
Svenskt Vatten

UTVECKLING

Rapport

Nr 2021-7

Vad har hänt med vårt dricksvatten på 30 år?

Kenneth M Persson

Johan Lundqvist

Agneta Oskarsson

Svenskt Vatten

UTVECKLING

Svenskt Vatten Utveckling (SVU) är kommunernas eget FoU-program om kommunal VA-teknik. Programmet finansieras i sin helhet av kommunerna. Programmet lägger tonvikten på tillämpad forskning och utveckling inom det kommunala VA-området.

Författarna är ensamt ansvariga för rapportens innehåll, varför detta ej kan åberopas såsom representerande Svenskt Vattens ståndpunkt.

Svenskt Vatten Utveckling

Svenskt Vatten AB

POSTADRESS BOX 14057, 167 14 Bromma

BESÖKSADRESS Gustavslundsvägen 12, 167 51 Bromma

TELEFON 08-506 002 00

E-MAIL svensktvatten@svensktvatten.se

www.svensktvatten.se

RAPPORTENS TITEL	Vad har hänt med vårt dricksvatten på 30 år?
TITLE OF THE REPORT	What has happened to our drinking water in 30 years?
FÖRFATTARE	Kenneth M Persson, Sydsvatten AB, Sweden Water Research AB och Lunds universitet; Johan Lundqvist och Agneta Oskarsson, SLU och Biocell Analytica Uppsala AB
RAPPORTNUMMER	2021-7
ANTAL SIDOR	16
SAMMANDRAG	Vatten som buteljerades under 1990-talet från fem vattenverk i Sverige har jämförts med nytagna prover från samma vattenverk. Forskarna använde fyra olika metoder som visar biologiska effekter av även låga halter kemiska ämnen, metoder som är värdefulla för det fortlöpande arbetet med att säkerställa hög dricksvattenkvalitet. Analysen indikerar att vattenkvaliteten i samtliga fall har förbättrats sedan 1990-talet.
SUMMARY	Bottled water from five waterworks in Sweden taken during the 1990s have been compared with newly taken samples from the same waterworks. Four different biological effect-based methods were used to check whether the water quality has changed during the years. The analysis indicates that the water quality has improved in all cases since the 1990s.
SÖKORD	Effektbaserad analys, dricksvatten, historik, vattenkvalitet
KEYWORDS	Effect-based analytical methods, drinking water, history, water quality
MÅLGRUPPER	Vattenkemister, dricksvattentekniker, laboratoriepersonal, miljö- och hälsoskyddsinspektörer, forskare
RAPPORT	Finns att hämta hem som pdf från Vattenbokhandeln. https://vattenbokhandeln.svensktvatten.se/
UTGIVNINGÅR	2021
UTGIVARE	© Svenskt Vatten AB
REFERENS	Persson K.M., Lundqvist J. och Oskarsson A. (2021). Vad har hänt med vårt dricksvatten på 30 år? SVU-rapport 2021-7. Stockholm, Svenskt Vatten.

Om projektet

PROJEKTNUMMER	18-108
PROJEKTETS NAMN	Hur mycket miljögifter fanns i vårt dricksvatten 1990?
PROJEKTETS FINANSIERING	Svenskt Vatten Utveckling, Magn. Bergvalls stiftelse, Sydsvatten AB, Sweden Water Research AB, LTH, avdelningen för teknisk vattenresurslära

Förord

När en av författarna till denna rapport fick lyssna på en redogörelse om projektet SafeDrink och om att det gick att mäta biologiska effekter av ämnen i dricksvatten också vid låga halter, blev han nyfiken. På sitt kontor hade han buteljerat dricksvatten från 1990-talet från en lång rad olika vattenverk. Skulle det gå att analysera dem och jämföra med nutida vatten från samma vattenverk och på så sätt se om dricksvattenkvaliteten blivit bättre eller sämre sedan 1990-talet? Biologiska effekter kan mätas med högre upplösning än traditionell GC-MS eller HPLC-MS. Den planerade idén om att mäta främmande ämnen i dricksvatten som SVU beviljat en del medel till styrdes om till att använda biologiskt effektbaserade metoder. Kontakter etablerades, medel för att bekosta analyserna beviljades från andra alerta finansiärer och vattenprover från fem vattenverk samlades in.

Denna rapport visar att det går att göra effektbaserade mätningar och jämförelser mellan olika vatten från olika år. Vattenverkens personal i Eskilstuna, Helsingborg, Kalmar, Karlskoga och Umeå tackas för att ha hjälpt till med provtagning av vattenproverna 2020. Magn. Bergvalls stiftelse, Svenskt Vatten Utveckling, samt Sydvatten och Sweden Water Research har finansierat studien.

Studien är i sin helhet presenterad på engelska i: Lundqvist, J., Persson, K.M. & Oskarsson, A. Glass-bottled drinking water: a time capsule to study the historic presence of hazardous chemicals using effect-based methods. *Environ Sci Eur* 33, 34 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00476-0>

Kenneth M Persson, forskningschef, Sydvatten AB

Innehåll

Förord.....	2
Sammanfattning.....	4
Summary	5
1 Bakgrund	6
2 Går det att mäta den samlade föroreningsbelastningen i ett vattenprov?	7
3 Metod	10
4 Resultat	12
5 Diskussion.....	13
Referenser.....	15

Sammanfattning

Vatten som buteljerades under 1990-talet från fem vattenverk i Sverige har jämförts med nytagna prover från samma vattenverk. Forskarna använde fyra olika metoder som visar biologiska effekter av även låga halter kemiska ämnen, metoder som är värdefulla för det fortlöpande arbetet med att säkerställa hög dricksvattenkvalitet. Analysen indikerar att vattenkvaliteten i samtliga fall har förbättrats sedan 1990-talet.

Under slutet av 1980-talet började svenska bryggerier marknadsföra buteljerat vatten som om det hade högre kvalitet än traditionellt kranvatten. Personalen vid många kommunala vattenverk svarade med att ta fram egna buteljerade produkter för att manifestera att kranvatten är minst lika gott som flaskvatten. I en samling av buteljerade kranvatten på Lunds tekniska högskola fanns 41 olika vattenverk representerade. Forskare från LTH och från forskningsprojektet SafeDrink slog sig samman för att undersöka dricksvattnets kvalitet i fem av de 30 år gamla flaskorna och jämföra med dricksvatten från motsvarande vattenverk år 2020.

Traditionellt brukar föroreningsbelastning undersökas genom att varje kemiskt ämne analyseras separat. Den sammantagna effekten av de ämnen som finns i ett prov framgår då inte av analysen. Metoder som visar biologiska effekter på laboratorieodlade celler kan komplettera analysen och ge en totalbild av alla ingående kemikalier i ett prov och de toxiska effekter de orsakar, det som kallas cocktaileffekten. Sådana metoder kan också upptäcka låga halter av ämnen som kan ha negativ hälsoeffekt.

När biologiska effekter mäts används modifierade celler från däggdjur för att kunna upptäcka och mäta specifika oönskade effekter. När cellerna exponeras för ämnen som orsakar de speciella effekterna så utsöndrar de särskilda proteiner. Proteinerna mäts och ger ett snabbt svar på om provet är förorenat av hälsofarliga kemikalier. Forskargruppen studerade förekomsten av ämnen som kan aktivera fyra olika receptorer i cellen: 1) AhR-receptorn som aktiveras av många olika toxiska ämnen, 2) androgenreceptorn (AR) som aktiveras av manliga könshormonsliknande ämnen, 3) östrogenreceptorn (ER) som aktiveras av kvinnliga könshormonsliknande ämnen, samt 4) Nrf2-receptorn som mäter ämnen som kan ge oxidativ stress i cellen.

Samtliga tio analyserade dricksvatten, både historiska prover och prover från hösten 2020, uppvisade låg eller ingen biologisk aktivitet för AhR och ER, och ingen aktivitet för AR eller Nrf2. De nytagna proverna visade samtliga på lägre aktivitet för AhR och ER än de historiska proven. Analysen indikerar således att vattnets kvalitet i samtliga fall hade förbättrats sedan 1990-talet. Det finns flera möjliga förklaringar till dessa skillnader. Råvattenkvaliteten och dricksvattenberedningens effektivitet när det gäller att avskilja AhR-aktiverande ämnen kan ha förbättrats, men det kan inte heller uteslutas att de buteljerade vattenproverna hade förorenats under buteljeringsprocessen.

Möjligen har det förebyggande arbetet med att minska kemikaliebelastningen i samhället burit frukt, men det krävs givetvis flera undersökningar för att fastställa om så är fallet. Generellt sett är det lovande att effektbaserade bioanalyser kan användas för att indikera förekomsten av även låga halter av bioaktiva kemiska föroreningar i dricksvatten, och det är värdefullt att fortlöpande använda effektbaserade metoder för att säkerställa hög dricksvattenkvalitet.

Summary

Bottled water from five waterworks in Sweden taken during the 1990s and five newly taken samples from the same waterworks taken in the autumn of 2020 have been analyzed using four different effect-based biological methods to investigate whether the water's chemical composition has changed in about 30 years. The samples were concentrated by solid phase extraction and then diluted with cell medium in the effect-based assay. The final concentration factor tested was at most 50 times higher than an unconcentrated water sample.

Biological effect-based methods are useful since they can measure also low levels of substances in drinking water that can have a negative health impact. Four different biological effect-based methods were used which measure changes of four different biological effects. The first is induction of metabolic activity measured by the aryl hydrocarbon receptor (AhR). The second is the activity of male sex hormone-like substances measured with the androgen receptor (AR). The third is the effect of female sex hormone-like substances measured with the estrogen receptor (ER). The fourth is substances that can cause oxidative stress for the cell which is measured with Nrf2 (nuclear transcription factor erythroid 2-related factor 2). The results were used to calculate bioequivalent concentrations (BEQ) of reference substances that were analyzed simultaneously. The reference substances used were 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin (TCDD) for AhR activity measurement, 17 β -estradiol (E2) for ER activity measurement, dihydrotestosterone for AR activity measurement, hydroxyflutamide for anti-AR activity measurement and tertiary butylhydroquinone for Nrf2 measurement.

All analyzed waters, both historical samples and samples from the autumn of 2020, showed low biological activity for AhR and ER and no activity for androgenic or antiandrogenic activity or induced oxidative stress. The tests from 2020 all showed lower activity for AhR and ER compared with the historical tests. The analysis indicates that the water quality regarding the four biological activities examined has improved in all cases since the 1990s.

There are several possible explanations for these differences; the raw water quality may have improved and the efficiency of the drinking water treatment to remove AhR-activating substances may have improved, but it can also not be ruled out that the bottled water samples were contaminated during the bottling process.

It is possible that the preventive work to reduce the chemical load in society has borne fruit. Of course, several investigations are required to unequivocally determine whether this is the case. Effect-based bioanalyses seem to be valuable tools to be used for indicating presence of even low levels of bioactive chemical contaminants in drinking water and we believe that it is valuable to continuously use effect-based methods to control drinking water quality.

1 Bakgrund

Vattenprover är skrymmande och brukar hållas ut i avlopp efter genomförda analyser. Därför finns sällan några sparade historiska prover tillgängliga. Vissa andra prover sparas, såsom sedimentprover, geologiska och andra mineralprover, prover av biologiskt material eller medicinska prover, men ytterst sällan vattenprover.

Under slutet av 1980-talet började svenska bryggerier marknadsföra buteljerat vatten som om det hade högre kvalitet än traditionellt kranvatten. Det accentuerades av Sveriges planerade inträde i EU, då den europeiska mineralvattenregleringen inlemmades i svenskt regelverk (80/777/EEG). Personalen vid många kommunala va-verk blev provocerade av denna marknadsaktivitet och flera svarade med att ta fram egna buteljerade produkter, ibland i samband med något jubileum, ibland i samband med en stadsfestival för att manifesteras att kranvatten är minst lika gott som flaskvatten. En del av flaskorna har hittat fram till avdelningen för teknisk vattenresurslära på LTH, där det i samlingen finns totalt 41 olika vattenverk från Sverige representerade (bild 1.1).



Bild 1.1

Vattenarkivet med flaskvattenprover på LTH.

Flaskorna på bild 1.1 är historiska prover från i huvudsak 1987 till 1999 som förtjänar viss uppmärksamhet. De är nämligen tidsprover från hur vattnet såg ut på 1980- och 1990-talen. Urbanisering och befolkningsökning ökar det mänskliga fotavtrycket. Kemikaliepolitik och skärpta regler om kemikaliehantering bör minska riskerna för utsläpp och nedsmutsning. Med hjälp av tidsproverna kan frågan om vattnet blivit bättre eller sämre de senaste 30 åren studeras.

2 Går det att mäta den samlade föroreningsbelastningen i ett vattenprov?

Kemisk analysteknik utvecklas ständigt. Ett exempel är förekomst av bekämpningsmedel i vatten. När den svenska dricksvattenkungörelsen fastställdes 1989 (Statens livsmedelsverks kungörelse om dricksvatten, SLV FS 1989:30) fanns beskrivet att dricksvatten inte fick innehålla bekämpningsmedel eller bekämpningsmedelsrester. Någon specifik halt angavs inte initialt, men 1993 definierades ett dricksvatten som fritt från bekämpningsmedel, om halten understeg 0,1 µg/l för enskilt ämne och summa <0,5 µg/l för samtliga bekämpningsmedel. Dessa halter var rapporteringsgränser, det vill säga den gräns där dåvarande analysmetodik gav en tillförlitlig gräns vid vilken halten kunde rapporteras säkert. Halter överstigande dessa gränser gjorde att dricksvattnet klassades som otjänligt.

Sedan tidigt 1990-tal har metodutvecklingen gått framåt inom den analytiska kemin. Ett illustrativt exempel är utvecklingen för analys av bekämpningsmedel. För närvarande kan bekämpningsmedel rapporteras vid halter ned mot 1 ng/l. Bekämpningsmedel mäts i dricksvatten och spår av bekämpningsmedel hittas numera regelmässigt i alla län i Sverige (cirka 10% av grundvattenproverna från dricksvattenverk som inkommit till Vattentäcksarkivet tagna under 2012 hade spår av bekämpningsmedel). Kemiska bekämpningsmedel kan på olika sätt hitta ner i grundvattnet. Det vanligaste bekämpningsmedel som påträffas i mark och grundvatten är BAM, en nedbrytningsprodukt av det tidigare vanliga ogräsmedlet diklobenil som förr ingick i bekämpningsmedel mot växtlighet på till exempel grusplaner och banvallar, men som sedan 1989–90 är förbjudet.

Andra ämnen som kommer från mänsklig verksamhet är lösningsmedel, rengöringsmedel, släckmedel, byggmaterial, läkemedel, färger, med flera kemikalier från industri- och konsumentanvändning. Alla dessa ämnen sprids i miljön och kan förorena yt- och dricksvatten. Arbetet med att minska okontrollerad spridning av antropogena ämnen har pågått i ökande omfattning i Sverige sedan tillkomsten av Statens Naturvårdsverk 1967 och stödmyndigheter inom miljöområdet som Kemikalieinspektionen. På europeisk nivå utvecklades arbetet då EU:s kemikalielag Reach (Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals) – Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1907/2006) trädde i kraft den 1 juni 2007. Reach har inneburit en rad olika förändringar för tillsynen både när det gäller vad tillsynen ska omfatta och vilka tillsynsobjekt som berörs.

Riksdagen anger i sitt generationsmål för miljöpolitik att ”till nästa generation lämna över ett samhälle där de stora miljöproblemen är lösta, utan att orsaka ökade miljö- och hälsoproblem utanför Sveriges gränser.” Vad gäller miljö kvalitetsmålet ”Giftfri miljö” är Kemikalieinspektionen central myndighet och i sin bedömning 2019 säger myndigheten att detta mål inte nås till 2020. För vissa miljögifter minskar halterna i miljön, medan andra ämnen ökar. För många ämnen saknas kunskap om hälso- och miljöeffekter. Allt större kemikalie- och varuproduktion ökar spridningen av farliga ämnen. Kraftfulla insatser behövs för att farliga ämnen ska ersättas av alternativ. Lagstiftningen och företagens arbete behöver utvecklas för att få giftfria kretslopp. Det behövs bättre strategier för att kunna prioritera vilka ämnen som är mest angelägna att åtgärda.

Traditionellt brukar föroreningsbelastning undersökas genom att varje kemiskt ämne analyseras separat och halterna rapporteras var för sig. Den eventuellt sammanlagda effekten av de ämnen som finns i ett prov framgår inte av den kemiska analysen.

Effektbaserad analys i celler innebär ett kompletterande sätt och ger en totalbild av alla ingående kemikalier i ett prov och de toxiska effekter som de kan orsaka, den så kallade cocktaileffekten. För vissa viktiga toxicitetseffekter har det visats att 90–99 % av den toxiska effekten i ett prov kommer från okända ämnen, alltså andra ämnen än de som analyserats kemiskt. Okända ämnen kan vara antropogena eller naturligt förekommande och effekter av dessa kan också bero på samverkans effekter av flera ämnen som ingår i provet. Specifika kemiska analyser kan på så sätt kompletteras med effektbaserade analyser, även om det inte alltid är möjligt att peka ut vilken specifik förening som orsakar en toxisk effekt.

I projektet SafeDrink, eller mera formellt Formasprojektet Integrerad kemisk och toxikologisk metodik för detektion av hälsofarliga kemiska ämnen i dricksvatten, Dnr 2012-02124, utvecklades bland annat en integrerad kemisk-biologisk metodik för förbättrad detektion av toxiska kemikalier i dricksvatten. Vattenprover med hög volym (upp till 10 liter) eller exponerade passiva provtagare behandlades och koncentrerades till extrakt med låg volym (~ 1 ml) för analys med masspektrometri (LC-MS / MS och LC-HRMS) och cellbaserade bioanalyser. Ett batteri bioanalyser utvecklades för att undersöka toxiska aktiviteter i extrakten. Även ett programverktyg för val av relevanta farliga ämnen som kunde misstänkas förekomma i dricksvatten utvecklades (SusTool). Effekter av vattenbehandlingsmetoder inklusive effekterna av löst organiskt kol studerades experimentellt och screening genomfördes i fältstudier i Vombsjön, Fyrisån, Mälaren, Vänern och Göta älv, samt i vattenverk vid dessa råvattentäkter.

Arbetet med att förstå hur främmande kemiska ämnen rör sig i miljön sysselsätter forskare i hela världen. I SafeDrink-projektet analyserades upp till 163 organiska kemiska ämnen i råvatten och dricksvatten från 8 svenska dricksvattenverk (Tröger et al. 2018; 2020). I dricksvattnet detekterades 27 ämnen, i halter från mindre än 1 ng/l till 54 ng/l. Samma prover som analyserades kemiskt testades med de bioanalyser som beskrivs nedan. Bioanalyserna visade på aktivitet som inte kunde förklaras med förekomsten av de enskilda ämnen som detekterades i vattnet (Rosenmai et al. 2018; Oskarsson et al. 2021). Effekterna beror alltså på förekomst av hittills okända ämnen i dricksvattnet.

På Livsmedelsverket har utarbetats en ny förenklad metod, baserad på vätskekromatografi och masspektrometri, för kemisk analys av 90 utvalda kemikalier avsedda som indikatorer på kemisk förorening av dricksvatten (Karki et al. 2020). Metoden användes för att studera rå- och dricksvatten från 90 svenska dricksvattenverk. Detekterade halter var lägre än i studier från andra länder. Vanligast förekommande var läkemedlen karbamazepin och tramadol (medianhalter upp till 0,6 ng/l dricksvatten). Karbamazepin fanns i 31 % av testade ytvattenverk och 67 % av testade verk med artificiell infiltration. Machado och medarbetare redovisar i en artikel (2016) resultatet av hundra dricksvattenprover från 22 brasilianska delstaters residensstäder samt några naturliga källor med artesiskt vatten som analyserats med hjälp av vätskekromatografi och masspektrometri (LC-MS / MS). Prover samlades in under juni till september 2011 och 2012. Studien omfattade grupper av kända problematiska ämnen inklusive hormonliknande ämnen, mjukgörare, herbicider, konserveringsmedlet triklosan och koffein. Koffein, triklosan, atrazin, fenoltalein och bisfenol A fanns i minst ett av proven samlade i de två provtagningskampanjerna. Koffein och atrazin var de mest upptäckta ämnena i både dricks- och råvatten.

Det finns motsvarande exempel från andra delar av världen men parallellt pågår arbetet att implementera Reach eller andra kemikalieverktyg i full skala, så utvecklingen är inte enbart dyster. Men i en översikt om främmande kemiska ämnen i dricksvatten konstaterar Livsmedelsverket att fortsatt kartläggning och kunskapsinhämtning behövs för många parametrar, som läkemedelsrester, nanopartiklar, urlakning från material i kontakt med dricksvatten och desinfektionsbiprodukter. Desinfektionsprodukter kan bildas då naturliga organiska ämnen i vattnet reagerar med klorföreningar i vattenverken. Mer än 700 olika desinfektionsprodukter är identifierade idag. Sporadiskt förekommer rester

av bekämpningsmedel, PCB, dioxin, flamskyddsmedel, ftalater, bisfenol A, triklosan, nonylfenol, triklöretylen, tetrakloretylen och klorfenoler som föroreningar i allmänt dricksvatten. Halterna är oftast mycket låga, förutom för tri- eller tetrakloretylen där högre halter (milligramnivå) observerats. Hälsoeffekterna av dessa ämnen varierar, från carcinogena effekter till effekter på fortplantningen inklusive hormonstörande, immunologiska effekter samt ackumulerande egenskaper. Dock är halterna i dricksvatten av de analyserade ämnena i de flesta fall alltför låga för att ge upphov till någon reell hälsorisk.

3 Metod

De biologiska effekterna av hälsofarliga kemikalier i vatten kan mätas i laboratorieodlade däggdjursceller, som modifierats för att kunna upptäcka specifika oönskade effekter, exempelvis hormonstörande effekter. När cellerna exponeras för ett prov som innehåller kemiska ämnen som orsakar de specifika effekter som studeras, så utsöndrar cellerna specifika protein vilka blir en signal på hur starkt cellen reagerar. Dessa proteiner kan mätas enkelt. Genom att exponera cellerna för t.ex. ett dricksvattenprov och sedan mäta mängden utsöndrat protein erhålls ett svar snabbt på om, och i vilken grad provet är förorenat med hälsofarliga kemikalier. En rad sådana effektbaserade metoder har utvecklats, som mäter grundläggande fysiologiska och hälsorelevanta effekter, såsom cellernas tillväxt och stress-påslag, östrogena och androgena effekter, och skador på arvsmassan. Som komplement till de kemiska analysmetoderna fungerar dessa biologiska effektbaserade cellanalyserna väl för att mäta skadliga ämnen och ämnen som i kombination kan ge negativa hälsoeffekter.

I denna studie har vi studerat förekomsten av ämnen som kan aktivera arylhydrokarbonreceptorn (AhR), östrogenreceptorn (ER), androgenreceptorn (AR) samt orsaka oxidativ stress (Nrf2). De olika toxiska effekterna kan beskrivas enligt följande:

Aktivering av aryl hydrokarbonreceptorn

Aryl hydrokarbonreceptorn (AhR) har blivit särskilt uppmärksammas för att den aktiveras av många toxiska ämnen, särskilt av tetraklorodibenzodioxin (TCDD), varvid metaboliserande enzym induceras (bl a cytokrom P450-enzym). Därav har effekten av AhR-aktivering kommit att kallas metabolisk aktivering. Ah-receptorn har emellertid många olika fysiologiska funktioner och aktiveras av både kroppsegna och främmande kemiska ämnen. Viktiga funktioner där AhR ingår är vid utveckling av olika organsystem och vid reglering av inflammatoriska reaktioner. AhR aktiveras av ett mycket stort antal skilda ämnen, såsom halogenerade organiska miljöföroreningar, polycykliska aromatiska kolväten, vissa pesticider och läkemedel, och naturligt förekommande ämnen som indoler, stilbener och metaboliter av tryprofan.

Aktivering av östrogenreceptorn (ER)

Ämnen kan aktivera (agonistisk aktivitet) eller blockera (antagonistisk aktivitet) östrogenreceptorn. Könshormoner, såsom östrogener, har många viktiga fysiologiska funktioner exempelvis för reproduktionen. Ämnen som efterliknar eller blockerar könshormoner klassas som hormonstörande ämnen. I denna studie har undersökts om proverna innehåller ämnen som kan aktivera östrogenreceptorn.

Aktivering av androgenreceptorn (AR)

Ämnen kan aktivera (agonistisk aktivitet) eller blockera (antagonistisk aktivitet) androgenreceptorn. Könshormoner, såsom androgener, har många viktiga fysiologiska funktioner exempelvis för reproduktionen. Ämnen som efterliknar eller blockerar könshormoner klassas som hormonstörande ämnen. I denna studie har undersökts om proverna innehåller ämnen som kan aktivera respektive hämma androgenreceptorn.

Oxidativ stress

Många toxiska ämnen, t.ex. organiska miljögifter, pesticider, metaller, naturliga ämnen, kan orsaka oxidativ stress. Oxidativ stress beror på bildning av reaktiva syreradikaler i överskott och obalans i cellernas förmåga att ta hand om dessa. Det är en vanlig mekanism bakom olika typer av toxiska effekter, t ex inflammatoriska effekter, fosterskador och cancer. En viktig faktor som reglerar cellernas försvarssystem vid oxidativ stress är

Nrf2 (nuclear transcription factor erythroid 2-related factor 2). Vid induktion av oxidativ stress uppregleras Nrf2, vilket kan användas som markör vid bioanalys av vattenprovers innehåll av ämnen som orsakar oxidativ stress.

Tio vattenprover har analyserats med effektbaserade metoder av Biocell Analytica Uppsala AB. Proverna koncentrerades 5000 gånger med hjälp av fastfasextraktion och späddes sedan 100 gånger eller mer med cellmedium under den effektbaserade analysen. Den slutliga koncentrationsfaktor som testats var alltså som högst 50 gånger högre än ett okoncentrerat vattenprov. Proverna har initialt testats för cellviabilitet (cytotoxicitet), för att utesluta koncentrationer som kan orsaka ospecifik toxicitet som påverkar cellerna på ett så negativt sätt så att det inte går att mäta specifika toxiska effekter. Proverna analyserades därefter i spädningsserier om fyra koncentrationer för respektive analys. Resultaten användes för att beräkna bioekvivalenta koncentrationer (bioequivalent concentrations, BEQ). BEQ-värdet beskriver den observerade effekten uttryckt som en koncentration av en referenssubstans som är analyserad samtidigt. Om ett vattenprov har ett BEQ-värde om 10 pg/l betyder det alltså att den biologiska aktiviteten i provet motsvarar den aktivitet som 10 pg/l av referenssubstansen skulle orsaka. BEQ-värdet beräknas för att kunna jämföra aktiviteten mellan prover och mellan studier. Referenssubstanserna är 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin (TCDD) för AhR-aktivitet, 17 β -estradiol (E2) för ER-aktivitet, dihydrotestosteron (DHT) för AR-aktivitet, hydroxyflutamid (OHF) för anti-AR-aktivitet och tertiär butylhydrokinon (tHBQ) för Nrf2 (oxidativ stress).

4 Resultat

Flaskvatten från fem vattenverk i Sverige buteljerade och kolsyrade under 1990-talet analyserades med hjälp av de effektbaserade metoderna. Motsvarande prover från de fem vattenverken togs ut under oktober månad 2020 för jämförelse mellan kvaliteten för cirka 30 år sedan och nuvarande. Resultaten från analyserna redovisas i tabell 4.1. De exakta datum när flaskvattnet tappats har inte gått att klarlägga fullständigt. Umevattnet tappades till invigningen av ombyggnaden av Forshaga vattenverk 13 januari 1995. Kalmarvattnet tappades i samband med firandet av 600-årsjubileet av Kalmarunionen 1997, Eskilstunavattenflaskan är märkt bäst före 1997-03-15, vilket indikerar en tappning cirka ett år tidigare, Helsingborgsvattnet och Karlskogavattnet är odaterat. Karlskoga Energi och Miljö AB bolagiserades från kommunen 1995. Helsingborgs va-verk gav ut en historik om va-verket 1997.

	AhR-aktivitet ng/l (TCDD-ekvivalenter) Detektionsgräns 0,12 ng/l	ER-aktivitet pg/l (E2-ekvivalenter) Detektionsgräns 2,1 pg/l	AR-aktivitet pg/l (DHT-ekvivalenter) Detektionsgräns 29 pg/l	Anti-AR-aktivitet µg/l (OHF-ekvivalenter) Detektionsgräns 65 ng/l	Oxidativ stress µg/l (tBHQ-ekvivalenter) Detektionsgräns 5,6 µg/l
Helsingborg flaskvatten	0,61	8,2	Inaktivt	Inaktivt	inaktivt
Helsingborg 2020	0,13	2,7	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Eskilstuna flaskvatten	1,06	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Eskilstuna 2020	0,29	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Kalmar flaskvatten	0,52	16,3	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Kalmar 2020	0,26	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Karlskoga flaskvatten	0,42	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Karlskoga 2020	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Umeå flaskvatten	0,16	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt
Umeå 2020	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt	Inaktivt

Av tabell 4.1 framgår att samtliga analyserade dricksvatten uppvisade lägre aktivitet för AhR och ER jämfört med de historiska proven. Analysen indikerar att vattenkvaliteten avseende de fyra undersökta biologiska aktiviteterna i samtliga fall förbättrats sedan 1990-talet. Inget av vattenproverna uppvisade androgen eller antiandrogen aktivitet eller inducerade oxidativ stress.

Tabell 4.1
BEQ-värden för fyra
biologiska aktiviteter för
fem vattenverk.

5 Diskussion

Hanteringen av flaskvattnen är i stort okänd, men vattnet har tappats på flaska på annat tappställe än i vattenverket. Det innebär att vattnen har transporterats, som regel i en tankbil, från vattenverket till tappstället. På tappstället har 33 cl standardglasflaskor normalt sett sköljts ur med vattnet, och tappats med kolsyrat vatten, varpå en kapsyl förslutit flaskan. Transporten, glasflaskan, kolsyran och kapsylen kan ha tillfört främmande ämnen till vattenprovet. Flaskorna har därefter lagrats i växlande dagsljus (som regel stående i en bokhylla) fram till att de hamnade i LTH:s vård. På LTH förvaras de i ett glasat förrådsskåp i korridor, där inget direkt solljus når in, men väl dagsljus. Det är i efterhand inte möjligt att kontrollera vad i provet som kommer från vattnet och vad som kan vara kontaminering på grund av buteljeringsprocessen, utan proverna får tas för vad de är. De nya proverna samlades in i oktober månad 2020 tack vare vattenverkspersonalens hjälp. De provtogs som stickprov i sterila vattenprovtagningsflaskor av märke VWR (sterile water sampling bottles, catalog no VWRI331-0269) och skickades med post till laboratoriet i Uppsala. Där packades proven upp och förvarades i frys vid -20 °C fram till analystillfället. För att kontrollera att inte plastflaskorna läckte ämnen som kunde påverka resultatet fylldes en vattenprovtagningsflaska med Milli-Q-vatten i tolv timmar, varefter detta vatten behandlades med fast-fasextraktion för att anrika eventuella läckande ämnen. Fast-fasextraktet undersöktes därefter med en anrikningsfaktor om 50 med hjälp av de fyra cellbaserade analysmetoderna. Ingen statistisk signifikant effekt från plastflaskan kunde detekteras i någon av de använda metoderna (mätt som Student's t-test).

Trots den osäkerhet som hanteringen av de buteljerade proverna utgör, kan likväl några observationer göras. Sammanfattningsvis kan det konstateras att vi inte uppmätte några effekter som tyder på förekomst av några ämnen som är androgena, anti-androgena eller orsakar oxidativ stress, varken i de buteljerade proverna eller i de vattenprover som samlats under 2020. Vi detekterade östrogen aktivitet i tre av tio prover, men det är värt att påpeka att de uppmätta aktiviteterna är låga. Ah-receptoraktivitet detekterades i flertalet av de analyserade proverna. Även om skillnaderna mellan proverna inte är dramatisk, ser vi konsekvent att de buteljerade proverna har högre aktivitet för AhR än motsvarande vattenprov samlat 2020.

För AhR är det svårt att jämföra med andras resultat, eftersom inte alla använder TCDD som referenssubstans och olika cellinjer kan också ge olika resultat. I en just publicerad studie detekterades AhR-aktivitet i storleksordningen 1–2 ng/l TCDD-ekvivalenter (Oskarsson et al. 2021). I en ännu opublicerad studie har vi uppmätt AhR-aktivitet i rent dricksvatten till ca 0,1–0,2 ng/l (TCDD-ekvivalenter). De aktiviteter vi uppmätt här är alltså inte onormalt höga. Ur exponeringssynpunkt är det önskvärt att nå så låga halter som möjligt i dricksvatten. De i vår studie uppmätta halterna orsakar troligtvis inga negativa effekter på hälsan, men det är lämpligt att följa upp dem med jämna mellanrum.

För AR- och ER-aktiviteterna finns ett mindre antal ämnen som oftast förklarar en ganska stor andel av effekterna. Det handlar främst om naturliga könshormoner samt om vissa läkemedel. För AhR och oxidativ stress är det mer komplicerat, där ett stort antal ämnen har potentialen att aktivera dessa mekanismer. För AhR är det dioxiner, PCB:er och PAH:er som man i första hand tänker på, men det finns ett stort antal andra ämnen, naturliga och syntetiska, som också kan aktivera denna receptor.

Resultaten från studien visar att vi kan uppmäta effekter för östrogen aktivitet i vissa prover och för Ah-receptoraktivitet i de flesta prover. Konsekvent ser vi högre aktivitet i flaskvattnet än i motsvarande ”nytt” kranvatten. Det finns flera möjliga förklaringar till dessa skillnader; råvattenkvaliteten kan ha förbättrats och dricksvattenberedningens

effektivitet att avskilja AhR-aktiverande ämnen kan ha förbättrats, men det kan inte heller uteslutas att de buteljerade vattenproverna förorenats under buteljeringsprocessen. Det kan vara värt att nämna att det i arbetet med det reviderade dricksvattendirektivet fanns ett förslag på gränsvärde för östrogena ämnen på 1 ng/l östradiol-ekvivalenter (E2-ekvivalenter). Det blev inte ett fastställt gränsvärde i det slutliga direktivet (EU 2020), men beta-östradiol är uppsatt på den så kallade bevakningslistan, vilket innebär att halterna ska följas upp. Även om vi kan uppmäta effekter så ligger alltså dessa, för ER-aktiviteten, tydligt under den gränsvärdesnivå som diskuterats i direktivarbetet, i storleksordningen 100 gånger lägre än EU-förslaget. För Ah-receptoraktivitet finns inte något motsvarande gränsvärde.

Bioanalyser är användbara verktyg för att upptäcka kemiska hot i dricksvatten för att skydda konsumenter från exponering för farliga kemikalier. Eftersom dricksvatten är vårt viktigaste livsmedel bör det övervakas sorgfälligt avseende farliga ämnen. Som fastställts i EU: s nya dricksvattendirektiv kommer ett riskbaserat tillvägagångssätt där bioanalys kombineras med kemisk analys (effektriiktad analys) öka noggrannheten avseende förekomst av kemikalier i dricksvatten som orsakar toxiska effekter. För ER-aktiviteten i dricksvatten finns ett större antal studier (som redovisas i Oskarsson et al. 2021) som visar på effekter i storleksordningen 0.01–1 ng östradiolekvivalenter per liter och några studier som visar på effekter i storleksordningen 1–5 ng/l (se även Neale och Escher 2019). I ytvatten har det rapporterats högre halter, särskilt ytvatten som är påverkat av utsläpp av renat avloppsvatten. I en studie påvisades halter i storleksordningen 100–200 ng/l för orenat avloppsvatten och i storleksordningen 5–10 ng/l för renat avloppsvatten. De rapporterade halterna i proverna enligt tabell 1 handlar om pg/l. Det kan också noteras att analyskänsligheten för östradiol är betydligt högre när den biologiska effekten mäts än i kemisk analys, i storleksordningen 100 gånger (Oskarsson et al. 2021).

Resultaten från denna studie indikerar att förekomsten av bioaktiva kemiska föroreningar i dricksvattnet minskat över tid, med avseende på de fyra grupper bioanalyser som använts i denna studie. Den lägre aktiviteten i proverna samlade 2020 jämfört med de buteljerade proverna skulle kunna bero på lägre halter av kemiska föroreningar i råvattnet och/eller förbättrad reningseffektivitet i dricksvattenverken, även om vi inte kan utesluta möjligheten att de buteljerade proverna på något sätt förorenats vid buteljeringen eller påverkats av den långa lagringstiden. Möjligen har det förebyggande arbetet med att minska kemikaliebelastningen i samhället burit frukt. Det krävs givetvis flera undersökningar för att entydigt fastställa om så är fallet. Dock är det generellt sett lovande att effektbaserade bioanalyser kan användas till att indikera förekomst av även låga halter av bioaktiva kemiska föroreningar i dricksvatten och vi anser att det är värdefullt att fortlöpande använda effektbaserade metoder för att säkerställa hög dricksvattenkvalitet. För branschen som helhet är det också viktigt att fortlöpande undersöka dricksvattenkvaliteten och kommunicera denna med abonnenterna, eftersom de behöver få saklig information om vilken vattenkvalitet de exponeras för via sitt dricksvatten (Montelius, 2018). Effektbaserade mätningar kan hjälpa till att belysa vilken kvalitet dricksvattnet har.

Referenser

80/777/EEG av den 15 juli 1980 om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning om utvinning och saluförande av naturliga mineralvatten.

EU, 2020. 6060/1/20 REV1. Förslag till Europaparlamentets och rådets direktiv om kvaliteten på dricksvatten.

Glimstedt L et al. Antropogena föroreningar i svenska vattentäkter. Rapport 2016:4, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för vatten och miljö, ISBN 978-91-576-9431-7

Karki AJ, Cappelli P, Dirks C, Pekar H, Hellenäs KE, Rosén J Westerberg E. New efficient methodology for screening of selected organic micropollutants in raw- and drinking water from 90 Swedish water treatment plants. *Sci Tot Environ* 724, 138069 <http://www.kemi.se/download/18.60cca3b41708a8aecdbc324b/1587049628882/rapport-2-19-fordjupad-utvardering-av-giftfri-miljo-2019.pdf>

Livsmedelsverket, rapport 14, 2009. Kemisk riskprofil för dricksvatten

Lundqvist Johan, Anna Andersson, Anders Johannisson, Elin Lavonen, Geeta Mandava, Henrik Kylin David Bastviken, Agneta Oskarsson. Innovative drinking water treatment techniques reduce the disinfection-induced oxidative stress and genotoxic activity. *Water Res* 155:182-192, 2019

Lundqvist J, Hellman, B och Oskarsson, A. Fungicide prochloraz induces oxidative stress and DNA damage in vitro. *Food Chem Toxicol* 91: 36-41, 2016

Lundqvist, J., Persson, K.M., Oskarsson, A. Glass-bottled drinking water – a time capsule to study the historic presence of hazardous chemicals using effect-based methods. *Environmental Sciences Europe* (2021): *Environ Sci Eur* 33, 34 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00476-0>.

Machado KC, Grassi MT, Vidal C, Pescara IC, Jardim WF, Fernandes AN, Sodré FF, Almeida FV, Santana JS, Canela MC, Nunes CR, Bichinho KM, Severo FJ. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Sci Total Environ*. 2016 Dec 1;572:138-146

miljomal.se/Global/24_las_mer/rapporter/malansvariga_myndigheter/2017/au2017.pdf

Montelius E. (2019). Individens uppfattning om risker med dricksvattnet. SVU-rapport 2019-13. Stockholm, Svenskt Vatten.

Neale, P.A och Escher, B.I.: In vitro bioassays to assess drinking water quality. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 2019, 7, 1-7

Oskarsson, Agneta Anna-Kjerstine Rosenmai, Geeta Mandava, Anders Johannisson, Andrew Holmes, Rikard Tröger, Johan Lundqvist. Assessment of source and treated water quality in seven drinking water treatment plants by in vitro bioassays – Oxidative stress and antiandrogenic effects after artificial infiltration. *Sci Tot Environ* 758, 144001, 2021.

Oskarsson A. Niss, F. Undersökning av toxisk aktivitet i vattenprover före och efter UV-behandling. Rapport till Sydsvatten, 2016.

Rosenmai, Anna Kjerstine, Lundqvist, Johan, le Godec, Theo, Ohisson, Åsa, Tröger, Rikard, Hellman Björn, Oskarsson, Agneta. In vitro bioanalysis of drinking water from source to tap. *WaterRes* 139:272-280, 2018

Statens livsmedelsverks kungörelse om dricksvatten, SLV FS 1989:30

Tröger Rikard, Philipp Klöckner, Lutz Ahrens, Karin Wiberg. Micropollutants in drinking water from source to tap -method development and application of a multiresidue screening method. *Sci Total Environ* 627:1404–1432, 2018

Tröger, Rikard Stephan J Köhler, Vera Franke, Olof Bergstedt, Karin Wiberg 2020. A case study of organic micropollutants in a major Swedish water source – Removal efficiency in seven drinking water treatment plants and influence of operational age of granulated active carbon filters. *Sci Tot Environ*, 706, 135680

Svenskt Vatten

UTVECKLING

Svenskt Vatten Utveckling

Svenskt Vatten AB

POSTADRESS BOX 14057, 167 14 Bromma

BESÖKSADRESS Gustavslundsvägen 12, 167 51 Bromma

TELEFON 08-506 002 00

E-MAIL svensktvatten@svensktvatten.se

www.svensktvatten.se