. Og det er især den sidste opdelingsmetode, der er relevant her. Ved at fraktionere en celle, der har optaget et metal (eller en metalbaseret nanopartikel), efter hvor biotilgængelige de forskellige dele er for en eventuel predator, kan man få et billede af, hvor stor sandsynligheden er, for at metallet transporteres op gennem fødekæden. Denne metode er bl.a. blevet benyttet til at bestemme fraktioneringen af kobberoxid nanopartikler i den sedimentlevende orm *Neries diversicolor* /6/. Der findes i dag ikke mange studier, der undersøger den subcellulære fraktionering af Me-NP'er efter optag i organismer, men det er et lovende forskningsområde, som bestemt fortjener mere opmærksomhed i fremtiden. Kombineret med viden om nanopartiklers specifikke adfærd, vil dette hovedområde give os stor indsigt i den reelle risiko for trofisk transport af nanopartikler.

(4): Optag i predatorer

For at kunne diskutere trofisk transport af nanopartikler til de højere niveau i fødekæden, har vi defineret akkumulering som "alt optag af nanopartikler, både internt over cellemembranen og eksternt i mave-tarm systemet og adsorberet til dyrets overflade". Det gør vi for at inkludere alle mulige optagelsesveje og for ikke at udelukke ikke-assimilerede (inkorporerede i byttedyr) nanopartikler. Efter vores overbevisning er al transport af nanopartikler relevant at undersøge, da både interne og eksterne partikler vil kunne optages af predatoren, hvis den spiser byttedyret.

I den foresimplede fødekæde vi arbejder med, er fisk de primære pelagiske predatorer og muslinger de primære benthiske predatorer. Fisk og muslinger er ofte brugt i økotoxikologiske studier, men der vides ikke meget om, hvorledes Me-NP'er optages og akkumuleres i disse organismer. Studier har vist, at optag af konventionelle metaller i fisk kan medføre skade på deres mave-tarm system, nedsætte deres reproduktionsevne og skabe celleforandringer /7/. De samme effekter frygtes at kunne ske som resultat af nanopartikeloptag. Muslinger indtager naturligt partikler i samme størrelsesorden som agglomererede/aggregerede nanopartikler, og de er derfor i risikogruppen for at optage nanopartikler fra føden. Studier har vist, at nanopartikler kan skade muslingernes immunsystem, og at cellulært optag kan lede til oxidativt stress /8/. Oxidativt stress er en naturlig reaktion, der sker som følge af produktionen af reaktive oxygen specier (ROS) inde i cellen. Når ROS-produktionen bliver for høj, kan det medføre celledød. Pga. de alvorlige konsekvenser nanopartikeloptag kan have for højere organismer, er det vigtigt at inkludere, når risikoen ved brug af nanopartikler undersøges. Desværre er dette sjældent tilfældet, og af de fire hovedområder, vi her fremhæver, er dette det, vi ved mindst om. Studier, der inkluderer flere trofiske niveauer, beskæftiger sig oftest med de nederste dele af fødekæden, dvs. transport fra alger til zooplankton. Der er få studier, der har undersøgt transport fra zooplankton til fisk, samt fra alger til muslinger. De studier der er, tyder på at biomagnificering ikke forekommer, når vi bevæger os op i fødekæden. Indtil videre, ser det altså ikke ud til, at vi skal være bekymrede for, at nanopartiklerne ophober sig i vores fisk.

Hvad så nu?

De fire hovedområder er alle lige vigtige for forståelsen af trofisk transport af Me-NP'er, men der er stor forskel på, hvor meget vi ved om hver enkelt. Især område (1) og (2) har fået stor opmærksomhed i forskningsmiljøet, og der vides i dag rigtig meget om, hvordan nanopartikler opfører sig, når de havner i vandmiljøet. Derudover har vi stor viden omkring, hvorledes partiklerne optages og akkumuleres i mindre organismer, dvs. primært fra de første led i fødekæden. Nye metoder har gjort det muligt at undersøge, hvorledes partiklerne fordeler sig i organismen efter optag, men der er stadig meget at lære. Ligeledes ved vi ikke meget om, hvordan partiklerne opfører sig efter optag i predatorer, altså hvad deres skæbne er, når de transporteres fra ét dyr til et andet. Derudover inkluderes sediment

sjældent i studier med nanopartikler, fordi vi mangler metoder til at analysere partiklerne, når de er i sedimentet. Men det er netop i sedimentet, at der er størst sandsynlighed for at finde Me-NP'er, og fokus skal derfor rettes mod denne del af vandmiljøet i fremtidige studier.

Vi har i denne oversigt forsøgt at danne et overblik over trofisk transport af Me-NP'er i det vandige miljø. Vi har belyst, at trofisk transport finder sted, samt at der er store videnshuller indenfor dette relativt nye forskningsområde. Fremtidige studier bør inkludere flere trofiske niveauer, undersøgelser der giver bedre forståelse af partiklernes interne skæbne, især i højere organismer, samt analyser af hvordan partiklerne opfører sig, når de havner i sedimentet. Vi er nået et stykke, men der er stadig lang vej, før vi endeligt forstår konsekvenserne af at udlede nanopartikler til vores miljø.

Referenceliste

- /1/ Vance ME, Kuiken T, Vejerano EP, McGinnis SP, Hochella Jr MF, Rejeski D, Hull MS. 2015: Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J Nanotechnol.* 6:1769–80.
- /2/ Harada M. 1995: Minamata disease: Methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. *Crit Rev Toxicol.* 25(1):1–24.
- /3/ IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd edition, version 2.3.2, 2012 (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook.
- /4/ Khan FR, Misra SK, Bury NR, Smith BD, Rainbow PS, Luoma SN, Valsami-Jones E. 2015: Inhibition of potential uptake pathways for silver nanoparticles in the estuarine snail *Peringia ulvae*. *Nanotoxicology* 9(4):493–501.
- /5/ García-Alonso J, Khan FR, Misra SK, Turmaine M, Smith BD, Rainbow PS, Luoma SN, Valsami-Jones E. 2011: Cellular Internalization of Silver Nanoparticles in Gut Epithelia of the Estuarine Polychaete *Nereis diversicolor*. *Environ Sci Technol.* 45:4630–6
- /6/ Thit A, Banta GT, Selck H. 2015: Bioaccumulation, subcellular distribution and toxicity of sediment-associated copper in the ragworm *Nereis diversicolor*: The relative importance of aqueous copper, copper oxide nanoparticles and microparticles. *Environ Poll.* 202:50-57
- /7/ Boyle D, Brix K V, Amlund H, Lundebye A-K, Hogstrand C, Bury NR. 2008: Natural Arsenic Contaminated Diets Perturb Reproduction in Fish. *Environ Sci Technol.* 42(14):5354–60.

- /8/ Croteau M-N, Luoma SN, Topping BR, Lopez CB. 2004: Stable metal isotopes reveal copper accumulation and loss dynamics in the freshwater bivalve *Corbicula*. *Environ Sci Technol.* 38(19):5002–9. Open Access licens: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>

Artiklen er et resumé af en peer reviewet artikel: Tangaa et al: Trophic transfer of metal-based nanoparticles in aquatic environments: a review and recommendations for future research focus, *Environ. Sci.: Nano*, 2016, 3, 966-981

STINE ROSENDAL TANGAA er ansat som phd-studerende på Roskilde Universitet (Institut for naturvidenskab og miljø (INM)) og DHI (Department of Environment & Toxicology (EAT)), E-mail: stangaa@ruc.dk

FARHAN KHAN er ansat som lektor på Roskilde Universitet (INM), E-mail: frkhan@ruc.dk

MARGRETHE WINTHER-NIELSEN er ansat som R&D Manager på DHI (EAT), E-mail: mwn@dhigroup.com

HENRIETTE SELCK er ansat som lektor på Roskilde Universitet (INM), E-mail: selck@ruc.dk

Service for kvindelige læsere af Vand & Jord

Bæredygtighed indenfor toiletteknologien tager fart i disse år. Herreerne har taget teten, idet det nu er ganske almindeligt med vandfri toiletter for mænd. Brug af disse installationer sparer omkring 70 procent af vandforbruget på herretoiletter.

Hvordan ser vandfrie urinaler ud? Dette spørgsmål mødes man ofte af fra vores kvindelige læsere. En mulighed er jo feltstudier ved at besøge et herretoilet for at afklare spørgsmålet. For kvinder der ikke har tid eller lyst til feltstudier giver Vand & Jord billedinformation, se figur 1.

Der findes ganske vist vandfrie toiletter for kvinder men disse er ikke særligt udbredte. Nogle kunne også trænge til en opgradering, så der må derfor være muligheder for innovation på dette område.

MH



Figur 1. Vandfrit urinal, Kastrup Lufthavn



Figur 2. Vandfrit multitoilet. Velegnet til kvinder (og mænd). Men udformningen egner sig ikke til installation i lufthavne.