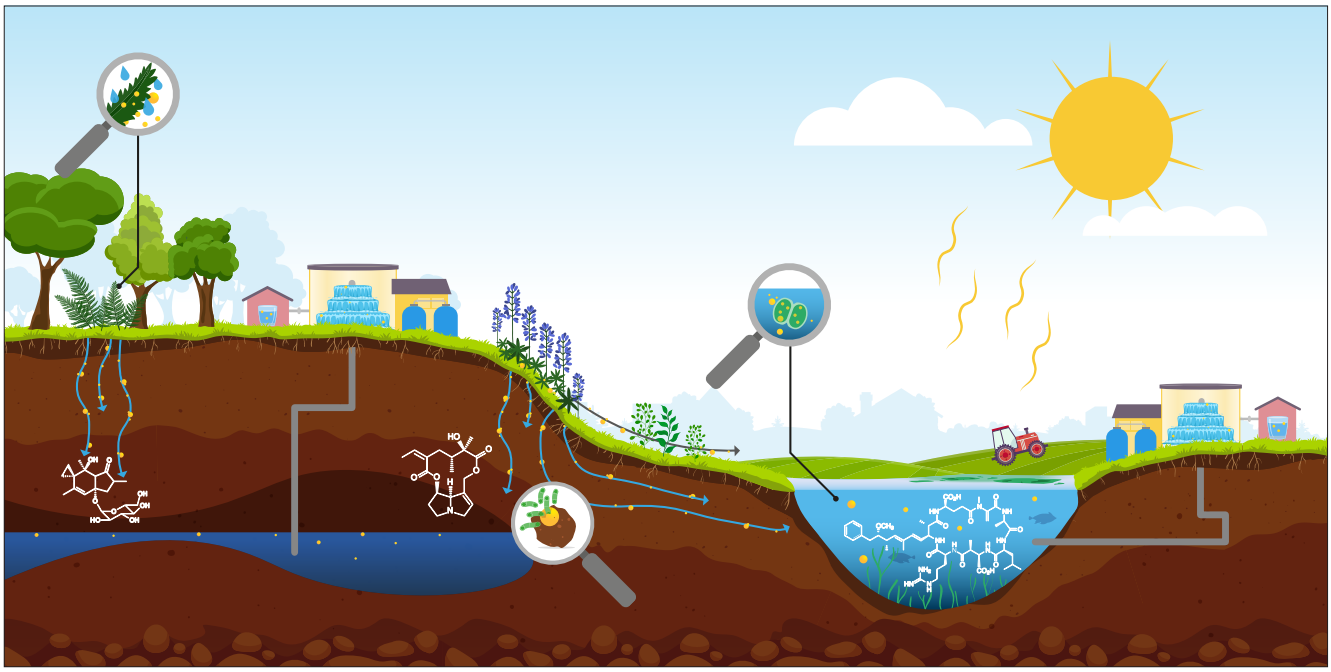
Plantetoksiner i jord og vandmiljøet – hvad er op og ned?

Afgrøder og vilde planter producerer sekundære metabolitter, hvoraf en del er giftige for mennesker. Plantetoksinerne kan spores fra planten via jord til overfladevand og grundvand. Koncentrationerne bestemmes af stoffernes stabilitet og nedbørsdrevet udvaskning. Vi foreslår en specifik indsats på plantetoksiner, som tilhører gruppen af alkaloider, da de er meget giftige, stabile i miljøet og hyppigt fundne. Der er stærkt behov for, at toksinerne indgår i regulære moniteringsprogrammer af vandkvalitet.

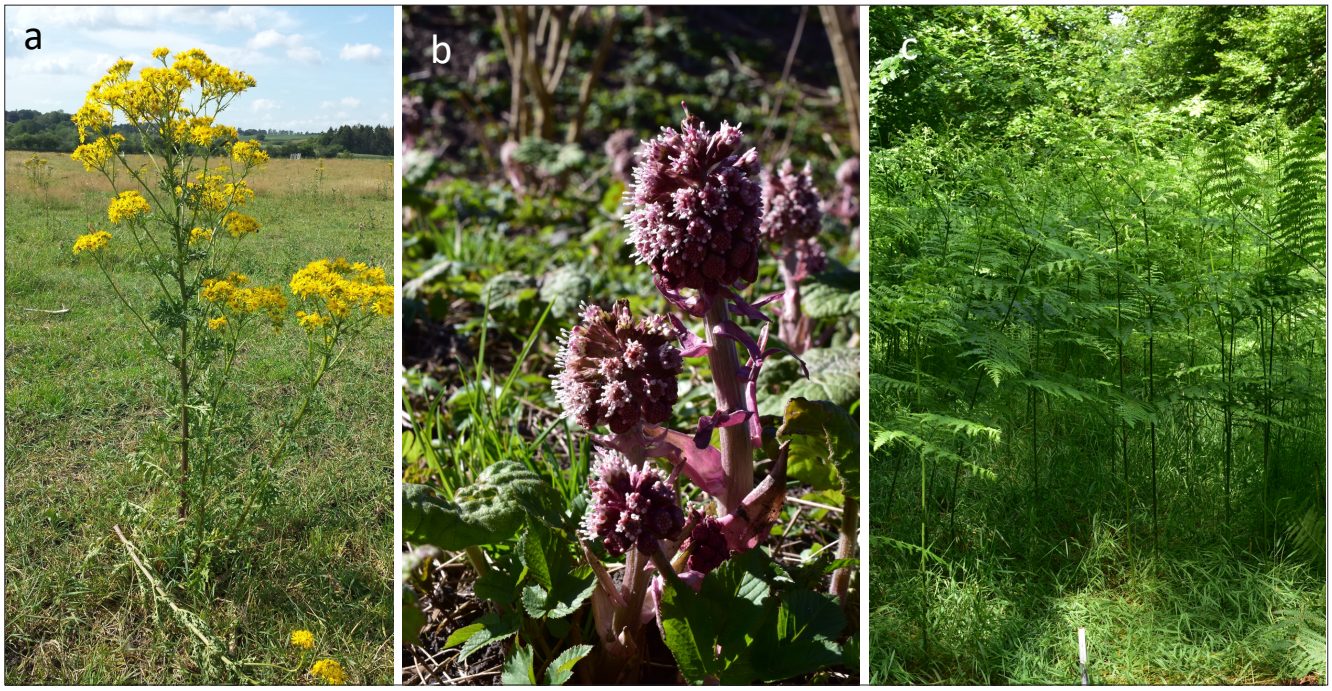
Hans Christian Bruun Hansen,
Lars Holm Rasmussen &
Bjarne Westergaard Strobel

Sekundære metabolitter – planternes kemiske våben

Planter og andre organismer producerer bioaktive stoffer, der skal hjælpe dem i konkurrencen med andre arter, herunder som værn mod patogene organismer. Det kan også være signalstoffer, der stimulerer særlige processer i samspillet mellem planten og andre organismer, typisk svampe eller bakterier. Stofferne benævnes samlet for sekundære metabolitter (også kaldet specialiserede metabolitter), der betegner stoffer, som ikke er direkte koblet til vækst, udvikling eller reproduktion af en organisme. For planter kender man ca. 50.000 af sådanne metabolitter, mens der samlet for alle organismer anslås at være ca. 2 millioner sekundære metabolitter. Der er en enorm variation i metabolitternes kemi, egenskaber og biologiske virkemåde. Dette naturlige skatkammer af kemisk og biologisk mangfoldighed er til stor inspiration for forskere og virksomheder, når der f.eks. skal udvikles ny medicin, pesticider, kosmetik, og andre dagligdags produkter, ligesom metabolitterne



Figur 1: Naturlige toksiner fra kilde via jord til overfladevand og grundvand (trykt med tilladelse fra Springer /1/.



Figur 2: I dan-
glykosider.

har stor betydning for fødevarers smag, ernæringsværdi og udseende.

Nogle sekundære metabolitter er meget giftige og findes i høje koncentrationer i planterne. Det er bl.a. gældende for en række velkendte giftplanter, som vi har lært at holde os fra. Vi finder eksempelvis cytosin i guldregn, taxol i taks, digitoxin i fingerbøl, atropin i sort natskygge og coniin i skarntyde. Listen er meget lang, og langt de fleste planter – vilde planter såvel som afgrøder – indeholder giftige metabolitter i et eller andet omfang. Gennem historien har vi lært at håndtere de giftige planter ved f.eks. koge, vaske, eller fermentere bønner, cassava eller andre fødevarer, før vi spiser dem. På samme måde har vi lært at være meget forsigtige med svampetoksiner i fødevarer og at undgå at få kontakt med giftige blågrøn-alger i badevandet.

Plantetoksiner og udvaskning til vandmiljøet

Med disse mange plantetoksiner ude i naturen melder spørgsmålet sig, om metaboliterne kan udvaskes til søer og vandløb, samt grundvand, og dermed påvirke kvaliteten af vores drikkevand. Svaret er JA! Men i hvilket omfang, hvilke stoffer og under hvilke omstændigheder dette sker, er straks langt vanskeligere at svare på, idet der ikke findes en egentlig monitering af naturlige toksiner i vandmiljøet – såsom vi kender det for pesticider. I et netop afsluttet EU projekt "NaToxAq" (https://natoxaq.ku.dk) har der været fokus på denne problemstilling. For plantetoksiner er scenariet følgende: Giftige metabolitter fra planter afvaskes med regn eller udskilles til jorden. Fra jorden transporteres stofferne videre til grundvandsmagasiner eller via dræn til overfladevand. Ender stofferne i grundvandsmagasinerne, vil de dukke op i drikkevandet, hvis ikke de forinden er blevet fjernet under vandbehandlingen (Fig. 1). Men måske er det kun et fåtal af giftstofferne, som kan være et problem?

Persistente, mobile og toksiske

En Schweizisk forskergruppe gennemgik floraen i Schweiz og identificerede ca. 1.500 potentielt giftige plantemetabolitter /2/. De undersøgte, om stofferne kunne klassificeres som såkaldte PMT (Persistente, Mobile, Toksiske) forbindelser, dvs. stoffer der både er langsomt nedbrydelige, mobile i jordmiljøet og giftige. Det er egenskaber, vi typisk finder hos de mest problematiske industrielt producerede stoffer i vandmiljøet. Til stor overraskelse blev ca. 30 % af de undersøgte 1.500 stoffer klassificeret i PMT gruppen! Det er påfaldende, at mange plantegifte er letopløselige i vand og derfor ikke bindes i jorden, hvorfor de nemt udvaskes. Den største joker er dog stoffernes stabilitet i miljøet – en egenskab der stort set ikke er undersøgt for plantetoksiner.

Hvilke stoffer finder vi vandmiljøet?

Resultaterne fra NaToxAq har vist, at der typisk er mindst ét plantetoksin til stede i en overfladevandsprøve, men ofte finder man flere samtidigt. Nogle af de hyppigst forekommende stoffer omfatter isoflavonoider (f.eks. fra kløver, bønner), og alkaloider (f.eks. fra brandbæger), se Tabel 1 med eksempler på stoffer, der er fundet. Generelt var koncentrationerne altid højest, når det regnede, hvilket viser, at stofferne transporteres fra planterne og videre til overfladevand under nedbørshændelser. Koncentrationerne varierede enormt fra nanogram til milligram per liter. Da toksinerne udvaskes som pulse, er det derfor vigtigt, at man fanger disse pulse for at få et retvisende billede af deres forekomst – dvs. der skal måles, når det regner, og når vandet strømmer af fra markerne. Analysemetoderne er en anden begrænsning, idet vi langtfra har metoder til alle stofferne, hvorfor "vinduet" af stoffer, vi analyserer for i dag, er ganske smalt.

Planter udgør en konstant kilde

Når et stof optræder i en vandprøve, skyldes det typisk, at stoffet enten er relativt stabilt, eller at der kontinuerligt tilføres nyt stof til recipienten. Det sidste er typisk for naturlige toksiner – i vækstperioden udgør planterne en konstant kilde til udskillelse af toksiner i modsætning til f.eks. pesticider, der kun doseres, når der sprøjtes. Desuden gælder det også, at mange plantetoksiner produceres i store mængder. Tag eksempelvis quinolizidin alkaloider i lupin - hvor den årlige produktion sagtens kan overstige 50 kg per hektar. Til

Tabel 1: Eksempler på grupper af plantetoksiner fundet i vandmiljøet (max. koncentrationer).

Toksin	Oprindelse	Vandtype	Koncentration ng/L	Toxicitet	LD_{50}[a] mg/kg
Illudanglykosider	Bregner, fx ørnebregne	Overfladevand Grundvand	5.300 750	Kræftfrem-kaldende	–
Isoflavonoider	Ærteblomstrede, fx soja, kløver	Overfladevand	280	Hormon-forstyrrende	–
Pyrrolizidin-alkaloider	Kurvplanter, fx brandbæger	Overfladevand Grundvand	529×10^3 230	Leverskadeligt	50
Quinolizidin-alkaloider	Ærteblomstrede, fx lupin, soja	Overfladevand Jordvand	820 1.500	Nervegift	25
Piperidine-alkaloider	Skarntyde (coniin)	Overfladevand	400	Nervegift	8
Andre alkaloider	Amaryllis familien	Overfladevand	3.300	Nervegift	100

Data fra Nanusha mfl. /3,4/, Kisielius mfl. /5/, Skrbic mfl. /6/, Hama mfl. /7, 8/.
[a]: LD_{50} angiver akut dødelig dosis, hvor 50 % af populationen dør (typisk målt i rotter, mus).

sammenligning doseres moderne pesticider typisk i mængder langt under 1 kg per hektar.

Plantetoksiner kan være mere giftige end pesticider

En del plantetoksiner er mere giftige end de pesticider, som man normalt bekymrer sig om i vandmiljøet. Eksempelvist er LD_{50} værdien for glyphosat over for rotter >2.000 mg/kg, mens tilsvarende værdier for en række plantetoksiner i Tabel 1 alle er mindre end 100 mg/kg, og plantetoksinerne kan klassificeres som enten giftige eller meget giftige. Mange giftplanter er mistænkt for at kunne forårsage kræft hos mennesker, eksempelvist er ørnebregner af WHO/IARC klassificeret i gruppe 2B ("possibly carcinogenic to humans"). Generelt gælder det for mange af plantetoksinerne, at der mangler toksikologiske og kemiske data som grundlag for en risikovurdering af deres farlighed for mennesker og miljø. Plantetoksiner er en meget divers gruppe af stoffer og der må anlægges en stofbaseret tilgang i risikovurderingen. Der skal ligeledes tages højde for, at stofferne ofte forekommer i blandinger samt som grupper af stoffer. F.eks. forekommer der typisk 10-15 pyrrolizidin-alkaloider sammen i prøver fra miljøet.

Pyrrolizidin-alkaloider forurener vandmiljøet

NaToxAq projektet har vist, at alkaloider er en vigtig gruppe plantetoksiner at undersøge nærmere, da de er stabile, produceres i store mængder og hører til de mere giftige toksiner (Tabel 1). Når vi drikker en kop te, kakao eller kaffe eller slukker tørsten med en cola, er det alkaloiderne theobromin eller det stærkere virkende koffein, som kvikker os op. Andre eksempler er morfin, nikotin og kodein. Da alkaloiderne er relativt stabile, er det derfor heller ikke overraskende, at koffein ofte ses i vandmiljøet.

Pyrrolizidin-alkaloider gør engbrandbæger giftig for de fleste insekter med indhold på 0,1-1.000 mg/kg af hver af 10-15 alkaloider, der er karakteristisk for arten (Fig. 2a). Koncentrationen topper omkring blomstring. Alkaloiderne er mobile og spreder sig til det omkringliggende miljø, hvilket resulterer i høje jordkoncentrationer /8/. Dette giver også høje koncentrationer i vand. På enge er der målt koncentrationer op til 500 μg/L for de enkelte stoffer i vandhuller. Ved målinger i Vejle å systemet blev der fundet mange alkaloider i de første pulse under efterårs-regnvejr /4/. Alkaloider er også fundet i større undersøgelser af jordvand, drænvand, og vandløb i udlandet og typisk i koncentrationer op til 100 ng/L (Schweiz, USA). Alkaloiderne kommer her fra dyrkning af soja, lupin eller fra vilde planter /7, 8/. Mobiliteten af pyrrolizidin-alkaloider i jorden understreges af fund i indsivende vand i en grundvandsborings-brønd i et område med rød hestehov (Fig. 2b). Her blev der målt op til 230 ng/L. I et nærtliggende vandløb lå koncentration under 10 ng/L for de fleste enkeltstoffer. Der blev målt mere end 10 gange højere koncentration efter regn /5/.

Illudan-glykosider er fundet i drikkevand

Denne gruppe inkluderer mindst fem forskellige kræftfremkaldende stoffer, hvoraf ptaquilosid er det bedst undersøgte. De er ikke alkaloider, men terpener med en sukker-gruppe i molekylet. Illudan-glykosider er fundet i flere forskellige bregnearter, hvoraf ørnebregner er den eneste art, der forekommer i Danmark (Fig. 2c). Stofgruppen er kendt for at forårsage sygdomme hos husdyr. Eksempelvist kan kvæg, der græsser på ørnebregner, få blærekræft eller ligefrem dø ved høje doser (akut forgiftning hos kalve). Hos malkekvæg kan de kræftfremkaldende stoffer overføres til mælken. Indholdet i de grønne plantedele er stærkt varierende hen over vækstsæsonen og kan nå ekstreme niveauer på 50 mg/g! I NaToxAq projektet blev der fundet illudan-glykosider og deres nedbrydningsprodukter i 7 ud af 77 grundvandsprøver (op til 750 ng/L). Stofferne blev fundet i terrænnært grundvand (ned til 40 m), men kun i en enkelt boring, der blev benyttet som drikkevand /6/. Illudan-glykosiderne produceres i store mængder, men de er ustabile og nedbrydes relativt hurtigt, og derfor ser vi dem ikke i grundvandet. De forekommer derimod tilsyneladende hyppigt i overfladevand, hvor f.eks. 9 ud af 38 danske prøver var positive for illudan-glykosider og deres metabolitter /9/. Udvaskning af illudan-glykosider følger nedbøren og minder om det, man ser for f.eks. nitrat, da disse stoffer heller ikke bindes nævneværdigt til jord /10/.

Hvad gør vi ved det?

Vores viden er indtil videre sparsom – og i sammenligning med f.eks. pesticider, så findes der ingen hverken national eller international monitering af plantetoksiner i jord og grundvand. Fund i grundvandet vil være helt afhængig af stoffernes stabilitet og områdets geologiske og hydrologiske forhold (inkl. makroporer og sprækker). Man kan derfor ikke generalisere ud fra viden om de enkelte stoffers egenskaber. For fødevarer er der grænseværdier for en række plantetoksiner. I drikkevand er der ingen grænseværdier og ingen regulering af plantetoksiner, hvilket er problematisk, når toksinernes giftighed tages i betragtning. På samme måde er det vanskeligt at forsvare, at vi ikke monitorerer netop disse reelt giftige stoffer af hensyn til folkesundheden. Disse udfordringer med naturlige

toksiner kan imødegås – eksempelvis ved fremædling af afgrøder med lavere indhold af toksiner eller med toksin-neutraliserende funktioner, ved at regulere vegetationen i særligt følsomme vandindvindingsområder, eller ved at fjerne toksinerne ved udvidet vandbehandling på vandværkerne.

Plantetoksiner og andre naturlige toksiner er formentlig de mest almindeligt forekommende toksiner i miljøet. Selv om de er "naturlige" kan de kan være mindst lige så giftige som industrikemikalier. Nye grønne og bæredygtige teknologier er på vej som del af den grønne omstilling af samfundet. Planternes egne bioaktive stoffer kan erstatte konventionelle vækstfremmere og plantebeskyttelsesmidler. I den forbindelse skal vi sikre, at nye biopesticider, afgrøder og andre produkter ikke forårsager forurening af drikkevandet, og at de ikke er til skade for menneskers sundhed. Derfor anbefaler vi, at relevante, stabile og giftige plantetoksiner underkastes grundige studier i forbindelse med forsknings- og udviklingsprogrammer. Dette bør følges op af monitering af plantetoksiner i vandmiljøet, så der skabes et grundlag for risiko-håndtering og eventuel regulering.

Referencer

/1/ Hansen, HCB, Hilcherova K, Bucheli TD (2021) Natural toxins: environmental contaminants calling for attention. Environ Sci Eu. 33:112. DOI: 10.1186/s12302-021-00543-6.

/2/ Günthardt BF, Hollender J, Hungerbühler K, Scheringer M, Bucheli TD (2018) Comprehensive toxic plants phytotoxins database and its application in assessing aquatic micropollution potential. J Agric Food Chem 66:7577–7588. DOI:10.1021/acs.jafc.8b01639.

/3/ Nanusha MY, Krauss M, Schönsee CD, Günthardt BF, Bucheli TD, Brack W (2020) Target screening of plant secondary metabolites in river waters by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (LC–HRMS). Environ Sci Eur 32:142. DOI:10.1186/s12302-020-00399-2.

/4/ Nanusha MY, Krauss M, Sørensen BG, Schulze T, Strobel BW, Brack W (2021) Occurrence of plant secondary metabolite fingerprints in river waters from Eastern Jutland, Denmark. Environ Sci Eur 33:25 DOI:10.1186/s12302-021-00464-4

/5/ Kisielius V, Hama JR, Skrbic N, Hansen HCB, Strobel BW, Rasmussen LH (2020) The invasive butterbur contaminates stream and seepage water in groundwater wells with toxic pyrrolizidine alkaloids. Nat Sci Rep 10:19784. DOI:10.1038/s41598-020-76586-1.

/6/ Skrbic N, Kisielius V, Pedersen A-K, Christensen SCB, Hedegaard MJ, Hansen HCB, Rasmussen LH (2020) Occurrence of carcinogenic illudane glycosides in drinking water wells. Environ Sci Eur 33:44. DOI:10.1186/s12302-021-00486-y.

/7/ Hama JR, Kolpin DW, LeFevre GH, Hubbard LE, Powers MM, Strobel BW (2021) Exposure and transport of alkaloids and phytoestrogens from soybeans to agricultural soils and streams in the Midwestern US. Environ Sci Technol 55: 11029-11069. DOI: 10.1021/acs.est.1c01477

/8/ Hama JR, Strobel BW (2021) Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in ragwort plants, soils and surface waters at the field scale in grassland. Sci Tot Environ 755:142822. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.142822.

/9/ Kisielius V, Drejer M, Dornhoff JK, Mrkajic NS, Lindqvist DN, Hansen HCB, Rasmussen LH (2021) Occurrence and stability of ptesculentoside, caudatoside and ptaquiloside in surface waters. Environ Sci: Proc Imp. In press. DOI: 10.1039/d1em00364j

/10/ Garcia-Jorgensen DB, Diamantopoulos E, Kisielius V, Rosenfjeld M, Rasmussen LH, Strobel BW, Hansen HCB (2021) Bracken growth, toxin production and transfer from plant to soil - A two-year monitoring study. Environ Sci Eur 33:45. DOI: 10.1186/s12302-021-00484-0.

Hans Christian Bruun Hansen (haha@plen.ku.dk). Professor og leder af den miljøkemiske forskningsgruppe, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet. Har beskæftiget sig med naturlige toksiner i mere end 20 år.

Lars Holm Rasmussen (pteridium@me.com). Til-og-med november 2021 docent på Københavns Professionshøjskole. Har forsket i naturlige toksiner siden 1999. Er i dag gruppeleder hos Chr Hansen A/S.

Bjarne W. Strobel (bjwe@plen.ku.dk). Lektor og leder af sektion for Miljøkemi- og Fysik, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet. Har beskæftiget sig med plantetoksiner i miljøet i mere end 20 år.