

---

# miljø og sundhed

Sundhedsstyrelsens Rådgivende Videnskabelige Udvalg for Miljø og Sundhed

Formidlingsblad 17. årgang, suppl. 1, okt. 2011

---

## *Temannummer om helbredseffekter af vedvarende energi*

EVA - en metode til kvantificering af sundhedseffekter og eksterne omkostninger fra luftforurening

Helbredseffekter af brænderøgspartikler – resumé af et ph.d.-projekt

Luftvejseffekter af brænderøg - kontrollerede eksponeringsstudier

Effekter af brænderøgspartikler på hjertekarsystemet - resume af et ph.d.-projekt

Helbredseffekter af organisk støv på flis- og halmfyrede kraftvarmeværker

Toksikologiske aspekter af arbejdsmiljøpåvirkninger på halm- og træflisfyrede værker

Partikelforureningens indvirkning på vores helbred: En sammenligning af emission fra diesel og biodiesel

Vindmøllestøjs betydning for helbredet

---

## Indhold

EVA - en metode til kvantificering af sundhedseffekter og eksterne omkostninger fra luftforurening.....	3
Helbredseffekter af brænderøgspartikler – resumé af et ph.d.-projekt .....	11
Luftvejseffekter af brænderøg – kontrollerede eksponeringsstudier .....	17
Effekter af brænderøgspartikler på hjertekarsystemet - resume af et ph.d.-projekt .....	26
Helbredseffekter af organisk støv på flis- og halmfyrede kraftvarmeværker .....	30
Toksikologiske aspekter af arbejdsmiljøpåvirkninger på halm- og træflisfyrede værker.....	43
Partikelforureningens indvirkning på vores helbred: En sammenligning af emission fra diesel og biodiesel .....	52
Vindmøllestøjs betydning for helbredet .....	58

## Miljø og sundhed

Bladet henvender sig primært til forskere, beslutningstagere og administratører, der beskæftiger sig med miljø og sundhed.

### Udgives af:

Sundhedsstyrelsens Rådgivende Videnskabelige Udvalg for Miljø og Sundhed

### Redaktion:

Jens Peter Bonde (ansv)  
Steffen Loft  
Tina Kold Jensen  
Hilde Balling

17. årgang, supplement nr.1, oktober 2011.

Oplag 1.200, tilsendes gratis ved henvendelse til:

Hilde Balling [hib@sst.dk](mailto:hib@sst.dk)

Eftertryk mod kildeangivelse.

Tryk:

ISSN 1395-5241

ISSN elektronisk 1601-4146

<http://miljoogsundhed.sst.dk/blad/msS0111.pdf>

## Forord

Sundhedsstyrelsens Rådgivende Videnskabelige Udvalg for Miljø og Sundhed afholder en temadag om helbredseffekter af vedvarende energi den 3. oktober i Eigtveds Pakhus. Samtidigt udgives dette temanummer.

Temadag og temanummer er planlagt af en arbejdsgruppe under udvalget med følgende sammensætning:

Professor Jens Peter Bonde, Københavns Universitet.

Professor Steffen Loft, Københavns Universitet.

Afdelingsleder Ole Raaschou-Nielsen, Kræftens Bekæmpelse.

Professor Torben Sigsgaard, Aarhus Universitet.

Læge Hilde Balling, Sundhedsstyrelsen.

Temanummeret består af bidrag fra indlægholdere på temadagen og formidler den nyeste viden fra forskningens verden på dansk.

På denne plads har jeg flere gange skrevet om betydningen af at formidle forskningsresultater på dansk, så et helt temanummer på dansk er jo den rene fornøjelse at være med til at udgive.

På udvalgets vegne retter jeg en stor tak til arbejdsgruppen og ikke mindst til de mange, der har medvirket til udarbejdelsen af dette temanummer.

En særlig tak vil jeg gerne rette til de unge forskere, som med stor entusiasme er gået til opgaven med at formidle deres resultater på dansk.

Det lover godt for fremtiden.

Hilde Balling

---

# EVA - en metode til kvantificering af sundhedseffekter og eksterne omkostninger fra luftforurening

Af J. Brandt<sup>1</sup>, J.D. Silver<sup>1</sup>, J.H. Christensen<sup>1</sup>, M.S. Andersen<sup>1</sup>, J.H. Bønløkke<sup>2</sup>, T. Sigsgaard<sup>2</sup>, C. Geels<sup>1</sup>, A. Gross<sup>1</sup>, A.B. Hansen<sup>1</sup>, K.M. Hansen<sup>1</sup>, G.B. Hedegaard<sup>1</sup>, E. Kaas<sup>3</sup> og L.M. Frohn<sup>1</sup>

---

## Introduktion

Luftforurening har signifikante negative effekter på menneskers helbred og velbefindende og dette har væsentlige samfundsøkonomiske konsekvenser. Vi har udviklet et integreret modelsystem, EVA (Economic Valuation of Air pollution), baseret på den såkaldte "impact-pathway" metode, med det formål at kunne opgøre helbredsrelaterede omkostninger fra luftforureningen og estimere, hvordan omkostningerne er fordelt på de forskellige luftforureningskilder og emissionssektorer. Det grundlæggende princip bag EVA-systemet er at bruge de bedst mulige videnskabelige metoder i alle leddene af "impact-pathway" kæden (se figur 1) for at kunne understøtte politiske beslutninger med henblik på regulering af emissioner, baseret på den bedst tilgængelige viden.

"Impact-pathway" kæden dækker alle leddene fra udslip af kemiske stoffer fra specifikke kilder, over spredning og kemisk omdannelse i atmosfæren, eksponering af befolkningen, beregning af helbredseffekter, til den økonomiske værdisætning af disse helbredseffekter. Den økonomiske værdisætning af effekter kaldes også for indirekte omkostninger eller eksternaliteter. F.eks. er der direkte omkostninger forbundet med produktionen af elektricitet i form af opførelse af kraftværker og forbrug af kul, hvorimod de helbredsrelaterede omkostninger fra luftforureningen, der kommer fra kraftværket, ikke er relateret direkte til produktion og

forbrug, og derfor betegnes som indirekte omkostninger. De indirekte omkostninger er knyttet til f.eks. sygdom, for tidlige dødsfald eller sygedage med deraf tabt arbejdsfortjeneste eller omkostninger for samfundet i form af tabt omsætning eller øgede sygehusomkostninger. De kemiske stoffer, som er medtaget i EVA-systemet mht. helbredseffekter er: De primært emitterede partikler PM<sub>2,5</sub>, de sekundært dannede partikler SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> og NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, samt gasserne SO<sub>2</sub>, CO og O<sub>3</sub>. For nuværende er det kun helbredseffekter, der er medtaget i EVA-systemet. Miljøeffekter og effekter på klimaet vil blive implementeret på et senere tidspunkt.

Systemet kan bruges til at undersøge, hvilke kilder der bidrager mest til luftforureningen og kan derfor bruges som beslutningsstøtteværktøj, når indsatsen mod luftforurening skal prioriteres. Det interessante ved at beregne den indirekte omkostning af disse effekter er, at effekterne fra forskellige typer af kilder kan sammenlignes direkte, da der er en fælles enhed (penge). Desuden kan de samlede eksterne omkostninger indgå i overordnede politiske prioriteringer – dvs. sættes i forhold til andre samfundsmæssige udfordringer.

## Kvantificering af sundhedseffekter og eksterne omkostninger

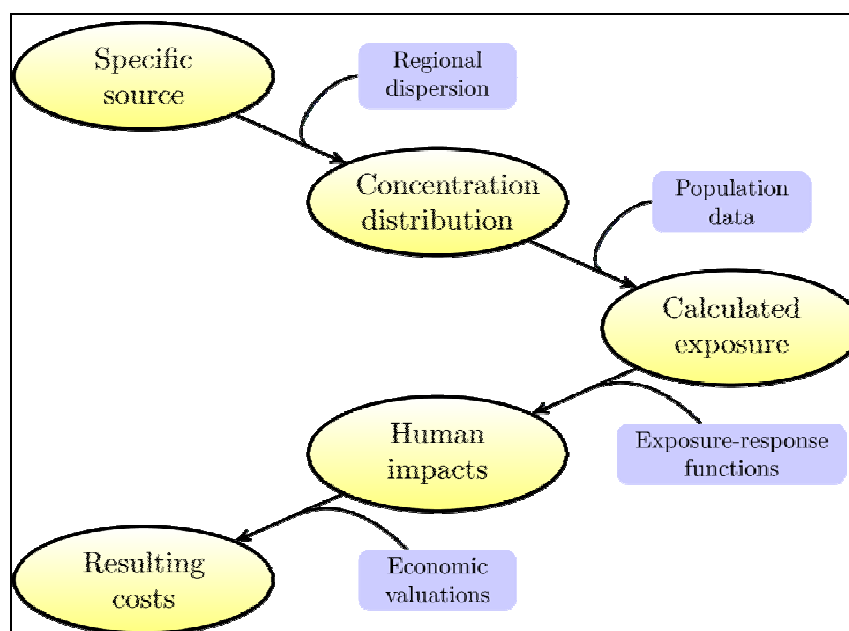
Vi har beregnet estimater for de helbredsrelaterede indirekte omkostninger på nationalt niveau for hver af de overordnede emissionssektorer i Danmark, baseret på EVA systemet. Resultaterne er publiceret i en rapport, der er lavet inden for CEEH (Centre for Energy, Environment and Health) støttet af Det Strategiske Forskningsråd. Formålet med CEEH er at optimere Danmarks fremtidige

---

<sup>1</sup> Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet.

<sup>2</sup> Institut for Folkesundhed, Aarhus Universitet.

<sup>3</sup> Planet og Geofysik, Niels Bohr Institutet, Københavns Universitet



Figur 1: Et skematisk diagram over “impact-pathway” metoden. En emission fra et bestemt sted resulterer (via atmosfærisk transport og kemi) i en fordeling af koncentrationer, som sammen med detaljerede befolkningsdata kan bruges til at beregne humaneksponeringen. Effekter på menneskers helbred findes ved brug af eksponerings-respons funktioner og til sidst værdisættes de individuelle effekter for at finde de totale eksterne omkostninger (Brandt et al., 2011).

energiproduktion på en måde så man også tager hensyn til de eksterne (indirekte) omkostninger. Resultaterne fra rapporten vil indgå i denne optimering (Brandt et al., 2011). Hovedformålet med dette arbejde er at identificere de menneskeskabte aktiviteter og kilder i og omkring Danmark, som giver de største bidrag til helbredseffekterne samt at vurdere, hvor stort problemet med luftforurening er. Vi har valgt at gennemføre et udvalg af beregninger, som kan give svar på nogle af de vigtigste problemstillinger omkring luftforurening i Danmark. F.eks. har vi vurderet, hvilke sektorer indenfor Danmark, der bidrager mest, hvad betydningen af den internationale skibstrafik er, samt hvad effekterne af de totale luftforureningsniveauer er – både nu og i fremtiden.

Vi har derfor foretaget en generel screening af de 10 overordnede emissionssektorer i Danmark, som bidrager til luftforureningen og beregnet de tilhørende helbredseffekter, samt de totale helbredsrelaterede eksterne omkostninger for år 2000 (både hver sektor for sig og

alle sektorerne samlet). Målet har været at vurdere, hvilke sektorer der bidrager mest til helbredseffekter og relaterede eksterne omkostninger, og hvilke, der har mindre betydning. År 2000 er valgt som basisår for beregningerne, da der i forvejen findes andre sammenlignelige internationale studier for dette år. Emissionssektorerne er repræsenteret ved de 10 overordnede SNAP emissionssektorer, se tabel 1, hvoraf boligopvarmning - som er domineret af brændefyring - er repræsenteret som specifik sektor (SNAP er en international nomenklatur for kildetyper til luftforurening – Selected Nomenclature for Air Pollution).

Vi har desuden beregnet de eksterne omkostninger fra den samlede internationale skibstrafik på den nordlige halvkugle særskilt, da denne sektor bidrager væsentligt til luftforurening i Danmark. Speciel opmærksomhed er givet til den internationale skibstrafik i Østersøen og Nordsøen, dels på grund af beliggenheden af disse farvande omkring Danmark, dels fordi der i disse områder er indført tiltag for at regu-

Tabel 1: De relative bidrag fra de danske landbaserede emissioner til de helbredsrelaterede omkostninger i år 2000 i Europa og Danmark i procent.

Emissionssektor i Danmark	Bidrag i % til de samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger fra danske emissioner	
	Bidrag til hele Europa	Bidrag indenfor Danmark
Store centrale kraftværker	10,3 %	5,7 %
Boligopvarmning, inkl. brændeovne	9,3 %	16,3 %
Decentrale kraftværker i forbindelse med industriproduktion	5,3 %	4,3 %
Produktionsprocesser, såsom cement, papir, metal	1,9 %	3,1 %
Ekstraktion og distribution af fossile brændstoffer	1,7 %	2,3 %
Brug af opløsningsmidler f.eks. i maling	2,6 %	2,5 %
Vejtrafik	17,6 %	19,3 %
Andre mobile kilder (traktorer, plæneklippere, mv.)	7,9 %	7,2 %
Affaldshåndtering og forbrænding	0,6 %	0,1 %
Landbrug	42,8 %	39,4 %
Sum	100,0 %	100,0 %

lere svovlemissioner fra skibe (det såkaldte SECA-område – Sulphur Emission Control Area). Disse resultater er dokumenteret i Brandt et al. (2011).

Derudover har vi vurderet helbredseffekter og tilhørende eksternaliteter fra alle emissioner fra den nordlige halvkugle (inkl. de naturlige emissioner) for at estimere de samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger fra de totale luftforureningsniveauer, både i Danmark og i Europa. Disse resultater er sammenlignet med tilsvarende resultater opnået i Clean Air For Europe (CAFE) projektet. Både for den internationale skibstrafik og for de totale luftforureningsniveauer er der beregnet resultater for årene 2000, 2007, 2011 og 2020. Emissionsopgørelserne for 2000 og 2007 er baseret på data fra EMEP (European Monitoring and Evaluation Programme). Emissionerne for år 2011 er baseret på opgørelsen for år 2007, med den forskel at svovlemissionerne fra den internationale skibstrafik i Nordsøen og Østersøen i dette år bliver yderligere reguleret. For 2020 er beregningerne baseret på implementering af NEC-II (National Emission Ceilings) direktivet for Europa.

Vi har estimeret de samlede omkostninger af de danske emissioner både for hele Europa og for Danmark alene - dette for at give beslutningstagerne en mulighed for at vælge, om man skal finde den bedste løsning for hele Europa eller kun tage hensyn til effekter inden for Danmarks grænser, da prioriteringen baseret på det ene eller andet kan være forskellig.

### Resultater og konklusioner i hovedtræk

I det følgende er givet de overordnede resultater og konklusioner fra beregninger af helbredseffekter og eksterne omkostninger fra danske landbaserede kilder, fra den internationale skibstrafik, fra de totale luftforureningsniveauer, samt for boligopvarmning i Danmark, hvor udslippet er domineret af brændeovne.

#### *Helbredseffekter og eksterne omkostninger fra danske landbaserede kilder*

Den relative fordeling af de overordnede emissionssektorer i Danmark, som bidrager til helbredsrelaterede eksterne omkostninger fra luftforurening, er givet i tabel 1. Fordelingen afspejler sektorenes kildestyrke, kildernes

Tabel 2: Helbredseffekter i Europa og Danmark fra boligopvarmning indenfor Danmark.

Helbredseffekt	Antal tilfælde i Europa	Antal tilfælde i Danmark
Kronisk bronchitis	472	147
Dage med nedsat aktivitet (sygedage)	483000	151000
Hospitalsindlæggelser for luftvejslidelser	26	8
Hospitalsindlæggelser for cerebro-vaskulære lidelser	60	19
Tilfælde af hjertesvigt	39	12
Lungecancer	72	23
Brug af bronkodilatorer blandt børn	13600	3890
Brug af bronkodilatorer blandt voksne	92400	28800
Episoder med hoste blandt børn	47000	13400
Episoder med hoste blandt voksne	95100	29700
Episoder med nedre luftvejssymptomer blandt børn	18100	6420
Episoder med nedre luftvejssymptomer blandt voksne	34300	10700
Akutte tabte leveår (YOLL)	10	2
Kroniske tabte leveår (YOLL)	5270	1560
Dødsfald blandt spædbørn	1	0

geografiske fordeling i forhold til befolkningen og påvirkningen af luftforureningsstofferens levetider, som afhænger af ikke-lineære kemiske og fysiske processer i atmosfæren. Første kolonne giver de helbredsrelaterede eksterne omkostninger i hele Europa fra danske emissionssektorer, mens den anden kolonne giver fordelingen hvis man kun medtager effekter inden for Danmark fra de danske kilder.

De overordnede resultater og konklusioner i rapporten mht. helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Danmark og Europa for år 2000 som følge af emissioner fra danske land-baserede kilder er:

- De helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Europa fra danske kilder udgør 4,9 mia. Euro/år (37 mia. DKK/år). De eksterne omkostninger inden for Danmark fra danske kilder udgør 0,8 mia. Euro/år (6 mia. DKK/år).
- De største bidrag til de helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Europa fra kilder i Danmark stammer fra landbruget (ca. 43 %), vejtrafikken (ca. 18 %), store centrale kraftværker (ca. 10 %), boligopvarmning,

inkl. brændeovne (ca. 9 %), andre mobile kilder (f.eks. ikke-indregistrerede køretøjer) (ca. 8 %) og decentrale kraftværker (ca. 5 %).

- Hvis man kun tager hensyn til helbreds-effekter inden for Danmark fra danske kilder, vil kilder i lav højde få relativt større betydning. Bidraget fra boligopvarmning (brændeovne) er f.eks. 16 % i stedet for de 9 % for Europa totalt, hvilket gør at prioriteringen mht. regulering af denne sektor specielt er en udfordring i Danmark.

Helbredseffekterne skyldes primært udslip af de kemiske stoffer kulmonooxid (CO), svovldioxid (SO<sub>2</sub>), kvælstofoxider (NO<sub>x</sub>), flygtige organiske forbindelser (VOC) og primære partikler (PM<sub>2,5</sub>) fra f.eks. forbrændingsprocesser. Disse stoffer har enten direkte helbreds-effekter (f.eks. CO, SO<sub>2</sub> og PM<sub>2,5</sub>) eller bliver kemisk omdannet til andre stoffer i atmosfæren såsom ozon (O<sub>3</sub>) eller sulfat- og nitratpartikler. Bidraget fra landbruget skyldes emissioner af ammoniak (NH<sub>3</sub>), som omdannes til partikler i atmosfæren (ammoniumsulfat, ammoniumbisulfat og ammoniumnitrat).

---

### *Helbredseffekter og eksterne omkostninger fra boligopvarmning Danmark*

Tabel 1 viser for år 2000, at det relative bidrag fra boligopvarmning i forhold til de totale helbredsrelaterede eksterne omkostninger fra danske emissioner er 9,3 %, hvis vi betragter det danske bidrag til hele Europa, og 16,3 %, hvis vi kun ser på bidraget inden for Danmark. De totale helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Europa fra denne sektor, som hovedsageligt skyldes udslip fra brændeovne, er ca. 4 mia DKK, mens tallet er ca. 1,2 mia DKK inden for Danmark. De helbredsrelaterede eksterne omkostninger fra brændeovne er således betydelige. De specifikke helbredseffekter fra boligopvarmningen i Danmark er vist i tabel 2. Antal for tidlige dødsfald kan beregnes ud fra "Chronic YOLL (Years Of Lifes Lost)", som også kaldes kronisk død ved at tage antal tabte leveår og dividere med 10,6 (Brandt et al., 2011). Dette giver ca. 500 for hele Europa og ca. 150 inden for Danmark.

### *Helbredseffekter og eksterne omkostninger fra den internationale skibstrafik*

Vi har beregnet de totale helbredseffekter og eksterne omkostninger for den internationale skibstrafik, som er et specielt stort problem omkring Danmark, da de danske farvande er nogle af de mest trafikerede i verden. Vi har lavet en speciel vurdering for den internationale skibstrafik i Nordsøen og Østersøen (SECA område), da disse farvande ligger tæt på Danmark, og fordi man her har indført regulering, hvor svovlindholdet i den tunge bunkerolie vil blive stærkt reduceret frem til år 2015 (2,7 % svovl i den tunge bunkerolie i år 2000, 1,5 % i år 2007, 1 % i år 2011 og 0,1 % i år 2015).

De overordnede resultater og konklusioner mht. helbredsrelaterede effekter fra den internationale skibstrafik er:

- Emissionerne fra den internationale skibstrafik (hele den nordlige halvkugle) er ansvarlig for helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Europa på 58 mia. Euro/år (435 mia. DKK/år), hvilket svarer til 7 %

af de samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger i år 2000. I år 2020 er omkostningerne steget til 64 mia. Euro/år (480 mia. DKK/år), svarende til 12 % af de samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger.

- Antallet af for tidlige dødsfald i Europa pga. den totale internationale skibstrafik på den nordlige halvkugle er ca. 49.500 tilfælde i år 2000 og ca. 53.200 tilfælde i år 2020.
- Bidraget til de helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Danmark fra den internationale skibstrafik forbliver næsten uændret på 18 % af de samlede helbredsrelaterede omkostninger i Danmark for år 2000 og 19 % for år 2020, selvom de totale helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Danmark fra den internationale skibstrafik falder fra 800 mio. Euro/år (6 mia. DKK/år) i år 2000 til 480 mio. Euro/år (3,6 mia. DKK/år) i 2020. Tallet for Danmark falder pga. indførelsen af restriktion på svovlindholdet i den tunge olie, som skibene sejler på i Østersøen og Nordsøen.
- Nordsøens og Østersøens bidrag til de samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger alene i Danmark er 4,7 mia. kr. i år 2000 faldende til 2,7 mia. kr. i år 2020. I begge år er bidraget fra den internationale skibstrafik i Nordsøen og Østersøen til de samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Danmark ca. 14 %. Den procentvise andel af de eksterne omkostninger fra skibene ændrer sig ikke på trods af indførelsen af regulering på svovl-emissionerne fra skibene, da de overordnede luftforureningsniveauer falder tilsvarende.

Resultaterne viser, at indsatsen i forhold til den internationale skibstrafik virker i form af indførelsen af SECA området for Nordsøen og Østersøen. Bidraget til helbredsrelaterede omkostninger i Danmark fra skibene i Østersøen og Nordsøen falder med 43 % pga. indførelsen af SECA området. Der er dog stadigvæk et

---

betydeligt bidrag fra kvælstofoxiderne, der bidrager til dannelsen af nitratpartikler og denne udledning er endnu ikke reguleret. Derudover kan vi konkludere, at indførelsen af lignende restriktioner på den resterende skibstrafik uden for SECA området (dvs. resten af verden) vil have væsentlig positiv effekt på folkesundheden i hele Europa. Partiklerne fra skibene kan transporteres med vinden over tusinder af km, og derfor vil det have en stor effekt at regulere sektoren for hele verden.

#### *Helbredseffekter og eksterne omkostninger fra de totale luftforureningsniveauer*

De overordnede resultater og konklusioner mht. helbredsrelaterede effekter fra de totale luftforureningsniveauer er:

- De samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Danmark fra de totale luftforureningsniveauer udgør 4,5 mia. Euro/år (34 mia. DKK/år) for år 2000, svarende til knap 2 % af det danske BNP. Dette tal falder til 3,8 mia. Euro/år (29 mia. DKK/år) for år 2007 og til 2,5 mia. Euro/år (19 mia. DKK/år) i år 2020 (2020 baseret på NEC-II emissionsscenariet).
- Antallet af for tidlige dødsfald i Danmark pga. luftforurening er estimeret til ca. 4.000 tilfælde for år 2000, faldende til ca. 3.400 tilfælde i år 2007 og ca. 2.200 tilfælde i år 2020.
- De samlede helbredsrelaterede eksterne omkostninger for hele Europa pga. luftforurening er estimeret til 803 mia. Euro/år (6.000 mia. DKK/år) for år 2000, svarende til ca. 5 % af det samlede BNP inden for EU (det tilsvarende tal i CAFE-beregningerne er 790 mia. Euro/år). De samlede eksterne omkostninger i år 2007 er estimeret til 682 mia. Euro/år (5.100 mia. DKK/år) faldende til 537 mia. Euro/år (4.000 mia. DKK/år) i år 2020.
- Vi estimerer det totale antal af for tidlige dødsfald i hele Europa pga. luftforurening til 680.000 tilfælde i år 2000, faldende til 450.000 tilfælde i år 2020 (se figur 2).

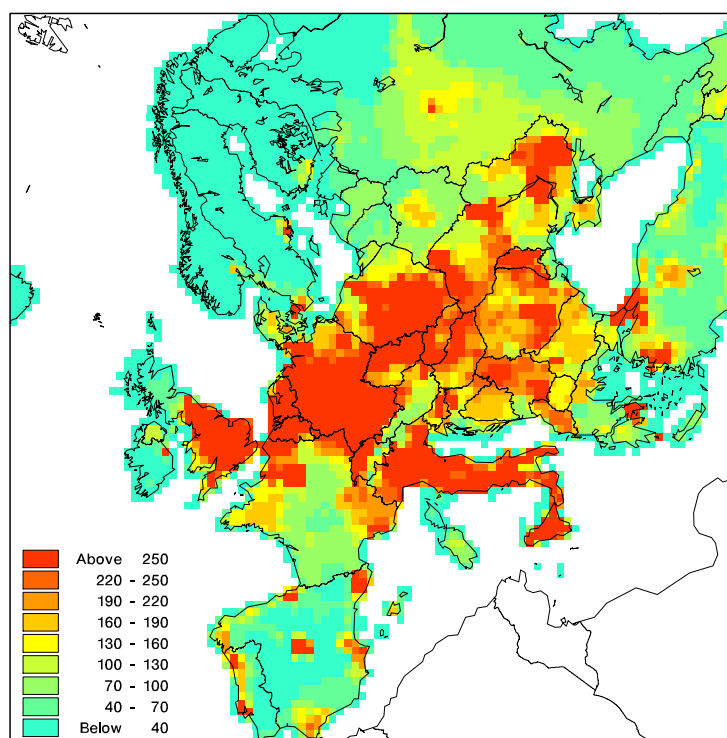
## Konklusioner

Luftforurening udgør et seriøst problem mht. helbredseffekter, og de relaterede eksterne omkostninger er betragtelige. De eksterne omkostninger kan benyttes til en direkte sammenligning af bidragene fra de forskellige emissionssektorer mht. effekter på helbred og kan derved bruges som direkte beslutningsstøtte for regulering af emissioner. I rapporten er de relative bidrag fra de forskellige overordnede emissionssektorer beregnet for år 2000. De større og umiddelbart synlige kilder til luftforurening (f.eks. kraftværker og vejtrafik) udgør ikke nødvendigvis de mest betydningsfulde problemer relateret til helbredseffekter. Andre og mindre åbenbare kilder kan give signifikante effekter på natur og mennesker. Derfor har vi i rapporten screenet alle de overordnede emissionssektorer og vurderet deres indbyrdes bidrag. Vi giver derved et bud på hvilke overordnede sektorer, der er væsentlige mht. helbredseffekter (og deraf følgende omkostninger) fra luftforurening, og hvilke der er mindre væsentlige.

Luftforureningen medfører betydelige helbredseffekter på befolkningen i Danmark og i Europa både nu og i fremtiden, selvom effekterne og de eksterne omkostninger er faldende. De samlede eksterne omkostninger fra luftforurening i Danmark som følge af alle emissioner på den nordlige halvkugle (inkl. danske emissioner) er estimeret til at udgøre knapt 2 % af det danske BNP i år 2007.

Resultaterne viser, at de største bidrag til de helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Danmark stammer fra landbruget, vejtrafikken, store centrale kraftværker, boligopvarmning, andre mobile kilder (f.eks. ikke-indregistrerede køretøjer) og decentrale kraftværker. For landbrugets vedkommende er helbredseffekterne relateret til udslippet af ammoniak, som omdannes til ammoniumnitrat, ammoniumbisulfat og ammoniumsulfat og derved bidrager til dannelsen af partikler i atmosfæren. Boligopvarmning er domineret af udslip af partikler fra brændeovne.





Figur 2: Antal tilfælde af for tidlige dødsfald per gittercelle i Europa, beregnet med det integrerede modelsystem EVA for år 2000 for de totale luftforureningsniveauer. Arealet af hver gittercelle er 2500 km<sup>2</sup>. Det totale antal tilfælde af for tidlige dødsfald i hele modelområdet er 680.000. Et højt antal tilfælde af for tidlige dødsfald skyldes sammenfald af høj partikelforurening og høj befolkningstæthed (Brandt et al., 2011).

Resultaterne viser, at det ikke kun er effekter på natur og miljø man skal tage højde for i udledningen af kvælstof fra landbruget, som man hidtil har gjort. Effekter på helbred bør også medregnes i den fremtidige prioritering af indsatsen.

Desuden giver den internationale skibstrafik et væsentligt bidrag til helbredsrelaterede indirekte omkostninger i Danmark og er sammenlignelig med vejtrafik og brændeovne. Man kunne med fordel udvide gyldigheden af restriktionerne fra SECA området til at dække globalt.

Resultaterne viser, at luftforureningen stadig udgør en væsentlig udfordring i Danmark. Heldigvis er emissionerne fra de landbaserede kilder generelt faldende, og de helbredsrelaterede eksterne omkostninger i Danmark forventes at falde med ca. 45 % mellem år 2000 og 2020. En generel nedbringelse af luftforureningen vil

give en samfundsøkonomisk gevinst, samtidigt med at livskvaliteten øges.

#### *Væsentligste forudsætning og usikkerheder*

De væsentligste usikkerheder er forbundet med hvor godt vi kender udslippene af kemiske stoffer fra de forskellige sektorer (op til +/- 30 %, afhængigt af sektor), samt hvor godt vi kender helbredseffekterne af luftforureningen. Med den viden vi har nu, er vi ikke i stand til sikkert at skelne mellem helbredseffekterne fra de forskellige typer af partikler i atmosfæren. I vores studie har vi desuden lavet følsomhedsstudier, hvor vi tillægger de primære partikler (f.eks. sod) større vægt mht. helbredseffekter i forhold til de sekundært dannede partikler. Resultaterne viste, at dette ikke ændrer væsentligt ved hovedkonklusionerne. Resultater fra modelsystemet kan derfor bruges som beslutningsstøttegrundlag for politikerne, når indsatsen på luftforureningsområdet skal prioriteres.

---

I EVA systemet forudsætter vi derfor, at alle typer af partikler er lige sundhedsskadelige. Det er baseret på den bedste viden vi har i dag, hvor vi ikke er i stand til at skelne helbreds-effekterne fra forskellige typer af partikler. En hypotese er, at det ikke er de "rene" partikler, der udgør den største sundhedsfare, men at de er bærere af skadelige stoffer, som klæber til disse partikler i atmosfæren. Disse stoffer er primært metaller (som f.eks. stammer fra biler-nes bremses), PAHer (Polycykliske Aromatiske Hydrocarboner) og POPer (Persistente Organiske forbindelser). Der er ingen tvivl om at der er en klar sammenhæng mellem koncentrationen af partikler i atmosfæren (PM<sub>2,5</sub>) og helbredseffekterne. Dette er bekræftet i mange store internationale studier. Vi har desuden i vores beregninger anvendt et konservativt estimat for f.eks. dødelighed pga. forøget partikel-forurening. Vores målsætning har været kun at medtage de effekter, som er grundigt dokumenteret i den internationale litteratur og anerkendt af World Health Organisation (WHO).

Der er desuden sket et fald i udslippet fra nogle sektorer siden år 2000, og der kan derved også være sket en forskydning mellem sektorerne siden 2000. F.eks. er ammoniakudslippet fra landbruget reduceret med ca. 17 % fra år 2000 til 2009. Udslippet fra de store kraftværker er faldet væsentligt siden år 2000 (svovldioxid med 60 %, kvælstofoxider med ca. 50 %, primære partikler med ca. 27 %). Udslippet fra vejtrafikken er ligeledes faldet siden år 2000 (svovldioxid med 78 %, kvælstofoxider med 41 % og primære partikler med 37 %), mens udslippet fra brændeovne er steget. En mere opdateret beregning for f.eks. år 2011 vil give en anden fordeling mellem sektorerne, hvor den relative betydning fra brændeovne sandsynligvis vil være større.

Det skal samtidigt understreges, at opløsningen i modelsystemet har betydning for beregning af

## Reference

Brandt J, Silver JD, Christensen JH, Andersen MS, Bønløkke J, Sigsgaard T, Geels C, Gross A, Hansen AB, Hansen KM, Hedegaard GB, Kaas E, Frohn LM. *Assessment of Health-Cost Externalities of Air Pollution at the National Level using the EVA Model System*. CEEH Scientific Report No 3, Centre for Energy, Environment and Health Report series, March 2011, pp. 98.  
[http://www.cee.dk/CEEH\\_Reports/Report\\_3/CEEH\\_Scientific\\_Report3.pdf](http://www.cee.dk/CEEH_Reports/Report_3/CEEH_Scientific_Report3.pdf)

konsekvenser fra lokale kilder som f.eks. brændeovne. I sagens natur bor mennesker tæt på brændeovne. I vores modelberegninger har vi anvendt en opløsning på 16 km x 16 km over Danmark og kilderne vil umiddelbart blive spredt ud over en gittercelle. Derfor er effekterne underestimeret på den befolknings-gruppe, der bor tæt på brændeovnene, da luft-koncentrationerne er større her end modellen beregner og tilsvarende overestimeret på dem, der bor lidt længere væk. Da befolkningstætheden i nogle områder er størst tættere på brændeovnene, vil resultaterne for brænde-ovnene være underestimeret som generel betragtning. Der arbejdes pt. på at udvikle EVA systemet til at dække Danmark med en opløsning på 1 km x 1 km, hvilket vil præcisere resultaterne for lokale kilder.

## Perspektivering i forhold til CEEH

Arbejdet, som præsenteres i CEEH rapport 3, indgår som et vigtigt grundelement i Center for Energi, Miljø og Helbred ([www.cee.dk](http://www.cee.dk)), og arbejdet er delvist finansieret gennem dette center. Den grundlæggende ide i CEEH er at opstille omkostningseffektive scenarier for fremtidens danske energisystemer. Arbejdet i CEEH adskiller sig fra andre lignende aktiviteter ved, at vi i CEEH ikke kun medtager de direkte omkostninger i forbindelse med energisystemerne, men også de indirekte omkostninger (eksternaliteter). Da disse indirekte omkostninger er ganske betydelige - som det vil fremgå af arbejdet i CEEH - har det stor betydning for hvilke fremtidige energisystemer, der rent økonomisk er mest effektive. Som et eksempel bliver omkostningseffektiviteten for vindenergi væsentlig forøget relativt til f.eks. fossile brændsler og biobrændsler, når man medtager de indirekte omkostninger. Disse resultater vil blive præsenteret i andre CEEH rapporter.

---

# Helbredseffekter af brænderøgspartikler – resumé af et ph.d.-projekt

*Af Pernille Høgh Danielsen, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet.*

---

## Indledning

I store dele af verden er afbrænding af træ og biomasse en betydelig luftforureningskilde. Også i Danmark er brænderøg en væsentlig kilde til udslippet af partikler i luften, idet det seneste estimat finder, at omkring 67 % af det samlede danske udslip af PM<sub>2,5</sub>, der er partikler med en diameterstørrelse under 2,5 mikrometer, stammer fra forbrænding af træ i private boliger (1). Der er generelt en begrænset viden om helbredseffekterne af brænderøg, men The International Agency for Research on Cancer (IARC) har konkluderet, at indendørs udsættelse for biomasseafbrænding (især brænde) sandsynligvis er kræftfremkaldende for mennesker (2). Ligeledes har undersøgelser vist, at indendørs udsættelse for røg fra brænde og anden biomasse og fast brændsel er associeret med KOL (Kronisk Obstruktiv Lungesygdom) og cancer i luftvejene (3,4,5). Miljøstyrelsen har estimeret, at brændeovnene i Danmark samlet set leverer et ekstrabidrag på ca. 0,6 µg/m<sup>3</sup> PM<sub>2,5</sub> som årligt gennemsnit, og at dette ekstrabidrag årligt kan medføre en øget dødelighed på mindst 200 dødsfald (6). Også på det toksikologiske område er der stadig en begrænset viden om effekterne af brænderøgspartikler. Dette ph.d.-projekt har primært fokuseret på en eksperimentel vurdering af effekter af brænderøgspartikler i form af oksidativt stress og inflammation, som er centrale mekanismer for effekter på lunger og hjertekarsystemet og DNA skade forårsaget af oksidativt stress, som er særligt relevant for kræftisiko. Forsøgene er udført med cellekulturer fra mennesker, der reflekterer lungeceller og inflammationsceller (7), og i forsøgsdyr, hvor eksponering, både via luftveje og mavetarmkanal, indgår (8). Fordøjelseskanalen er en vigtig eksponeringsrute for partiklers systemiske effekter, da partikler dels deponeres i næse og svælg og synkes, og

dels synkes efter at blive fjernet fra luftvejene via fimrehår i luftrøret. Endeligt sluges også partikler deponeret på dyrkede fødevarer. Partiklerne til forsøgene blev opsamlet dels fra røg fra en brændeovn under henholdsvis høj og lav lufttilførsel, dels fra et boligområde i Slagslunde med et stort brændeovnsbrug og dels fra et landområde uden brændeovne. Ydermere har ph.d.-projektet også inkluderet et cellekulturstudie med brænderøgspartikler opsamlet under et brændeovnsforsøg i Norge, der viste sig at give mindst samme skade på DNA i celleforsøg som trafikrelaterede partikler (9), og et humant eksponeringsstudie, der viste øget DNA reparation og tendens til øget niveau af DNA reparationsprodukter i forsøgspersonernes urin (10).

## Partiklers virkningsmekanismer

Partiklers vigtigste virkningsmekanismer i helbredssammenhæng menes at involvere inflammation og oksidativt stress med resulterende skade på biomolekyler, såsom DNA, og celler (11,12). Oksidativt stress opstår ved dannelse af reaktive iltforbindelser (eng. reactive oxygen species (ROS)) direkte fra partikler på overfladen eller ved opløselige oksidanter eller sekundært ved at stimulere celler til at producere ROS. DNA er et af de vigtige mål-molekyler for oksidativt stress og oxidativ DNA skade, især oksidation af guanin og DNA strengbrud (SB) menes at være vigtige for udvikling af cancer og måske også i udvikling af åreforkalkning. Der er meget aktive reparationsmekanismer for disse læsioner i DNA.

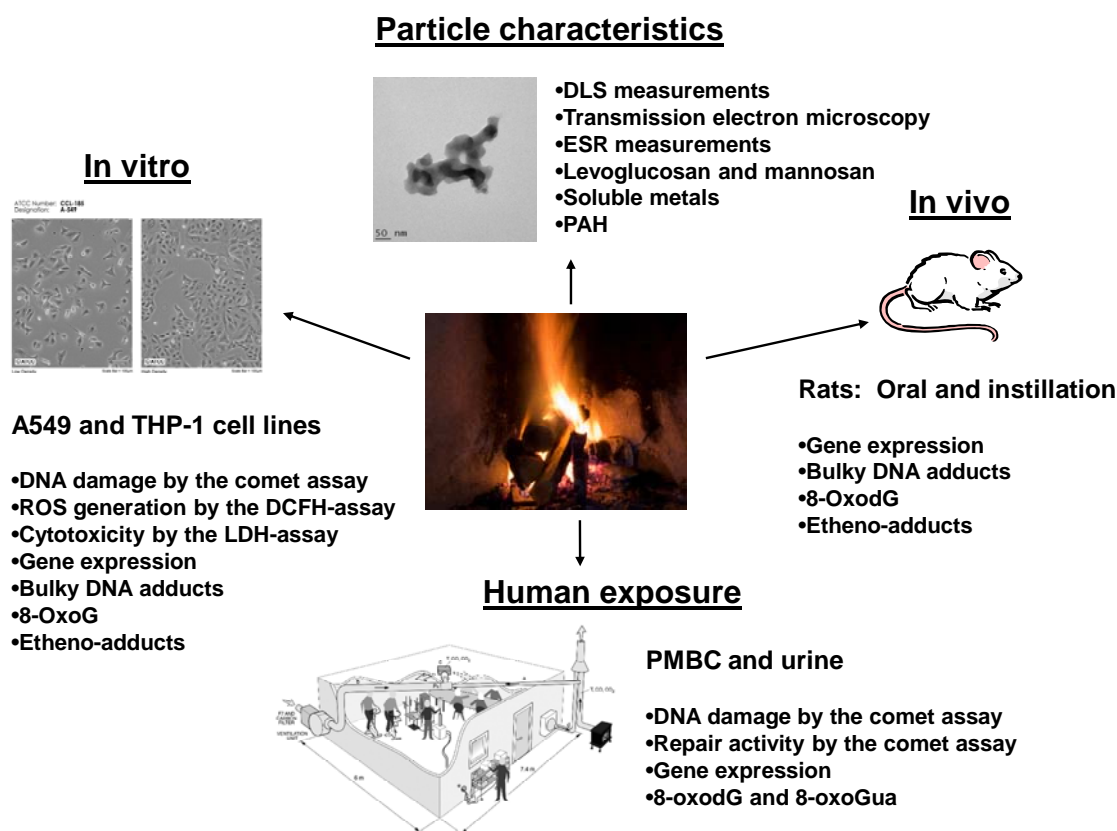
## Forsøgsdesign

I både celle- og dyreforsøg undersøgte vi følgende markører (se figur 1):

- Celletoksicitet målt som laktat dehydrogenase frigivelse (kun i celler).
- DNA skader målt som SB, formamidopyrimidin DNA glykosylase skader (FPG skader) forårsaget af oksidation af guanin (kun i celler).
- DNA base ændringer i form af oksidation af guanin (8-oxodG) og etheno-addukter på guanin og adenin. Disse DNA-skader er mutagene, såfremt de ikke reparerer og udtrykker således kræftisiko.
- Genekspression af de inflammatoriske gener *MCP-1* og *MIP-2*, DNA reparationsgenet OGG1 samt oksidativt stress respons

genet HO-1. Udover OGG1-enzymet, som reparerer 8-oxodG skaden i DNA, og HO-1, der spiller en rolle i forsvaret mod ROS, måler vi en række inflammatoriske gener, fordi partikler har vist at kunne aktivere inflammatoriske celler til at danne ROS. Inflammation og oksidativt stress er centrale i lunge og hjertekareffekter af partikler.

- DNA addukter blev målt, da især eksponering for kemiske stoffer som PAH menes at kunne resultere i denne type af DNA skader, der kan være carcinogene.



Figur 1. End points målt henholdsvis i celler og i lever- og lungevæv fra rotter samt i hvide blodlegemer og urin fra mennesker, og parametre målt i forbindelse med karakteriseringen af partiklerne (13).

---

I celleforsøgene undersøgte vi dosis-respons-sammenhænge for de valgte markører, oftest efter en 3 timers eksponering med partikler.

I dyreforsøgene undersøgte vi de samme markører (på nær celletoksicitet og SB og FPG relaterede DNA skader) i rotter 24 timer efter indgift af en enkelt dosis på 0,64 mg/kg af de forskellige partikler i lungerne eller i mave-tarmkanalen, hvorefter de valgte markører blev målt i både lever- og lungevæv.

I forsøget med eksponering af mennesker målte vi DNA skader og genekspression i hvide blodlegemer, mens 8-oxodG og 8-oxo-guanin blev målt i urinen.

### Partikelopsamling i Danmark og karakterisering

Partikler blev opsamlet om vinteren fra udeluften midt i Slagslunde, der er en by med ca. 350 huse, hvoraf de 200 har en brændeovn

(AAWS). Som referencemateriale uden bidrag fra brændeovne blev der samtidigt opsamlet partikler fra luften i et område 500 meter vest for byen (AARU), se figur 2. Ydermere blev der opsamlet partikler fra en brændeovn opstillet i forbindelse med et eksponeringsstudie på Aarhus Universitet. Forbrændingen foregik under to forhold, enten ved en høj (HOWS) eller en lav lufttilførsel (LOWS). Partiklerne blev opsamlet med en elektrostatisk højvolumen sampler, der har den fordel, at den kan samle større mængder (mg) af partikler end ved hjælp af traditionelle opsamlingsmetoder (14). Partiklerne fra Slagslunde blev opsamlet fra udeluften i løbet af en kold periode med stille vejr på 14 dage i januar 2007. Den lange opsamlingsperiode kan muligvis have indflydelse på partiklernes kemiske sammensætning. De rene brænderøgspartikler blev opsamlet i løbet af 2 timer for LOWS og 4 timer for HOWS.



Figur 2. De to partikelopsamlingssteder i henholdsvis Slagslunde by (Exposed site; AAWS)) og 500 meter uden for byen (Background site; AARU). Hver hvid prik repræsenterer et hus med brændeovn (13).

---

Partiklerne blev grundigt karakteriseret med hensyn til størrelse, indhold af metaller og organiske forbindelser. I store træk viste karakteriseringen, at partikler opsamlet direkte fra brænderøg (HOWS og LOWS) generelt var mindre i størrelse, indeholdt mere PAH og mindre metal end partiklerne opsamlet fra udeluften. Samtidigt blev det verificeret, at partiklerne fra Slagslunde rent faktisk indeholdt partikler fra brænderøg. Dette blev gjort ved at undersøge indholdet af levoglucosan, der er et derivat fra celluloseforbrænding.

Desuden målte vi de reaktive iltforbindelser med electron spin resonance (ESR) spektroskopi, hvilket viste, at HOWS og AARU producerer hydroxylradikaler og superoxid anioner i samme grad, når det måles med spintrapping. Derimod producerer AAWS langt mindre ROS og LOWS nærmest ingenting. ESR viste interessant nok også et ukendt ESR signal i HOWS, hvilket sandsynligvis kan tilskrives et carbon-centreret radikal.

### *In vitro* forsøg

Vi fandt en rimelig sammenhæng mellem partikelmateriale evne til at producere ROS, oxidative DNA skader og øge genekspressionen af oxidativt stress og til dels inflammationsmarkører i cellekulturene. Derimod fandt vi ingen øgede niveauer af etheno- og DNA addukter. Vi fandt, at partiklerne fra Slagslunde, indeholdende et væsentligt bidrag fra brænderøg, dannede mere dosis-afhængigt ROS og DNA skade end baggrundspartiklerne opsamlet fra et område uden brændeovne. Vores resultater indikerer, at rene brænderøgspartikler (HOWS og LOWS) er mere toksiske end baggrundspartikler per masseenhed, specielt relateret til oxidativ stress-associeret skade, mens partikler fra Slagslunde giver effekter, der kan betegnes som midt imellem effekterne af de rene brænderøgspartikler og baggrundspartiklerne. Dette er i overensstemmelse med at Slagslundepartiklerne netop er en blanding af direkte udledte brændeovnspartikler og baggrundspartikler. I relation til vores tidligere undersøgelser af brænderøgspartikler indsamlet fra en skorsten på en norsk brænde-

ovn var effekterne i form af DNA skade tilsvarende til de her indsamlede brænderøgspartikler. I disse tidligere undersøgelser fandt vi, at skaderne især var knyttet til de organiske bestanddele af partiklerne og at skaderne reparerer, når partiklerne fjernes.

### *In vivo* forsøg

Tidligere forsøg har vist, at rotter, der havde fået en enkelt oral dosis af dieselpartikler (SRM2975) havde forhøjet DNA skadesniveau i tyktarm, lever og lunger, og induktion af gener, der er involveret i reparation af DNA skader (15). Det samme er vist i lunge- og levervæv fra rotter, der har fået en enkelt oral dosis af single walled carbon nanotubes og rene fullerener som C<sub>60</sub> partikler (16). Ved eksponering via luftveje ved inhalation eller instillation med dieselpartikler er der også fundet DNA skade, men doserne har typisk været højere end det, som fremkalder organskader ved peroral eksponering (12,17). I dette forsøg undersøges, om en enkelt dosis af udeluftspartikler med højt (AAWS) eller lavt brænderøgsbidrag (AARU) fra Slagslunde og uden for Slagslunde, rene brænderøgspartikler med høj (HOWS) eller lav lufttilførsel (LOWS) forårsager samme effekter, som der er observeret for de andre partikeltyper. Hermed sammenligner vi for første gang effekterne ved en enkelt dosis givet peroralt og via luftvejene som intratracheal instillation. Den perorale rute må antages at være særdeles vigtig for brænderøg, hvor kilderne typisk er spredt og tæt på afgrøder. Brænderøgspartikler må således i vidt omfang deponeres på afgrøderne, hvorved mennesker kan eksponeres peroralt, men hidtil er dette ikke indgået i risikovurdering af partikelemissioner. Det er således for nyligt anført i en amerikansk risikovurderingsmodel, at den perorale indirekte eksponering via afgrøder har større betydning for kræfttrisikoen (toksiciteten) af en lang række partikelbundne persistente stoffer end direkte inhalation, især når kilden er tæt på, og selv når der tages hensyn til stærkere dosis-respons ved inhalation end ved peroral eksponering (18). Dyreforsøget viser, at brænderøgspartikler kan inducere DNA skade i form af etheno-addukter medieret

---

af lipidoksidation og øget inflammation i leveren efter eksponering via mavetarmkanalen, hvorimod de ikke gav DNA skader i form af oxideret guanin. Specielt brænderøgspartiklerne opsamlet under forbrænding med lav ilttilførsel gav de fleste effekter og var den eneste partikeltype, der gav inflammation og oxidativt stress i lungerne efter eksponering via lungerne.

### Humant eksponeringsforsøg

Vi fandt en signifikant øget ekspresion af OGG1 DNA reparationsenzymet og ikke signifikant øget aktivitet af det samt mere udskillelse af reparationsprodukter i urinen, mens skadeniveauet i hvide blodlegemer ikke var påvirket efter udsættelse for brænderøg. Det kunne tolkes som at udsættelse for brænderøg medfører oxidativt stress i blodet, der forårsager opregulering af bl.a. reparationsgenet, men det var et meget lille studie, som der er behov for at gentage.

### Konklusion

Vores resultater fra cellekulturstudierne indikerer, at rene brænderøgspartikler opsamlet med varierende lufttilførsel generelt er mere toksiske end baggrundspartikler per masseenhed, mens partikler fra et brændeovnsquarter i Slagslunde giver effekter, der kan betegnes som midt imellem effekterne af de rene brænderøgspartikler og baggrundspartiklerne. Dette er i overensstemmelse med at Slagslunde-partiklerne netop er en blanding af direkte udledte brændeovns-partikler og baggrundspartikler. Den overordnede konklusion fra dyreforsøget er, at specielt eksponering via mavetarmkanalen er vigtig, da vi finder betydeligt flere effekter i leveren efter denne eksponering end i lungerne efter direkte eksponering. Dette er foreneligt med tidligere fund af genotoksiske effekter efter peroral eksponering for dieselpartikler og kulstofbaserede nanopartikler. Effekterne af brænderøgspartiklerne var dog svagere med hensyn til DNA skade og oxidativt stress end hvad tidligere er fundet i rotter eksponeret med den samme dosis i mg/kg af dieselpartikler. Dog skal det bemærkes, at vi

fandt øgede niveauer af etheno-addukter, der ikke før er undersøgt i forbindelse med eksponering for partikler. De er potentielt meget interessante, idet de menes at blive dannet ved lipidperoxidation og hidtil er beskrevet ved kroniske inflammationstilstande, både hos mennesker og i dyremodeller, hvor de menes at være væsentlige for kræftudvikling knyttet til inflammationen. Der var beskedent respons i lungerne efter eksponering for kun én type af hver af brænderøgs- og Slagslunde-partikler i doser, der svarer til langvarig eksponering. De samlede *in vivo* resultater har således ikke kunnet påvise, at brænderøgspartikler er væsentligt mere toksiske i forhold til partikler generelt og heller ikke mere toksiske end partikler fra trafik mht. effekter på luftveje og hjertekarsystemet. Der var også beskedne effekter ved udsættelse af mennesker, hvor vi i forbindelse med eksponering for trafik har set mere klar DNA skade. Der er et klart forbehold i, at dyreforsøget kun omfatter en enkelt dosering af partikler med observation efter 24 timer og en enkelt 3-24 timers eksponering i celleforsøgene og forsøg med mennesker, ligesom ikke alle mekanismer, især langvarige, er belyst. Langvarig og kronisk eksponering kan således have effekter, som ikke kan afsløres med de indgående metoder. Det er derfor for tidligt at drage disse resultater ind i en vurdering af de mulige kroniske effekter af brænderøgspartikler.

### Taksigelser

Ph.d.-projektet og det eksperimentelle arbejde har været støttet af Det Strategiske Forskningsråd gennem det tværfaglige projekt WOODUSE, det tværfaglige forskningsrådsprojekt AIRPOLIFE, Miljøstyrelsen samt ECNIS (Environmental Cancer Risk, Nutrition and Individual Susceptibility – a Network of Excellence operating within the European Union 6th Framework Program).

Ph.d.-projektet har været baseret på et meget stort samarbejde med Danmarks Miljøundersøgelser, Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø, Statens Institut for Folkehelse i Oslo, Gøteborg Universitet, Århus Universitet,

---

Maastricht Universitet, Institut de Nanosciences et Cryogenie, CEA Grenoble i Frankrig samt Nikolaus Copernicus Universitetet i Bydgoszcz, Polen.

## Referencer

1. Nielsen M, Nielsen O-K, Plejdrup M et al. *Danish Emission Inventories for Stationary Combustion Plants. Inventories until year 2007*. National Environmental Research Institute, Aarhus University, Denmark. 216 pp. - NERI Technical Report no. 744. <http://www.dmu.dk/Pub/FR744.pdf>, 2009.
2. Straif K, Baan R, Grosse Y et al. *Carcinogenicity of household solid fuel combustion and of high-temperature frying*. *Lancet Oncol* 2006;7(12):977-8.
3. Salvi SS, Barnes PJ. *Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers*. *Lancet* 2009;374(9691):733-43.
4. Ramanakumar AV, Parent ME, Siemiatycki J. *Risk of lung cancer from residential heating and cooking fuels in Montreal, Canada*. *Am J Epidemiol* 2007;165(6):634-42.
5. Sapkota A, Gajalakshmi V, Jetly DH et al. *Indoor air pollution from solid fuels and risk of hypopharyngeal/laryngeal and lung cancers: a multicentric case-control study from India*. *Int J Epidemiol* 2008;37(2):321-8.
6. Nielsen E, Dybdahl M, Larsen PB. *Health effects assessment of exposure to particles from wood smoke*. Environmental Project No. 1235, 2008. \*
7. Danielsen PH, Møller P, Jensen KA et al. *Oxidative Stress, DNA Damage, and Inflammation Induced by Ambient Air and Wood Smoke Particulate Matter in Human A549 and THP-1 Cell Lines*. *Chem Res Toxicol* 2011;24(2):168-84.
8. Danielsen PH, Loft S, Jacobsen NR et al. *Oxidative stress, inflammation, and DNA damage in rats after intratracheal instillation or oral exposure to ambient air and wood smoke particulate matter*. *Toxicol Sci* 2010; 118(2):574-85.
9. Danielsen PH, Loft S, Kocbach A et al. *Oxidative damage to DNA and repair induced by Norwegian wood smoke particles in human A549 and THP-1 cell lines*. *Mutat Res* 2009;674(1-2):116-22.
10. Danielsen PH, Bräuner EV, Barregard L et al. *Oxidatively damaged DNA and its repair after experimental exposure to wood smoke in healthy humans*. *Mutat Res* 2008;642:37-42.
11. Knaapen AM, Borm PJ, Albrecht C et al. *Inhaled particles and lung cancer. Part A: Mechanisms*. *Int J Cancer* 2004;109(6):799-809.
12. Risom L, Møller P, Loft S. *Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution*. *Mutat Res* 2005;592(1-2):119-37.
13. Pernille H. Danielsen. *Oxidative stress-induced DNA damage by wood smoke particulate matter in vitro, in vivo, and in controlled human exposure*. PhD thesis, University of Copenhagen 2010.
14. Sharma AK, Wallin H, Jensen KA. *High volume electrostatic field-sampler for collection of fine particle bulk samples*. *Atmospheric Environment* 2007;41:369-81.
15. Danielsen PH, Risom L, Wallin H et al. *DNA damage in rats after a single oral exposure to diesel exhaust particles*. *Mutat Res* 2008; 637(1-2):49-55.
16. Folkmann JK, Risom L, Jacobsen NR et al. *Oxidatively damaged DNA in rats exposed by oral gavage to C60 fullerenes and single-walled carbon nanotubes*. *Environ Health Perspect* 2009;117(5):703-8.
17. Møller P, Jacobsen NR, Folkmann JK et al. *Role of oxidative damage in toxicity of particulates*. *Free Radic Res* 2010;44:1-46.
18. Pratt GC, Dymond M. *Multipathway screening factors for assessing risks from ingestion exposures to air pollutants*. *J Air Waste Manag Assoc* 2009;59(4):419-29.

\* <http://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2008/978-87-7052-769-9/pdf/978-87-7052-770-5.pdf>



---

# Luftvejseffekter af brænderøg - kontrollerede eksponeringsstudier

*Af Ingunn S. Riddervold, Afdeling for Miljø- og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet.*

---

## Baggrund

Den almene befolkning udsættes dagligt for en lang række luftforurenende stoffer i vores omgivende miljø, bl.a. fra trafik, industri og forbrændingsprocesser. Udsættelse for bl.a. brænderøg er mistænkt for at forårsage en række negative helbredseffekter hos mennesker.

Luftforurening knyttet til forbrænding af biomasse (bl.a. brænderøg) er intet nyt fænomen. Menneskets evne til at kontrollere og drage nytte af ildens egenskaber og muligheder medførte en dramatisk ændring i livet samt for miljøet. Med forbrænding af biomasse til produktion af varme og lys blev det muligt for folk at lave mad og dermed øge udbuddet og tilgængeligheden af næringsstoffer. Endvidere kunne varme skabt ved forbrænding desuden hjælpe folk med at holde varmen i koldt vejr, så de også kunne leve i køligere klimaer. Men brændefyring kan dog også bidrage væsentligt til luftforurening og sundhedsmæssige problemer ved at udsende store mængder af forurenende stoffer til vores omgivende miljø, både inde og udendørs (1).

På grund af stigende oliepriser og energiomkostninger har stadigt stigende brug af brændeovne til opvarmning resulteret i større eksponering for de forbrændingsassocierede forurenende stoffer. Dette har ført til en øget bekymring over de sundhedsmæssige effekter forbundet med denne eksponering (2). Denne oversigtsartikel vil belyse luftvejseffekter baseret på kontrollerede brænderøgseksponeringsstudier med mennesker.

## Brænderøg

Under forbrænding af træ dannes en række klassiske luftforureningskomponenter, hvoraf flere vides at kunne påvirke menneskers hel-

bred negativt. Blandt de mest almindelige forurenende stoffer er kulmonoxid (CO), metan (CH<sub>4</sub>), flygtige organiske forbindelser (VOC), kvælstofoxider (NO<sub>x</sub>), polycykliske aromatiske kulbrinter (PAH), dioxin samt forskellige partikelfraktioner (f.eks. PM<sub>10</sub>, PM<sub>2.5</sub> og ultrafine partikler) (3).

Sammensætningen af brænderøgen afhænger af både karakteren af det brændende brændsel og forbrændingsbetingelserne. Brænderøg kan stamme fra forskellige kilder, såsom kedler, brændeovne, åbne ildsteder, bål, markafbrændinger og skovbrande (4,5,1). Forureningsgraden afhænger yderligere bl.a. af træsort, træets fugtighed, forbrændingstemperaturen og ilttilgængeligheden under forbrændingsprocessen (6,7,4,8). Selvom udsættelsen for brænderøg i Danmark og i de øvrige skandinaviske lande langt fra kan sammenlignes med brænderøgsudsættelse i 3. verdenslandene, så er brændeovne populære varmekilder, og det er derfor forventeligt, at man i områder med mange brændeovne udsættes for en lang række forurenende stoffer.

## Menneskets luftveje

Menneskets øvre og nedre luftveje udgør tilsammen den største overflade, der udsættes for de stoffer, der findes i vores omgivende miljø. Luftvejene kommer dagligt i kontakt med ca. 10 m<sup>3</sup> luft og dermed også med den kemiske, fysiske og biologiske forurening, der findes i luften (9). Lungerne har udviklet et effektivt forsvarssystem, der indebærer en bred vifte af mekanismer, der er nødvendige for at fjerne inhalerede luftforureningskomponenter. Forsvarets effektivitet varierer dog, da mennesker har forskellig modstandskraft pga. arvelige forhold eller erhvervet sygdom. Luftvejseffekter er derfor helt centrale, når man skal undersøge

---

sundhedsmæssige konsekvenser af luftbårne forureningskomponenter.

Udsættelsen for brænderøg (også kaldet eksponeringens størrelse) er en funktion af både koncentrationen af de specifikke forurenende stoffer og den tid, hvor man udsættes for forureningen (10). Koncentrationen af brændeovnsforurenende stoffer i vores omgivende miljø kan variere meget både rumligt og tidsligt. Sandsynligheden for at menneskets sundhed påvirkes af udsættelsen afhænger af koncentrationen af de luftforurenende komponenter i folks indåndingszone (luften omkring næse og mund).

Udsættelsen for brænderøgens luftforurenende stoffer kan ske direkte via indånding, eller indirekte gennem fordøjelse af partikler, indtaget gennem munden, eller optaget via huden (11). Fra et helbredsmæssigt perspektiv er den primære eksponeringsvej indånding med deponering i næsehulen og i de øvre og nedre luftveje (12). Processen med clearing af partikler fra luftvejene kan fremkalde sekundære fysiologiske reaktioner, der omfatter hoste og betændelsestilstande (også kaldet inflammation) (13). Store partikler ( $PM_{10}$ ) deponeres primært i de øvre luftveje, hvorfra de fjernes relativt hurtigt på grund af fimrehårenes bevægelser, mens mindre inhalerbare partikler ( $PM_{2,5}$ ) typisk kan trænge dybere ned i lungerne (14) med mulighed for at forårsage et inflammatorisk respons (15,16,17,18). Partikeltoksicitet og aflejring i lungerne afhænger, foruden af størrelsen, af formen af partiklerne, partiklernes ladning, deres vandopløselighed samt menneskets vejrtrækningsmønstre (hyppighed og mængde) og de naturlige forsvars- og clearingsmekanismer (17).

### Brænderøgseksponering

Under normale forhold vil både lufttætte og ikke-lufttætte brændeovne bidrage til indendørs forurening (19,20,21), dog ikke i samme niveau som ældre, ikke-lufttætte eller forkert anvendte ovne (22). Hertil kommer den forurening, som frigives til det omgivne miljø ud gennem skorstenen. Desuden er en stor andel

af brænderøgspartikler så små, at de kan sive ind i huse fra den omgivende luft udenfor - selv gennem lukkede døre og vinduer. En undersøgelse foretaget af Pierson et al. viser, at brænderøgsforurening indendørs kan nå op på 70 % af det udendørs forureningsniveau, selv i husstande, hvor afbrænding finder sted (23). Naboer til brændeovne kan derfor uforvarende blive udsat for røgforurenede luft, hvormed brænderøg udgør en potentiel sundhedstrussel for pejse- og brændeovnsbrugere såvel som for deres naboer.

Opgørelser over udslippet af forurenende stoffer til atmosfæren har vist, at fyring med træ bidrager væsentligt til det danske udslip af partikler. En undersøgelse foretaget af DMU har vist, at brændeovne på vinterdage kan give samme niveau af partikelforurening, og dermed negative sundhedsvirkninger, som trafikken på stærkt trafikerede gader i København (24). Denne bekendtgørelse igangsatte og styrkede den offentlige og politiske opmærksomhed i forhold til de mulige negative virkninger af brænderøg på menneskers sundhed i Danmark.

For brænderøg er det væsentligt at skelne mellem de oftest meget høje eksponeringer i arbejdsmiljøet (f.eks. brandmænd) og miljøeksponeringer - de niveauer af brænderøg, som findes i vores omgivende miljø og som den almene befolkning udsættes for. Endvidere er det også vigtigt at skelne mellem de ekstremt høje og vedvarende eksponeringer, der opleves i 3. verdenslande, hvor afbrænding af træ anvendes i forbindelse med madlavning og opvarmning i boliger med begrænset eller ingen udluftning, og periodiske kortvarige eksponeringer, der f.eks. kan forekomme i et villa-kvarter med brændeovne i Danmark. Brænderøgsproblematikken har tilbagevendende stor både politisk og offentlig bevågenhed, i særdeleshed i vinterhalvåret, hvor naboer til brændeovnsbrugere føler sig særligt generede af brænderøgen. Niveauerne af brænderøg, der er anvendt i de humane eksponeringsundersøgelser, der beskrives i denne artikel, svarer groft til de brænderøgseksponeringer, som man

	Enhed	Gøteborg	Umeå	Aarhus
<b>Temperatur</b>	°C	23	21-24	23
<b>Relativ fugtighed</b>	%	35	20-50	33 (lav) 32 (høj)
<b>Forsøgsdeltagere</b>	# Gennemsnitsalder Range	13 raske 34 20-56	19 raske 24 21-31	20 atopikere 25 19-55
<b>Eksponeringsvarighed</b>	Timer	4	3	3
<b>Aktivitet</b>		2x25 min aktivitet	15 min hvile 15 min aktivitet	Hvile
<b>Luftskifte</b>	Pr time	1.6-2.0	10	
<b>Forbrændingsbetingelser</b>		Optimal	Lav ilttilførsel Lav temperatur	Optimal
<b>Den tilstræbte eksponering</b>	µg/m <sup>3</sup>	250	250	200 (lav) 400 (høj)
<b>PM2.5 (stationær)</b>	µg/m <sup>3</sup>	241 280 (to sessioner)	224±22	222±23 (lav) 385±163 (høj)
<b>CO</b>	Ppm	13 9.1	5-15	9.6 (lav) 17.4 (høj)
<b>Partikel # konc.</b>	10 <sup>4</sup> /cm <sup>3</sup>	18 95	6.7±0.9	2.9 (lav) 7.1 (høj)
<b>Brændeovnstype</b>		Støbejerns brændeovn	Træ pillefyr	Støbejerns brændeovn
<b>Træ type</b>		Birke-/grantræ (50/50)	Fyre-/grantræ Træpiller af savsmuld	Bøgetræ
<b>Træets fugtighed</b>	%	15-18	18	16-20
<b>Ældning af røggassen</b>		Nej	Nej	Ja
<b>Levoglucosan</b>	µg/m <sup>3</sup>			1.2 (lav) 2.7 (høj)

Tabel 1. Tabellen sammenfatter forskelle i design, metode, eksponering på tværs af de tre humane eksponeringsforsøg.

vil kunne opleve i beboelsesområder, hvor mange anvender brændeovne.

### Epidemiologisk evidens

Epidemiologiske undersøgelser er informative med hensyn til sundhedsskadelige virkninger, både for individet og for den almene befolkning, da de omfatter real-life situationer og eksponeringer. Udfordringen i epidemiologiske undersøgelser er dog at vurdere, hvor stor en effekt kan være, og hvilke specifikke forurenende stoffer eller komplekse blandinger af

forurenende stoffer en observeret helbreds-effekt kan tilskrives (25).

Flere forskere har gennemgået og drøftet forholdet mellem brænderøg og folkesundhed (26,27,1,23,2). Negative helbreds-konsekvenser af forbrænding af biomasse er i epidemiologiske studier blevet påvist ved den højere forekomst af luftvejssymptomer og luftvejsrelaterede hospitalsindlæggelser blandt befolkningerne i områder med høj brænderøgsforurening (26).

---

Brænderøg omfatter irriterende og giftige komponenter, som kan forårsage symptomer i ellers raske mennesker (23). Mennesker, der udsættes for brænderøg, inkl. luftforurenende stoffer, kan endvidere opleve almene symptomer såsom øjen-, hals- og næseirritation, vejrtrækningsbesvær, hoste og hovedpine (28,29,30). Øget ubehag og nedsat trivsel kan med høj sandsynlighed være naturlige konsekvenser af disse symptomer og resultere i en stigning i lægebesøg, hospitalsindlæggelser og udskrivning af receptpligtig medicin (31).

Luftforurening kan desuden føre til forværring eller udvikling af luftvejssymptomer og sygdomme (32). Adskillige videnskabelige undersøgelser har relateret partikelforurening til en række luftvejssygdomme, som f.eks. øget forekomst af respiratoriske symptomer, lungeinfektioner såsom akut lungebetændelse (33,34), ændringer i lungefunktion (35,36,37), forværrede tilfælde af astma og bronkitis (38,39,40,41,42), og udvikling af kronisk obstruktiv lungesygdom (KOL) (43,44,47). Selv lungekræft er blevet foreslået at kunne relateres til brænderøgseksponering (45,46).

Mens brænderøg potentielt kan skade os alle, er det især til skade for særligt udsatte grupper som ældre, børn, gravide kvinder og deres ufødte børn (48,49,50,2). På samme måde kan mennesker med svækket immunforsvar, mennesker med hjerte- eller luftvejssygdomme være særligt følsomme overfor luftforurenende stoffer (51,16,18,52,53).

### Kontrollerede humane eksponeringsforsøg

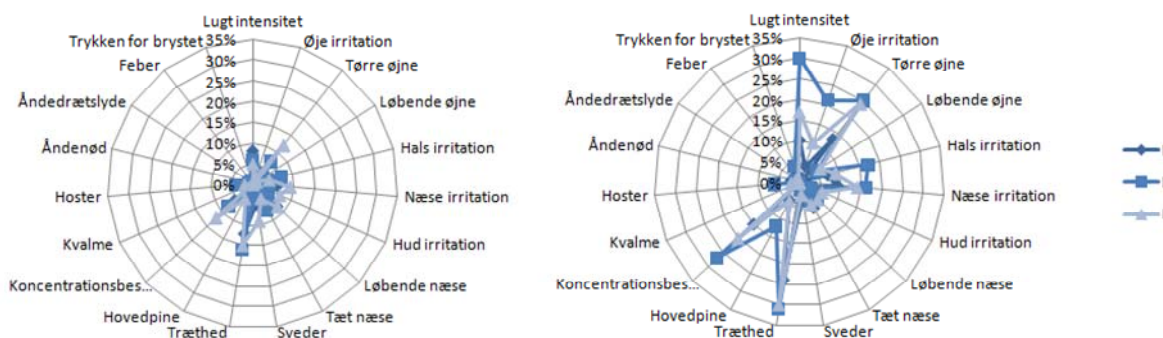
Kontrollerede humane eksponeringsstudier er forsøg, hvor deltagerne er placeret i et testkammer, hvor udvalgte forureningskomponenter eller blandinger tilføres (54). Af både praktiske og etiske grunde har kontrollerede humane eksponeringsundersøgelser en række væsentlige begrænsninger. Undersøgelserne er oftest begrænset til få deltagere, eksponeringerne oftest kortvarige og koncentrationerne af de forurenende komponenter relativt lave, så der kun kan forventes milde og forbigående reaktioner hos deltagerne. Endelig er det ikke mu-

ligt at forudsige, om akutte forbigående reaktioner på sigt kan udvikle sig til kroniske helbredseffekter (55).

Hidtil er der gennemført to svenske eksponeringsstudier; det første i Göteborg (56) og det andet i Umeå (57), samt et dansk studie gennemført i Aarhus (58). I tabel 1 er forskellene i betingelserne omkring de 3 forsøg samlet.

I forsøget fra Göteborg fandt man ingen ændringer i de målte lungefunktionsparametre. De subjektive symptomer var generelt svage. Øjenirritation blev rapporteret for 10 af de 13 forsøgsdeltagere, mens næseirritation kun rapporteredes hos 5 af de 13 deltagere (59). De observerede stigninger af NO (FENO) i udåndingsluften, serum Clara Cell 16 (S-CC16) og af malondialdehyd i opsamlet udåndingskondensat (kondenseret udåndingsluft) antyder, at brænderøgseksponering kan påvirke luftvejene (60). Endvidere fandtes tegn på systemisk inflammation gennem ændrede niveauer af koagulationsmarkører i blodet med stigning af serum amyloid (SAA), faktor VIII, og i ratioen mellem faktor VIII og von Willebrandt faktor (VIII/vWf), stigning i 8-iso-prostaglandin F<sub>2α</sub>, (8-iso-PGF<sub>2α</sub>) i urinen (60), samt ændringer i mængden af DNA skader og reparationer (61). Sammenfattende peger resultaterne fra dette forsøg på, at brænderøgseksponering kan forårsage forbigående luftvejsinflammation og systemiske inflammatoriske effekter hos raske mennesker.

I forsøget fra Umeå observeredes ingen signifikante ændringer i lungefunktionsparametre (VC, FVC eller for FEV<sub>1</sub>). Der sås heller ingen ændringer i mængden af udåndet NO (FENO). Forsøgsdeltagerne rapporterede en stigning i slimhindeirritationer (i både næse og svælg) under eksponeringen. En relativt stor andel af deltagerne (7-10 ud af 19) rapporterede ingen symptomer under brænderøgseksponeringen. Der fandtes intet akut inflammatorisk luftvejsrespons, men en stigning i glutathione (GSH) koncentrationen i bronchoalveolar lavage (BAL). Konklusionen på dette studie indikerer, at brænderøgseksponering, svarende til niveauet anvendt i dette forsøg, er relativt



Figur 1 viser udvalgte symptomer ratede på en 100 % VAS skala. I figuren til venstre ses registreringerne ved baseline, mens figuren til højre viser registreringerne efter 3½ times eksponering for henholdsvis ren luft samt for de to niveauer af brænderøg "Lav" og "Høj".

harmløs, da ingen signifikante inflammatoriske responser eller ændringer i antioxidantniveauet blev fundet (57).

Resultaterne vedrørende luftvejseffekterne fra forsøget i Aarhus er fortsat i publikationsfasen og kan derfor ikke afrapporteres her. Resultaterne peger meget i samme retning som ovenstående fund med få eller ingen signifikante ændringer i luftvejsmålingerne eller inflammationsniveauet. I dette forsøg blev udvalgte symptomer afrapporteret og ratet henholdsvis ved baseline og efter 3½ times eksponering. Symptomerne blev ratet på en skala fra 0-100 %. Af figur 1 fremgår det tydeligt, at de respiratoriske symptomer som "Åndedrætslyde", "Åndenød" og "Hoste" er upåvirkede af eksponeringen, mens især øjenirritation ses i tilknytning til brænderøgseksponeringen. Dette er i overensstemmelse med de to øvrige humane eksponeringsforsøg. For yderligere informationer om symptomafrapporteringen henvises til Riddervold et al, 2011 (58).

Fælles for de tre studier er, at forsøgsdeltagerne i samtlige studier følte, at lugten af brænderøg var særligt irriterende og generende, men at luftgenerne over tid blev mindre væsentlige. Alt i alt er der tegn på, at brænderøgseksponering baseret på humane eksponeringsforsøg kan have nogle sundhedsskadelige virkninger, og at disse kan variere i forhold til de mange

parametre, der kan ændres i indstillinger, når du udfører et eksperiment.

### Sammenfatning

Trods de relativt høje partikkelkoncentrationer, der blev anvendt i brænderøgseksponeringsstudierne, så er luftvejseffekterne yderst minimale eller helt udeblivende. De eksperimentelle undersøgelser af brænderøg viser ingen signifikante ændringer i lungefunktionsparametrene (60,57). Øget NO produktion har i nogle undersøgelser været rapporteret at stige ved høje niveauer af luftforurening (62). I studiet fra Gøteborg observeredes mild luftvejsinflammation med bl.a. en forøget mængde af FENO<sub>270</sub> 20 timer efter eksponering (60), hvorimod der i studiet fra Umeå ikke var effekt af brænderøgseksponeringen på NO produktionen (57). Symptomrapporteringen i de tre eksponeringsforsøg er overensstemmende, med få subjektivt afrapporterede symptomer med fokus på især irritation i øjne og næse (56,57,58).

Selvom målingerne for helbredseffekterne og eksponeringsbetingelserne ikke er direkte sammenlignelige i de tre kontrollerede eksponeringsstudier, så kunne ingen større effekt på luftvejene påvises i løbet af varigheden af brænderøgseksperimenterne, hverken for deltagere i hvile eller under let motion. Sammenfattende viser resultaterne af de kontrollerede

---

eksponeringsstudier, at brænderøgseksponering af omfang og varighed anvendt i studierne, ikke har nogen alvorlige akutte toksiske virkninger, som f.eks. ændringer i lungefunktionen. Fundene tyder dog på, at udsættelsen af raske frivillige for brænderøg kan associeres både til mild luftvejsinflammation og forårsage tegn på systemiske inflammatoriske effekter.

Effekter ved længerevarende brænderøgseksponering eller efter samtidig intens motion kan dog ikke udelukkes med erfaringerne fra disse 3 forsøg. Det er derfor hensigtsmæssigt, at der fortsat arbejdes med metoder til reduktion af brænderøgsforureningen, således at selv de særligt udsatte grupper varetages.

Generelt kan den sundhedsmæssige risiko ved brænderøg i Danmark anses for at være relativt lille i forhold til ekstreme indendørs brænderøgseksponeringer i udviklingslandene, så længe røgen er blandet med masser af udedørs luft. Men røg fra afbrænding af affald og træ kan stadig være skadeligt, hvis røgen akkumuleres nær boliger, og yderligere sårbare grupper kan have større risiko for helbreds-effekter ved eksponering end raske individer. Ud fra gennemgangen af ovenstående litteratur konkluderes det, at kortvarig udsættelse for brænderøg på et niveau, der findes i det udendørs miljø, i boligområder med høj koncentration af brændeovne, kun fremkalder milde symptomer, svag slimhindeirritation og en forbigående inflammatorisk tilstand.

Yderligere oplysninger:

Ingunn Riddersvold

[isri@mil.au.dk](mailto:isri@mil.au.dk)

## Referencer

1. Naeher LP, Brauer M, Lipsett M, Zelikoff JT, Simpson CD, Koenig JQ et al. *Woodsmoke health effects: A review*. *Inhal Toxicol* 2007; 19(1):67-106.
2. Zelikoff JT, Chen LC, Cohen MD, Schlesinger RB. *The toxicology of inhaled woodsmoke*. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2002;5(3): 269-82.
3. Boleij JS, Brunekreef B. *Domestic pollution as a factor causing respiratory health effects*. *Chest* 1989;96(3 Suppl):368S-72S.
4. McDonald JD, Zielinska B, Fujita EM, Sagebiel JC, Chow JC, Watson JG. *Fine particle and gaseous emission rates from residential wood combustion*. *Environ Sci Technol* 2000;34(11):2080-91.
5. Morandi MT, Ward TJ, Risk Assessment Workgroup. *Wood smoke risk assessment: Defining the questions*. *Inhal Toxicol* 2010; 22(2):94-8.
6. Johansson LS, Leckner B, Gustavsson L, Cooper D, Tullin C, Potter A. *Emission characteristics of modern and old-type residential boilers fired with wood logs and wood pellets*. *Atmos Environ* 2004;38(25):4183-95.
7. Kocbach Bolling A, Pagels J, Yttri KE, Barregard L, Sallsten G, Schwarze PE et al. *Health effects of residential wood smoke particles: The importance of combustion conditions and physicochemical particle properties*. *Part Fibre Toxicol* 2009;6:29.
8. Ries FJ, Marshall JD, Brauer M. *Intake fraction of urban wood smoke*. *Environ Sci Technol* 2009;43(13):4701-6.
9. Sigsgaard T, Loft S. *Kap. om Luftforurening*. I: Bonde JP, Rasmussen K, Sigsgaard T (red.). *Miljø- og arbejdsmedicin*, 3. Udgave, 2010.
10. Torres-Duque C, Maldonado D, Perez-Padilla R, Ezzati M, Viegi G, Forum of International Respiratory Studies (FIRS) Task Force on Health Effects of Biomass Exposure. *Biomass fuels and respiratory diseases: A review of the evidence*. *Proc Am Thorac Soc* 2008;5(5):577-90.
11. Moller P, Jacobsen NR, Folkmann JK, Danielsen PH, Mikkelsen L, Hemmingsen JG et al. *Role of oxidative damage in toxicity of particulates*. *Free Radic Res* 2010;44(1):1-46.
12. Holgate ST, Samet JM, Koren HS, Maynard RL, eds. *Air Pollution and Health*. Great Britain by the University Printing House, Cambridge, 1999. Academic press.

- 
13. Lighty JS, Veranth JM, Sarofim AF. *Combustion aerosols: Factors governing their size and composition and implications to human health*. J Air Waste Manag Assoc 2000; 50(9):1565-618; discussion 1619-22.
  14. Nemmar A, Delaunois A, Nemery B, Dessy-Doize C, Beckers JF, Sulon J et al. *Inflammatory effect of intratracheal instillation of ultrafine particles in the rabbit: Role of C-fiber and mast cells*. Toxicol Appl Pharmacol 1999;160(3):250-61.
  15. Nemmar A, Nemery B, Hoylaerts MF, Vermeylen J. *Air pollution and thrombosis: An experimental approach*. Pathophysiol Haemost Thromb 2002;32(5-6):349-50.
  16. Oberdorster G. *Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles*. Inhal Toxicol 1996;8 Suppl:73-89.
  17. Oberdorster G, Ferin J, Lehnert BE. *Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury*. Environ Health Perspect 1994;102 Suppl 5:173-9.
  18. Oberdorster G, Finkelstein J, Ferin J, Godleski J, Chang LY, Gelein R et al. *Ultrafine particles as a potential environmental health hazard. studies with model particles*. Chest 1996;109(3 Suppl):68S-9S.
  19. Lao YJ. *Particulate emissions from wood stoves in a residential area*. J Environ Health (United States) 1983;46(3).
  20. Sexton K, Liu KS, Treitman RD, Spengler JD, Turner WA. *Characterization of indoor air quality in wood-burning residences*. Environ Int 1986;12(1-4):265-78.
  21. Traynor GW, Apte MG, Carruthers AR, Dillworth JF, Grimsrud DT, Gundel LA. *Indoor air pollution due to emissions from wood-burning stoves*. Environ Sci Technol 1987;21(7):691-7.
  22. Larson TV, Koenig JQ. *Wood smoke: Emissions and noncancer respiratory effects*. Annu Rev Public Health 1994;15:133-56.
  23. Pierson WE, Koenig JQ, Bardana EJ, Jr. *Potential adverse health effects of wood smoke*. West J Med 1989;151(3):339-42.
  24. Glasius M, Ketzel M, Wählin P, Jensen B, Mønster J, Berkowicz R et al. *Impact of wood combustion on particle levels in a residential area in Denmark*. Atmos Environ 2006;40(37): 7115-24.
  25. Hester RE, Harrison RM. *Air Pollution and Health*. The Royal Society of Chemistry, 1998.
  26. Boman BC, Forsberg AB, Jarvholm BG. *Adverse health effects from ambient air pollution in relation to residential wood combustion in modern society*. Scand J Work Environ Health 2003;29(4):251-60.
  27. Boman C, Forsberg B, Sandstrom T. *Shedding new light on wood smoke: A risk factor for respiratory health*. Eur Respir J 2006;27(3): 446-7.
  28. Behera D, Jindal SK. *Respiratory symptoms in indian women using domestic cooking fuels*. Chest 1991;100(2):385-8.
  29. Hinwood AL, Trout M, Murby J, Barton C, Symons B. *Assessing urinary levoglucosan and methoxyphenols as biomarkers for use in woodsmoke exposure studies*. Sci Total Environ 2008;402(1):139-46.
  30. Honicky RE, Osborne JS, 3rd, Akpom CA. *Symptoms of respiratory illness in young children and the use of wood-burning stoves for indoor heating*. Pediatrics 1985;75(3):587-93.
  31. Schreuder AB, Larson TV, Sheppard L, Claiborn CS. *Ambient woodsmoke and associated respiratory emergency department visits in Spokane, Washington*. Int J Occup Environ Health 2006;12(2):147-53.
  32. Viegi G, Simoni M, Scognamiglio A, Baldacci S, Pistelli F, Carrozzi L et al. *Indoor air pollution and airway disease*. Int J Tuberc Lung Dis 2004;8(12):1401-15.
  33. Berman S. *Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries*. Rev Infect Dis 1991;13 Suppl 6:S454-62.
  34. Ellegard A. *Cooking fuel smoke and respiratory symptoms among women in low-income areas in maputo*. Environ Health Perspect 1996;104(9):980-5.
-

- 
35. Allen RW, Mar T, Koenig J, Liu LJ, Gould T, Simpson C et al. *Changes in lung function and airway inflammation among asthmatic children residing in a woodsmoke-impacted urban area.* *Inhal Toxicol* 2008;20(4):423-33.
  36. Dassen W, Brunekreef B, Hoek G, Hofschreuder P, Staatsen B, de Groot H et al. *Decline in children's pulmonary function during an air pollution episode.* *J Air Pollut Control Assoc* 1986;36(11):1223-7.
  37. Dockery DW, Ware JH, Ferris BG, Jr, Speizer FE, Cook NR, Herman SM. *Change in pulmonary function in children associated with air pollution episodes.* *J Air Pollut Control Assoc* 1982;32(9):937-42.
  38. Albalak R, Frisancho AR, Keeler GJ. *Domestic biomass fuel combustion and chronic bronchitis in two rural bolivian villages.* *Thorax* 1999;54(11):1004-8.
  39. Mishra V. *Effect of indoor air pollution from biomass combustion on prevalence of asthma in the elderly.* *Environ Health Perspect* 2003; 111(1):71-8.
  40. Moran-Mendoza O, Perez-Padilla JR, Salazar-Flores M, Vazquez-Alfaro F. *Wood smoke-associated lung disease: A clinical, functional, radiological and pathological description.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2008;12(9):1092-8.
  41. Perez-Padilla R, Regalado J, Vedal S, Pare P, Chapela R, Sansores R et al. *Exposure to biomass smoke and chronic airway disease in mexican women. A case-control study.* *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154(3 Pt 1):701-6.
  42. Schei MA, Hessen JO, Smith KR, Bruce N, McCracken J, Lopez V. *Childhood asthma and indoor woodsmoke from cooking in guatemala.* *J Expo Anal Environ Epidemiol* 2004;14 Suppl 1:S110-7.
  43. Dennis RJ, Maldonado D, Norman S, Baena E, Castano H, Martinez G et al. *Wood smoke exposure and risk for obstructive airways disease among women.* *Chest* 1996;109(3 Suppl):55S-6S.
  44. Orozco-Levi M, Garcia-Aymerich J, Villar J, Ramirez-Sarmiento A, Anto JM, Gea J. *Wood smoke exposure and risk of chronic obstructive pulmonary disease.* *Eur Respir J* 2006;27(3): 542-6.
  45. Delgado J, Martinez LM, Sanchez TT, Ramirez A, Iturria C, Gonzalez-Avila G. *Lung cancer pathogenesis associated with wood smoke exposure.* *Chest* 2005;128(1):124-31.
  46. Hernandez-Garduno E, Brauer M, Perez-Neria J, Vedal S. *Wood smoke exposure and lung adenocarcinoma in non-smoking mexican women.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8(3):377-83.
  47. Sandoval J, Salas J, Martinez-Guerra ML, Gomez A, Martinez C, Portales A et al. *Pulmonary arterial hypertension and cor pulmonale associated with chronic domestic woodsmoke inhalation.* *Chest* 1993;103(1):12-20.
  48. Delfino RJ, Staimer N, Gillen D, Tjoa T, Sioutas C, Fung K et al. *Personal and ambient air pollution is associated with increased exhaled nitric oxide in children with asthma.* *Environ Health Perspect* 2006;114(11):1736-43.
  49. Mar TF, Larson TV, Stier RA, Claiborn C, Koenig JQ. *An analysis of the association between respiratory symptoms in subjects with asthma and daily air pollution in Spokane, Washington.* *Inhal Toxicol* 2004;16(13):809-15.
  50. Sandstrom T, Cassee FR, Salonen R, Dybing E. *Recent outcomes in european multicentre projects on ambient particulate air pollution.* *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;207(2 Suppl): 261-8.
  51. Koenig JQ, Larson TV, Hanley QS, Rebolledo V, Dumler K, Checkoway H et al. *Pulmonary function changes in children associated with fine particulate matter.* *Environ Res* 1993; 63(1):26-38.
  52. Ostro BD, Lipsett MJ, Mann JK, Wiener MB, Selner J. *Indoor air pollution and asthma. results from a panel study.* *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149(6):1400-6.
-



- 
53. Pietropaoli AP, Frampton MW, Hyde RW, Morrow PE, Oberdorster G, Cox C et al. *Pulmonary function, diffusing capacity, and inflammation in healthy and asthmatic subjects exposed to ultrafine particles*. *Inhal Toxicol* 2004;16 Suppl 1:59-72.
54. Huang YC, Ghio AJ. *Controlled human exposures to ambient pollutant particles in susceptible populations*. *Environ Health* 2009;8:33.
55. Utell MJ, Frampton MW. *Toxicologic methods: Controlled human exposures*. *Environ Health Perspect* 2000;108 Suppl 4:605-13.
56. Barregard L, Sallsten G, Andersson L, Almstrand AC, Gustafson P, Andersson M et al. *Experimental exposure to wood smoke: Effects on airway inflammation and oxidative stress*. *Occup Environ Med* 2008;65(5):319-24.
57. Sehlstedt M, Dove R, Boman C, Pagels J, Swietlicki E, Löndahl J et al. *Antioxidant airway responses following experimental exposure to wood smoke in man*. *Particle and Fibre Toxicology* 2010;7:21.
58. Riddervold IS, Bonlokke JH, Molhave L, Massling A, Jensen B, Gronborg TK et al. *Wood smoke in a controlled exposure experiment with human volunteers*. *Inhal Toxicol* 2011;23(5):277-88.
59. Sallsten G, Gustafson P, Johansson L, Johannesson S, Molnar P, Strandberg B et al. *Experimental wood smoke exposure in humans*. *Inhal Toxicol* 2006;18(11):855-64.
60. Barregard L, Sallsten G, Gustafson P, Andersson L, Johansson L, Basu S et al. *Experimental exposure to wood-smoke particles in healthy humans: Effects on markers of inflammation, coagulation, and lipid peroxidation*. *Inhal Toxicol* 2006;18(11):845-53.
61. Danielsen PH, Brauner EV, Barregard L, Sallsten G, Wallin M, Olinski R et al. *Oxidatively damaged DNA and its repair after experimental exposure to wood smoke in healthy humans*. *Mutat Res* 2008;642(1-2):37-42.
62. Jansen KL, Larson TV, Koenig JQ, Mar TF, Fields C, Stewart J et al. *Associations between health effects and particulate matter and black carbon in subjects with respiratory disease*. *Environ Health Perspect* 2005;113(12):1741-6.
-

---

## Effekter af brænderøgspartikler på hjertekarsystemet - resume af et ph.d.-projekt

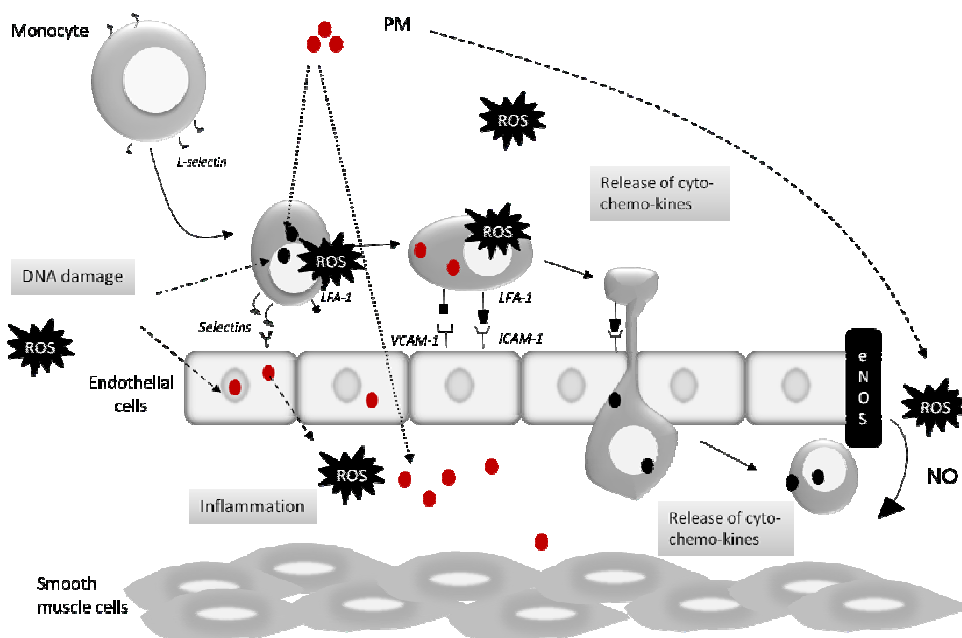
*Af Lykke Forchhammer, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet*

---

Gennem det sidste årti er antallet af brændeovne i Danmark steget markant. I områder med mange brændeovne, som f.eks. villakvarterer, viser nyere undersøgelser, at indholdet af partikulær luftforurening i vinterhalvåret er forhøjet, især i stille og koldt vejr. De relaterede helbredseffekter af brænderøgspartikler er meget mindre undersøgt end trafikrelaterede partikler, selvom brænderøgspartikler mistænkes for at fremkalde den samme type sundhedsskadelige effekter. I særdeleshed er den kardiovaskulære effekt, som vi kender fra trafikrelaterede partikler, ikke undersøgt for brænderøgspartikler. Der er derfor en stigende bekymring for at der er en sammenhæng mellem de sundhedsskadelige virkninger, som vi

ser i dag, og den øgede eksponering for brænderøgspartikler.

Den toksikologiske virkningsmekanisme for partikler er i høj grad relateret til inflammation og oxidativt stress, hvilket kan resultere i dannelsen af oxidativt skadet DNA, der kan føre til tidlige stadier i udviklingen af kræft. Udsættelse for partikler øger derudover risikoen for hjertekarsygdomme via inflammation og endotel dysfunktion, hovedsageligt via oxidativt stress. Effekterne kan være alvorlige for personer med risikofaktorer for hjertekarsygdomme og f.eks. astmatikere og atopikere. Figur 1 viser sammenhængen mellem udsættelse for partikler, oxidativt stress, inflammation og udvikling af endotel funktionsforandringer.



Figur 1. Foreslåede virkningsmekanismer for monocytadhæsjon og transmigrasjon samt endotelfunktion i form af NO frigørelse til bl.a. afslapning af karmuskulaturen. Partikler (PM) tænkes direkte, via reaktive iltforbindelser (ROS) og/eller via aktivering af inflammation at øge adhæsjon af leukocytter til endotelet, fremme inflammation i karvæggen og nedsætte endotelfunktionen (1).



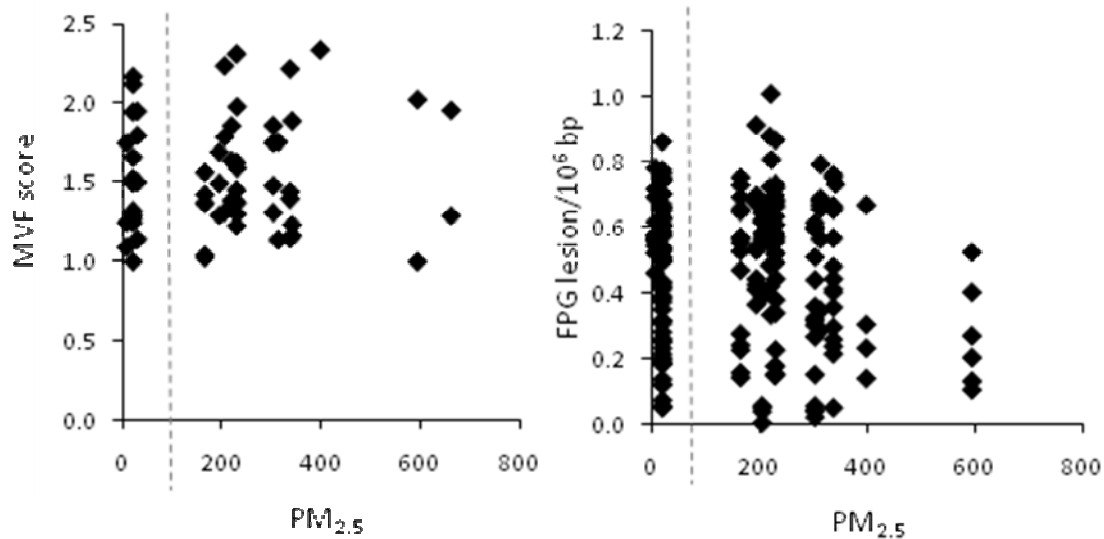
Figur 2. Billeder af brændeovnen, kammeret og endotelfunktions målingerne. Foto Ingunn S Riddervold.

I et samarbejde med Aarhus Universitet, gennemførte vi et kontrolleret humant eksponeringsforsøg, hvor 20 atopiske forsøgspersoner blev udsat for forskellige koncentrationer af brænderøgspartikler; ren luft, en lav dosis (ca.  $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) og en høj dosis (ca.  $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) (2). Markører for oksidativt stress, DNA skader og inflammation blev målt i mononukleære blodceller. DNA skaderne blev målt som strengbrud og oksiderede puriner i DNA ved hjælp af reparationsenzymet i comet assay. Der er en metode, der benytter enkeltcellegel-elektroforese, hvor DNA vandrer ved mange strengbrud. Denne metode blev grundigt valideret i et meget stort intereuropæisk samarbejde ledet af vores afdeling (3,4), således at vi har meget troværdige resultater. Endotelfunktionen blev målt som flow-medierede tonusændringer i fingrenes arterier. Denne metode til måling af endotelfunktion er ikke invasiv og derfor velegnet til feltstudier. Figur 2 viser brændeovnen, kammeret og forskellige situationer, hvor pneumatiske sensorer er placeret på fingerspidser og måler flow-medieret dilatation af perifere blodkar. Vi fandt ingen statistisk signifikant effekt af eksponeringen på nogle af markørerne (figur 3). De atopiske forsøgspersoner viste sig at have en væsentlig lavere endotelfunktion end hvad vi ser hos ikke-atopikere. Det er derfor muligt, at det er vanskeligt at måle en påvirkning af endotelfunktionen hos atopikere.

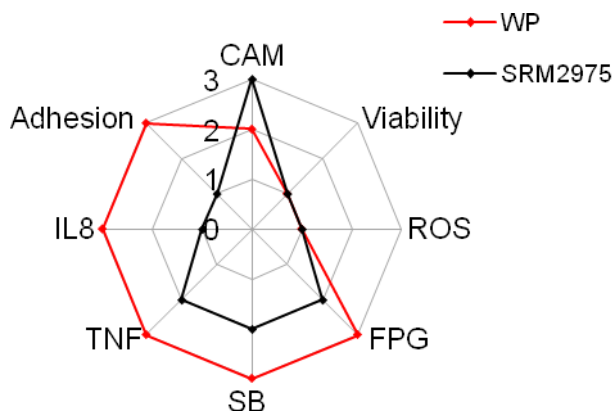
De samlede data fra dette studie, et tidligere gennemført lignende forsøg udført i samarbejde med Gøteborgs Universitet (se resume

af ph.d.-projekt fra Pernille Danielsen) (5) og et tilsvarende forsøg fra Umeå Universitet (6) peger på, at kortvarig eksponering for brænderøgspartikler har begrænset effekt hos yngre mennesker.

I celleforsøg med monocytter og endotelceller undersøgte vi virkningen af brænderøgspartikler fra forbrænding med lav iltforsyning. Vi sammenlignede effekten med Standard Reference Materiale 2975, som er en type dieseludstødningspartikler med velkarakteriserede kemiske og fysiske egenskaber. Vi fandt ingen effekt på den intracellulære produktion af reaktive oxygenforbindelser (ROS) ved udsættelse for begge typer partikler, selvom begge kunne inducere ROS uden tilstedeværelse af celler. Alligevel fandt vi ved eksponering med høje niveauer DNA skader i form af både DNA strengbrud og oksideret guanin, med størst effekt af brænderøgspartikler. Begge partikler inducerede, ved relativt høje koncentrationer, en signifikant opregulering af celleadhæsionsmolekylet VCAM-1, der binder monocytter til karvæggen som et vigtigt led i udviklingen af atherosclerose. I forsøg med co-kulturer fandt vi, at monocytter bandt sig til endotelcellerne efter eksponering for brænderøgspartikler, men ikke ved dieseludstødningspartikler. Det passer med at monocytterne blev mere inflammatorisk aktiverede med genudtryk af interleukin-8 (IL8) og tumornekrose faktor alfa (TNF) af brænderøgspartiklerne end af dieseludstødningspartikler. Resultaterne fra cellekulturforsøgene er opsummeret i figur 4.



Figur 3. Endotelfunktion (MVF score) og oxidativt skadet DNA lesioner (FPG lesions/10<sup>6</sup> bp) korreleret til PM<sub>2.5</sub>. Den stiplede linje markerer eksponering for ren luft vs. lav og høj dosis (1).



Figur 4. Opsummering af de målte effekter i celleforsøgene ved eksponering for brænderøg (WP) og diesel (SRM2975). Radarplottet læses som; ekspresion af ICAM-1 og VCAM-1 (CAM), viabilitet efter eksponering, Dannelse af ROS (ROS), FPG sensitive sites (FPG), SB, ekspresion af inflammationsmarkørerne IL8 og TNF, samt adhæsi on af monocytter til endotelet. Værdien 2 og 3 indikerer signifikante forskelle mellem de to forskellige partikeltyper (1).

---

Vi viste, at brænderøspartikler kan opregulere VCAM-1 ekspressionen på endotelceller samtidig med en tilsvarende opregulering af inflammation på monocytter med mulig progression af atherosclerose med DNA-skade til følge. Disse virkninger er i celleforsøg stærkere per gram brænderøspartikel end for dieseludstødningspartikler.

Sammenholdt indikerer disse studier, at selv om brænderøspartikler ved høje koncentrationer er i stand til at udløse vigtige negative effekter på karfunktionen og DNA skadeniveauet i celleforsøg, ser det ud til, ved akut eksponering af mennesker, at have en mindre skadelig effekt sammenlignet med tilsvarende mængder udstødningspartikler.

### Taksigelser

Ph.d.-projektet og det eksperimentelle arbejde har været støttet af et stipendium fra Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet ved Københavns Universitet, Det Strategiske Forskningsråd gennem det tværfaglige projekt HIPWOODS, det tværfaglige forskningsrådsprojekt AIRPOLIFE, Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter samt ECNIS (Environmental Cancer Risk, Nutrition and Individual Susceptibility – a Network of Excellence operating within the European Union 6th Framework Program).

Ph.d.-projektet har været baseret på et meget stort samarbejde med Miljø- og Arbejdsmedicinsk Afdeling, Aarhus Universitet, Danmarks Miljøundersøgelser, Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø, Oslo Universitet, Karolinska Institutet i Stockholm, Leicester og Leeds Universiteter samt Institute for Cancer Research i Sutton i England, Milano Universitet, Maastricht Universitet, National Institute of Health i Porto i Portugal, Nofer Institute for Occupational Medicine i Lodz, Polen, samt Institute for Scientific Interchange Foundation i Torino, Italien.

Yderligere information:

Lykke Forchhammer

[lyfo@sund.ku.dk](mailto:lyfo@sund.ku.dk)

### Referencer

1. Forchhammer L. Cardiovascular and related health effects of wood smoke particles. Ph.d.-afhandling. Københavns Universitet. 2011.
2. Riddervold IS, Bønløkke JH, Mølhav L, Massling A, Jensen B, Gronborg TK, Bossi R, Forchhammer L, Kjaergaard SK, Sigsgaard T. *Wood smoke in a controlled exposure experiment with human volunteers*. *Inhal Toxicol* 2011;23:277-88.
3. Forchhammer L, Johansson C, Loft S, Möller L, Godschalk RW, Langie SA, Jones GD, Kwok RW, Collins AR, Azqueta A, Phillips DH, Sozeri O, Stepnik M, Palus J, Vogel U, Wallin H, Routledge MN, Handforth C, Allione A, Matullo G, Teixeira JP, Costa S, Riso P, Porrini M, Møller P. *Variation in the measurement of DNA damage by comet assay measured by the ECVAG inter-laboratory validation trial*. *Mutagenesis* 2009;25:113-23.
4. Johansson C, Møller P, Forchhammer L, Loft S, Godschalk RW, Langie SA, Lumeij S, Jones GD, Kwok RW, Azqueta A, Phillips DH, Sozeri O, Routledge MN, Charlton AJ, Riso P, Porrini M, Allione A, Matullo G, Palus J, Stepnik M, Collins AR, Möller L. *An ECVAG trial on assessment of oxidative damage to DNA measured by the comet assay*. *Mutagenesis* 2009:125-32.
5. Danielsen PH, Brauner EV, Barregard L, Sallsten G, Wallin M, Olinski R, Rozalski R, Møller P, Loft S. *Oxidatively damaged DNA and its repair after experimental exposure to wood smoke in healthy humans*. *Mutat Res* 2008;642:37-42.
6. Sehlstedt M, Dove R, Boman C, Pagels J, Swietlicki E, Londahl J, Westerholm R, Bosson J, Barath S, Behndig AF, Pourazar J, Sandstrom T, Mudway IS, Blomberg A. *Antioxidant airway responses following experimental exposure to wood smoke in man*. *Part Fibre Toxicol* 2010;7:21.

---

# Helbredseffekter af organisk støv på flis- og halmfyrede kraftvarmeværker

Af Vivi Schläinssen<sup>1</sup>, Simon Skov<sup>2</sup>, Anne Mette Madsen<sup>3</sup>, Torben Sigsgaard<sup>1</sup>

---

## Introduktion

Verden over er der stigende fokus på udvikling og anvendelse af vedvarende energikilder. I Danmark er brugen af flis og halm på kraftvarmeværker steget betydeligt de sidste 20 år. I Energistyrelsens fremskrivning af Danmarks energiforbrug forudses, at procentdelen af brændselsforbruget til el- og fjernvarmeproduktion fra biomasse vil stige fra 14 % i 2010 til mere end 25 % i 2025 (1).

Under arbejde med flis og halm frigives organisk støv (bioaerosoler), som indeholder bl.a. endotoxin fra gramnegative bakteriers cellevæg og komponenter fra svampe som svampesporer, glucaner og hyferester (2). På kraftvarmeværker, der bruger flis eller halm som energikilde, er der tidligere målt støvkonzentrationer på samme niveau som på landbrug (3,4), savværker (5) og affaldssortering (6), hvor støvet har været associeret til luftvejs-symptomer og nedsat lungefunktion samt sygdomme som astma, KOL (kronisk obstruktiv lungesygdom) og både toksisk og allergisk alveolitis (7-11).

Flere kasuistikker har beskrevet luftvejs-sygdom blandt personer, der håndterede træflis (12-13), men så vidt vi ved, har ingen før undersøgt forekomsten af luftvejssymptomer og lungesygdom blandt ansatte på kraftvarmeværker, der bruger flis eller halm som energikilde. For at forebygge arbejdsmiljørelaterede gener og sygdomme er det vigtigt at få afdæk-

ket forekomsten af luftvejslidelser på området. Hvis antallet af biobrændselsværker øges, kan en sådan undersøgelse endvidere være vigtig for at forebygge fremtidige arbejdsmiljøproblemer.

## Materiale og metode

### *Deltagere*

Via Dansk Fjernvarmes medlemsliste blev alle kraftvarmeværker, der brugte flis eller halm som energikilde (herefter kaldt henholdsvis flis- og halmværker) identificeret og inviteret til at deltage i undersøgelsen. Af praktiske årsager blev værker, der lå i yderkanten af Danmark (f.eks. Læsø og Bornholm), kun inviteret til at deltage i en spørgeskemaundersøgelse, mens resten desuden fik tilbudt støvmåling og helbredsundersøgelse. Af 36 halmværker deltog 32, og 42 ud af 46 flisværker deltog. Alle personer, der var direkte involveret i den praktiske drift af værkerne, blev inkluderet. Mandskab, som kun arbejdede med det eksterne ledningsnet eller måleraflæsning deltog ikke. I alt deltog 138 flisarbejdere og 94 halmarbejdere (deltagelsesprocent 74 og 75), heraf 200 personer med kliniske undersøgelser og eksponeringsvurdering.

Som sammenligningsgrundlag blev der taget kontakt til en række gasfyrede værker samt 2 kulfyrede værker. Arbejdsopgaverne på referenceværkerne var stort set magen til biomasseværkerne på nær brændslet. Referenceværkerne var af praktiske grunde udvalgt, så de lå i nærheden af flis- og halmværkerne. Henvendelsen resulterede i 11 tilmeldte referenceværker og 108 undersøgte personer (deltagelsesprocent 59).

---

<sup>1</sup> Institut for Folkesundhed, Afdeling for Miljø- og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet.

<sup>2</sup> Skov og Landskab, Københavns Universitet.

<sup>3</sup> Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø, København.

### Måling af organisk støv

Luftbårent totalstøv blev opsamlet med 37 mm Millipore-kasette monteret med teflonfiltre og polycarbonat filtre (flow 2,0 l/min.), som blev opstillet i 1,5 meters højde i forskellige arbejdsområder. Der blev målt ca. 5 timer, og koncentrationerne blev udtrykt som tidsvægtede gennemsnit. Efter vejning af teflon filtrene blev de udvasket og ekstraktionsvæsken analyseredes for endotoxin efter den kinetiske metode (Limulus Amøbocyt Lysat (LAL) testen) med QCL Endotoxin kit fra BioWhittaker. Polycarbonatfiltrene blev benyttet til at måle antallet af dyrkbare svampe (CFU, colony forming units) herunder *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) på DG 18 agar plader.

På flisværkerne og 8 referenceværker blev måling af dyrkbare svampe på V8 agar plader foretaget med en Biap Slitsampler, hvor der blev målt 3 minutter ved et flow på 106 liter/minut.

Parallelt med målingerne registrerede deltagere deres arbejdsopgaver i 7 dage og noterede pr. dag, hvor mange minutter de brugte i f.eks. flis- eller halmmodtagelsen, på kontor eller i kedelhallen. Baseret på de stationære målinger udregnede vi en gennemsnitlig værdi for alle flis- eller halmmodtagelser, kedelhaller, kontorer m.m. for henholdsvis totalstøv ( $\text{mg}/\text{m}^3$ ), endotoxin ( $\text{EU}/\text{m}^3$ ), totalt antal dyrkbare svampe ( $\text{cfu}/\text{m}^3$ ) og antal dyrkbare *A. Fumigatus* ( $\text{cfu}/\text{m}^3$ ). Ved at koble disse gennemsnitsværdier til timeregistreringsskemaerne kunne vi for hver enkelt medarbejder udregne en individuel ugentlig gennemsnitsværdi for hver af de 4 eksponeringer. Ud fra støv-, *A. fumigatus*- og endotoxinniveau opdelte vi det samlede antal halm- og flisarbejdere i 3 lige store grupper. Medarbejdere på referenceværkerne blev brugt som referencegruppe i beregningerne.

### Helbredsundersøgelser

På de kraftvarmeværker, hvor der blev opsamlet støvprøver, gennemførte vi helbredsundersøgelser på de ansatte. Medarbejderne udfyldte et spørgeskema, og vi målte deres lungefunk-

tion. De fik lavet en uspecifik bronkial provokationstest (bronkial hyperreaktivitet, BHR), og priktest.

**Symptomer:** Efter udsættelse for organisk støv kan man udvikle *Toksisk alveolitis (TA)*. TA kommer typisk få timer efter indånding af organisk støv, og den viser sig som influenzalignende symptomer, der forsvinder efter 1-2 dage. Vi har her defineret TA symptomer som mindst 2 af symptomerne fra faktaboks 1 mere end én gang om måneden inden for det sidste år.

#### Faktaboks 1 Symptomer på TA - starter typisk få timer efter udsættelse for organisk støv

Hoste
Hovedpine
Utilpashed
Ualmindelig træthed
Koncentrationsbesvær
Feberanfald/kulderystelser
Ledsmerter
Muskelsmerter
Hjertebanken
Svimmelhed
Tab af appetit

*Næsesymptomer* blev defineret som mindst to næsesymptomer (løbende, kløende, tilstoppet næse, nyseture), mindst 2 dage/uge i perioder inden for de sidste 12 måneder.

*Øjensymptomer* definerede vi som mindst to øjensymptomer (løbende, kløende, sviende, hævede øjne), mindst 2 dage/uge i perioder inden for de sidste 12 måneder.

Kronisk bronkitis blev defineret som hoste og opspyt mindst 3 måneder/år i mindst 2 på hinanden følgende år (14).

Astma blev defineret som ja til spørgsmålet: »har du eller har du tidligere haft astma?«

Faktaboks 2 - Spørgsmål om astmasymptomer	
Gruppe A	Gruppe B
Har en læge fortalt dig, at du har eller har haft astma?	Har du haft trykken for brystet inden for de sidste 12 måneder?
Har du astma?	Vågner du af og til pga. trykken for brystet? (inden for de sidste 12 måneder)
Har du nogensinde haft astma?	Vågner du af og til om natten med pibende/hvæsende vejrtrækning?
Har du nogensinde haft pibende eller hvæsende vejrtrækning uden at være forkølet?	Hoster du sædvanligvis, når du vågner?
	Er du inden for de sidste 12 måneder blevet vækket af din søvn på grund af hoste?
	Har du oplevet, at tilstedeværelse af eller udsættelse for følgende ting har givet dig pibende eller hvæsende vejrtrækning:
	- kulde?
	- anstrengelse?
	- pollen?
	- dyr?
	Tager du medicin mod astma?

Astmasymptomer blev defineret som ja til mindst 1 gruppe A-spørgsmål og 2 gruppe-B spørgsmål eller ja til mindst 2 gruppe-A spørgsmål, se faktaboks 2 (15).

Arbejdsrelaterede næsesymptomer definerede vi som forværring af ét eller flere næsesymptomer på arbejde eller bedring i weekender eller ferier. Arbejdsrelaterede astmasymptomer definerede vi som forværring af astma/hvæsen på arbejde eller bedring i weekender eller ferier.

Lungefunktionstest blev udført med et MicroDL® spirometer forbundet til Spida software version 3. Testen blev udført i henhold til Det Europæiske Lungeselskabs retningslinjer (16). På baggrund af deltagernes køn, alder og højde udregnede vi forventede værdier af FEV1 (det forcerede ekspiratoriske volumen i første sekund) og FVC (den forcerede ventilatoriske vitalkapacitet) baseret på 2 danske normalmaterialer (15-17).

BHR blev målt som beskrevet af Yan et al (18) med kalibrerede De Vilbiss nebulisatorer (Sommerset PA, USA) forbundet til en ”kunstig hånd”, et simpelt trykluft-dosimeter, der producerer en trykimpuls lig et håndtryk (19). Der blev højst givet en kumuleret dosis på 2,24 mg metacholinbromid. Personer, hvis FEV1 faldt 20 % eller mere, blev defineret som værende BHR.

Vi foretog priktest (SPT) med standardmetode overfor et standardpanel af 10 almindelige inhalationsallergener (Soluprick®ALK). Standardpanelet indeholdt vortebirk (*Betula pendula syn. verrucosa*), engrottehale (*Phleum pratense*), gråbynke (*Artemisia vulgaris*), hesteskæl, hundehår, kattehår, 2 typer støvmider (*Derm. pteronyssinus* og *Derm. farinae*) og 2 skimmelsvampe (*Altenaria alternata* og *Cladosporium herbarum*). Desuden testede vi med 2 lagermider (*Tyrophagus putrescentia* og *Lepidoglyphus destructor*) og yderligere 3



skimmelsvampe (*A. fumigatus*, *Penicillium expansum* og *Penicillium notatum*). Personer med en nælde på over 3 mm i middeldiameter blev tolket som positive. Atopi blev defineret som mindst én positiv priktest.

#### Statistiske analyser

I de indledende analyser brugte vi simpel deskriptiv statistik. For at tage højde for mulige confoundere brugte vi derudover multivariate logistiske regressionsmodeller (symptomer) og multivariate lineære regressionsmodeller (lungfunktion) for at undersøge sammenhængen mellem organisk støveksposering og helbred. For støv og endotoxin opdelte vi halm- og flisarbejderne i 3 lige store grupper, som vi kaldte lavt, middel og højt eksponerede. For total antal dyrkbare svampe og *A. Fumigatus* opdelte vi henholdsvis flisarbejdere og halmarbejdere i 3 lige store grupper og kaldte dem lavt, middel og højt eksponerede. Alle modeller inkluderede rygning og atopi, derudover indgik alder og samtidig mikrobiel eksponering, hvis de ændrede estimatet mere end 20 %.

#### Resultater

De demografiske karakteristika for studiepopulationen opdelt på værktype viste ikke forskel på grupperne med hensyn til køn, rygning, alder, atopi eller sensibilisering for svampe (tabel 1). Kun ca. 2 % havde mindst én positiv

SPT overfor svampe. Medarbejdere på referenceværker havde stort set aldrig været ansat på et værk, der brugte biobrændsel.

På grund af det lave antal kvinder blev de ekskluderet i de videre analyser.

Det målte støvniveau på værkerne var lavt, median 0,10 mg/m<sup>3</sup>, uden sikker forskel mellem værktyperne. Endotoxin-niveauet var lavt på flisværker (median 6 EU/m<sup>3</sup>) sammenlignet med halmværker (median 82 EU/m<sup>3</sup>), men lavest på referenceværker (median 0,9 EU/m<sup>3</sup>). Svamperesultaterne er ikke sammenlignelige på grund af forskellig opsamlingsmetode. Medianen på flisværker var 730 og halmværker 6640 cfu/m<sup>3</sup> og for *A. fumigatus* var medianen på flisværker 288 og halmværker 2800 cfu/m<sup>3</sup>. Niveauet var klart forhøjet sammenlignet med referenceværkerne (svampe (slitsampler 283 og filter 56 cfu/m<sup>3</sup>); *A. fumigatus* (slitsampler 134 og filter n.d.).

Flisarbejdere havde en lavere gennemsnitlig individuel eksponering for støv (median 0,03 mg/m<sup>3</sup>) og endotoxin (median 1,7 EU/m<sup>3</sup>) sammenlignet med halmarbejdere (median henholdsvis 0,13 mg/m<sup>3</sup> og 74 EU/m<sup>3</sup>), og efter opdeling i 3 eksponeringsgrupper for endotoxin var der ingen flisarbejdere i den højeste eksponeringsgruppe (13 – 294 EU/m<sup>3</sup>), mens der var 60 halmarbejdere. Den samme tendens sås for støv.

Tabel 1. Demografiske karakteristika for studiepopulationen opdelt på type værk.

	Flisværk, n = 138	Halmværk, n = 94	Referenceværk, n = 107
Kvinde, %	3,6	5,3	3,7
Alder, middelværdi (SD)	47,7 (8,6)	45,9 (9,3)	48,1 (10,0)
Rygning, % <sup>+</sup>	39,9	28,7	31,8
Atopi, %	26,7	22,8	30,7
Sensibiliseret svampe <sup>++</sup> , %	2,7	1,3	2,3
Antal år på biobrændselværk, median (Interval)	5,5 (0 – 20)	7,0 (0 – 20)	0 (0 – 2)

+: Rygning defineret som aktuel ryger eller eksryger < 2 år. ++: Mindst én positiv SPT for *Penicillium expansum*, *Penicillium notatum*

Tabel 2. Prævalens af symptomer og BHR stratificeret for rygning og type værk. Mænd

	Rygere <sup>1)</sup>			Ikke rygere		
	Flisværk n = 54	Halm- værk n = 28	Reference- værk n = 33	Flisværk n = 76	Halm- værk n = 58	Reference- værk, n = 70
TA sympt. sidste år, %	52,0	41,7	53,3	47,2	61,3	51,5
Arbejdsrel. TA sympt. sidste år, %	22,0	15,3	15,7	16,8	24,5	25,0
Øjensympt. sidste år, %	9,4	0,0	15,6	14,7	8,6	5,9
Næsesympt. sidste år, %	13,0	14,8	18,8	10,5	19,0	17,1
Arbejdsrel. næsesympt. sidste år, %	9,3	11,5	6,3	12,3	15,8	9,1
Daglig hoste, %	37,3	38,5	31,3	26,3	15,8	18,2
Kronisk bronkitis, %	12,2	8,7	10,0	2,7	5,7	3,1
Astma sympt., %	14,8	11,1	18,2	6,6	14,0*	3,0
Aktuel astma, %	1,9	0,0	9,4	2,7	5,4	1,5
Arbejdsrel. astmasympt., %	7,1	4,5	7,4	4,2	9,4*	0,0
BHR, %	20,9	12,5	37,5	4,5	7,8	7,6

1): Rygning defineret som aktuel ryger eller eksryger < 2 år. \*P < 0,05 mellem gruppe og referenceværk.

### Symptomer

Tabel 2 viser prævalensen af symptomer og BHR stratificeret for rygning og værktype. Der var ingen forskel på prævalensen af TA symptomer (42-61 %) og arbejdsrelaterede TA symptomer (15-25 %) blandt de 3 værktyper. Sammenlignes ikke-rygende halmarbejdere med referencegruppen havde flere astmasymptomer (14 vs. 3 %) og arbejdsrelaterede astmasymptomer (9 vs. 0 %), den samme tendens sås for flisarbejdere. Prævalensen af kronisk bronkitis og daglig hoste var højere blandt rygere sammenlignet med ikke rygere, men der var ingen forskel i forekomsten mellem de 3 værktyper.

Tabel 3 viser sammenhængen mellem luftvejs-symptomer og værktype, justeret for confoundere.

Flere halmarbejdere havde astmasymptomer sammenlignet med ansatte på referenceværker (OR 7,6 [1,4-40,4]) (tabel 3). Ellers fandt vi ingen sikre sammenhænge mellem værktype

og symptomer. Som forventet var atopi en risikofaktor for astma og næsesymptomer.

Korrelation mellem støv og endotoxin var meget høj (Pearson  $r^2 = 0,97$ ), hvorfor støv- og endotoxin-resultater stort set var identiske. Støvresultater er derfor ikke vist.

Figur 1 viser resultatet af de justerede analyser for symptomer og endotoxin (1a), dyrkbare svampe på flisværk (1b) og på halmværk (1c), samt dyrkbare *A. fumigatus* på flisværk (1d) og halmværk (1e).

For astmasymptomer og arbejdsrelaterede næse- og astmasymptomer så vi en positiv tendens ved stigende niveauer af endotoxin, med OR 3,1 (1,1-8,8) for arbejdsrelaterede næsesymptomer og OR 8,1 (1,5-44,4) for astmasymptomer for den højest eksponerede gruppe (figur 1a). Vi fandt ingen sikre associationer for næsesymptomer, øjensymptomer, aktuel astma, hoste, BHR eller TA i relation til endotoxineksponering.

Tabel 3. Justerede associationer mellem luftvejssymptomer og værktype. Odds Ratio (OR) (95 % C.I.). Referencegruppe: Ansatte på referenceværker.

<i>Type værk</i>	Næsesymp.	Arbejdsrel. næsesymp.	Daglig hoste	Astma symp.	Aktuel astma	Arbejdsrel. astma symp.
<i>N endelig model</i>	275 <sup>1)</sup>	271 <sup>2)</sup>	272 <sup>1)</sup>	276 <sup>1)3)</sup>	272 <sup>1)</sup>	245 <sup>1)</sup>
Flis	0,7 (0,3-1,5)	1,5 (0,5-3,9)	1,6 (0,8-3,0)	2,2 (0,4-12,8)	0,4 (0,1-2,6)	2,2 (0,4-11,9)
Halm	1,0 (0,4-2,4)	2,3 (0,8-6,4)	0,8 (0,4-1,7)	7,6 (1,4-40,4)	0,8 (0,1-4,9)	3,3 (0,6-17,9)
Atopi	4,5 (2,3-8,9)	1,6 (0,7-3,7)	1,0 (0,5-1,9)	4,5 (1,9-10,3)	21,3 (2,6-177)	0,3 (0,0-2,3)
Rygning	1,0 (0,5-2,1)	0,8 (0,3-1,8)	2,2 (1,3-3,8)	9,4 (1,7-1,9)	2,1 (0,5-9,4)	2,3 (0,7-7,6)

1) Confoundere i endelig model: Rygning, atopi; 2) Confoundere inkluderet i endelig model: Rygning, atopi, alder; 3) Interaktionsled rygning\*type biobrændsel inkluderet i endelig model.

Efter hvilken metode der var brugt til at måle svampe blev studiepopulationen delt i 2, og endotoxin modellerne blev justeret for dyrkbare svampe og *A. fumigatus*. Analyserne var karakteriseret af begrænset styrke, men generelt blev ovenstående resultater bekræftet, og vi så ikke store forskelle mellem flis- og halmarbejdere (ikke vist). Der blev antydnet en sammenhæng mellem næsesymptomer for både flis og halm, med OR 5,9 (1,1-30,8) for den højest eksponerede halmgruppe.

Generelt var sammenhængen mellem symptomer og svampeeksponering mindre konsistent end for endotoxin. For halmarbejdere fandt vi en positiv tendens mellem dyrkbare svampe og arbejdsrelaterede næsesymptomer, med OR 5,7 (1,4-23) for den højest eksponerede gruppe. Fundet blev ikke bekræftet blandt flisarbejdere. Vi fandt desuden øget OR for astmasymptomer og arbejdsrelaterede astmasymptomer i den mellemste eksponeringsgruppe, men der var ingen klar tendens. Den samme tendens sås blandt flisarbejdere (figur 1b+c). For alle andre symptomer (næse, øjne, aktuel astma, BHR, TA) observerede vi ingen sikker sammenhæng med svampeeksponering.

For halmarbejdere fandt vi en positiv tendens mellem dyrkbare *A. fumigatus* og arbejdsrelaterede næsesymptomer, med OR 5,5 (1,2-25,2)

og 4,2 (1,0-18) for henholdsvis den mellemste og den højeste eksponeringsgruppe. Fundet blev ikke bekræftet blandt flisarbejdere. Derudover så vi blandt flisarbejdere en positiv tendens mellem dyrkbare *A. fumigatus* og arbejdsrelaterede astmasymptomer, med OR 4,0 (1,6-26,2) for den mellemste eksponeringsgruppe. Den samme tendens sås blandt halmarbejdere (figur 1d+e).

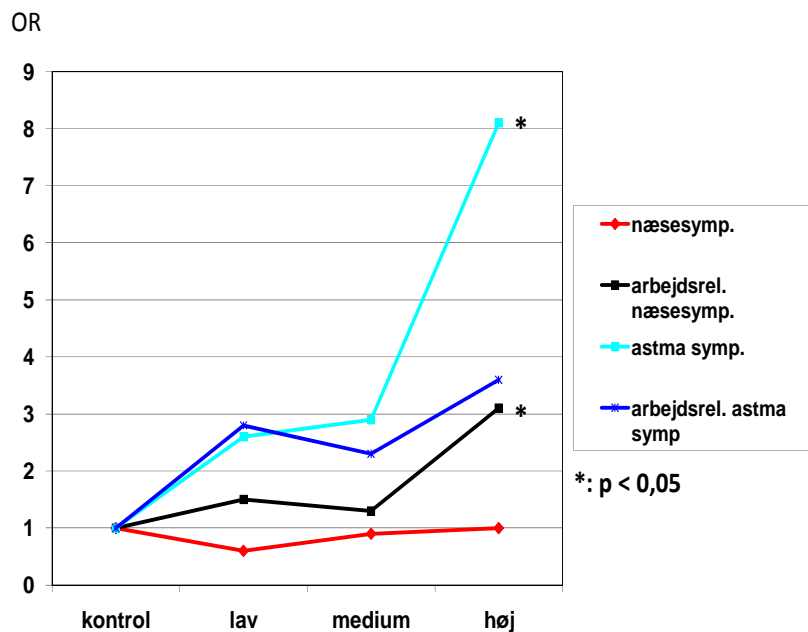
For alle andre symptomer (næse, øjne, astmasymptomer, aktuel astma, BHR, TA) observerede vi ingen sikker sammenhæng med *A. fumigatus* eksponering.

#### Lungefunktion

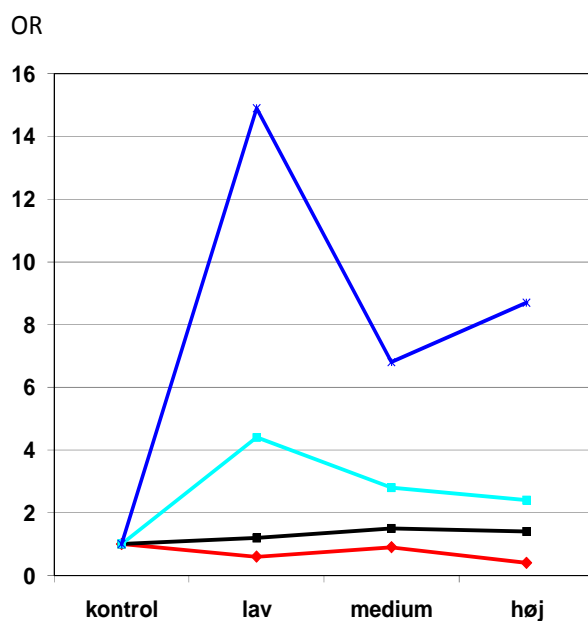
% forventet FEV1 for ansatte var på henholdsvis flis 96,1, halm 94,6 og referenceværker 91,5. Forskellen blandt ansatte på flis- og referenceværker var statistisk signifikant,  $p < 0,05$ .

% forventet FVC for ansatte på henholdsvis flis, halm og referenceværker var 97,9, 98,5 og 95,9, men der var ingen sikker forskel mellem grupperne. Det samme var tilfældet for FEV1/FVC, hvor tallene for de samme grupper var 76,6, 77,8 og 76,1.

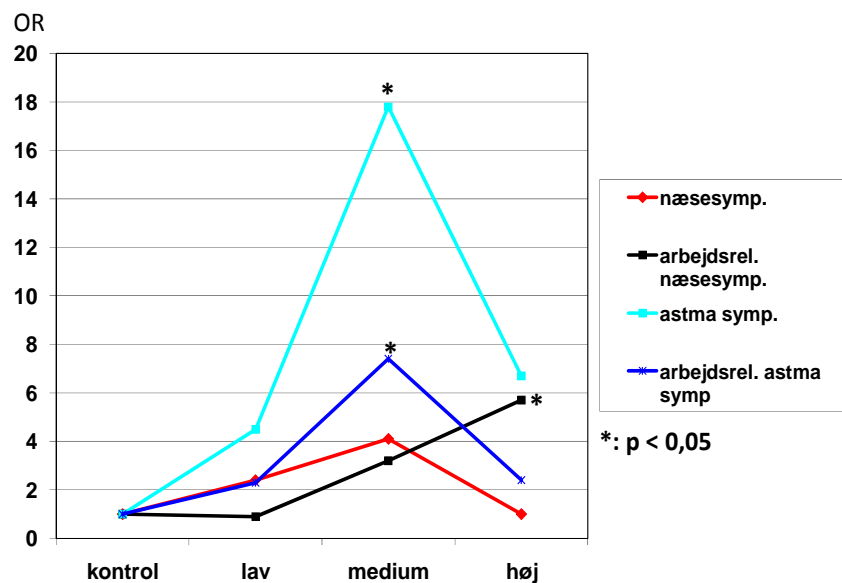
Lineære regressionsmodeller for FEV1, FVC og FEV1/FVC, justeret for alder, højde, vægt, atopi og rygning bekræftede, at ansatte på refe-



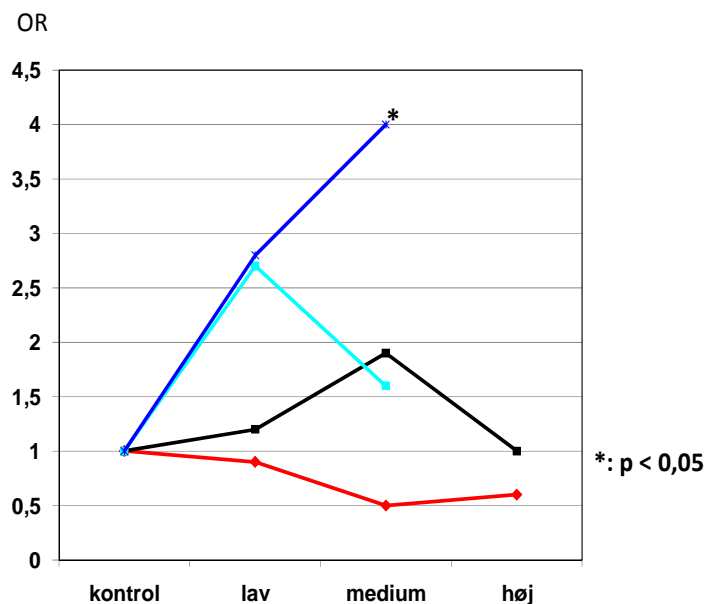
Figur 1a. Justerede logistiske regressionsanalyser for endotoxin (EU/m<sup>3</sup>) og symptomer.



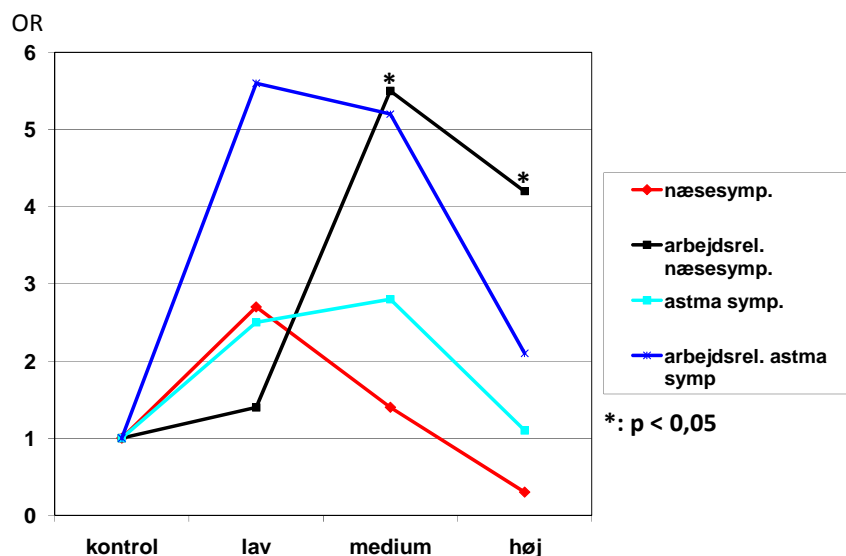
Figur 1b. Justerede logistiske regressionsanalyser for levende svampe (CFU/m<sup>3</sup>) og symptomer. Flisværker.



Figur 1c. Justerede logistiske regressionsanalyser for levende svampe (CFU/m<sup>3</sup>) og symptomer. Halmværker.



Figur 1d. Justerede logistiske regressionsanalyser for levende *A. fumigatus* (CFU/m<sup>3</sup>) og symptomer. Flisværker.



Figur 1e. Justerede logistiske regressionsanalyser for levende *A. fumigatus* (CFU/m<sup>3</sup>) og symptomer. Halmværker.

renceværker havde lavere lungefunktion end dem på flisværker. Antal år på biobrændselværk var svagt positivt korreleret til både % forventet FEV1 (coef. 0,013,  $p = 0,005$ ) og % forventet FVC (coef. 0,016,  $p = 0,01$ ).

Vi fandt ingen associationer mellem komponenter i organisk støv (endotoxin, dyrkbare svampe, *A. fumigatus*) og % forventet FEV1, % forventet FVC eller FEV1/FVC).

## Diskussion

Så vidt vi ved, er dette studie det første af sin art. At arbejde med biobrændsel ser generelt ikke ud til at øge risikoen for luftvejssygdom sammenlignet med arbejde på et konventionelt værk. På den anden side antyder vores resultater, at niveauet af endotoxin og måske dyrkbare svampe har en betydning for omfanget af luftvejssymptomer.

### Studiepopulation

Langt den største del af de danske flis- og halmfyrte værker var med i vores undersøgelse, og vi har ingen grund til at tro andet end at de er repræsentative for branchen som helhed. Samtidig havde vi en acceptabel deltagel-

sesprocent. Vi vurderer derfor, at vores undersøgelse er repræsentativ for danske flis- og halmværker.

De fleste analyser lavede vi kun på mænd, da meget få kvinder deltog i undersøgelsen. Dette afspejler, at kraft/varmesektoren er en mandsdomineret branche, hvilket formentligt også er det typiske udenfor Danmarks grænser.

### Eksponeringsniveau

De estimerede individuelle eksponeringsniveauer for endotoxin og dyrkbare svampe er betydeligt højere på halm- og flisværker sammenlignet med referenceværkerne, men på den anden side er de lavere end rapporteret fra de fleste andre industrier med organisk støveksposering (3,4,6). Der er flere mulige forklaringer, men af deltagernes arbejdsdagsbøger fremgår det, at arbejdet på kraftvarmeværker er særdeles afvekslende. Det er således kun en mindre del af arbejdstiden, der bruges i de områder af værkerne med den højeste eksponering. For de fleste ansatte indgår der både kontorarbejde og opgaver ude af værket i arbejdstiden.

Det er veldokumenteret, at halm frigiver mere støv og endotoxin pr. vægtenhed end flis, når

---

det håndteres på samme måde (20). Derudover indeholder træflis 40-50 % vand og leveres direkte til lagerhallen uden nogen form for manuel håndtering (21). Halm indeholder kun ca. 12 % vand, og ansatte på halmværker er i direkte kontakt med halmen mere end 3 timer pr. dag i forbindelse med aflæsning, opskæring af baller, fejning m.m. (22) Træflis produceres løbende, mens halm høstes én gang/år og lagres op til 11 måneder, før det bruges. Det er desuden vist, at udendørs opbevaring af både halm og træflis øger den mikrobiologiske vækst i biobrændslet (23).

Dyrkbare svampe er målt på 2 forskellige ikke sammenlignelige måder. Ydermere blev den øvre detektionsgrænse for Biab-slitsamplern nået for over 50 % af målingerne i lagerhal og for 6 % i kedelhaller, så niveauet af svampe på flisværker er klart underestimeret. Derudover er 1 minuts opsamling et meget usikkert mål for den gennemsnitlige daglige sporekoncentration sammenlignet med den 5 timer lange filteropsamling på halmværkerne. Baseret på referencemateriale for de 2 metoder er niveauerne dog klart forhøjede på både flis- og halmværker (24-25).

De udregnede individuelle niveauer for endotoxin er lavere end de niveauer, man normalt ser associeret til helbredseffekter, hvor 90 EU/m<sup>3</sup> er foreslået som helbedsbaseret grænseværdi (26). Den sande individuelle eksponering er formentlig betydeligt højere end tallene antyder. Det er velkendt, at stationære målinger generelt underestimerer individuelle eksponeringsniveauer, også på biobrændselsværker (2). Der blev i det aktuelle studie lavet personbårne målinger på en undergruppe af deltagere, og de understøtter, at vores udregnede værdier underestimerer det faktiske individuelle niveau (22).

De udregnede individuelle niveauer for dyrkbare svampe var også generelt under den LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level), som Eduard foreslog i 2009 (10,27); også efter vi har taget i betragtning, at LOAEL værdi baser sig på totalt antal sporer og ikke dyrkbare svampe. Vores eksponeringsvurde-

ring af svampe er ikke optimal, men ikke desto mindre antyder vores resultater en mulig association mellem svampeeksponering og arbejdsrelaterede symptomer.

Vi har vurderet udsættelsen for dyrkbare svampe, men det er kendt, at også andre svampekompone-nter kan have inflammatorisk potentiale (7,10,28). For nylig er forekomsten af små partikler < 1 um dokumenteret på biobrændselsværker (29), og det er yderligere vist, at mange strukturer med et inflammatorisk potentiale (som for eksempel (1 --> 3)-beta-D-glucaner) findes i disse små partikler. Det tyder på, at helbredseffekten af svampesporer alene ikke dækker de mulige helbredseffekter af svampe. Selvom forskningen indtil videre har fokuseret mest på endotoxin, tyder et studie blandt norske landmænd på, at svampeeksponeringen er stærkere associeret til nogle luftvejssymptomer (30).

#### *Helbred*

Vores resultater tyder på, at ansatte på flisfyrede værker ikke oplever TA symptomer oftere end ansatte på referenceværkerne. Vi fandt således ingen forskel mellem ansatte på flis- og halmfyrede værker og referenceværker med hensyn til hyppigheden af TA symptomer, hverken generelt eller i relation til arbejdet. Det tyder på, at TA symptomerne ikke skyldes udsættelse for bioaerosoler, da denne eksponering var ubetydelig på referenceværkerne.

Hyppigheden af TA symptomer var høj både blandt flis- og halmarbejdere og ansatte på referenceværker, dvs. ca. 50 % inden for det sidste år. Den høje forekomst skyldes, at symptomer som hovedpine, muskelsmerter og hoste, som er klassiske TA symptomer, samtidig er meget hyppige i baggrundsbefolkningen, uden at det har relation til organisk støvudsættelse. Tidligere undersøgelser har rapporteret om øget hyppighed af TA symptomer i brancher med høj organisk støveksponering, f.eks. i landbruget (31). Når vi ikke finder denne sammenhæng, tyder det på, at de ansatte på værkerne ikke ofte udsættes for meget høje koncentrationer af organisk støv, i hvert fald ikke uden åndedrætsværn.

---

Prævalensen af selvrapporteret astma, næsesymptomer og BHR er på samme niveau som i populationsbaserede studier i Danmark (32-33), men den er lav sammenlignet med forekomsten blandt affaldsarbejdere (8-9) og højere end niveauer rapporteret blandt landmænd fra 4 europæiske lande (34). Der er ingen klare eksponerings-respons-sammenhænge på tværs af studierne, hvilket bl.a. kan skyldes den betydelige variation i studiedesign og populationer.

Den lavere lungefunktion blandt flisarbejdere samt den marginalt højere lungefunktion blandt personer med mange år på biobrændselsanlæg er enten tilfældige fund, eller de kan være udtryk for en healthy workers selektion. Den ens fordeling af atopi (se nedenfor) tyder dog ikke på en markant selektion ud af branchen.

At vi ikke finder nogen sammenhæng mellem lungefunktion (spirometri, BHR) og bioaerosoler tyder på, at de fundne symptomer ikke er udtryk for en stærk påvirkning af lungefunktionen. Nedsat lungefunktion er dog en typisk kronisk tilstand, hvor den kumulerede eksponering formentlig er den vigtigste parameter. Det vil være nødvendigt med en opfølgingsundersøgelse for mere kvalificeret at kunne vurdere betydningen af eksponering på flis- og halmværker for lungefunktionen. Fra undersøgelser blandt landmænd og andre ved man, at udsættelse for organisk støv kan give et accelereret tab af lungefunktion (3).

Forekomsten af atopi var ikke influeret af værktypen og lå mellem 27 og 30 %, hvilket er på samme niveau som i den danske befolkning generelt (35). Der var kun få, der var sensibiliseret for skimmelsvampe, nemlig 3 personer på biobrændselsanlæg og 2 personer ansat på referenceværk. Det tyder på, at få personer ansat på biobrændselsanlæg udvikler allergi overfor skimmelsvampe, selvom de er eksponeret.

## Konklusion

Personer ansat på flis- og halmfyrede kraftvarmeværker ser generelt ikke ud til at have øget

risiko for luftvejssygdom sammenlignet med ansatte på konventionelt fyrede værker. På den anden side antyder vores resultater, at niveauet af endotoxin og måske dyrkbare svampe har en betydning for omfanget af luftvejssymptomer. Med henblik på forebyggelse af luftvejssymptomer og luftvejslidelser bør værkerne fokusere på at nedsætte koncentrationen af bioaerosoler så meget som muligt.

Yderligere information om studiet kan fås i den originale artikel (36).

Projektet er gennemført med støtte fra Eltras PSOMidler og er formidlet ved talrige foredrag og artikler i fagblade og videnskabelige tidsskrifter. Desuden er resultaterne fra de flisfyrede værker præsenteret på hjemmesiden [www.fyrmedflis.dk](http://www.fyrmedflis.dk)

Yderligere information:

Vivi Schlünssen

[vs@mil.au.dk](mailto:vs@mil.au.dk)

## Referencer

1. Energistyrelsen. *Danmark Energifremskrivning*. April 2011, København.
2. Madsen AM. *Exposure to Airborne Microbial Components in Autumn and Spring During Work at Danish Biofuel Plants*. Ann Occup Hyg 2006;50:821-31.
3. Omland O. *Exposure and respiratory health in farming in temperate zones--a review of the literature*. Ann Agric Environ Med 2002;9: 119-36.
4. Halstensen AS, Nordby KC, Wouters IM et al. *Determinants of microbial exposure in grain farming*. Ann Occup Hyg 2007;51:581-92.
5. Dutkiewicz J, Krysinska-Traczyk E, Prazmo Z, et al. *Exposure to airborne microorganisms in Polish sawmills*. Ann Agric Environ Med 2001;8:71-80.
6. Wouters IM, Spaan S, Douwes J et al. *Overview of personal occupational exposure levels to inhalable dust, endotoxin, beta(1-->3)-glucan and fungal extracellular polysaccha-*



- 
- rides in the waste management chain. *Ann Occup Hyg* 2006;50:39-53.
7. Douwes J, Thorne P, Pearce N et al. *Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects*. *Ann Occup Hyg* 2003;47: 187-200.
  8. Wouters IM, Hilhorst SK, Kleppe P et al. *Upper airway inflammation and respiratory symptoms in domestic waste collectors*. *Occup Environ Med* 2002;59:106-12.
  9. Smit LA, Spaan S, Heederik D. *Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers*. *Am J Ind Med*. 2005;48:30-9.
  10. Eduard W. *Fungal spores: a critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting*. *Crit Rev Toxicol* 2009;39:799-864.
  11. Malmberg P, Rask-Andersen A, Hoglund S, et al. *Incidence of organic dust toxic syndrome and allergic alveolitis in Swedish farmers*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;87:47-54.
  12. van Assendelft AH, Raitio M, Turkia V. *Fuel chip-induced hypersensitivity pneumonitis caused by penicillium species*. *Chest* 1985;87: 394-6.
  13. Asmussen P, Duff WL, Heidtman et al. *Acute respiratory illness following occupational exposure to wood chips--Ohio*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1986;35:483-4, 489-90.
  14. British Medical Research Council Committee on the etiology of chronic bronchitis. *Definition and classification of chronic bronchitis for clinical and epidemiological purposes*. *Lancet* 1965;1:775-9.
  15. Omland Ø, Sigsgaard T, Hjort C et al. *Lung Status in young Danish rurals: the effect of farming exposure on asthma-like symptoms and lung function*. *Eur Respir J* 1999;13:31-7.
  16. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V et al. *Standardisation of spirometry*. *Eur Respir J* 2005;26:319-38.
  17. Dansk Lungemedicinsk Selskab. *Spirometri--En rekommendation fra Dansk Lungemedicinsk Selskab*. København 1996.
  18. Yan K, Salome C, Woolcock AJ. *Rapid method for measurement of bronchial responsiveness*. *Thorax* 1983;38:760-5.
  19. Schlunssen V, Pedersen OF, Mølhav L et al. *Metacholine challenge test "Yan method" applying an "artificial hand"*. European Respiratory Society Congress. Glasgow 2004. Abstract.
  20. Madsen AM, Martensson L, Schneider T et al. *Microbial dustiness and particle release of different biofuels*. *Ann Occup Hyg* 2004 Jun; 48:327-38.
  21. Skov S, Schlunssen V, Sigsgaard T. *Træflis og Arbejdsmiljø*. Skov- og landskab, Københavns Universitet, Hørsholm 2008. Rapport No. 43 - 2008.
  22. Madsen AM, Schlunssen V, Sigsgaard T. *Biomasse teknologi og godt Arbejdsmiljø*. Det Nationale Center for Arbejdsmiljø. København 2008. NFA rapport PSO 4774.
  23. Sebastian A, Madsen AM, Martensson L, et al. *Assessment of microbial exposure risks from handling of biofuel wood chips and straw--effect of outdoor storage*. *Ann Agric Environ Med* 2006;13:139-45.
  24. Larsen LS. *A three-year-survey of microfungi in the air of Copenhagen 1977-79*. *Allergy* 1981;36:15-22.
  25. Timm M, Madsen AM, Hansen JV et al. *Assessment of total inflammatory potential of bioaerosols using a granulocyte assay*. *Appl Environ Microbiol* 2009 Oct 16. Epub ahead of print.
  26. Health Council of the Netherlands. *Endotoxins. Health-based recommended occupational exposure limit*. The Hague: Health Council of the Netherlands 2010, publication no. 2010/ 04OSH.
  27. Eduard W, Heederik D. *Methods for Quantitative Assessment of Airborne Levels of Non-infectious Microorganisms in Highly Contaminated Work Environments*. *Am Ind Hyg Assoc J* 1998;59:113-27.
  28. Douwes J. *(1->3)-Beta-D-glucans and respiratory health: a review of the scientific evidence*. *Indoor Air* 2005;15:160-9.
-

- 
29. Madsen AM, Schlunssen V, Olsen T et al. *Airborne fungal and bacterial components in PM1 dust from biofuel plants*. *Ann Occup Hyg* 2009;53:749-57.
  30. Eduard W, Douwes J, Omenaas E et al. *Do farming exposures cause or prevent asthma? Results from a study of adult Norwegian farmers*. *Thorax* 2004;59:381-6.
  31. Malmberg P, Rask-Andersen A, Rosenhall L. *Exposure to microorganisms associated with allergic alveolitis and febrile reactions to mold dust in farmers*. *Chest* 1993;103:1202-9.
  32. Linneberg A. *Astma og Allergi*. I: Kjølner M, Juel K, Kamper-Jørgensen F, ed. *Folkesundhedsrapporten Danmark 2007*. Det Nationale Institut for Folkesundhed. København 2007.
  33. Østerballe M, Linneberg A. *Hvor mange har allergi?* *Ugeskr Læger* 2005;167:605-7.
  34. Radon K, Monso E, Weber C, et al. *Prevalence and risk factors for airway diseases in farmers - summary of results of the European Farmers' Project*. *Ann Agric Environ Med* 2002;9:207-13.
  35. Linneberg A, Gislum M, Johansen N et al. *Temporal trends of aeroallergen sensitization over twenty-five years*. *Clin Exp Allergy* 2007; 37:1137-42.
  36. Schlunssen V, Madsen AM, Skov S, Sigsgaard T. *Does the use of biofuels affect respiratory health among male Danish energy plant workers?* *Occup Environ Med* 2011;68:467-73.

## Nyt professorat



Statens Byggeforskningsinstitut (SBI) ved Aalborg Universitet har den 1. april 2011 udnævnt civilingeniør, ph.d. Lars Gunnarsen til professor MSO på forskningsområdet ”sundhed i bygninger”.

Det nye professorat handler om, hvordan mennesker oplever og påvirkes af sammenspillet mellem luftkvalitet og byggematerialer samt andre kilder til usundt indeklima, bl.a. fugt, skimmel, partikler, kemiske afgangninger og radon. I samarbejde med den byggetekniske forskning skal Lars Gunnarsen opbygge et slagkraftigt og internationalt orienteret forskningsmiljø, der kan udvikle og dokumentere løsninger, som styrker bygningsbrugernes sundhed og komfort.

Lars Gunnarsens forskning har fokuseret på hvordan vi oplever og påvirkes af samspillet mellem luftkvalitet og byggematerialer, både i hans ph.d. afhandling fra 1989 og under hans ansættelse på Statens Byggeforskningsinstitut siden 1990. Aktuelt deltager Lars Gunnarsen i det store danske forskningsprojekt Center for Indeklima og Sundhed i Boliger (CISBO), som er finansieret af Realdania.

---

# Toksikologiske aspekter af arbejdsmiljøpåvirkninger på halm- og træflisfyrede værker

Af Anne Mette Madsen<sup>1</sup>, Corey Cohn<sup>1</sup>, Vivi Schläinssen<sup>2</sup>, Christine L. Lemieux<sup>3</sup>, Alexandra S. Long<sup>3</sup>, Jørgen Kystol<sup>4</sup>, Anne T. Saber<sup>1</sup>, Ulla B. Vogel<sup>1</sup>, Torben Sigsgaard<sup>2</sup> og Paul A. White<sup>3</sup>

---

**Aerosoler fra fyrrum og halmlader på bio-brændselsværker er mere mutagene, har et højere indhold af PAH'er, Aktinomyceer, *Aspergillus fumigatus* og metaller og et højere hROS genererende potentiale end aerosoler afgivet fra halm. Den højere mutagenitet skyldes sandsynligvis forbrændingspartikler. Endotoksin,  $\beta$ -glukan og mikroorganismer findes både i de helt små partikler (PM<sub>1</sub>) og i respirable, thorakale og inhalerbare partikler, men endotoksin findes i de højeste koncentrationer i den thorakale støvfraktion.**

## Indledning

I gennem flere år har vi målt eksponering for bioaerosoler på biobrændselsværker, der konverterer halm og træflis til biobrændsel (1). Eksponeringen er i nogle arbejdsprocesser eller arbejdsområder så høj, at det har dannet grundlag for yderligere toksikologiske undersøgelser af eksponeringen. Vi har således målt så høje endotoksin- og skimmelsvampeksposeringer, at man ud fra hvad man har fundet i andre miljøer (2,3) kan forvente øget risiko for udvikling af luftvejssygdomme. Ved indånding kan bioaerosolkomponenter trænge dybt ned i luftvejene og deponeres i forskellige områder. Denne indtrængning og deponering afhænger af partiklernes aerodynamiske diameter ( $d_a$ ). Der har været størst fokus på bioaerosolkomponenter, som er inhalerbare (median  $d_a < 100 \mu\text{m}$ ). Der er gradvis kommet mere fokus på mindre bioaerosolpartikler pga. deres evne til

at trænge dybere ned i luftvejene, hvor de kan føre til helbredseffekter i disse områder. Vi har derfor målt eksponeringen på biobrændselsværker for forskellige bioaerosolkomponenter som funktion af partikelstørrelse (4,5) og disse resultater vil blive præsenteret.

Et af de arbejdsområder, hvor ansatte ofte arbejder hele dagen, er halmlader, som også kaldes halmlager og halmmodtagelse. I halmladen er der ofte en høj eksponering for bioaerosoler, dvs. en høj eksponering for svampe, bakterier og bestanddele af mikroorganismer som endotoksin og  $\beta$ -glukan. I fyrrummet er eksponeringen (enhed per m<sup>3</sup> luft) for bioaerosoler højere end i udendørs luft og højere end i almindeligt indeklima, men lavere end i halmladen (1,6). Det inflammatoriske potentiale af støv indsamlet i åndedrætszonen fra folk, der arbejder i halmladen er også højt (7). Derimod kan man forvente flere forbrændingspartikler fra selve halmforbrændingen i luften i fyrrummet. Forbrændingspartikler kan være mutagene (8). Vi har derfor lavet en toksikologisk sammenligning af aerosoler opsamlet i fyrrum og halmlade. Endvidere har vi sammenlignet disse aerosoler med aerosoler genereret fra halm og træpellets, dvs. med aerosoler fra halm og træpellets, som ikke er iblandet f.eks. forbrændingspartikler fra værket, fyr eller udstødning fra de lastbiler, der kører i halmladen (9). I en anden artikel i dette tidsskrift er helbredseffekter på ansatte på biobrændselsanlæg beskrevet (10).

## Toksiske egenskaber af aerosoler fra biobrændsel

Vi har opsamlet aerosoler fra halmlade og fyrrum på et biobrændselsværk, hvor halm bliver konverteret til energi, og vi har karakteriseret

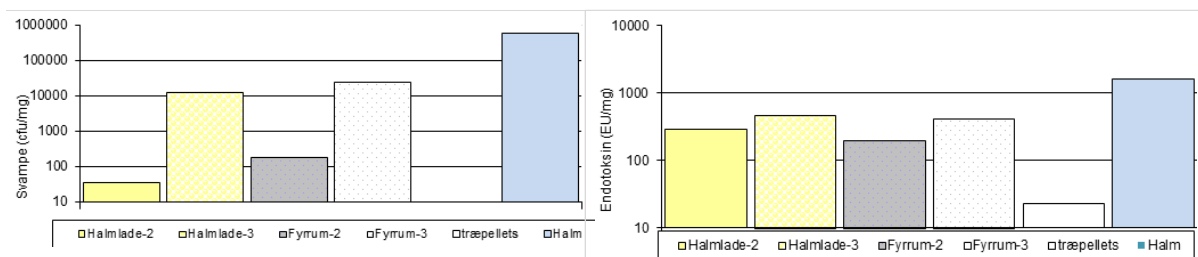
---

<sup>1</sup> Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø

<sup>2</sup> Afdeling for Miljø- og Arbejdsmedicin AAU

<sup>3</sup> Environmental Health Sciences and Research Bureau, Health Canada

<sup>4</sup> GEUS



Figur 1. Koncentration af svampe (cfu = kolonidannende enheder) og endotoksin i aerosoler fra halmlade og fyrrum på biobrændelsværker og fra biobrændslerne halm og træpellets.

forskellige komponenter i støvet. Endvidere har vi genereret støv fra biobrændsler på en standardiseret måde, således at det er muligt at sammenligne aerosoler fra biobrændsler og aerosoler indsamlet på biobrændelsværk. Aerosolerne fra biobrændelsværket (figur 1-4) er opsamlet over 9 dage i marts og 7 dage i august. Aerosoler fra halm blev genereret fra 3 kg halm (lavet i 7 gentagelser med i alt 21 kg halm) og aerosoler fra træpellets blev genereret fra 6 kg træpellets (6,11).

#### Skimmelsvampe, endotoksin og aktinomyccer

Vi har kvantificeret antal skimmelsvampe, herunder *Aspergillus fumigatus*, termofile aktinomyccer og endotoksin i støvprøverne. Dette er gjort, fordi mange skimmelsvampe danner allergener og alle svampe indeholder  $\beta$ -glukan, som kan være involveret i udvikling af ikke-allergiske luftvejssymptomer (12,13). Svampen *Aspergillus fumigatus* betragtes som problematisk, fordi den både er et allergen, kan forårsage luftvejssymptomer, kan danne mykotoksiner og kan være infektiøs. Termofile aktinomyccer kan også være allergene og forårsage f.eks. tærskerlunger. Endotoksin er fra gramnegative bakterier, består af lipopolysakkarider og inducerer inflammation (12). Endotoksin blev kvantificeret med et Limulus baseret kinetisk assay.

Koncentrationen, dvs. enhed per mg støv, af skimmelsvampe og endotoksin var højere i aerosoler genereret fra halm end i støv opsamlet i halmlade og fyrrum på biobrændelsværker og lavest i træpellets (figur 1) (9). Det luftbårne støv blev opsamlet i august (kaldet Halmlade-2 og Fyrrum-2) og i marts (kaldet

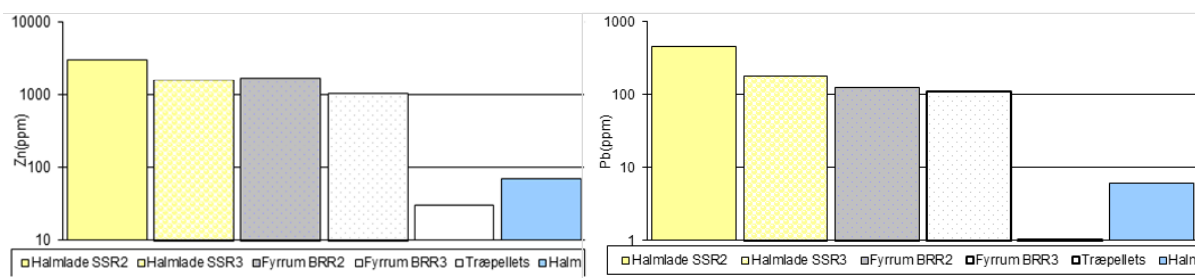
Halmlade-3 og Fyrrum-3), og koncentrationen af skimmelsvampe og endotoksin var højere i marts end i august. Eksposering (enhed per  $m^3$  luft) for bioaerosoler på biobrændelsværker er tidligere set at afhænge af årstiden, med en højere eksposering for svampe og bakterier om foråret end om efteråret (1).

*Aspergillus fumigatus* blev fundet i det luftbårne støv fra halmlade og fyrrum, men ikke i støv frigivet fra træpellets og halm, men denne svamp er tidligere fundet i støv afgivet fra både halm og træflis anvendt som biobrændsel (11). *Aspergillus fumigatus* findes ofte i højere koncentrationer på værk, der anvender træflis frem for halm, mens det modsatte ses for endotoksin (1).

Termofile aktinomyccer vokser lige som *Aspergillus fumigatus* godt ved høje temperaturer, og blev fundet i både aerosoler på biobrændelsværket og i aerosoler fra halm. De højeste koncentrationer blev fundet i aerosoler på biobrændelsværket, og det viser, at der højst sandsynligt har været håndteret halm, som har været lagret fugtigt, og hvori der er sket en varmeudvikling. Termofile aktinomyccer er tidligere fundet i luften på biobrændelsværker (1) og i aerosoler fra biobrændsler (11).

#### Metaller

Metaller associeret med forbrændingspartikler forbindes også med negative helbredseffekter (14). Metaller vist i figur 2 såvel som Cr, Cu, Fe, Li, Ga, K, Na, S, Sr, Ti, V og Zr er højere i aerosoler fra biobrændelsværker end i aerosoler



Figur 2. Koncentration af sølv (Zn) og bly (Pb) i aerosoler fra halmlade og fyrrum på biobrændselsværker og fra biobrændslerne halm og træpellets

ler genereret fra halm og træpellets. Der blev ikke set en klar årstidsvariation i indholdet af metaller i aerosolerne og heller ikke en klar variation i koncentration mellem halmlade og fyrrum.

#### PAH

Koncentrationen af PAHer (polycyclic aromatic hydrocarboner) blev målt fordi PAHer både i *in vitro* (15,16) og i *in vivo* assays (17) er stærkt mutagene. PAHer blev målt med HPLC (High-performance liquid chromatography). Koncentrationen af PAHer var højere i aerosoler fra biobrændselsværket end i aerosoler genereret fra halm og træpellets. Den højeste koncentration blev fundet i aerosoler fra fyrrummet i marts måned (figur 2).

Det høje indhold af metaller og PAHer i aerosoler fra halmlade og fyrrum i forhold til i aerosoler fra halm og træpellets indikerer, at prøverne består af en kompleks blanding af partikler fra selve forbrændingen af halm, fra køretøjer, som aflæsser halmen og kører det på plads, såvel som fra selve halmen.

#### ROS

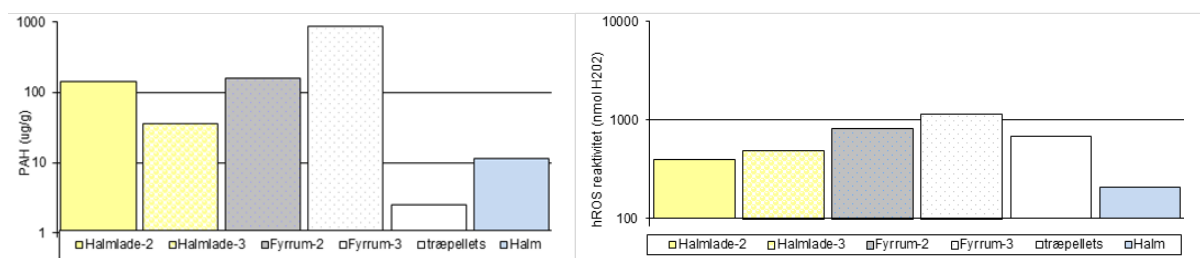
Aerosolers evne til at danne hROS (highly Reactive Oxygen Species) i en vandig suspension er blevet undersøgt (vhja. 3'-(p-aminophenyl) fluorescein)) (9), fordi dannelse af hROS er forbundet med forbrændingspartikler og negative helbredseffekter (18). Den største hROS dannelse skete fra aerosoler fra fyrrum efterfulgt af aerosoler fra halmlade og træpellets (figur 3). Dannelse af hROS fra aerosoler indsamlet i marts var højere end i aerosoler indsamlet i august.

#### Mutagenicitet

For at teste mutagenicitet blev et Salmonella baseret assay anvendt (Ames assay). Aerosoler fra biobrændselsværket var mutagene, mens prøverne genereret fra halm og træpellets ikke var mutagene. I eksemplerne i figur 4 er der ikke anvendt metabolisk aktivering, men ved metabolisk aktivering med S9 (postmitochondrial supernatant) var aerosolerne også mutagene. Det mutagene potentiale var mellem 60 og 2185 rev/mg støv, og en større effekt blev set i den stamme af Salmonella, der hedder YG1041 end i stammen der hedder TA98 (figur 4).

Mutageniciteten målt i stamme YG1041 (uden metabolisk aktivering) korrelerede signifikant med total mængde PAH ( $r=0,90$ ,  $p=0,038$ ) og var med metabolisk aktivering tæt på at korrelere signifikant med total mængde PAH ( $r=0,86$ ,  $p=0,060$ ). Det forventes, at de målte PAHer forårsagede en del af den målte mutagenicitet. PAHer og metaller er tidligere fundet at være mutagene i Salmonella-assayet (19). Mutageniciteten målt i stamme TA98 (med S9 metabolisk aktivering) korrelerede signifikant med hROS aktiviteten af de samme aerosoler ( $r=0,94$ ,  $p=0,016$ ). PAH-kontaminerende partikler er tidligere vist at kunne inducere mutationer i celler og hROS er involveret i udvikling af mutationer (18).

Indholdet af metaller og mikroorganismer korrelerede ikke signifikant med det mutagene potentiale af aerosolerne, men dog var indholdet af de nævnte metaller, termofile aktinomyccer og *Aspergillus fumigatus* lige som



Figur 3. Koncentration af PAHer ( $\mu\text{g/g}$ ) og hROS-aktivitet i aerosoler fra halmlade og fyrrum på biobrændelsværker og fra biobrændslerne træpellets og halm (9).

mutageniciteten højere i aerosoler på biobrændelsværket end i aerosoler genereret fra halm og træpellets. Termofile aktinomyccer og *Aspergillus fumigatus* kan inducere hROS dannelse i makrofag assay, kan forårsage inflammation (20-22,23), og *Aspergillus fumigatus* kan danne carcinogene mykotoksiner (24,25). Man kunne derfor forvente, at *Aspergillus fumigatus* kan give en effekt, som kan måles i mutagenicitetstesten. Nogle metaller er tidligere vist at forårsage oxidativ DNA skade (26), og de forhøjede niveauer af Pb og Zn har måske bidraget til effekterne målt i Salmonella assayet. Det faktum, at det mutagene potentiale af aerosolerne var højere i YG1041 uden S9 aktivering end i TA98, indikerer også en effekt af nitroarener, som findes i dieseludstødning. Aerosoler hovedsageligt forurenede med partikler fra køretøjer og forbrænding af træ er tidligere vist at forårsage mutation i TA98 (uden S9 aktivering) (27). Partikler indsamlet under forbrænding af biomasserester fra sukkerrørs høst er set at være mere mutagene i YG1041 (uden S9 aktivering) end i TA98 (8). Mønstret af respons i Salmonella assayene i dette studie tyder på, at aerosolerne indeholder en blanding af mutagener, som højst sandsynlig skyldes forbrændingsprodukter fra fyrrummet og lastbiler, der aflæsser halm.

I et andet studie har vi vist, at samme aerosoler fra fyrrum og halmlade inducerer et stærkt inflammatorisk respons i mus efter en enkelt intratrakeal installation og efter installation igennem fire på hinanden følgende dage (6). I det studie undersøgte vi med comet assay, om der var DNA skade i lungeceller, og det var der

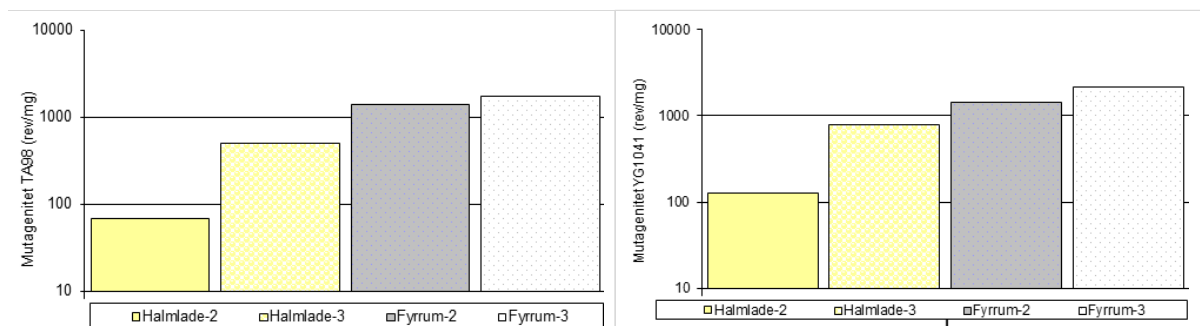
ikke. Dvs. at museforsøget ikke viste mutagenicitet af aerosolerne, mens det Salmonella baserede assay viste, at aerosolerne var mutagene. Denne forskel skyldes sandsynligvis forskel i følsomhed i de to metoder. Salmonella stammerne brugt i dette assay er også kendt for at være meget følsomme over for netop forbrændingspartikler (8,28).

### Biobrændelsstøv og partikelstørrelse

Den aerodynamiske diameter af en partikel (da) har betydning for, hvor lang tid partiklen kan forblive luftbåren, og hvor den deponeres i luftvejene. Forskellige størrelsesfraktioner af luftbårne partikler er blevet opsamlet på biobrændelsværker (hovedsageligt halmfyrede, men også træflisfyrede) og 2 referenceværker (kulfyrede) ved hjælp af Triplex cykloner (BGI, MA), Respikon (TSI Incorporated, MN, USA), Millipore sampler (Millipore, Bedford) og GSP sampler (Gesamtstaubprobenahme, CIS by BGI, INC Waltham, MA). Partiklerne er karakteriseret mht. indhold af endotoksin og  $\beta$ -glucan (begge med kinetisk Limulus assay), mikroorganismer (dyrkning og mikroskopi) og NAGase (N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (EC3.2.1.30)) aktivitet. Størrelsesfordeling af luftbårne partikler blev målt med en APS (Aerodynamic Particle Sizer, måler partikler med da imellem 0,5 og 19,8  $\mu\text{m}$ ).

#### Partikler

Antalsmæssigt var de fleste partikler på biobrændelsværkerne mellem 0,77 og 0,97  $\mu\text{m}$ , og en stor andel var af respirabel størrelse (dvs. 98,0 % til 99,4 %) (9) På halmlagre på 21



Figur 4. Mutagent potentiale (rev/mg støv) af aerosoler fra halmlade og fyrrum på biobrændelsværk. Aerosoler fra biobrændslerne træpellets og halm var ikke mutagene.

biobrændelsværker har vi parallelt målt partikel- og endotoksineksponering. Der var ingen signifikante sammenhænge mellem antallet af  $PM_{10}$ , respirable og thorakale partikler versus eksponering for endotoksin i samme størrelse kategorier (5).

#### *Mikroorganismer i inhalerbar versus $PM_{10}$ aerosoler*

Vi har sammenlignet eksponering for mikroorganismer i  $PM_{10}$  partikler og inhalerbart støv (4). Antallet af svampesporer, bakterier, herunder aktinomyceiter var lavt i  $PM_{10}$  støv i sammenligning med, hvad der er i inhalerbart støv på biobrændelsværker (1). Dog kunne man ved mikroskopi se mange bakterier i  $PM_{10}$  aerosoler (tabel 1).

Stoffet  $\beta$ -glukan findes i svampe og NAGase er også associeret med svampe (29). Mængden af  $\beta$ -glukan og NAGase per svampespore var høj i  $PM_{10}$  støv. Det tyder på, at der i aerosolerne også var  $\beta$ -glukan og NAGase, som ikke stammer fra hele svampepartikler men fra svampefragmenter, idet svampesporers diameter er større end  $1 \mu m$ . Ved at bruge simuleringsmodeller, fandt Cho et al, at respiratorisk deponering af fragmenter fra svampen *Stachybotrys chartarum* var 230 gange højere end af sporer (30). Dette illustrerer vigtigheden af at inddrage små svampefragmenter, når en svampeeksponering måles og risikovurderes.

Stoffet  $\beta$ -glucan er blevet brugt som en indikator for svampeeksponering og svampevækst, men undersøgelser har også vist, at det kan

forårsage inflammation i luftvejene (31,32,13). Derfor er det interessant, at det også findes i  $PM_{10}$  støv på biobrændelsværker.

#### *Endotoksin i inhalerbare, thorakale og respirable aerosoler*

Endotoksin er blevet kvantificeret i tre støvfractioner, respirable partikler, thorakale partikler og inhalerbare partikler på 21 biobrændelsværker (5) og 2 kulfyrede værker. I  $PM_{10}$  partikler fra nogle værker har vi også målt endotoksin.

Den største fraktion af endotoksin var til stede på thorakale partikler, når man betragter endotoksin per mg støv (tabel 2), og også når man betragter andele af selve eksponeringen (endotoksin per  $m^{-3}$  luft) (5,33). I gennemsnit var 42 % og 81 % af det inhalerbare støv hhv. Respirabelt og thorakalt (tabel 3).

En andel på 42 %, 9 % og 19 % (medianværdier) af det luftbårne endotoksin ( $EU/m^3$ ) på henholdsvis halmlager, kedelrum på biobrændelsværker og på kulfyrede værker var til stede på respirable partikler. De 9 % og 19 % fundet i kedelrum svarer til, hvad der er fundet på forskellige arbejdspladser, hvor træ håndteres (34).

Andelen af endotoksin, der forekommer i den respirable fraktion, er høj i forhold til, hvad der er fundet i andre miljøer (35,36). På den anden side var der en stor variation i, hvor stor en andel der fandtes i den respirable fraktion fra værk til værk.

Tabel 1. Mikrobielle komponenter (enhed)/ m<sup>3</sup> luft i inhalerbare og PM<sub>1</sub> aerosoler.

Komponent	Enhed	Inhalerbare	PM <sub>1</sub>
Svampe	CFU	1,3x10 <sup>4</sup>	Ud
'Total svampe sporer'	Antal	3,8x10 <sup>5</sup>	497
β-glukan	ng	105	3,5
NAGase aktivitet	pmol/sek	0,29	0,18
Bakterier	CFU	nm	48
Endotoksin	EU	120	0,62
Termofile aktinomycceter	CFU	3322	178
'Total bakterier'	Antal	1,1x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>4</sup>

Ud=under detektionsgrænsen. Data i tabellen er delvist publiceret i (4) og i (5) og er median værdier.

Tabel 2. Median endotoksin (EU) koncentration i total, thorakalt, respirabelt og PM<sub>1</sub> støv per mg støv af samme størrelseskategori.

	'Total' støv <sup>a)b)</sup> EU/mg	s*	n	Thorakalt støv EU/mg	s*	n	Respirabelt støv EU/mg	s*	n	PM <sub>1</sub> støv EU/mg	s*	n				
Halmlade	558	b	1.9	40	1804	a	1.4	40	1289	a	1.2	40	160	c	1.3	9
Fyrrum, biobrændsel	88	c	1.5	5	1733	a	1.2	5	815	b	1.2	5	104	c	1.2	3
Fyrrum, kul	25	d	1.7	5	110	c	1.3	5	69	cd	1.3	5	52	d	1.4	3

<sup>a)</sup> Tal efterfulgt af det samme bogstav er ikke statistisk signifikant forskellige. <sup>b)</sup> Total støv blev målt ved vejning mens thorakalt, respirabelt og PM<sub>1</sub> støv blev udregnet fra APS-data. Data i tabellen er publiceret i reference (5).

Tabel 3. Median fraktion (%) af endotoksin (EU/m<sup>3</sup>) i thorakalt, respirabelt og PM<sub>1</sub> støv.

	Thorakalt støv <sup>a)</sup> %	s*	n	Respirabelt støv %	s*	n	PM <sub>1</sub> støv %	s*	n			
Halmlade	81	a	1.3	40	42	b	1.4	40	2.6	e	2.1	9
Fyrrum, biobrændsel	48	b	1.3	5	9	d	1.6	5	0.5	e	2.4	3
Fyrrum, kul	36	bc	1.2	5	19	c	1.2	5	0.7	e	1.7	3

<sup>a)</sup>Tal efterfulgt af det samme bogstav er ikke statistisk signifikant forskellige. Data i tabellen er publiceret i reference (5).



---

Eksposering for respirabelt endotoksin er kun målt i relativt få studier og få miljøer, og der er brug for mere viden om effekten af eksposering for forskellige niveauer af respirabelt endotoksin i arbejdsmiljøer. Der er foreslået forskellige grænseværdier for endotoksin-eksposering i arbejdsmiljøet, og også en for respirabelt endotoksin. Denne værdi er lav nemlig  $0,35 \text{ EUm}^{-3}$ , og den blev overskredet på samtlige 21 biobrændelsværker (5).

## Konklusion

Aerosoler fra fyrrum og halmlade på biobrændelsværker er mere mutagene, har et højere indhold af PAHer, *Aspergillus fumigatus* og aktinomyceer og metaller og et højere hROS genererende potentiale end aerosoler afgivet fra halm. Mutageniciteten korrelerede med det hROS generende potentiale og indhold af PAHer. Dette tyder på, at den mutagenicitet, der er fundet af aerosoler fra biobrændelsværker, skyldes forbrændingsprodukter. Endvidere var der en tendens til, at aerosoler fra et fyrrum var mere mutagene end aerosoler fra en halmlade. Tidligere undersøgelser har vist, at respirabelt støv fra halmlade har et højere indhold af mikroorganismer og endotoksin og kan fremkalde en stærkere inflammatorisk respons hos mus end støv fra et fyrrum (6). For studier af endotoksin på biobrændelsværker kan et relevant fokus være på thorakalt støv, idet den største andel endotoksin findes i denne fraktion.

Der var en stor variation fra værk til værk i, hvor stor en andel af den luftbårne endotoksin, der fandtes i den respirable fraktion. Dette kan have betydning for helbredseffekter, men er også vigtig i relation til i hvilken størrelsesfraktion, man skal måle endotoksin i i studier af sammenhæng mellem eksposering og helbredseffekter. Denne variation imellem værker, kan skyldes, at der anvendes forskellige metoder til håndtering af biobrændsel. Dette er relevant i forhold til praktiske tiltag til reducere af eksposering for endotoksin.

Bioaerosolbestanddele, som højst sandsynligt stammer fra svampe ( $\beta$ -glukan og NAGase), blev fundet i  $\text{PM}_1$  støv, selvom svampesporer

har en diameter over  $1 \mu\text{m}$ . Pga. disse partiklers evne til at trænge langt ned i luftvejene, vil det i fremtidige toksikologiske studier af aerosoler fra biobrændelsværker være relevant at undersøge, om eksposering for disse partikler kan forårsage helbredseffekter. Endotoksin, bakterier og herunder aktinomyceer blev også fundet i  $\text{PM}_1$  partikler. Dette kan potentielt også være af helbredsmæssig betydning. Dog var koncentrationen væsentligt højere i respirabelt støv.

Tak til PSO-Eltra for økonomisk støtte.

Yderligere information

Anne Mette Madsen

[amm@arbejdsmiljoforskning.dk](mailto:amm@arbejdsmiljoforskning.dk)

## Referencer

1. Madsen AM. *Exposure to airborne microbial components in autumn and spring during work at Danish biofuel plants*. Ann Occup Hyg 2006;50:821-31.
2. Castellan RM, Olenchock SA, Kinsley KB, Hankinson JL. *Inhaled endotoxin and decreased spirometric values. An exposure-response relation for cotton dust*. N Engl J Med 1987;317:605-10.
3. Mandryk J, Alwis KU, Hocking AD. *Effects of Personal Exposures on Pulmonary Function and Work-related Symptoms Among Sawmill Workers*. Ann Occup Hyg 2000;44:281-9.
4. Madsen AM, Schlünssen V, Olsen TT, Sigsgaard T, Avci H. *Airborne fungal and bacterial components in  $\text{PM}_1$  dust from biofuel plants*. Ann Occup Hyg 2009;53:749-57.
5. Madsen AM, Nielsen SH. *Airborne endotoxin associated with particles of different sizes and affected by water content in handled straw*. Int J Hyg Environ Health 2010;213(4):278-84.
6. Madsen AM, Saber AT, Nordly P, Sharma AK, Wallin H, Vogel U. *Inflammation but no DNA (deoxyribonucleic acid) damage in mice exposed to airborne dust from a biofuel plant*. Scand J work Environ Health 2008;34:278-87.

- 
7. Timm M, Madsen AM, Hansen JV, Moesby L, Hansen EW. *Assessment of the total inflammatory potential of bioaerosols by using a granulocyte assay.* Appl Environ Microbiol 2009;75:7655-62.
  8. Umbuzeiro GA, Franco A, Martins MH, Kummrow F, Carvalho L, Schmeiser HH, Leykauf J, Stiborova M, Claxton LD. *Mutagenicity and DNA adduct formation of PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH fractions of atmospheric particulate matter from Sao Paulo, Brazil.* Mutat Res 2008;652:72-80.
  9. Cohn CA, Lemieux CL, Long AS, Kystol J, Vogel U, White PA, Madsen AM. *Physical-chemical and microbiological characterization, and mutagenic activity of airborne PM sampled in a biomass-fueled electrical production facility.* Environ Mol Mutagen 2011; 52(4):319-30
  10. Schlünssen V, Madsen AM, Skov S, Sigsgaard T. *Does the use of biomass affect respiratory symptoms or lung function among male Danish Heat- and Power plant workers?* Occup Environ Med 2011 68: 467-73.
  11. Madsen AM, Mårtensson L, Schneider T, Larsson L. *Microbial dustiness and particle release of different biofuels.* Ann Occup Hyg 2004;48:327-38.
  12. Douwes J, Thorne P, Pearce N, Heederik D. *Bioaerosols health effects and exposure assessment: progress and prospects.* Ann Occup Hyg 2003;47:187-200.
  13. Bonlokke JH, Stridh G, Sigsgaard T, Kjaergaard SK, Lofsted H, Andersson K, Bonefeld-Jorgensen EC, Jayatissa MN, Bodin L, Juto JE, Molhave L. *Upper-airway inflammation in relation to dust spiked with aldehydes or glucan.* Scand J Work Environ Health 2006;32:374-82.
  14. Chen LC, Lippmann M. *Effects of metals within ambient air particulate matter (PM) on human health.* Inhal Toxicol 2009;21:1-31.
  15. Hansen AM, Wallin H, Binderup ML, Dybdahl M, Autrup H, Loft S, Knudsen LE. *Urinary 1-hydroxypyrene and mutagenicity in bus drivers and mail carriers exposed to urban air pollution in Denmark.* Mutat Res 2004;557:7-17.
  16. Wichmann HE. *Diesel exhaust particles.* Inhal Toxicol 2007;19 Suppl 1:241-4.
  17. Kohara A, Suzuki T, Honma M, Oomori T, Ohwada T, Hayashi M. *Dinitropyrenes induce gene mutations in multiple organs of the lambda/lacZ transgenic mouse (Muta Mouse).* Mutat Res 2002;515:73-83.k
  18. Jacobsen NR, Pojana G, White P, Moller P, Cohn CA, Korsholm KS, Vogel U, Marcomini A, Loft S, Wallin H. *Genotoxicity, cytotoxicity, and reactive oxygen species induced by single-walled carbon nanotubes and C(60) fullerenes in the FE1-Mutatrade markMouse lung epithelial cells.* Environ Mol Mutagen 2008;49:476-87.
  19. Nielsen T, Feilberg A, Binderup ML. *The variation of street air levels of PAH and other mutagenic PAC in relation to regulations of traffic emissions and the impact of atmospheric processes.* Environ Sci Pollut Res. Int 1999;6: 133-7.
  20. Hirvonen MR, Nevalainen A, Makkonen N, Mönkkönen J, Savolainen K. *Streptomyces spores from mouldy houses induce nitric oxide, TNF $\alpha$  and IL-6 secretion from RAW264.7 macrophage cell line without causing subsequent cell death.* Environmental Toxicology and Pharmacology 1997;57-63.
  21. Jacob B, Ritz B, Gehring U, Koch A, Bischof W, Wichmann H-E, Heinrich J. *Indoor exposure to molds and allergic sensitization.* Environ Health Perspect 2002;110:647-53.
  22. Shibuya K, Paris S, Ando T, Nakayama H, Hatori T, Latge JP. *Catalases of Aspergillus fumigatus and Inflammation in Aspergillosis.* Jpn J Med Mycol 2006;47:249-55.
  23. Mutius EV, Braun-Fahrlander C, Schierl R, Riedler J, Ehlermann S, Maisch S, Waser M, Nowak D. *Exposure to endotoxin or other bacterial components might protect against the development of atopy.* Clin Exp Allergy 2000; 30:1230-4.
  24. Fischer G, Muller T, Ostrowski R, Dott W. *Mycotoxins of Aspergillus fumigatus in pure culture and in native bioaerosols from compost facilities.* Chemosphere 1999;38:1745-55.
-

- 
25. Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. *Toxic effects of mycotoxins in humans*. Bull World Health Organ 1999;77:754-66.
  26. Sorensen M, Schins RP, Hertel O, Loft S. *Transition metals in personal samples of PM2.5 and oxidative stress in human volunteers*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005;14:1340-3.
  27. Claxton LD, Warren S, Zweidinger R, Creason J. *A comparative assessment of Boise, Idaho, ambient air fine particle samples using the plate and microsuspension Salmonella mutagenicity assays*. Sci Total Environ 2001;275:95-108.
  28. Lemieux CL, Lambert LB, Lundstedt S, Tysklind M, White PA. *Mutagenic hazards of complex polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in contaminated soil*. Environ Toxicol Chem 2008;27:978-90.
  29. Madsen AM. *NAGase activity in airborne biomass dust and relationship between NAGase concentrations and fungal spores*. Aerobiologia 2003;19:97-105.
  30. Cho SH, Seo SC, Schmechel D, Grinshpun SA, Reponen T. *Aerodynamic characteristics and respiratory deposition of fungal fragments*. Atm Environ 2005;39:5454-65.
  31. Rylander R. *Indoor air-related effects and airborne (1,3)-B-D-glucan*. Environ Health Perspect 1999;107:510-13.
  32. Thorn J, Beijer L, Rylander R. *Effects after inhalation of (1->3)-beta-D-glucan in healthy humans*. Mediators Inflamm 2001;10:173-8.
  33. Madsen AM, Sharma AK. *Sampling of high amounts of bioaerosols using a high-volume electrostatic field sampler*. Ann Occup Hyg 2008;52:167-76.
  34. Alwis KU, Mandryk J, Hoching AD. *Exposure to Biohazards in wood dust: bacteria, fungi, endotoxins, and (1,3)  $\beta$ -D-glucans*. Appl Occup Environ Hyg 1999;14:598-608.
  35. Nieuwenhuijsen MJ, Noderer KS, Schenker MB, Vallyathan V, Olenchock S. *Personal exposure to dust, endotoxin and crystalline silica in California agriculture*. Ann Occup Hyg 1999;43:35-42.
  36. Heinrich J, Pitz M, Bischof W, Norbert K, Borm PJ. *Endotoxin in fine (PM2.5) and coarse (PM2.5-10) particles mass of ambient aerosols. A temporo-spatial analysis*. Atm Environ 2003;37:3659-67.

---

# Partikelforureningens indvirkning på vores helbred: En sammenligning af emission fra diesel og biodiesel.

Af Jette Gjerke Hemmingsen<sup>1</sup>, Peter Møller<sup>1</sup>, Jacob Klenø Nøjgaard<sup>2</sup>, Martin Roursgaard<sup>1</sup> og Steffen Loft<sup>1</sup>

---

## Introduktion

Luftforurening er et stadigt stigende sundhedsproblem på globalt plan som følge af øget urbanisering og generel byvækst. For at reducere forbruget af fossile brændstoffer i transportsektoren, mindske klimabelastningen og tilvejebringe en øget forsyningssikkerhed har man udviklet forskellige former for alternative brændstoffer, kaldet biodiesel (1). Ved biodiesel forstås konventionel dieselolie tilsat en fraktion af hydrokarboner baseret på f.eks. afgrøder eller spildprodukter afledt af slagteri-, landbrugsindustri eller lign. I dette studie undersøgte vi to former for biodiesel med henblik på partikelforurening, nemlig diesel tilsat metylestere af hhv. animalske fedtsyrer (*animal fat methyl esters*, AFME) fra slagteriaffald og rapsolie (*rapeseed methyl esters*, RME). Siden 1. januar 2010 har det været et EU krav, at der iblandes 5,75 % biodiesel i traditionel diesel. I 2020 bliver dette krav hævet til 10 % (1). Dog vides det ikke, om der vil være nogle helbredsmæssige konsekvenser ved forbrænding af biodiesel.

En af de vigtigste prædiktorer for sundhedsbelastningen i forbindelse med partikelforurening er størrelsen af partiklerne. Særligt farlige regnes de *ultrafine partikler* (UFP) i størrelsesordenen 100 nm i diameter. Jo mindre partiklerne er, desto større er alveolær deponering, celleoptag og overflade-/volumen ratio for kemiske og biologiske reaktioner. Derudover muliggør nanostørrelse transport over de celle-

membraner, der adskiller luftvejene og blodbanen. Udstødningspartikler med et rigt UFP-indhold har stor indflydelse på folkesundheden, særligt i forhold til hjertekar- og lungesygdomme, som vist i et stort antal deskriptive befolkningsundersøgelser (2). De sundhedsmæssige virkninger forårsaget af den samlede udendørs partikelforurening skønnes at omfatte flere tusinde dødsfald og et stort antal indlæggelser om året i Danmark. Der er fundet forhøjet risiko for lungesygdom og lungekræft ved beboelse i trafikbelastede områder, ligesom der er flere indlæggelse for hjertekar-, hjernekar- og lungesygdom i dagene efter at der har været meget partikelforurening i luften i København (3-5).

Resultater fra befolkningsundersøgelser tillader kun i meget begrænset omfang at skelne mellem forskellige kilder til partikler mht. helbredseffekter. En vurdering af specifikke effekter for biodiesel må derfor bygge på toksikologiske undersøgelser, som forud for dette studie ikke var tilgængelige (6).

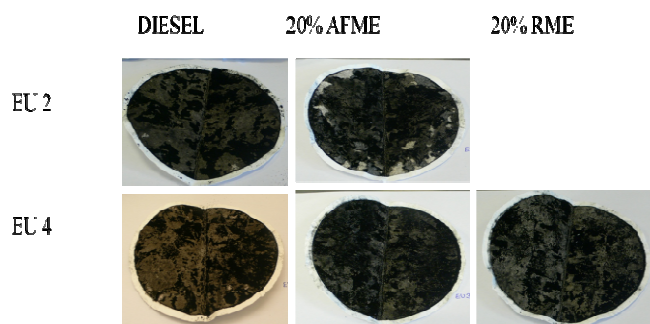
## Formål

Formålet med dette projekt var at undersøge, hvordan celler i den menneskelige organisme reagerer på udstødningspartikler fra forskellige biodieselblandinger. Studiet var en del af det tværfaglige projekt REBECA (Renewable Energy in the transport sector using Biofuels as Energy Carriers, <http://rebeca.dmu.dk>) støttet af Det Strategiske Forskningsråd for Energi og Miljø. En del af arbejdet er desuden baseret på en bevilling fra Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter. Studiet er for nyligt accepteret som manuskript til publikation i tidsskriftet *Environmental Science and Technology* (7).

---

<sup>1</sup> Afdeling for miljø og sundhed, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet.

<sup>2</sup> Afdeling for Atmosfærisk Miljø, Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet.



Figur 1. 150 mm kvartsfilter med partikler.

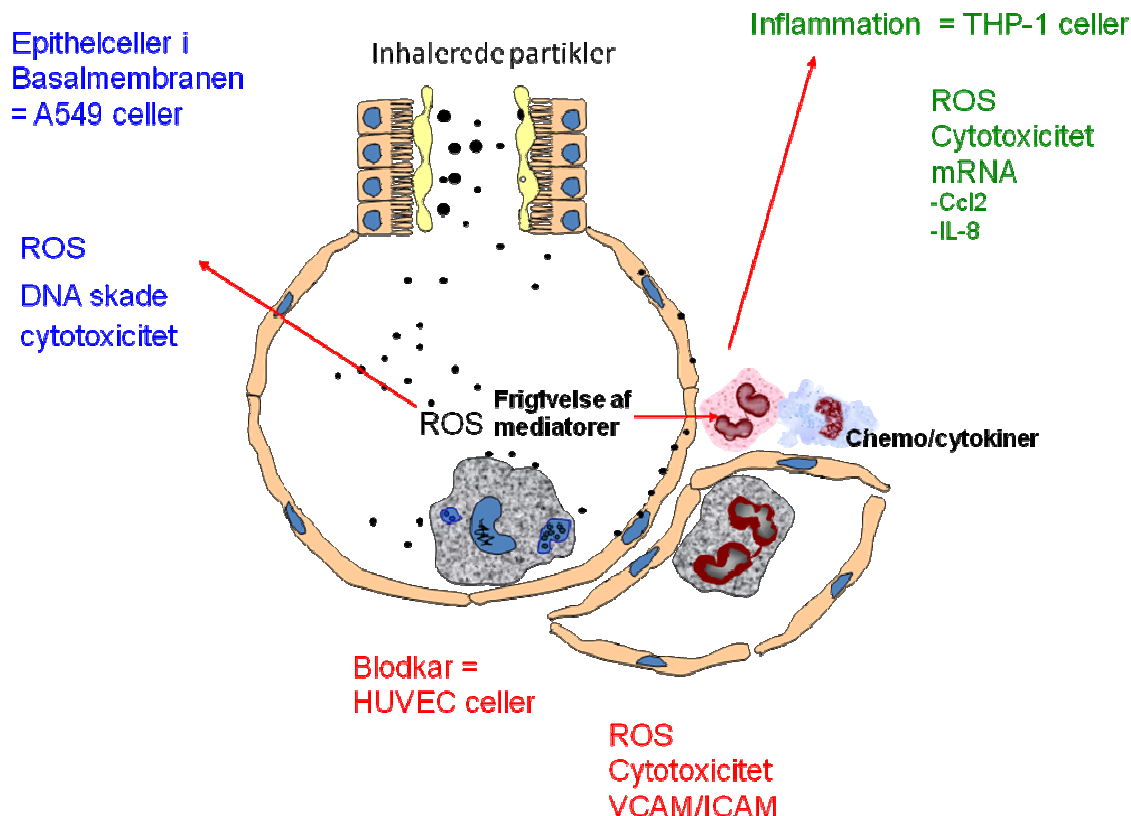
## Metoder

Vi sammenlignede to typer biodiesel med konventionel diesel, kaldet (D<sub>100</sub>). Den ene biodiesel var tilsat 20 % AFME af olier fra animalsk fedt (AFME<sub>20</sub>), mens den anden var tilsat 20 % rapsoliemetylester (RME<sub>20</sub>). D<sub>100</sub>, AFME<sub>20</sub> og RME<sub>20</sub> blev forbrændt i to forskellige dieselmotorer fra personbiler, der repræsenterer forskellige generationer af europæiske emissionskrav gældende for personbiler og lette erhvervskøretøjer: "Euro2" fra 1998, som var <0.08 g partikler per km og "Euro4" fra 2005 med <0.0025 g/km. Partiklerne blev opsamlet ved at lade udstødningen passere kvartsfiltre (se figur 1). Det var ikke muligt at opsamle tilstrækkeligt med partikler til at undersøge toksiciteten fra en dieselmotor udstyret med partikelfilter. Partiklerne blev skrabet af filtrene og suspenderet i cellekultur medium og vand. Til sammenligning brugte vi standard referencepartikler (SRM2975), som stammer fra en gaffeltruck med gammeldags motor. Størrelsen af partiklerne i suspension blev målt med Nanosight nanoparticle tracking analysis (NTA).

## Celletyper

Der blev valgt tre celletyper til at belyse de vigtigste biologiske effekter i det menneskelige system (se figur 2). A549 celler repræsenterer epitelcellerne i lungerne, mens THP-1 celler repræsenterer monocytter i blodet og makrofager i alveolerne, der medierer en væsentlig del af det inflammatoriske respons mod partikler. HUVEC er endotelceller, som danner

indersiden af alle blodkar. Eksponering for udstødningspartikler sker overvejende ved inhalation. Figur 2 illustrerer den største grad af alveolær deponering for de mindste partikler. Dannelse af reaktive iltforbindelser (*reactive oxygen species*, ROS) på overfladen af partikler og i cellerne ved aktivering af forskellige enzymer og mediatorer, som fremmer inflammation, regnes for vigtige virkningsmekanismer (8). Vi målte derfor ROS-dannelse direkte fra partiklerne og i alle tre celletyper, hvor vi også målte celledød. I A549 celler målte vi DNA skade i form af strengbrud (SB) og base-oxidering ved hjælp af et skæringsenzym (FPG) i et såkaldt "comet assay" (8). DNA skaden udtrykker også belastning med ROS og er især relevant for kræftudvikling. I THP-1 celler målte vi udtryk af kemokiner, cytokiner på mRNA niveau (CCl2 og IL-8) som mål for inflammationsrespons ved hjælp af revers transkriptase real-time PCR. Endotelcellerne kan påvirkes af partiklerne, enten direkte ved at partiklerne translokeres fra alveolerne over i blodbanen eller indirekte af cirkulerende celler eller pro-inflammatoriske mediatorer, f.eks. frigivet fra lungerne (9). Aktiverede endotelceller udtrykker overflademolekyler (ICAM og VCAM), som binder monocytter og får dem til at migrere ind i blodkarret. Monocytterne bliver her til makrofager og er helt centrale i åreforkalkningsprocessen. Partiklernes evne til at inducere udtryk af VCAM og ICAM blev derfor målt i HUVEC cellerne med en modificeret ELISA metode. Cellerne blev eksponeret for partiklerne i forskellige koncentrationer.



Figur 2. Semplicifert model af partikeloptagelse i luftvejene og nogle af mekanismerne for helbredseffekter i lunger og kar.

ROS produktion målt ved oxidation af 2,7-diklorodihydro- fluoresceindiacetat (DCFH-DA). Celler optager DCFH-DA, hydrolyseres til DCFH, som ikke kan forlade cellerne, og omdannes til et fluorescerende stof (DCF) ved oxidation. Man kan derudover undersøge ROS dannelse i acellulære betingelser, hvis DCFH-DA kemisk omdannes inden behandling med partikler.

Cytotoxicitet blev målt ved hjælp af trypanblå farvning. Døde celler optager farven og optræder derved lyseblå under mikroskop.

## Resultater

Vi fandt, at partikler fra Euro4 motoren var mindre end både dem fra Euro2 motoren og SRM2975 i suspension (tabel 1). Desuden var partiklerne fra biodieselblandingerne større end de tilsvarende fra konventionel diesel. Tabel 2

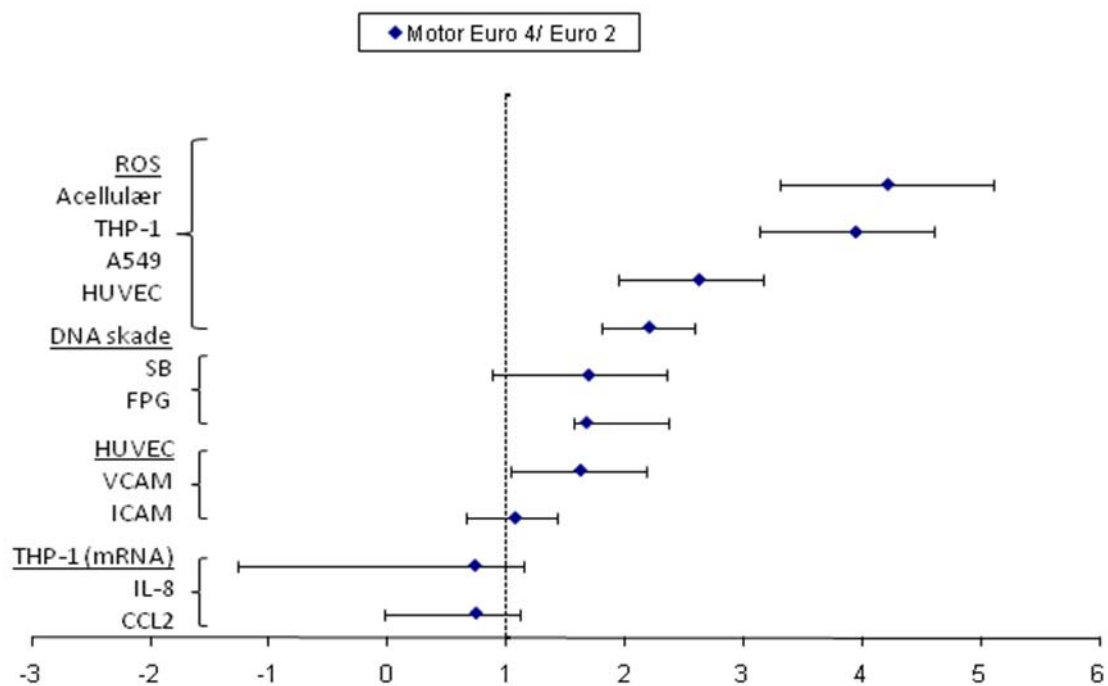
viser den laveste koncentration, hvor der var statistisk signifikant forskel mellem partikel-eksponeret cellekultur og kontrollen. Figur 3 resumerer resultaterne af sammenligningen af de biologiske effekter mellem de to motorer og figur 4 mellem AFME<sub>20</sub>-blandingen og den konventionelle diesel, D<sub>100</sub>. Partikler dannet ved forbrænding i Euro 4 motoren genererede mere ROS end partikler fra Euro 2 motoren og SRM2975. Partikler fra Euro4/D<sub>100</sub> producerede mere ROS end Euro4/AFME<sub>20</sub> og Euro4/RME<sub>20</sub> i THP-1 celler (P<0.01). F.eks. var induktionen af ROS produktionen i fold ved 12,5 µg/ml 7,4 (D<sub>100</sub>); 5,9 (AFME<sub>20</sub>); 5,3 (RME<sub>20</sub>) sammenlignet med kontrollen. Der var ingen forskel i ROS produktionen mellem partiklerne fra Euro4 i A549 celler, HUVEC celler og acellulært. SRM2975 producerede mere ROS end Euro2/D<sub>100</sub> og Euro2/AFME<sub>20</sub> under acellulære betingelser (P<0.001).

Brændstof	Motor	Diameter i cellemedie (nm)	mode	Diameter i vand (nm)	mode
D <sub>100</sub>	Euro 2	189±84	161	139±46	132
AFME <sub>20</sub>	Euro 2	158±63	127	130±46	120
D <sub>100</sub>	Euro 4	148±65	97	129±57	104
AFME <sub>20</sub>	Euro 4	149±67	108	95±27	90
RME <sub>20</sub>	Euro 4	134±79	113	90±30	77
SRM2975	IR	154±62	127	132±46	108

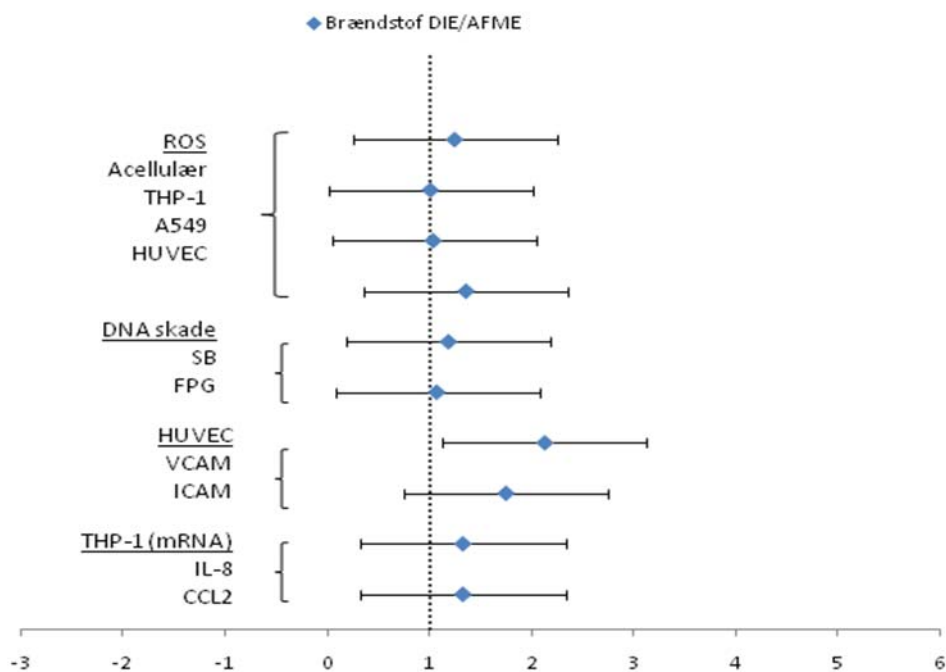
Tabel 1. Partikelstørrelse målt som diameter og hvor mode er den hyppigst forekommende partikelstørrelse målt vha nanosight. Data er gennemsnit ± Standart deviation (SD), alle partikler er i suspension. IR, ikke relevant

Motor/Brændstof	SRM2975	Euro 2 D <sub>100</sub>	Euro 2 AFME <sub>20</sub>	Euro 4 D <sub>100</sub>	Euro 4 RME <sub>20</sub>	Euro 4 AFME <sub>20</sub>
ROS						
Acetabulær	12,5	-	-	1,5	1,5	1,5
THP-1	-	-	-	1,5	1,5	1,5
A549	-	-	-	1,5	3,1	3,1
HUVEC	-	-	-	3,1	1,5	1,5
DNA skade (A549)						
DNA skade (SB)	25	25	2,5	2,5	2,5	2,5
DNA skade (FPG)	2,5	2,5	2,5	2,5	25	2,5
Adhæsion (HUVEC)						
VCAM	-	-	-	0,78	-	-
ICAM	-	-	-	12,5	-	-
Inflammation (THP-1)						
TNF	-	-	25	-	-	-

Tabel 2. Alle partikeltyper forårsagede ROS dannelse og DNA skade. Den laveste dosis, der gav forskel til kontrollen, er noteret med P<0.05.



Figur 3. Effekten af motoren (Euro 4 versus Euro 2) på forårsagelse af ROS, DNA skade og udtryk af overflademolekylerne ICAM og VCAM og cytokiner. Data er afbildet som fold (95 % CI).



Figur 4. Effekten af brændstoffet (D<sub>100</sub> versus AFME) på forårsagelse af ROS, DNA skade og udtryk af overflademolekylerne ICAM og VCAM og cytokiner. Data er afbildet som fold (95% CI).



---

Alle partikeltyper forårsagede DNA skade målt på strengbrud ( $P < 0.01$ ) og FPG-skader ( $P < 0.001$ ) i A549 celler. Euro4/D<sub>100</sub> gav signifikant flere DNA skader end Euro4/RME<sub>20</sub> ( $P < 0.05$ ), f.eks. var der 1,4 fold induktion af FPG skader i celler, som var eksponeret for 100 µg/ml D<sub>100</sub>, mens den samme koncentration af RME<sub>20</sub> kun forårsagede 1,1-fold højere FPG skadesniveau i forhold til kontrollen. Overordnet set forårsagede partikler fra Euro4 motoren flere DNA base oxidationer (FPG skader) per gram end partikler fra Euro2 motoren (figur 3).

Euro4/D<sub>100</sub> var den eneste partikeltype der var i stand til at øge overfladeudtryk af adhæsionsmolekyler VCAM ( $P < 0.01$ ) og ICAM ( $P < 0.05$ ) i HUVECs sammenlignet med kontrollen. Overordnet inducerede partikler fra Euro4 motoren relativt større ekspresion af VCAM end partikler fra Euro2 motoren (figur 3). Generelt målte vi større ekspresion af adhæsionsmolekylerne ICAM og VCAM ved forbrænding af D<sub>100</sub> end AFME<sub>20</sub> i ækvivalente mængder (figur 4).

Vi kunne derimod ikke dokumentere en signifikant partikel-induceret effekt på mRNA ekspresion af *CCL2* og *IL8*. Partikler fra forbrænding af AFME<sub>20</sub> i Euro2 motoren gav let nedsat viabilitet af THP-1 og A549 celler, men der var ikke signifikante forskelle på tværs af partikler og motorer.

## Diskussion

Vores resultater tyder på, at især motoren, men også dieselbrændstoffet, har betydning for toksiciteten af de partikler, der dannes ved almindelig drift. Således var partikler fra den moderne Euro4 motor mindre og forårsagede mere ROS-dannelse i alle celler, DNA skade i lungeceller og udtryk af overflademærker i karceller per gram end partiklerne fra den lidt ældre Euro2 motor. Sidstnævnte måtte til gengæld udlede mere end tre gange så store mængder partikler. Sundhedsmæssigt er de moderne motorer således stadig at foretrække, men vores resultater understreger behovet for partikelfiltre, som var effektive også i vores opstil-

ling. Ved direkte sammenligning gav AFME<sub>20</sub> og RME<sub>20</sub> biodieselblandingerne større partikler, som var mindre toksiske end dem fra den konventionelle diesel (D<sub>100</sub>) mht. DNA base oxidationer (FPG skader) og med hensyn til udtryk af overflademærker på karceller. Det vil sige, at vores resultater ikke peger på nogen øget sundhedsrisiko ved tilsætning af biodiesel til konventionel diesel, men at det tværtimod ser ud til at risikoen reduceres en anelse. I overensstemmelse med litteraturen finder vi også, at små partikelstørrelser inducerer mere ROS produktion, DNA skade og aktivering af karceller, mens vi ikke ser nogen tilsvarende forskelle mht. inflammatorisk respons i THP-1 celler.

## Konklusion

Vores resultater fra forsøg med celletyper, der er relevante for helbredseffekter af dieselpartikler, tyder ikke på, at sundhedsrisikoen forværres, når der iblandes 20 % metylforestret biodiesel. Snarere tværtimod rapporterer vi for første gang tendenser mod en mindre cytotoxisk effekt udtrykt ved diverse biomærker på baggrund af biodieselforbrænding sammenlignet med anvendelse af konventionel diesel. Der mangler dog meget mere arbejde med karakterisering af emissionerne og eksperimentelle studier *in vivo* både i forsøgsdyr og ved eksponering af mennesker, før man kan drage mere faste konklusioner om helbredsrisici ved forbrænding af biodiesel.

## Referencer

1. Trafikstyrelsens center for grøn energi. *Forsøg med biodiesel - sammenfattende rapport*. 2010 Jan 1. Report No.: Januar 2010.
2. Brook RD, Rajagopalan S, Pope CA, III, Brook JR, Bhatnagar A, Diez-Roux AV et al. *Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association*. *Circulation* 2010;121(21):2331-78.

- 
3. Andersen ZJ, Olsen TS, Andersen KK, Loft S, Kettel M, Raaschou-Nielsen O. *Association between short-term exposure to ultrafine particles and hospital admissions for stroke in Copenhagen, Denmark*. Eur Heart J 2010; 31(16):2034-40.
  4. Andersen ZJ, Hvidberg M, Jensen SS, Kettel M, Loft S, Sorensen M et al. *Chronic obstructive pulmonary disease and long-term exposure to traffic-related air pollution: a cohort study*. Am J Respir Crit Care Med 2011;183(4):455-61.
  5. Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Hvidberg M, Jensen SS, Kettel M, Sorensen M et al. *Lung cancer incidence and long-term exposure to air pollution from traffic*. Environ Health Perspect 2011;119(6):860-5.
  6. Swanson KJ, Madden MC, Ghio AJ. *Biodiesel exhaust: the need for health effects research*. Environ Health Perspect 2007;115(4):496-9.
  7. Hemmingsen JG, Møller P, Roursgaard M, Nøjgaard JK, Loft S. *Oxidative stress, genotoxicity, and vascular cell adhesion molecule expression in cells exposed to particulate matter from combustion of conventional diesel and methyl ester biodiesel blends*. Environmental Science and Technology. In press 2011.
  8. Møller P, Jacobsen NR, Folkmann JK, Danielsen PH, Mikkelsen L, Hemmingsen JG et al. *Role of oxidative damage in toxicity of particulates*. Free Radic Res 2009; in press.
  9. Moller P, Mikkelsen L, Vesterdal Lk, Folkmann JK, Forchhammer L, Roursgaard M et al. *Hazard identification of particulate matter on vasomotor dysfunction and progression of atherosclerosis*. Crit Rev Toxicol 2011 February 24.

## Vindmøllestøjs betydning for helbredet

Af Mads Klokke, Rigshospitalet

Mennesket omgives i tiltagende grad af støj fra omgivelserne. Der foreligger nogen videnskabelige publikationer og myndighedsrapporter om støjs indvirkning på helbredet (søvnbesvær, nedsat hørelse, tinnitus, koncentrationsbesvær, kognitive forstyrrelser, hjertekarsygdomme, kvalme, svimmelhed mv.).

Der er seneste år opstillet et tiltagende antal vindmøller i Danmark og udlandet. I takt hermed rapporteres om støjklager. Der foreligger sparsomt videnskabelig dokumentation for om vindmøllestøj har betydning for helbredet omend der er tiltagende opmærksomhed på det mulige problem.

Ved møde i Eigtveds Pakhus den 3/10 2011 fremlægges den viden, der til dato foreligger om vindmøllestøj og beslægtede områders indvirkning på helbredet. Generelt er lydtrykket fra vindmøller beskedent, men stressfaktor og generel uvilje mod en nærliggende vindmølle kan hos visse personlighedstyper have en målbar effekt. En særlig opmærksomhed rettes mod subsonisk lyd (ikke hørbar lavfrekvent lyd), idet der her stort set intet videnskabeligt foreligger mht. indvirkning på helbredet. Det konkluderes, at det ikke kan udelukkes at subsonisk lyd rent faktisk kan påvirke særlige personer med specielle sygdomme i balanceorganet, men at der hos almindelige sunde mennesker ikke er indikationer på en helbredsindvirkning.

Slides kan rekvireres hos foredragsholderen på [klokke@dadlnet.dk](mailto:klokke@dadlnet.dk)

---

## Set på internet

### Rapporter

#### Antibiotikaresistens

DANMAP 2010 Report  
<http://www.danmap.org/>

#### Fødevarer

Clostridium perfringens associated with food borne disease: final report, RIVM 2011.  
<http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/330371005.html>

Data collection for the identification of emerging risks related to food and feed, EFSA, august 2011.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/185e.htm>

Estimation of the relative contribution of different food and animal sources to human Salmonella infections in the European Union. External scientific report, august 2011. Se rapporten på EFSA's hjemmeside.  
[http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/184e.htm?WT.mc\\_id=EFSAHL01&emt=1](http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/184e.htm?WT.mc_id=EFSAHL01&emt=1)

Update on furan levels in food from monitoring years 2004-2010 and exposure assessment, EFSA 2011.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2347.htm>

#### Indemiljø

Climate Change, the Indoor Environment, and Health, Institute of Medicine of The National Academies, juni 2011.  
<http://www.iom.edu/Reports/2011/Climate-Change-the-Indoor-Environment-and-Health.aspx>

#### Kemiske stoffer

Brominated Flame Retardants (BFR) in the Nordic Environment. TemaNord 2011:528, Nordisk Ministerråd.  
<http://www.norden.org/sv/publikationer/publikationer/2011-528>

Kortlægning og sundhedsmæssig vurdering (kun allergi) af krom i lædersko, Miljøstyrelsen 2011.  
<http://www.mst.dk/Publikationer/Publikationer/2011/08/978-87-92779-21-2.htm>

To rapporter fra IMM i Stockholm:

- Sources of exposure to Bisphenol A. IMM rapport 2/2011.
  - Human Health Risk Assessment of Combined Exposures to Chemicals, IMM rapport 3/2011.
- <http://ki.se/ki/jsp/polopoly.jsp?d=8459&a=9149&l=sv>

---

## **Luftforurening**

Air Toxics Exposure from Vehicle Emissions at a U.S. Border Crossing: Buffalo Peace Bridge Study, Research Report 158, The Health Effects Institute, august 2011.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=362>

Hvad er effekten af miljøzoner for luftkvaliteten? - Vurdering for København, Frederiksberg, Aarhus, Odense, og Aalborg. Slutrapport. Faglig rapport nr. 830, Danmarks Miljøundersøgelser 2011.

<http://www2.dmu.dk/Pub/FR830.pdf>

Personal and Ambient Exposures to Air Toxics in Camden, New Jersey, Research Report 160, The Health Effects Institute, august 2011.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=364>

## **Nanomaterialer**

Survey on basic knowledge about exposure and potential environmental and health risks for selected nanomaterials Environmental Project 1370, Danish EPA 2011.

<http://www.mst.dk/Publikationer/Publications/2011/08/978-87-92779-09-0.htm>

## **Støj**

The role of noise events in noise research, policy and practice (peaks, events or both): Report of expert meeting 25 and 26 October 2010, Utrecht, RIVM, august 2011.

<http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/815120005.html>

## **Andre rapporter**

Guidelines for drinking-water quality, fourth edition, World Health Organization 2011.

[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/2011/dwq\\_guidelines/en/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/index.html)



Skriv til **miljø og sundhed**

skriv om forskningsresultater

skriv til synspunkt

skriv et mødereferat

send nye rapporter

husk også kalenderen

Ring, skriv eller send en e-mail til:

Hilde Balling  
Sundhedsstyrelsen  
Islands Brygge 67  
2300 København S  
tlf. 72 22 74 00, lokal 77 76  
fax 72 22 74 11  
e-mail [hib@sst.dk](mailto:hib@sst.dk)

<http://miljoogsundhed.sst.dk>

også hvis du bare har en god idé!