



Stock

AUTEURS



Adele S. Ferrario en Milou Dingemans
(KWR Water Research Institute, Universiteit Utrecht)



Astrid Reus
(KWR)



Roberta
Hofman-Caris
(KWR, Wageningen
Universiteit)

VOORSPELLEN VAN DE VORMING VAN TRANSFORMATIEPRODUCTEN TIJDENS DRINKWATERBEHANDELING EN HUN MOGELIJKE TOXICITEIT

Zuivering van water is essentieel voor drinkwaterproductie, maar kan onbedoeld transformatieproducten opleveren. Identificatie van deze producten en hun toxiciteit is nodig om veilig drinkwater te waarborgen. Voorspellende toxicologie kan de beoordeling van deze stoffen versnellen en verbeteren.

De productie van drinkwater omvat een reeks processen om ziekteverwekkers en andere verontreinigingen uit het water te verwijderen. Bij chemische verontreinigingen in drinkwaterbronnen, vooral oppervlaktewateren, gaat het om door de mens geproduceerde stoffen zoals farmaceutische producten, gewasbeschermingsmiddelen en biociden. Deze stoffen kunnen tijdens de productie van drinkwater omgezet worden in transformatieproducten (TP's, WHO, 2022). Vorming van TP's is tot op zekere hoogte onvermijdelijk (Anagnostopoulou, 2022) en de fysisch-chemische en toxicologische eigenschappen van de meeste TP's zijn onbekend (Gassman, 2021). Analysetechnieken kunnen TP's aan-



Afbeelding 1. Verschillende strategieën voor de beoordeling van toxiciteit, hun onderlinge relaties, en voordelen (+) en nadelen (-)

tonen, maar deze technieken zijn duur en tijdrovend. Als ze worden geïdentificeerd liggen de concentraties van afzonderlijke TP's en andere chemische verontreinigingen doorgaans onder gezondheidkundige grenswaarden. Aangezien de blootstelling aan TP's plaatsvindt in de vorm van mengsels met lage individuele concentraties en in principe een leven lang duurt, is het van vitaal belang dat we meer te weten komen over de identiteit en de toxicologische activiteiten van TP's. Voorspellende toxicologie kan hierbij helpen.

Nieuwe vooruitzichten voor de beoordeling van TP's

Voorspellende toxicologie is een innovatieve aanpak die gebruik maakt van gecomputeriseerde (*in silico*) tools, die een veelbelovend vermogen hebben laten zien om de eigenschappen van stoffen te voorspellen (Raies, 2016).

In silico tools zijn gebaseerd op algoritmen die de vorming en giftigheid (toxiciteit) van stoffen kunnen voorspellen op basis van hun chemische structuur. Zij kunnen bijdragen aan de kennis over mogelijke verontreinigingen, waaronder TP's, die bij lage concentraties in drinkwater kunnen voorkomen. *In silico* benaderingen leveren een relevante en kostenefficiënte bijdrage aan de veiligheidsbeoordeling voor stoffen waarvoor toxicologische gegevens ontbreken, zoals TP's. Zo kan voorspellende toxicologie richting geven aan de monitoring van de waterkwaliteit, helpen bij het prioriteiten stellen voor vervolgonderzoek en -experimenten, en kosten en tijd besparen. In dit artikel geven we een overzicht van de toepasbaarheid van *in silico* tools bij drinkwaterzuivering.

Vorming van TP's

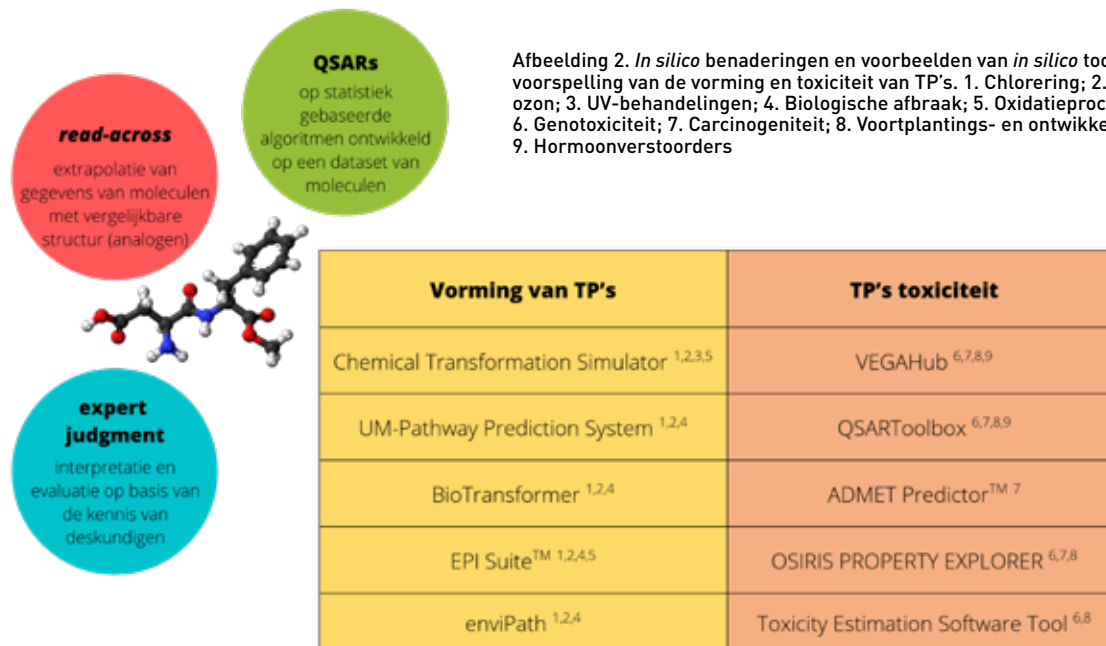
De eerste stap bij de beoordeling van TP's in drinkwater met *in silico* tools is vaststellen welke stoffen naar verwachting gevormd zullen worden. De samenstelling van het mengsel van TP's die in drinkwater kunnen voorkomen is afhankelijk van chemische en biologische reacties bij de behandelingen van het water. Transformaties in het milieu en in organismen, waaronder de mens, blijven hier buiten beschouwing.

In Europa zijn de meest toegepaste processen chlorering, behandeling met ozon, UV-behandeling, snelle zandfiltratie, filtratie over biologisch actieve koolstof en geavanceerde oxidatie. Verschillende combinaties van deze technieken worden gebruikt om pathogenen en andere contaminanten te verwijderen, o.a. afhankelijk van de kwaliteit van de waterbronnen (WHO, 2022).

Op basis van kennis uit experimentele gegevens (reactiebibliotheken) is het mogelijk om de vorming van TP's als gevolg van de behandelingen te voorspellen. Dit biedt een startpunt voor nadere chemische analyse, wat kosten en tijd kan besparen bij de beoordeling van de waterkwaliteit. De simulatie door middel van gecomputeriseerde methoden kan zo een waardevolle aanvulling vormen op gegevens over TP's die daadwerkelijk in water zijn aangetroffen. Aanvullende drinkwateranalyses kunnen de voorspellingen valideren en de werkelijke aanwezigheid van TP's verifiëren.

Toxiciteit

De tweede stap is de beoordeling van de toxiciteit van TP's. Toxiciteit van stoffen kan behalve *in vivo* (dierproeven) en *in vitro* (biochemische en celtesten) dus ook *in silico*



Afbeelding 2. *In silico* benaderingen en voorbeelden van *in silico* tools voor de voorspelling van de vorming en toxiciteit van TP's. 1. Chlorering; 2. Behandeling met ozon; 3. UV-behandelingen; 4. Biologische afbraak; 5. Oxidatieprocessen; 6. Genotoxiciteit; 7. Carcinogeniteit; 8. Voortplantings- en ontwikkelingstoxicologie; 9. Hormoonverstoorders

onderzocht worden (gecomputeriseerde tools). Al deze benaderingen hebben fundamentele beperkingen die resulteren in onzekerheden in de uitkomsten.

In vivo experimenten houden per definitie rekening met de adsorptie, distributie, metabolisme en excretie (ADME) van stoffen in een organisme, maar zijn over het algemeen duur en tijdrovend. Daarbij moet het gebruik ervan uit ethisch oogpunt worden beperkt, vervangen of verfijnd. Bij *in vitro* experimenten worden specifieke interacties van een stof met biologische structuren onderzocht, die bijvoorbeeld kunnen leiden tot DNA-beschadiging. ADME-aspecten komen hooguit gedeeltelijk aan bod, wat leidt tot onzekerheden bij de vertaling van resultaten naar effecten bij de mens.

In silico tools werken met algoritmen die toxiciteit voorspellen op basis van chemische structuur. Ze zijn tijd- en kosteneffectief, maar zij zijn gebaseerd op en strikt gekoppeld aan de beschikbaarheid en kwaliteit van experimentele gegevens. Voorspellende toxicologie geeft alleen betrouwbare voorspellingen over *in vitro* en *in vivo* reacties van stoffen als de algoritmen gebaseerd zijn op gegevens van hoge kwaliteit. Een specifiek *in silico* model is alleen betrouwbaar voor stoffen die vergelijkbaar zijn met experimenteel geanalyseerde moleculen waarvan de gegevens zijn gebruikt om het algoritme op te bouwen. De kwaliteit van de voorspelling is daarnaast afhankelijk van het specifieke toxicologische effect (eindpunt) (afbeelding 1).

De meest relevante eindpunten voor de beoordeling van drinkwaterkwaliteit zijn mutageniteit / genotoxiciteit (DNA schade), carcinogeniteit (tumorvorming), voort-

plantingstoxiciteit, ontwikkelingstoxiciteit en verstoring van de hormoonhuishouding. Hoe beter het werkingsmechanisme dat verantwoordelijk is voor de toxiciteit wordt begrepen en hoe hoger de kwaliteit van de gegevens, hoe betrouwbaarder de *in silico* modellen zullen zijn. De stand van de kennis is nu zodanig dat *in silico* tools goede voorspellingen garanderen voor de beoordeling van mutageniteit / genotoxiciteit. De uitdaging bij eindpunten met minder duidelijke werkingsmechanismen is beduidend groter, met name door de schaarste aan experimentele gegevens en verschillen tussen experimentele protocollen. Dit speelt vooral bij complexe eindpunten zoals carcinogeniteit en voortplantings- en ontwikkelingstoxicologie. Voorspellende toxicologie is in deze gevallen minder geschikt voor de beoordeling van drinkwaterkwaliteit. Toch kunnen *in silico* tools ook voor deze eindpunten bijdragen aan inzicht in specifieke effecten en kunnen zij een rol spelen in een geïntegreerde aanpak met andere informatiebronnen.

In silico tools voor de beoordeling van de toxiciteit van TP's

In silico benaderingen voor de toxiciteitsbeoordeling zijn gebaseerd op (afbeelding 1):

- de kwantitatieve structuur-activiteit relatie (QSAR): de herkenning van chemische substructuren die voorspellend zijn voor specifieke toxicologische effecten (eindpunten);
- de 'read-across' aanpak: beschikbare informatie over toxicologisch bekende stoffen extrapoleren naar stoffen met een vergelijkbare structuur waarover geen gegevens beschikbaar zijn;

c) 'expert judgment': van essentieel belang om de betrouwbaarheid van de voorspellingen te beoordelen en naar behoren te interpreteren.

Ook al is de meeste software gebruikersvriendelijk, toch moet de output kritisch worden geëvalueerd om uitbijters, inconsistenties of fouten van het model op te sporen. De voorspelling moet zo goed mogelijk worden onderbouwd met redeneringen en mechanistische interpretaties, om de betrouwbaarheid van de resultaten te vergroten. Verschillende *in silico* tools voor de beoordeling van vorming en toxiciteit zijn vrij verkrijgbaar (afbeelding 2), andere moeten worden aangeschaft. Het potentieel van deze technieken wordt steeds meer erkend. Autoriteiten zoals de Europese Autoriteit voor voedselveiligheid (EFSA), het Europees Agentschap voor chemische stoffen (ECHA) en de Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling (OESO) stellen het gebruik van deze technieken voor, ter vervanging van en aanvulling op dierproeven. De autoriteiten zijn het echter nog niet eens over een internationaal erkende methodologie voor de toepassing van *in silico* tools specifiek voor de evaluatie van TP's.

Geïntegreerde aanpak

Stel één wetenschappelijke informatiebron biedt onvoldoende antwoorden over de toxiciteit van TP's. Dan kan een geïntegreerde aanpak die al het beschikbare bewijsmateriaal meeneemt, de oplossing zijn. Daarbij moeten de toegepaste wetenschappelijke methodes worden geëvalueerd om het belang van de resultaten te kunnen afwegen. Enerzijds is er dan een (interne) statistische validatie van elke methodologie afzonderlijk nodig, anderzijds een (externe) vergelijking van de verschillende benaderingen.

In een recent onderzoek, stellen Hensen et al. (2020) een stapsgewijze aanpak voor om de toxicologische effecten van TP's afkomstig van bestrijdingsmiddelen te evalueren. Hun eerste stap is een combinatie van literatuuronderzoek naar experimentele gegevens en *in silico* methoden. Daarna volgen gerichte *in vitro* en *in vivo* experimenten om de *in silico* resultaten te verifiëren. Uit deze studie bleek dat de meerderheid (94 procent) van de TP's correct werden voorspeld. Ondanks de waarschuwing van de onderzoekers dat deze methodologie verder moet worden geëvalueerd en doorontwikkeld, is dit een hoopgevend resultaat.

Ferrario A.S. en M.M.L. Dingemans (KWR Water Research Institute, Universiteit Utrecht), Reus A. (KWR), Hofman-Caris R. (KWR, Wageningen Universiteit)

Dankwoord

Dit artikel is tot stand gekomen dankzij onderzoek van de Nederlandse en Vlaamse drinkwaterbedrijven (BTO). De auteurs danken Remi Hoencamp voor zijn bijdrage.

BRONNEN

Anagnostopoulou, K., Nannou, C., Evgenidou, E., & Lambropoulou, D. (2022). Overarching issues on relevant pesticide transformation products in the aquatic environment: A review. *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152863>

Gassmann, M. (2021). Modelling the Fate of Pesticide Transformation Products From Plot to Catchment Scale—State of Knowledge and Future Challenges. *Frontiers in Environmental Science*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.717738>

Hensen, B., Olsson, O., & Kümmerer, K. (2020). A strategy for an initial assessment of the ecotoxicological effects of transformation products of pesticides in aquatic systems following a tiered approach. *Environment International*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105533>

Raies, A. B., & Bajic, V. B. (2016). In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 147–172. <https://doi.org/10.1002/wcms.1240>

WHO. (2022). Guidelines for drinking-water quality, 4th edition, incorporating the 1st and 2nd addendum. Geneva: World Health Organization. Geneva, Switzerland. World Health Organization

SAMENVATTING

Zuivering van water is essentieel voor drinkwaterproductie, maar kan onbedoeld transformatieproducten (TP's) opleveren. Voorspellende toxicologie met algoritmes (*in silico* tools) kan de identificatie en de beoordeling van deze stoffen versnellen en verbeteren. *In silico* tools zijn praktisch en gebruikersvriendelijk en vormen een alternatief voor of aanvulling op bestaande (lab-) methoden. Ze kunnen o.a. met modellen voor de vorming en de toxiciteit van TP's een bijdrage leveren aan de evaluatie van behandelingen. Voorspellende toxicologie is een waardevol en kosteneffectief hulpmiddel bij de beoordeling van verontreinigende stoffen in drinkwater.