BIOCELL ANALYTICA WHITE PAPER MARS 2022

Kemiska föroreningar i dricksvatten – nya innovativa analys-metoder

BioCell ANALYTICA

Tillgång till hälsosamt och rent dricksvatten är ett fundamentalt behov. Hälsofarliga kemiska föroreningar i miljön är ett alltmer uppmärksammat problem för vårt dricksvatten. Effektbaserade analysmetoder är ett nytt och kraftfullt sätt att detektera farliga kemikalier i vatten. Analyserna görs i odlade celler, som gjorts känsliga för specifika effekter, till exempel hormonstörande eller DNA-skadande effekter. Metoderna mäter den totala effekten av oönskade kemikalier i vatten – såväl kända som okända ämnen, metaboliter och omvandlingsprodukter samt cocktaileffekter. I detta White Paper beskrivs hur sådana metoder kan användas som komplement till kemiska analysmetoder.

Kemiska föroreningar i råvatten och dricksvatten...

Kemiska föroreningar i miljön är ett ökande problem och ställer stora krav på rening, särskilt då ytvatten används som källa för dricksvatten. I Sverige är 50% av det kommunala dricksvattnet producerat direkt från ytvatten, 25% från ytvatten via artificiell infiltration och 25% från grundvatten.

Hälsofarliga kemiska ämnen i råvatten kan vara syntetiska, till exempel läkemedel, industri- och hushållskemikalier och pesticider, eller naturligt förekommande ämnen, till exempel hormoner och algtoxiner. En ytterligare grupp av hälsofarliga kemiska föroreningar i dricksvatten är toxiska desinfektionsbiprodukter, som kan bildas vid behandling/oxidation med klor eller ozon, särskilt vid höga halter av organiskt material i vattnet. Vid sådan behandling kan också toxiska omvandlingsprodukter bildas från de organiska föroreningar som man försöker ta bort från vattnet.

Reningstekniker för dricksvattenproduktion har traditionellt främst varit inriktade på mikrobiologisk rening och inte anpassade för kemiska föroreningar. Vikten av att få bort kemiska föroreningar uppmärksammas nu alltmer. Enligt dricksvattenföreskrifterna från Livsmedelsverket (SLVFS 2017:2) ska dricksvatten vara hälsosamt och rent, vilket det anses vara om det inte innehåller ämnen ”i sådana halter att de kan utgöra en risk för människors hälsa” samt uppfyller de gränsvärden som ingår i föreskrifterna. EU:s nya dricksvattendirektiv (EU 2020/2184), som beslutades i december 2020, innehåller ett tydligt fokus på kemiska hälsorisker, bland annat med fler gränsvärden och en riskbaserad strategi för hela kedjan från råvatten till konsument.

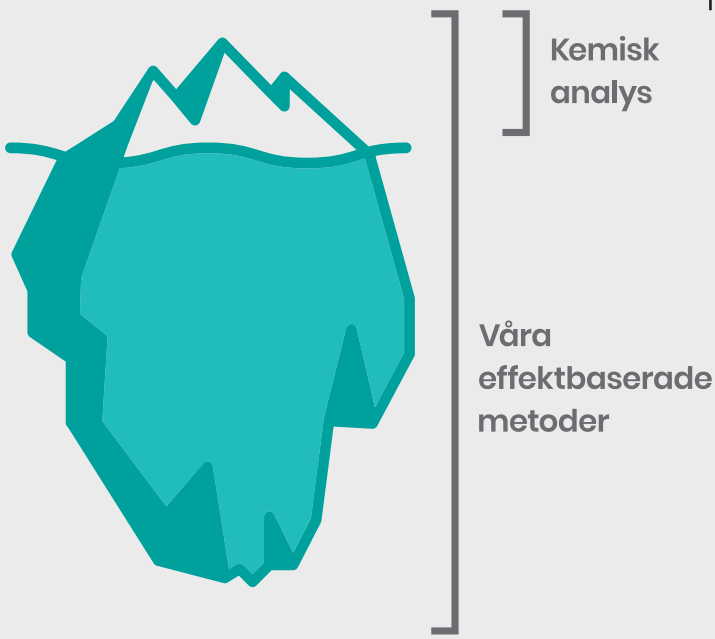
För att undersöka hur mycket kemiska föroreningar som finns i råvattnet och hur effektivt de avskiljs i ett vattenverk används idag kemisk analys där halter av vissa utvalda ämnen mäts. De stora begränsningarna med den tekniken är att man på förhand måste bestämma vilka ämnen man vill studera och att den inte ger någon information om den skadliga effekten av dessa ämnen, halter av okända ämnen eller den skadliga effekten av hela blandningen, den så kallade cocktaileffekten.

...men vad ska vi mäta?

Vilka kemiska ämnen av alla tiotusentals förekommande ska övervakas i dricksvatten? I dricksvattenkontrollen mäts ämnen som har gränsvärden, vilket är metaller, vissa bekämpningsmedel och en handfull organiska föroreningar. Utöver detta mäts i forskningsstudier ibland ett hundratal ämnen, men för det stora flertalet organiska ämnen som kan förorena vatten, finns mycket lite kunskap om förekomst och potentiella skadliga effekter (SOER, 2020).

Ett stort antal internationella studier har visat att de välkända och oftast analyserade kemiska föroreningarna bara står för en bråkdel av de skadliga effekter som man kan uppmäta i vattenprover. Upp till 99% av de toxiska effekterna orsakas av okända kemiska ämnen eller cocktaileffekter som kan uppstå då flera kemiska ämnen verkar tillsammans.

För att få en helhetsbild av vilka miljö- och hälsofarliga kemikalier som finns i vårt dricksvatten, deras skadliga effekter och hur effektivt de avskiljs i dricksvattenverken, behöver vi nya analysmetoder.



Effektbaserade metoder mäter hela isberget av skadliga effekter och inte bara isbergets topp. Upp till 99% av de skadliga effekterna av kemiska föroreningar i vattenprover har visat sig komma från okända ämnen eller cocktaileffekter, vilka riskerar att missas helt om man förlitar sig enbart på kemisk analys.

En ny strategi: effektbaserade metoder för att mäta hela isberget

För att bättre kunna bedöma vattenkvalitet och hälsorisker med föroreningar i vatten har effektbaserade metoder utvecklats som komplement till de kemiska analyserna (Escher et al., 2014; Neale et al. 2019; Escher et al., 2021). Metoderna kallas också bioanalyser eller cell-baserade in vitro-metoder. Istället för halter av utvalda ämnen, mäter man biologiska effekter i odlade (ofta humana) celler av hela den komplexa blandningen av organiska ämnen i koncentrerade vattenprover. Bioanalyserna mäter olika typer av cellpåverkan som har betydelse för människors hälsa, till exempel effekter på hormonreceptorer, metaboliserande aktivitet, oxidativ stress och genotoxisk aktivitet.

Bioanalyser har sedan lång tid använts i toxicitetstestning för att mäta mutagenicitet (Ames test i bakterier) och genotoxicitet (i däggdjursceller) och har först på senare tid utvecklats för att mäta ett brett spektrum av andra oönskade biologiska effekter av kemiska ämnen. Metoderna används bland annat för att minska användningen av försöksdjur i den toxikologiska testningen och för mekanistisk förståelse för hur effekterna uppkommer. För komplexa blandningar, där flertalet ingående ämnen är okända, är de effektbaserade metoderna ytterst värdefulla.

Effekterna av hälso- och miljöfarliga kemikalier i vattenproverna mäts med hjälp av laboratorieodlade celler, som modifierats för att kunna upptäcka specifika toxiska effekter, exempelvis hormonstörande. När cellerna exponeras för ett prov som innehåller kemiska ämnen som orsakar de specifika effekter som studeras så utsöndrar cellerna ett signalprotein som är enkelt mätbart. Genom att exponera cellerna för t.ex. ett råvattenprov och sedan mäta mängden utsöndrat signalprotein får man snabbt ett svar på om, och i vilken grad provet är förorenat med kemikalier som ger skadliga effekter. Resultatet visar den totala skadliga effekten av alla ingående ämnen, inklusive okända kemiska ämnen och cocktaileffekter. Detta är viktigt, eftersom det har visats att så mycket som 99% av vissa toxiska effekter kommer från okända ämnen eller från blandningar, som inte identifierats i de kemiska analyserna.

Effektbaserade metoder är väl etablerade i internationella studier för kartläggning och bedömning av vattenkvalitet i ytvatten, avloppsvatten och dricksvatten. Flest studier har gjorts på ytvatten och avloppsvatten, där kemiska föroreningar finns i högst halter och toxiska effekter är frekvent förekommande. Med en högre koncentrering av vattenprover upptäcks även toxiska effekter i dricksvatten och framför allt kan reningseffektiviteten i vattenverk utvärderas med hjälp av effektbaserade metoder.

ODLADE CELLER FÖR ATT UPPTÄCKA MILJÖ- OCH HÄLSOFARLIGA FÖRORENINGAR

Under senare år har det utvecklats en ny strategi för att mäta hälso- och miljöfarliga egenskaper hos kemikalier och miljöprover. Med de nya metoderna mäter man kemikaliernas störande effekter på biologiska processer i odlade celler istället för att mäta deras toxiska egenskaper i djurförsök.

Cellerna är modifierade för att påvisa specifika toxiska effekter, till exempel på hormonreceptorer (östrogena och androgena) med hjälp av så kallade reportergen-tester. När cellerna exponeras för ett prov med kemiska ämnen som orsakar de specifika effekterna, så aktiveras en reportergen och cellerna utsöndrar ett signalprotein. Ju mer provet innehåller av ämnen som ger effekten, desto högre blir signalen. DNA-skadande effekter kan mätas i celler genom att detektera bildade mikrokärnor. Cellernas överlevnad studeras som ett allmänt mått på toxicitet. Vid testerna används referenssubstanser för att översätta de uppmätta effekterna till halt av referenssubstansen, vilket möjliggör en direkt jämförelse med andra prov. På så sätt kan provets aktivitet uttryckas som biologiska ekvivalenter av referenssubstansen, till exempel 10 pg östradiol-ekvivalenter per liter innebär att provet har samma östrogena aktivitet som 10 pg 17-beta-östradiol/L.

Den stora fördelen med dessa metoder är att de mäter effekterna av alla hälso- och miljöfarliga kemikalier i ett prov, istället för att mäta halten av ett fåtal kemikalier. Detta är viktigt eftersom upp till 99% av de toxiska effekterna av kemikalier i vattenprov orsakas av okända kemikalier eller cocktaileffekter.

Det finns nu en rad effektbaserade metoder tillgängliga för att övervaka vattenkvaliteten, t.ex. för att mäta hormonstörande, inflammatoriska och stressrelaterade effekter samt om vattnet innehåller ämnen som kan orsaka DNA-skador, vilket i förlängningen riskerar orsaka cancer eller påverka fortplantningsförmågan.

Holistisk syn på dricksvattenkvalitet

Förekomsten av kemiska föroreningar i dricksvatten uppmärksammas alltmer, till exempel i EU:s nya dricksvattendirektiv, liksom behovet av mer heltäckande utvärdering av dricksvattenkvalitet. I en artikel, nyligen publicerad i Nature Sustainability, framhålls att vårt kontrollsystem för kemiska hälsorisker i dricksvatten måste vara mer holistiskt och inriktat på komplexa blandningar genom användning av bioanalyser istället för att fokusera på ett fåtal välkända föroreningar (Ferraro and Prasse, 2021).

Världshälsoorganisationen, WHO, tar upp bioanalytiska metoder som lovande verktyg för att utvärdera rening av vatten, i sina riktlinjer för återanvändning av renat avloppsvatten till dricksvatten (Potable reuse: A guidance for producing safe drinking water) (WHO, 2017). Kalifornien har sedan 2020 krav på två effektbaserade metoder, nämligen östrogen och metaboliserande (AhR) aktivitet för att upptäcka nya miljöföroreningar i återcirkulerat vatten, avsett för dricksvatten (California EPA, 2019). I Nederländerna finns inga formella krav på bioanalyser i dricksvatten, men metoderna används för kartläggning av vattenkvalitet, särskilt i vattenverk med infiltrerat ytvatten (Dingemans et al., 2019).

VILKA TYPER AV EFFEKTER KAN MÄTAS OCH VILKA ÄMNEN KAN ORSAKA OLIKA EFFEKTER?

Effekter på könshormon-receptorer. Ämnen kan aktivera eller blockera östrogen- och androgenreceptorn. Östrogener och androgener har många viktiga fysiologiska funktioner förutom för reproduktionen också för hjärt-kärl-, immun-, muskulära- och nervsystemet. Exempel på kemiska föroreningar i vatten som påverkar könshormonreceptorer är naturliga könshormoner, p-piller, läkemedel som används vid bröst- och prostatacancer, liksom växtbaserade isoflavoner (så kallade fytoöstrogener) och vissa plastkemikalier.

AhR-aktivitet (arylhydrokarbon-receptorn). Vid aktivering av Ah-receptorn induceras metaboliserande enzym och effekten av AhR-aktivering kallas ofta metabolisk aktivering. Ah-receptorn har många olika fysiologiska funktioner, såsom vid utveckling av olika organsystem och vid reglering av inflammatoriska reaktioner. Många toxiska ämnen aktiverar Ah-receptorn, till exempel halogenerade organiska miljöföroreningar, polycykliska aromatiska kolväten (PAHer), vissa pesticider och läkemedel, och naturligt förekommande ämnen som indoler och stilbener. I stort sett alla råvatten vi har analyserat har uppvisat AhR-aktivitet. AhR har kallats en ”miljösensor”.

Oxidativ stress. Oxidativ stress beror på att reaktiva syreradikaler bildats i överskott. Det är en vanlig mekanism bakom olika typer av toxiska effekter, t ex inflammatoriska effekter och cancer. Många toxiska ämnen, t.ex. organiska miljögifter, pesticider och naturliga ämnen, kan orsaka oxidativ stress. Oxidativ stress induceras även av desinfektionsbiprodukter, som kan bildas vid vattenrening. Närmare 700 sådana desinfektionsprodukter har identifierats. Nrf2 (nuclear transcription factor erythroid 2-related factor 2) är en markör för oxidativ stress, som vi mäter i våra metoder.

Genotoxisk aktivitet. Genotoxicitet eller DNA-skadande effekt är en allvarlig effekt, som kräver omfattande testning och utredning vid registrering av till exempel bekämpningsmedel, livsmedelstillsatser och aromämnen. DNA-skada i kroppsceller kan leda till cancer och andra sjukdomar och till reproduktionsstörningar om det drabbar könsceller. Bildande av mikrokärnor är en markör för genotoxicitet, som vi mäter i våra metoder.

"TWENTIETH-CENTURY APPROACHES TO PROTECTING DRINKING WATER SUPPLIES CANNOT KEEP PACE WITH THE EVER-EXPANDING SET OF CHEMICALS THAT HUMANS EMIT INTO THE ENVIRONMENT. HOWEVER, WITH RECENT ADVANCES IN BIOASSAYS, THE MEASUREMENT OF COMPLEX CHEMICAL MIXTURES, AND ARTIFICIAL INTELLIGENCE, WE ARE ON THE CUSP OF DEVELOPING A RADICALLY DIFFERENT APPROACH TO KEEPING OUR DRINKING WATER SAFE. IN CONTRAST TO THE REACTIVE AND PIECEMEAL STATUS QUO APPROACH, THIS NEW APPROACH IS PROACTIVE AND EVALUATES DRINKING WATER QUALITY MORE HOLISTICALLY BY FOCUSING ON COMPLEX MIXTURES INSTEAD OF A SMALL SET OF REGULATED, WELL-KNOWN CHEMICALS THAT HAVE BEEN STUDIED FOR DECADES".

– Ferraro och Prasse, 2021

EU:s nya dricksvattendirektiv

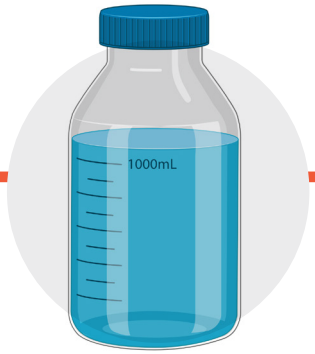
EU:s nya dricksvattendirektiv (EU 2020/2184) innehåller ett tydligt fokus på kemiska hälsorisker genom att inkludera:

- fler gränsvärden för kemiska föroreningar,
- krav på godkännande av material som kommer i kontakt med dricksvatten,
- en bevakningslista med hälsofarliga kemiska ämnen,
- en riskbaserad strategi för vattensäkerhet som omfattar hela kedjan från tillrinningsområdet till konsument.

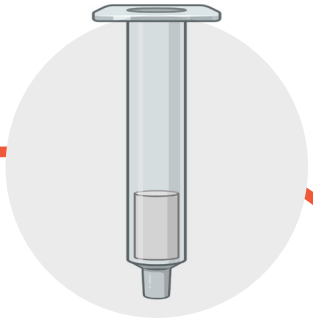
Övergång till en riskbaserad metod för dricksvattensäkerhet är en av de mer betydande förändringarna jämfört med tidigare föreskrifter, vilket betonas i den särskilda utredningen om hur direktivet ska genomföras i svensk rätt ”En säker tillgång till dricksvatten av god kvalitet” (SOU 2021:81). Den riskbaserade metoden omfattar hela kedjan från tillrinningsområde, uttag, beredning, lagring och distribution till tappställe. Effektbaserade metoder har föreslagits som lämpliga att ingå i en sådan riskbaserad metod (Dingemans et al., 2019). Metoderna innebär ett utmärkt komplement till kemisk analys genom att: ge en total bild av förekomsten av organiska kemiska föroreningar, bidra till att spåra föroreningskällor och ge ett mått på reningseffektivitet.

En bevakningslista, som kompletterar EU:s dricksvattendirektiv med ytterligare kemiska ämnen som ska övervakas, beslutades i januari 2022. I listan ingår två hormonstörande ämnen: 17-beta-östradiol (naturligt östrogen) och nonylfenol med riktvärdena 1 ng/L respektive 300 ng/L. Halten för östradiol ligger nära detektionsgränsen för kemisk analys och kan därmed vara svår att bestämma. De effektbaserade metoderna som BioCell Analytica erbjuder har mycket hög känslighet med en detektionsgräns omkring 0,01-0,05 ng östradiolekvivalenter/L.

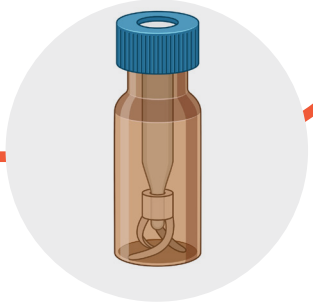
Så här går det till:



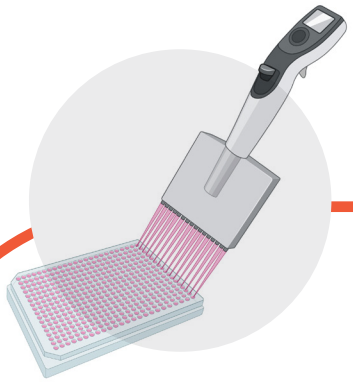
Vattenprov



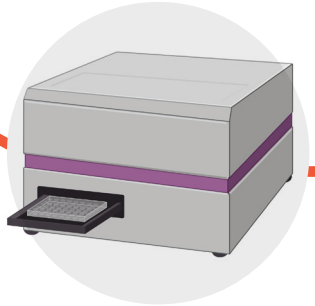
Fastfasextraktion



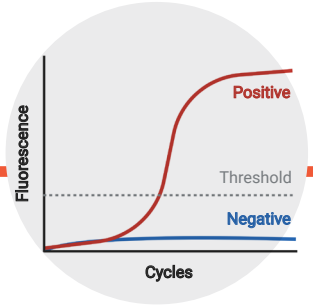
Koncentrerat vattenprov



Förekomsten av toxiska kemikalier i provet analyseras med hjälp av odlade celler



Mängden signalprotein analyseras



Resultat sammanställs och analyseras

Vid effektbaserad analys koncentreras först vattenprovet med fastfasextraktion, i likhet med hur prover ofta koncentreras inför kemisk analys av organiska föroreningar. Det koncentrerade vattenprovet analyseras sedan med hjälp av odlade celler, för att mäta förekomsten av kemikalier som kan orsaka olika typer av toxiska effekter.

Skapad med Biorender.com

Resultat från effektbaserade studier av dricksvatten

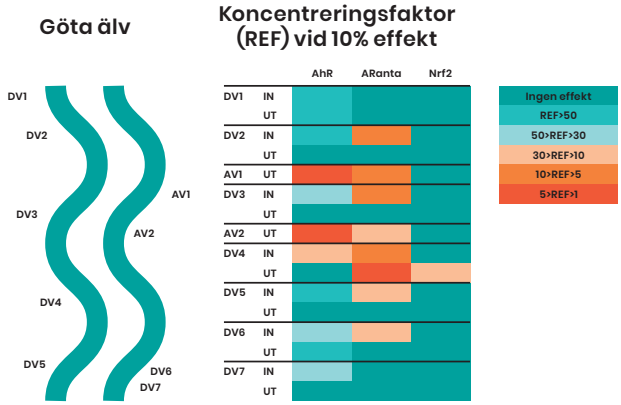
Forskning kring effektbaserade metoder har ökat stort och metodiken används alltmer i senare studier av vattenkvalitet. En sökning på Web of Science 2022-03-06 med sökorden ”drinking water” AND effect-based OR “in vitro bioanalysis” gav 690 träffar, varav 593 studier var publicerade 2010 eller senare. Nedan presenteras resultat från våra svenska studier och några exempel på internationella studier där effektbaserade metoder använts vid undersökning av dricksvattenkvalitet.

Svenska studier

Vi har använt effektbaserade metoder för att studera dricksvattenkvalitet och effekter av rening (Rosenmai et al, 2018; Lundqvist et al., 2019; 2021; Oskarsson et al., 2021; Persson et al., 2021; Yu et al., 2021). En översiktsartikel är nyligen publicerad i Tidskriften Vatten (Oskarsson, Lundqvist, 2022).

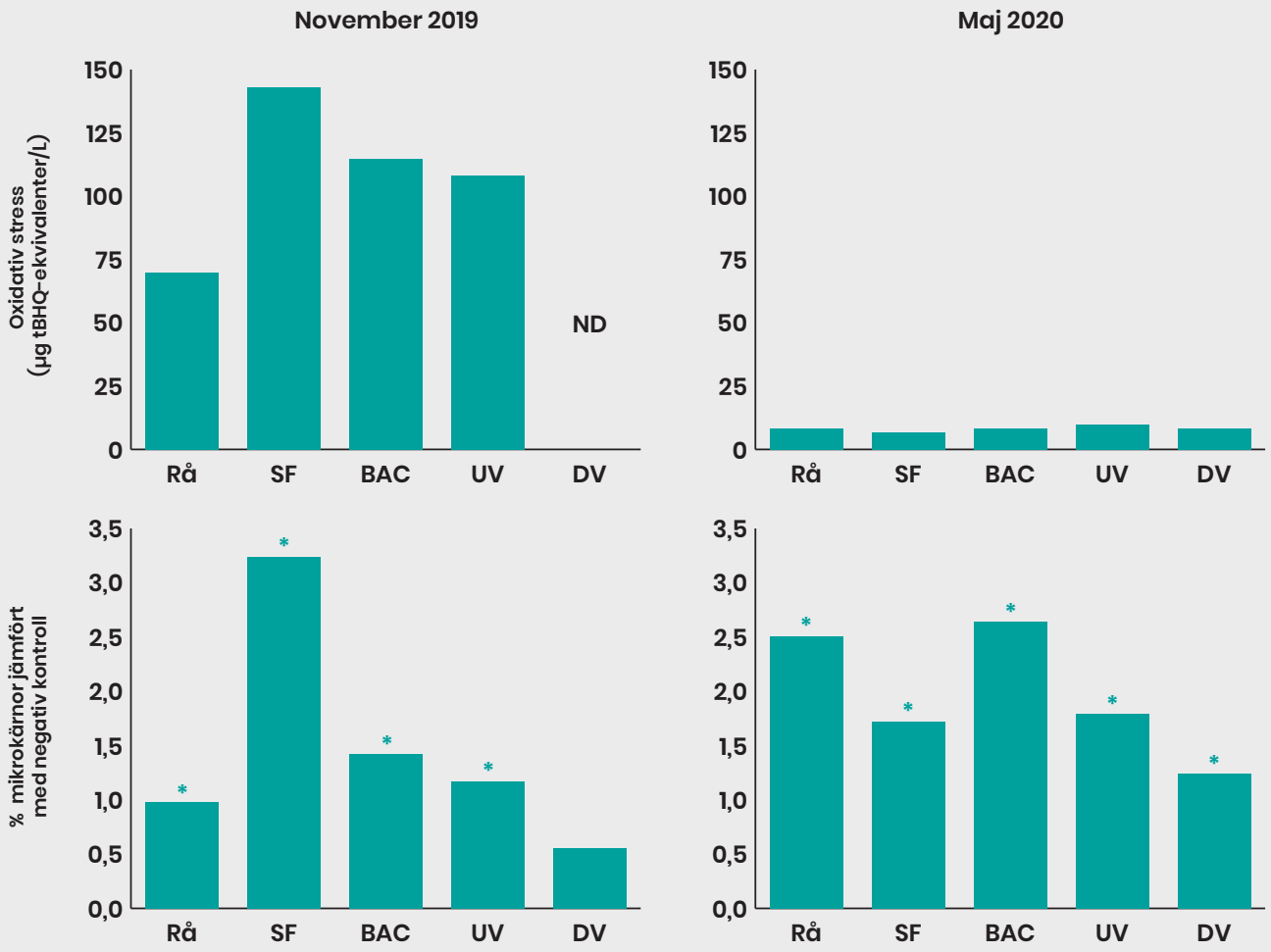
Resultaten från våra studier i svenska ytvattenverk har visat flera biologiska effekter i ingående vatten: AhR-aktivitet, oxidativ stress, östrogen aktivitet och i något fall även genotoxicitet. I vissa fall, men inte alltid, minskade de biologiska effekterna efter rening med granulerat aktivt kol (GAC), vid nanofiltrering, efter tillsats av monokloramin eller under transport i distributionsnätet.

Vi har gjort effektbaserade studier på in- och utgående vatten från sju dricksvattenverk, som tog sitt råvatten direkt eller indirekt från Göta älv, och på utgående vatten från två avloppsreningsverk med utlopp i Göta älv (Figur 1). I ett av dricksvattenverken, som hade artificiell infiltration, upptäcktes att vattnet kontaminerades med ämnen som orsakade oxidativ stress och antiandrogen aktivitet (hämmande effekt på androgenreceptorn) under den artificiella infiltrationen. Aktivitet av AhR sågs i alla prover av råvatten, men minskade efter rening. De båda proverna från avloppsreningsverk hade mycket hög aktivitet av AhR och även antiandrogen aktivitet. Kemisk analys av det analyserade dricksvattnet visade inga överskridanden av gränsvärden och vattnet var därmed tjänligt enligt Livsmedelsverkets föreskrifter om dricksvatten. Kemisk analys gjordes på samma vattenprover och omkring 30 ämnen detekterades. Dessa ämnen kunde inte förklara någon av de biologiska effekterna, som alltså orsakades av okända ämnen. Vilket eller vilka ämnen som orsakade effekterna är inte känt. Det kan tänkas att tidigare ackumulerade föroreningar kan ha mobiliserats eller naturliga bioaktiva ämnen från mikroorganismer har bildats i infiltrationsbädden.



Figur 1. Resultat från Göta älv-studien illustrerade som ett färgdiagram. Färgerna anger vilken grad av koncentrering som krävs för att vattenprovet ska ge 10% av den maximala effekten hos den positiva kontrollen. REF 1 anger att vattenprovet inte är koncentrerat alls och REF 10 anger att vattenprovet är koncentrerat 10 gånger. Resultaten från in- och utgående vatten från sju dricksvattenverk (DV1- DV7) och utgående vatten från två avloppsreningsverk (AV1 och AV2) visas. Data från Oskarsson et al., 2021.

En hög aktivitet av oxidativ stress uppmättes i prover från november 2019 från ett ytvattenverk (Figur 2). Aktiviteten ökade till och med efter sandfiltrering, men försvann helt efter behandling med monokloramin. I samma vattenprover fanns en statistiskt signifikant förhöjd genotoxisk aktivitet jämfört med kontrollen, i alla behandlingssteg utom i utgående vatten efter monokloramin. Ett halvår senare, i maj 2020, var aktiviteten låg av oxidativ stress och på jämn nivå i alla proverna. Däremot fanns signifikant förhöjd genotoxisk aktivitet i alla prover, inklusive utgående dricksvatten efter monokloramin.



Figur 2. Oxidativ stress och genotoxisk aktivitet (% mikrokärnor) i vattenprover från ett ytvattenverk i november 2019 och maj 2020. Oxidativ stress är uttryckt som biologiska ekvivalenter av referenssubstansen tertiär butylhydrokinon (tBHQ). ND = icke detekterbar. Rå = ingående råvatten; SF = efter kemisk fällning och sandfiltrering; BAC = efter biologisk aktivt kol; UV = efter UV-desinfektion; DV = utgående vatten efter dosering av kalk och monokloramin.
** indikerar statistiskt signifikant förhöjd förekomst av mikrokärnor jämfört med kontrollen. Data från Yu et al., 2021.*

Säsongsvariationer av biologiska aktiviteter i vattenprover studeras i ett pågående projekt. Inte förvånande ses förhöjd aktivitet under olika perioder för olika effektparametrar, vilket visar att man inte kan dra säkra slutsatser från enstaka prover. Förekomsten av kemiska ämnen varierar ju också över tid och i kontrollprogrammet för kemiska analyser av dricksvatten ska upprepade mätningar göras under året, med en frekvens beroende på dricksvattenverkets produktionsvolym.

Att allvarliga biologiska effekter förekommer utan upptäckt och åtgärd i vårt dricksvatten visar att det nuvarande kontrollprogrammet med ett fåtal utvalda kemiska föroreningar inte är tillräckligt för att uppfylla kravet på ett hälsosamt och rent dricksvatten. För genotoxiska/carcinogena ämnen finns idag gränsvärden för en handfull organiska ämnen (akrylamid, bensen, bens(a)pyren och fyra ytterligare PAH:er, epiklorhydrin, 1,2-dikloretan, tetra- och trikloreten, trihalometaner och vinylklorid), vilket är en bråkdel av de genotoxiska ämnen som kan förorena dricksvatten. Det är orimligt att identifiera och kemiskt mäta alla sådana ämnen i dricksvatten. Däremot ger de effektbaserade metoderna en total bild av den genotoxiska aktiviteten i ett vattenprov. Som beskrivits ovan har vi nyligen detekterat genotoxisk aktivitet i råvatten och utgående dricksvatten från ett svenskt dricksvattenverk (figur 2).

Internationella studier

Escher et al publicerade år 2014 ett grundläggande arbete för metodutveckling och introduktion av effektbaserade analyser av vattenprover. En utvärdering av 103 olika in vitro-metoder gjordes av 20 laboratorier med 10 olika vattenprover. De känsligaste effekterna visades vara aktivitet av AhR, ER, glukokortikoid-receptorn, anti-AR, oxidativ stress och genotoxicitet. Ökad aktivitet av AhR och Nrf2 sågs efter behandling av dricksvatten med klor och monokloramin, vilket förklarades med bildning av desinfektionsbiprodukter. Bioassays rekommenderades för utvärdering av reningstekniker för återcirkulerat vatten i en studie av Jia et al (2015). AhR-aktivitet och oxidativ stress (Nrf2) visades ha en hög känslighet och föreslogs vara lämpliga indikatorer på reningseffektivitet.

De vanligaste effekterna som studerats är aktiviteter av hormonreceptorer, framför allt östrogen- och androgenreceptorer, och ibland även glukokortikoid- och progesteron-receptorer. Östrogen aktivitet har ofta detekterats i råvatten, men minskat eller helt avlägsnats efter rening. Resultaten visar att östrogena ämnen kan detekteras med betydligt högre känslighet i bioanalyser jämfört med kemiska analyser. Östrogen aktivitet i bioassays jämfördes med halter av naturliga östrogener och etinylöstradiol från p-piller i 25 dricksvattenverk i USA (Conley et al., 2017). Inget renat prov och endast fem råvattenprov hade detekterbara halter (bara av östron; 0,11-0,29 ng/L) vid kemisk analys, medan 16 råvatten (upp till 0,5 ng östradiolekvivalenter/L) och tre dricksvattenprover uppvisade östrogen aktivitet (max 0,08 ng östradiolekvivalenter/L). Jones et al. (2020) mätte hormon- och AhR-aktivitet i vatten från 10 vattenverk i Iowa, USA. Vanligast var AhR- och AR-aktivitet, som detekterades i 67 respektive 40% av dricksvattenproverna och mest frekvent i prover tagna under våren. Ingen aktivitet av hormonreceptorer över detektionsgränsen (bl a ER, AR, glukokortikoid-, progesteron-, tyroid-receptorer) detekterades i sex dricksvattenprover från olika länder (Leusch et al., 2018).

Neale och medarbetare (Neale et al., 2020) studerade reningseffektiviteten i tre vattenverk nära Paris. Råvattnet kom från tre floder och behandlades med olika metoder, inklusive biologisk behandling, ozonering och nanofiltrering. Östrogen aktivitet fanns i alla prover av råvatten, i flera fall motsvarande halter över EU:s nya riktvärde i bevakningslistan (1 ng/L), men aktiviteten avlägsnades vid rening. Oxidativ stress och inflammatorisk aktivitet detekterades i råvatten och ökade i flera fall efter klorering, vilket förklarades med att desinfektionsbiprodukter bildats. Ingen genotoxisk aktivitet uppmättes med de tester som användes.

Genotoxiska desinfektionsbiprodukter (DBP), som kan bildas vid klorering, ozon- och UV-behandling av dricksvatten, är ett alltmer uppmärksammat problem (Srivastav et al., 2020). Genotoxisk aktivitet i dricksvatten har detekterats efter desinfektion med klor (Zeng et al., 2015), men även i dricksvatten från brunnar (Zhang et al., 2021) i studier från Kina. I råvatten, behandlat vatten och i distributionsnätet detekterades genotoxicitet från fyra vattenverk i en studie från Sardinien (Feretti et al., 2020). För att minska bildningen av genotoxiska trihalometaner användes klordioxid istället för hypoklorit som primär desinfektion och monokloramin som sekundär desinfektion, vilket inte minskade genotoxiciteten.

Bedömning av bioaktivitet i dricksvatten

Bioaktivitet i vattenprover visar förekomst av kemiska ämnen med den specifika biologiska effekt, som analysen testar för. Oftast är man intresserad av att veta om en eventuell effekt i råvattnet minskar, och i så fall hur mycket, efter olika steg i dricksvattenberedningen. Effektivitet av rening kan mätas som skillnad mellan biologisk aktivitet före och efter rening och uttryckas som procent reningseffektivitet. Det omvända kan också inträffa, dvs att en kontaminering sker i ett behandlingssteg, vilket visas som en ökad biologisk aktivitet.

För att kunna jämföra biologiska aktiviteter mellan olika studier används en referenssubstans, som är specifik för varje metod. Vattenprovet analyseras i en spädningsserie, som jämförs med referenssubstansen och en biologisk ekvivalent koncentration (BEK) av standarden beräknas för provet. Till exempel anges östrogen aktivitet som östradiolekvivalenter/L vatten, vilket innebär att vattenprovet har en total östrogen aktivitet som motsvarar en viss koncentration av östradiol. Den östrogena aktiviteten kan komma från olika ämnen som har östrogen aktivitet. På detta sätt kan effekterna jämföras mellan olika studier.

Uppmätta BEK-värden för olika typer av vatten kan jämföras med BEK-värden från andra studier, så kallade historiska data. Medianvärden, 25- och 75%-iler av de historiska data utgör ett slags referensvärden och anger ett intervall som representerar normalvärden. De uppmätta aktiviteterna kan jämföras med detta normalintervall och avvikande värden indikerar att vattenproverna bör följas upp med avseende för källspårning och åtgärder.

För ett fåtal enskilda kemiska ämnen finns gränsvärden, som om de överskrids anger att vattnet är otjänligt eller tjänligt med anmärkning. Det finns däremot inga riktlinjer för hur man bedömer förekomst av t ex 20 kemiska ämnen i låga koncentrationer i ett vattenprov, oavsett om de har gränsvärden eller inte. Vart och ett av de detekterade ämnena kan bedömas om det finns toxicitetsdata, men den sammantagna effekten av de 20 tillsammans är svårare att bedöma. Den uppenbara risken är dessutom att de 20 ämnena kanske bara står för 1% av de toxiska effekterna och man missar effekter av icke-analyserade, okända ämnen.

För effektbaserade analyser finns inga fastställda gränsvärden. Däremot finns flera förslag på hur riktvärden, så kallade effektbaserade trigger values (EBT), skulle kunna beräknas, särskilt för effekter på hormonreceptorer och för ekotoxikologiska effekter i ytvatten, men även några för hälsobaserade effekter från dricksvatten (Escher et al, 2015; Been et al., 2021). För östrogena effekter kan man utgå från riktvärdet på östradiol i EU:s bevakningslista på 1 ng/L. Det kan finnas andra ämnen med östrogen aktivitet i vattenprovet, som bör adderas till effekten av östradiol. Ur hälsosynpunkt bör alltså den totala östrogenaktiviteten i vattenprov inte överskrida 1 ng östradiolekvivalenter/L. Kalifornien har infört effektbaserade riktvärden i sin lagstiftning för återcirkulerat vatten. Riktvärdena ligger på 3,5 ng östradiolekvivalenter/L för östrogen aktivitet och 0,5 ng TCDDekvivalenter/L för AhR-aktivitet (California EPA, 2019).

Till skillnad från annan toxicitet så saknas en säker tröskeldos för viss typ av genotoxicitet, det vill säga det finns ingen säker dos under vilken ingen genotoxisk effekt uppstår. Mekanismen bakom genotoxicitet är oftast inte känd, och man kan därför inte säkert säga om effekten har en tröskeldos eller inte. Detta gäller särskilt i komplexa blandningar, såsom i dricksvatten, där genotoxiciteten kan vara orsakad av flera olika ämnen. Därför bör sådana effekter inte finnas i dricksvatten.

EXEMPEL PÅ HUR EFFEKTBASERADE METODER KAN ANVÄNDAS

- Analysera råvatten och renat vatten
- Utvärdera hur effektivt hälsofarliga kemiska ämnen renas i olika reningssteg
- Utvärdera hur effektivt nya tekniker avlägsnar toxiska kemikalier i pilotanläggningar
- Analysera vatten i olika steg från tillrinningsområde till konsument, enligt kravet på riskbaserad strategi i nya EU-direktivet
- Komplettera den kemiska analysen, som görs enligt kontrollprogrammet, med en effektbaserad analys för att mäta hela isberget.

Sammanfattning

Effektbaserade metoder, där odlade celler används för att upptäcka toxiska föroreningar i vatten, visar den totala effekten av såväl kända som okända ämnen, omvandlingsprodukter, metaboliter och cocktaileffekter. Metoderna har en hög känslighet och är ett utmärkt komplement till kemisk analys för att undersöka förekomsten av toxiska föroreningar i råvatten och renat vatten, för att utvärdera befintliga reningstekniker och pilotanläggningar med nya tekniker och att analysera vatten i hela kedjan från källa till kran med riskbaserad strategi.

Kontakta oss gärna för att diskutera hur metoderna kan användas i er verksamhet.

Författare

Detta White Paper har skrivits av Agneta Oskarsson, Johan Lundqvist och Elin Lavonen. Agneta Oskarsson är professor emerita i livsmedelstoxikologi vid Sveriges lantbruksuniversitet och Johan Lundqvist är docent i molekylär toxikologi vid samma universitet. De har lång erfarenhet av att utveckla och använda biologiska testmetoder för att upptäcka kemiska föroreningar i vatten. Tillsammans har de startat BioCell Analytica. Elin Lavonen är fil.dr i miljöanalys och har sedan sin doktorsexamen arbetat bland annat på Norrvatten och Veolia Water Technologies. Sedan 2021 arbetar hon som vattenspecialist på BioCell Analytica.

Lästips

- Bioanalytical Tools in Water Quality Assessment, bok av Beate Escher m.fl., IWA Publishing. Finns tillgänglig online: https://iwaponline.com/ebooks/book/832/Bioanalytical-Tools-in-Water-Quality-Assessment
- Tracking complex mixtures of chemicals in our changing environment, artikel av Beate Escher m.fl. i tidskriften Science: https://www.science.org/lookup/doi/10.1126/science.aay6636

Referenser

- Been, F., Pronk, T., Louisse, J., et al., 2021. Development of a framework to derive effect-based trigger values to interpret CALUX data for drinking water quality. Water Res., 193, 116859.
- Brack, W., Ait Aissa, S., Backhaus, T., et al., 2019. Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. Environ. Sci. Eur., 31:10. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0192-2
- California EPA, 2019. Water Quality Control Policy for Recycled Water. State Water Resources Control Board, California Environmental Protection Agency, Effective April 8, 2019.
- Conley, J.M., Evans, N., Mash, H., et al., 2017. Comparison of in vitro estrogenic activity and estrogen concentrations in source and treated waters from 25 US drinking water treatment plants. Sci. Tot. Environ., 579, 1610-1617.
- Dingemans, M.M.L., Baken, K., van der Oost, R. et al., 2019. Risk-based approach in the revised European Union drinking water legislation: Opportunities for bioanalytical tools. Integr. Environ. Assess. Manag., 15, 126-134.
- Escher, B.I., Allinson, M., Altenburger, R., et al., 2014. Benchmarking organic micropollutants in wastewater, recycled water and drinking water with in vitro bioassays. Environ. Sci. Technol., 48, 1940-1956.
- Escher, B.I., Neale, P.A. and Leusch, F.D.L., 2015. Effect-based trigger values for in vitro bioassays: Reading across from existing water quality guideline values. Water Res., 81, 137-148.
- Escher, B., Neale, P. and Leusch, F., 2021. Bioanalytical Tools in Water Quality Assessment. Second edition. IWA Publishing. doi: 10.2166/9781789061987_0001 https://iwaponline.com/ebooks/book/832/Bioanalytical-Tools-in-Water-Quality-Assessment
- EU 2020/2184. Europaparlamentets och Rådets Direktiv (EU) 2020/2184 av den 16 december 2020 om kvaliteten på dricksvatten.
- Feretti, D., Acito, M., Dettori, M., et al., 2020. Genotoxicity of source, treated, and distributed water from four drinking water treatment plants supplied by surface water in Sardinia, Italy. Environ. Res., 185, 109385.
- Ferraro, P.J. and Prasse, C., 2021. Reimagining safe drinking water on the basis of twenty-first-century science. Nature Sustainability, 4, 1032-1037, 2021.
- Jia , A., Escher, B.I., Leusch, F.D.L., et al., 2015. In vitro bioassays to evaluate complex chemical mixtures in recycled water. Water Res., 80, 1-11.
- Jones, R.R., Stavrena, D.A., Weyer, P.J., et al., 2020. Pilot study of global endocrine disrupting activity in Iowa public drinking water utilities using cell-based assays. Sci. Tot. Environ., 714, 136317.
- Leusch, F.D.L., Neale, P.A., Arnal C., et al., 2018. Analysis of endocrine activity in drinking water, surface water and treated wastewater from six countries. Water Res., 139: 10-18.
- Lundqvist, J., Andersson, A., Johannisson, A., et al., 2019. Innovative drinking water treatment techniques reduce the disinfection-induced oxidative stress and genotoxic activity. Water Res., 155, 182-192.
- Lundqvist J, Persson KM, Oskarsson A. 2021. Glass-bottled drinking water – a time capsule to study the historic presence of hazardous chemicals using effect-based methods. Environmental Sciences Europe 33:34
- Neale, P.A. and Escher, I.E., 2019. In vitro bioassays to assess drinking water quality. Curr.Opin. Environ. Sci. Hlth., 7, 1-7.
- Neale, P.A., Feliers, C., Glauch, L., et al. 2020. Application of in vitro bioassays for water quality monitoring in three drinking water treatment plants using different treatment processes including biological treatment, nanofiltration and ozonation couples with disinfection. Environ. Sci.: Water Res. Technol., 6, 2444.

- Oskarsson, A., Rosenmai, A.K., Mandava, G., et al., 2021. Assessment of source and treated water quality in seven drinking water treatment plants by in vitro bioassays – Oxidative stress and antiandrogen effects after artificial infiltration. Sci. Tot. Environ., 758, 144001. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144001
- Oskarsson, A. och Lundqvist, J. 2022. Effektbaserade analysmetoder för övervakning av kemiska föroreningar i dricksvatten. Vatten, 1, 41-49.
- Persson, K.M., Lundqvist, J. och Oskarsson, A.: Vad har hänt med vårt dricksvatten på 30 år? 2021. Svenskt Vatten Utveckling, Rapport 2021-7, 1-16.
- Rosenmai, A.K., Lundqvist, J., le Godec, T., et al., 2018. In vitro bioanalysis of drinking water from source to tap. Water Res., 139, 272-280.
- SLVSFS 2017:2. Livsmedelsverkets föreskrifter om ändring i Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30) om dricksvatten.
- SOER, 2020, The European environment – state and outlook 2020. Knowledge for transition to a sustainable Europe. Chapter 10. Chemical Pollution, sid 230-251, European Environment Agency, 2019.
- SOU 2021:81. Statens Offentliga Utredningar. Betänkande av 2020 års dricksvattenutredning. En säker tillgång till dricksvatten av god kvalitet. Stockholm, 2021.
- Srivastav, A.L., Patel, N. and Chaudhary, V.K., 2020. Disinfection by-products in drinking water: Occurrence, toxicity and abatement. Environ. Pollut., 267, 115474.
- World Health Organization. (2017) Potable reuse: guidance for producing safe drinking-water. World Health Organization. https://apps.who.int/iris/handle/10665/258715.
- Zeng, Q., Zhang, S.-H., Liao, J., et al., 2015. Evaluation of genotoxic effects caused by extracts of chlorinated drinking water using a combination of three different bioassays. J. Hazard. Mat., 296, 23-29.
- Zhang, W., Guo, C., Wang, X., et al., 2021. Double-endpoint genotoxicity quantification and PAHs characterization of drinking water source alongside polluted Yinghe River with high tumor mortality. Curr. Med. Sci., 41, 189-198.

BioCell
ANALYTICA

biocellanalytica.se
kontakt@biocellanalytica.se