

Vurdering af ukendte kemikaliers risiko

I fremtiden skal ikke-målede analyser af grund- og overfladevand bruges til at prioritere indsatser mod de forurenende kemikalier, som bidrager mest til den samlede giftighed. Men hvordan beskriver vi giftigheden af ukendte kemikalier, når vi hverken kender de nøjagtige kemikalier eller deres koncentrationer? Her kan du blive klogere på, hvordan vi kan estimere giftighed og risiko.

EMILIE F. JAKOBSEN, RIKKE POULSEN &
NINA CEDERGREEN

Vi har en vision om, at kvaliteten af fremtidens drikkevand skal sikres, ved at udvide de kemiske analysemetoder vi anvender. I Danmark måler vi i dag, et lille sæt af udvalgte kemikalier når vi bestemmer kvalitet af vores grundvand /1/. Men når vi kun kigger efter få velkendte kemikalier, er det muligt at vi overser potentielt farligere kemikalier, som kunne udgøre en risiko overfor mennesker og miljø. Vi har ikke ressourcerne til at måle alle kemikalier, der potentielt findes i vandmiljøet og derfor er vi nødt til at prioritere indsatser mod dem, der er mest problematiske /2/. Ved at indarbejde ikke-målede analyser i vandovervågning er det muligt at danne sig et bedre overblik over nye forureningsmønstre og hidtil ukendte forurenende kemikalier. Når de potentielt problematiske kemikalier er bestemt, er spørgsmålet så om der er en reel grund til bekymring, eller om koncentrationen er så lav, at kemikaliet ikke udgør en betydelig risiko.

Hvad er "risiko"?

I forbindelse med kemikalier vurderes risikoen for at de påvirker enten mennesker eller miljøet på baggrund af to ting: 1) Hvor meget bliver vi udsat for? og 2) hvor giftigt/farligt er kemikaliet? /2/. Risiko kan beskrives som:

Risiko = eksponering x fare



Figur 1. Alger har vist sig at være en af de mest følsomme bioassays i forhold til biocider, men også en række medicinale kemikalier som ofte findes i f.eks. spildevand fra byer.

og angiver sandsynligheden for en skadelig virkning af et kemikalie ved en vis eksponering. Dvs. at det er forholdet mellem hvor farligt et stof er og hvor eksponeret vi er for det, som udgør risikoen. Den beregnede risiko for skadelig virkning danner grundlaget for det meste lovgivning om kemikalier og de grænseværdier man fastsætter.

Når vi går fra den videnskabelige risikovurdering til lovgivning, træder vi ind i den praktiske verden, hvor også samfundshensyn, politiske værdier og traditioner spiller en rolle. F.eks. er grænseværdier for pesticider (og deres nedbrydningsprodukter) fastsat på baggrund af en politisk holdning om, at man ikke vil acceptere dem i grundvandet uanset deres

giftighed. Samtidig tillades f.eks. rygning og alkoholindtag, trods begge dele er kræftfremkaldende, fosterskadende etc. Ved risikovurderingen af nyfundne kemikalier i grund- og overfladevand er der generelt konsensus om at gå videnskabeligt til værks, så vi må have viden om både deres koncentration og giftighed /3/.

Relativ koncentrationsbestemmelse i ikke-målede analyser

I målede analyser bruges en kemisk standard til at bestemme koncentrationen af et kendt kemikalie i en miljøprøve. Ved ikke-målede analyser derimod, er kemikalier ofte ukendte, og vi kan derfor ikke bestemme

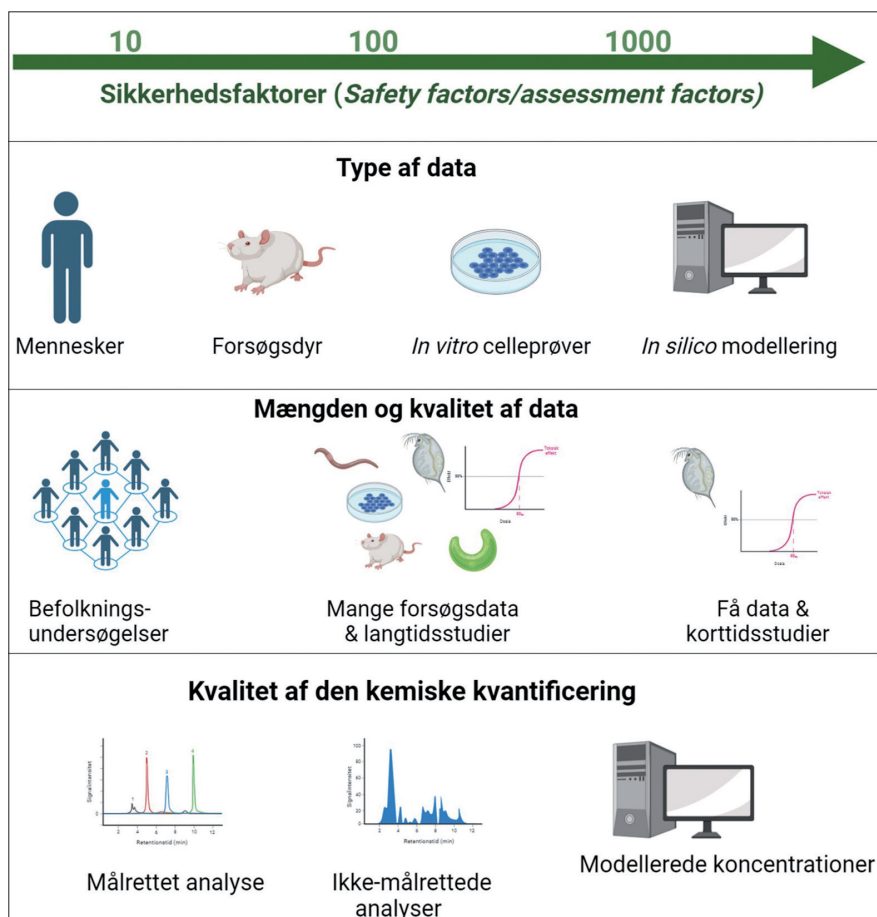
koncentration på samme måde som ved målrettet analyse. Der findes dog flere metoder til at sikre kvaliteten af data fra ikke-målrettet analyse. Disse muliggør bl.a. sammenligning af kemiske fingeraftryk på tværs af prøver, og til "relativ" koncentrationsbestemmelse af udvalgte signaler fra éns fingeraftryk /4,8/. Der er dog stor usikkerhed omkring den relative koncentration estimeret fra et fingeraftryk, og sådanne værdier skal kun bruges i forbindelse med prioritering og kan ikke danne grundlag for lovgivning. Et af formålene med at bruge ikke-målrettede analyser komplementært med målrettet-analyse er at fokusere indsatsen på de kemikalier, som bidrager mest til den samlede giftighed og dermed udgør den største risiko. Den næste udfordring er at kunne kvantificere et kemikalies giftighed, hvilket er særligt svært, når de er "nye" og deres virkemåder er relativt ukendte.

Vurdering af "giftighed" af kemikalier

Giftighed refererer til et kemikalies evne til at forårsage en biologisk skadelig effekt. For at bestemme hvor giftigt et kemikalie er, foretages der giftighedsforsøg, hvor man fastsætter den koncentration, som fører til en målbar biologisk effekt på et eller flere udvalgte parametre (*toxic endpoint*) /5/. En parameter i et giftighedsforsøg kan f.eks. være dødelighed, vækst, indvirkning på reproduktionsevne, påvirkning af adfærd eller fysiologiske ændringer, der skyldes effekter på cellulært niveau. Når vi måler giftighed, kigger vi altså både på cellulære processer og på hele organismer. Endelig kan man også se på data fra befolkningsundersøgelser, hvor man kan finde en statistisk sammenhæng mellem tilstedeværelsen af et kemikalie og specifikke sygdomme (Figur 1). Det sidste kaldes epidemiologiske undersøgelser, og data skal tolkes med forsigtighed, da de kun viser sammenhænge og ikke årsagssammenhænge.

In vitro-forsøg

Den hurtigste måde at screene for om kemikalier påvirker biologiske processer er i *in vitro*-forsøg. Her testes kemikaliers virkning på enzymer, celler eller væv fra dyr eller mennesker. Forsøgene er hurtige, udføres i små volumener og kan automatiseres, så screening af mange kemikalier kan finde sted. Den amerikanske Miljøstyrelse screener f.eks. i Tox21 (tox21.gov), tusindvis af kemikalier i mange hundrede *in vitro*-assays og stiller data til rådighed gennem databaser som CompTox (<https://comptox.epa.gov/dashboard/>). Data bruges bl.a. til at finde sammenhænge mellem resultaterne fra *in vitro*-forsøg og dyrestudier, samt til at finde årsagssammenhænge mellem



Figur 2. Sikkerhedsfaktorer (safety factors/assessment factors) tager højde for de usikkerheder der kan være i forbindelse med en risikovurdering. Jo højere usikkerhed, jo højere er den sikkerhedsfaktor man bruger når man beregner risiko. Overordnet set vurderes størrelsen af en sikkerhedsfaktor ud fra tre ting: 1) Typen af data man har til rådighed i en giftighedsvurdering, 2) Mængden og kvaliteten af data til giftighedsvurdering, samt 3) hvor præcist vi kan estimere koncentrationen af vores kemikalie. Bestemmelsen af sikkerhedsfaktorens størrelse er baseret på retningslinjer i de forskellige kemikalireguleringer, men ligger reelt hos de eksperter der skal fastsætte grænseværdier, f.eks. i Miljøstyrelsen. Figuren er lavet i Biorender (2024).

befolkningsundersøgelser og fysiologiske virkninger. Derudover danner data basis for modellering, der finder sammenhænge mellem kemikaliers struktur og funktionelle grupper, og deres giftighed /5/. En specifik funktionel gruppe kan fx bruges som advarsel for om et

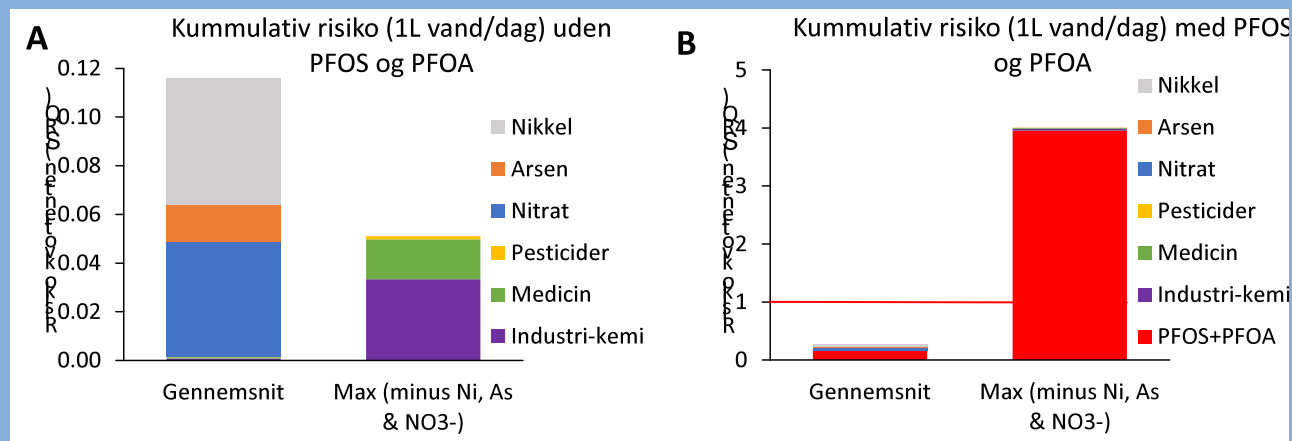
kemikalie er potentielt kræftfremkaldende, hormonforstyrrende, mutagent eller har indvirkning på reproduktionsevnen /5/. Der findes flere forskellige databaser og softwareprogrammer, som f.eks. amerikanske ToxCast og ToxAlerts, som kan bruges til at screene

Boks 1. Risikovurdering ved hjælp af prioriteringsscore for ukendte kemikalier

Et studie i Holland benytter sig af risiko-baseret prioritering for at undersøge overfladevandet i floderne Meuse og Rhinen for nye forurenende kemikalier. Her bliver kemikalierne analyseret og screenet ift. deres potentielle risiko. På baggrund af koncentrationsestimater for de ukendte forurenende kemikalier, og data fra *in vitro*- og QSARs databaser er det muligt at lave en prioriteringsscore. Ud fra eksponering og farekarakterisering prioriteres kemikalierne som "ingen", "medium" og "høj" prioritering for at intensivere yderligere undersøgelser rettet mod de kemikalier, som har den højeste risiko /5/. For at blive yderligere undersøgt skal de ukendte kemikalier have "medium" eller "høj" prioritering både for fare og eksponering, for at risikovurderingen blev fokuseret på de mest kritiske ukendte kemikalier. Får et stof en "medium" eller "høj" prioritering, laves der yderligere analyse, så stoffet identificeres og kan indgå i en målrettet analyse.

Boks 2. Kumuleret risiko for kemikalier i grundvand

I 2010 blev der lavet et studie af Europæisk grundvand på baggrund af 164 grundvandsprøver fra 23 lande, hvor man målte for 60 vandopløselige forurenende kemikalier, som ikke normalt indgår i monitoringsprogrammerne /7/. De målte kemikalier indeholdt både medicin, antibiotika, biocider, pesticider og deres nedbrydningsprodukter, PFAS-kemikalier og en række andre industrikemikalier. De to figurer nedenfor viser den kumulative risiko af de 10 hyppigst fundne kemikalier (DEET, koffein, PFOA, Atrazin+metabolitter, Benzotriazon+metabolitter, Terbutylazin + metabolitter, PFOS, Simazine, Carbamezapine og Nonylphenoxyacetic acid), som blev fundet i 42-83% af vandprøverne. Kemikalierne er i figuren opdelt i de tre grupper: Industrikemikalier, medicin (inklusive koffein) og pesticider, og de er sammenholdt med den kumulative risiko af det danske gennemsnit af nitrat, arsen og nikkel, som alle er kemikalier, som findes naturligt i vores jorde, men som også kan udledes pga. menneskelig aktivitet. Både den gennemsnitlige koncentration og den maksimale koncentration er vist i figurene. Summen af PFOS og PFOA er vist separat og er ikke inkluderet i Figur A, men i B. En $\Sigma RQ < 1$ (Formel 2) betyder at vi er under den acceptable risiko for dagligt indtag.



Figur B illustrerer tydeligt at når summen af PFOS og PFOA inddrages, bidrager disse mest til den samlede risiko, hvilket understreger hvorfor der er så stort fokus på de fluoreerede kemikalier. Her ses at de øvrige grupper som er inkluderet i Figur A, kun udgør en forsvindende lille risiko i den summerede risiko når PFAS medregnes. En $\Sigma RQ = 1$ svarer til den maksimale acceptable risiko for daglig indtag, og er markeret med en rød streg.

nye kemikalier for tilstedeværelsen af sådanne strukturelle advarsler /3,6/.

In vivo-forsøg

I *in vivo*-forsøg tester man kemikalier på hele organismer. Her opnås der både viden om hvordan kemikalier optages, nedbrydes og udskilles (*toxicokinetics*), samt hvilke biologiske skader de påfører organismen (*toxicodynamics*). Man kan observere virkninger af både korttidseksponeringer samt kroniske eksponeringer over organismernes livstid. Giftigheden kvantificeres traditionelt vha. dosis-responskurver, hvor man tager udgangspunkt i den dosis eller koncentration af et kemikalie, som fører til en specifik respons i en parameter. Det vil f.eks. være den højeste dosis/koncentration testet, som ikke er signifikant forskellig fra de ubehandlede kontroller (kaldet *NOAEL* eller *NOEC*), eller 50% effekt-koncentrationer (*EC50*). Disse forsøg er mere realistiske i forhold til *in vitro*-forsøg, og i en risikovurderingssammenhæng vil de altid veje højere, især hvis det er langtidsforsøg, hvor man undersøger f.eks. vækst, reproduktion og sygdomsudvikling.

In silico-modeller og QSARs

I takt med at der findes flere ukendte forure-

nende kemikalier, er vi nødsaget til at bevæge os væk fra tids- og ressourcekrævende dyreforsøg, og videreudvikle computermodeller til at finde sammenhænge mellem kemikaliers struktur og deres biologiske virkning. Disse kaldes samlet QSARs (*Quantitative Structure Activity Relationships*) og inkluderer også modeller, der beregner f.eks. nedbrydnings-hastigheder af kemikalier, binding til partikler og andre parametre, der er vigtige i en risikovurderingssammenhæng. Den danske QSAR-database (<https://qsar.food.dtu.dk/>) samler en række af disse *in silico*-værktøjer til estimering af både fysisk-kemiske egenskaber og biologiske effekter af mere eller mindre kendte molekyler. Sammen med ToxCast er den et rigtig godt udgangspunkt for at identificere potentiel fare fra ellers ukendte kemikalier. *In silico*-modeller er selvfølgelig behæftet med en del usikkerhed, da modeller aldrig er bedre end de data de bliver fodret med. Den enorme udvikling i screening af kemikalier, kemiske analysemetoder og brugen af åbne databaser koblet med "machine learning" gør dog modellerne stadig bedre til at forudsige potentielle farer.

Hvem vil vi beskytte?

Ved en risikovurdering, må man først beslutte

sig for, hvem eller hvad man vil beskytte. Når det gælder vandkvalitet, er målet enten mennesker eller vandmiljøet. Beskyttelsesformålet afgør hvilke mål for giftighed, man anvender i sin risikovurdering. Ved risikovurdering af drikkevand ift. forbrugeren, bruges oftest Acceptabelt Dagligt Indtag (ADI) som udtryk for giftighed, hvilket ideelt set tager udgangspunkt i resultater fra kroniske rotte- eller museforsøg. Sådanne kroniske forsøg følger hele dyrets livsforløb, og man måler >200 parametre på både de voksne dyr og deres afkom. Sådanne forsøg er langvarige (3-5 år), og koster i omegnen af 8 mio. DKK per forsøg. Det er derfor helt umuligt at udføre gnaverforsøg på alle kemikalier. Brugen af *in vitro*, *in vivo* og *in silico*-modeller er afgørende for, at vi kan estimere giftighed af den store mængde af kemikalier, der ikke er udført gnaverforsøg på. Når vandmiljøet er beskyttelsesmålet, anvender vi data fra en lang række organismer som bl.a. alger, planter, krebsdyr, bløddyr, fisk og padde (Figur 2).

Sikkerhedsfaktorer

Alle typer data er behæftet med usikkerhed. For at tage højde for usikkerheder i data og for de usikkerheder der er, når man ekstrapolerer mellem arter, anvender man

sikkerhedsfaktorer (Figur 2). De forskellige lovgivninger angiver anbefalede størrelser af sikkerhedsfaktorer, typisk mellem 10 og 1000, men det generelle princip er: jo større usikkerhed omkring viden, jo større sikkerhedsfaktor. Størrelsen af sikkerhedsfaktorerne kan justeres, efterhånden som vi får mere viden. Når man beregner ADI for et kemikalie, bruger man f.eks. NOAEL på den mest følsomme parameter, man har målt i sit kroniske rotte/museforsøg, og dividerer den med en sikkerhedsfaktor på 100, for at tage højde for ekstrapoleringen fra dyr til mennesker. Når målet er beskyttelse af vandmiljøet, bruger man ofte EC50 eller NOEC, divideret med en sikkerhedsfaktor. Derved får man Predicted No Effect Concentration (PNEC), der ofte danner udgangspunkt for giftighedsbaserede grænseværdier for overfladevand.

Risikovurdering

Hvis man kan finde et kemikalie i en miljøprøve, vil det i princippet altid udgøre en risiko (Formel 2). Man fastsætter derfor giftighedsbaserede grænseværdier på baggrund af acceptabel risiko (som ADI og PNEC), og vurderer så fundne koncentrationer, op imod grænseværdierne $/8/$. Forholdet mellem en målt eller estimeret koncentration og en grænseværdi kaldes en risikokvotient (RQ) (se formel nederst).

Som i eksemplet med prioriteringscore, rangeres hvert kemikalie efter den risiko de forventes at have (Boks 1). $RQ < 1$ indikerer at der er en lav risiko, $RQ = 1$ viser at koncentrationen af et kemikalie er lig med grænseværdien for hvad vi tillader, og $RQ > 1$ betyder at den målte koncentration er højere end den tilladte grænseværdi. Ved ikke-målrettede analyser er kemikalierne koncentrationer kun estimater. Alligevel er det muligt at beregne risikokvotienten; især hvis en sikkerhedsfaktor tillægges koncentrationsestimatet. På den måde er det muligt at rangliste de kemikalier der findes i prøven, og efterfølgende prioritere dem på baggrund af hvor stor risiko de medfører.

Kumulativ risiko: $\sum RQ$

Risikokvotienter bruges også til at vurdere den samlede risiko af en vandprøve. Den kumulative risiko, også kaldet "cocktaileffekten", beskrives som summen af RQ for de målte kemikalier: $\sum RQ$ (Boks 2). Der er stadig udfordringer med, hvordan kemikalier og deres tilhørende nedbrydningsprodukter risikovurderes mere samlet. Den store gruppe af fluorholdige organiske molekyler (PFAS), hvoraf vi ved at nogle er meget giftige, mens andre ikke er, er et aktuelt eksempel på den problemstilling. Indtil der findes metoder til at risikovurdere større grupper af kemikalier samlet, evalueres kemikalierne fortsat enkeltvis. Det kan vi også komme langt med, hvis det "kemiske rum" vi kigger på udvides, ved brug af ikke-målrettede analyser kombineret med de efterhånden stærkere *in silico*-modeller.

Er vandet giftigt?

Vores vandmiljø er en kompleks matrice, og selvom man regulerer udledning af nye miljøfremmede kemikalier, samt intensiverer rensningsindsatser, vil vi aldrig have helt "rent" grund- eller overfladevand. Jo mere man leder efter i miljøet, jo mere vil man finde. Når vi kommunikerer risiko, er det derfor nødvendigt at understrege at tilstedeværelsen af et kemikalie ikke er det samme som en "uacceptabel" risiko.

Fremtidens analyser af grundvand skal sikre en høj kvalitet af vand, samt fokusere indsatsen mod de kemikalier, som er mest problematiske. Nuværende overvågning af grundvandet er begrænset af manglende kendskab til forurenende kemikaliers tilstedeværelse samt giftighed over for mennesker og miljø. Ved at indarbejde de forsøgsdata man allerede har omkring forekomst og giftighed, kan man beregne den associerede risiko for nye kemikalier og prioritere, hvilke der kræver den "hurtigste" indsats for at bevare god vandkvalitet. I forskningsprojektet AQUAPLEXUS (<https://aquaplexus.dk/>) samarbejder forskningsinstitutter, vandaktører og Miljøstyrelsen på at udarbejde en standardiseret ikke-målrettet analyse og et prioriteringsværktøj som kan bidrage til

at fokusere indsatsen mod de kemikalier og kemikaliegrupper, som er mest problematiske. Dette vil kunne bidrage til hurtigere at kunne fastsætte tilladte grænseværdier for kemikalier ud fra et hensyn om hvad, der bidrager mest til den samlede giftighed.

Referencer

1. Miljøstyrelsen, Drikkevand og vandforsyning, 2024, <https://mst.dk/erhverv/rent-miljoe-og-sikker-forsyning/drikkevand-og-grundvand/drikkevand>
2. Gaston L, Lapworth DJ, Stuart M, Arnscheidt J. Prioritization Approaches for Substances of Emerging Concern in Groundwater: A Critical Review. *Environ Sci Technol*. 2019 Jun 4;53(11):6107–22.
3. Been F, Krueve A, Vughs D, Meekel N, Reus A, Zwartsen A, et al. Risk-based prioritization of suspects detected in riverine water using complementary chromatographic techniques. *Water Res*. 2021 Oct 1;204:117612.
4. Bollmann, U. E., Kjoller, C., Badawi, N., Vidkjær, N. H., & Thorling, L. (2024). Non-target screening som værktøj til risikoenalyser af grundvandstrusler? GEUS, Danmarks og Grønlands Geologiske Undersøgelse Rapport Vol. 2024 No. 17, <https://doi.org/10.22008/gpub/34738>
5. Meekel N, Vughs D, Béen F, Brunner AM. Online Prioritization of Toxic Compounds in Water Samples through Intelligent HRMS Data Acquisition. *Anal Chem*. 2021 Mar 30;93(12):5071–80.
6. US EPA O. Toxicity Forecasting (ToxCast) 2015 [besøgt 7 august 2024], <https://www.epa.gov/comptox-tools/toxicity-forecasting-toxcast>
7. Loos R, Locoro G, Comero S, Contini S, Schwesig D, Werres F, et al. Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res*. 2010 Jul;44(14):4115–26.
8. Finckh et al., A risk-based assessment approach for chemical mixtures from wastewater treatment plant effluents. 2022. *Environmental International*, Vol. 164, 107234

EMILIE FØHNS JAKOBSEN (emilie@plen.ku.dk) er forskningsassistent på Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet
RIKKE POULSEN (rp@plen.ku.dk) er adjunkt på Københavns Universitet, og postdoc på Aarhus Universitet,
NINA CEDERGREEN (nfc@plen.ku.dk) er professor i økotoxikologi på Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet

Formel 2

$$\text{Risikokvotienten (RQ)} = \frac{\text{Eksposering (målt eller estimeret koncentration)}}{\text{Giftighed (Effektkoncentration evt. med sikkerhedsfaktor)}}$$