

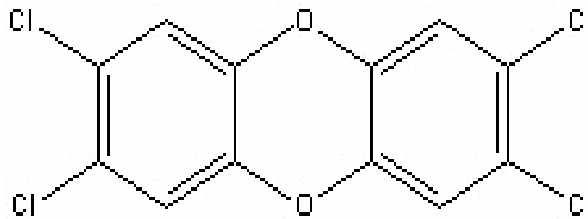


MINISTERIET FOR FAMILIE-
OG FORBRUGERANLIGGENDER

Danmarks Fødevareforskning

DIOXINHANDLINGSPLAN 2000-2004

Slutrapport



4. maj 2005

Indholdsfortegnelse

Forord	3
1. Indledning	4
1.1 Baggrund	4
1.2 Dioxinhandlingsplanens indhold	5
1.3 Indsatsen mod dioxiner i fødevarer	5
2. Kortlægningsundersøgelser – kemiske analyser	7
2.1 Analysemetode – udvikling og vedligeholdelse	7
2.2 Etablering af udvidet analysekapacitet til dioxinkontrol	10
2.3 Prøveplan	10
2.4 Resultater af kortlægningsundersøgelserne	12
2.5 Konklusion vedrørende kortlægningsundersøgelserne.....	20
3. Beregning af det danske humane dioxinindtag	21
4. Screeningsmetode til bestemmelse af dioxinaktivitet i fødevarer	24
4.1 Princippet i CALUX bioassay	24
4.2 Udvikling og optimering af forsøgsbetingelser og oprensningprocedure.....	25
4.3 Sammenligning af CALUX og kemisk analyse	27
4.4 Undersøgelse af humane blodprøver	30
4.5 Automatisering af CALUX bioassay.....	30
4.6 Konklusion vedrørende CALUX.....	30
5. Modelberegninger af husdyrs optagelse af dioxin fra foder	32
5.1 Beregninger af dioxinindhold i animalske fødevarer og fisk	33
5.2 Sammenligning af modelberegninger med faktiske dioxinindhold i danske fødevarer	34
5.3 Konklusion vedrørende modelberegningerne.....	35
6. Den internationale indsats for en reduktion af dioxinforureningen	36
7. Sammenfattende konklusioner	41
Bilag A. Dioxin og dioxinlignende PCB i danske fødevarer	43
Bilag B. Dioxin og dioxinlignende PCB i dansk modermælk	46

Forord

Dioxinhandlingsplanen blev iværksat på baggrund af det daværende Fødevaredirektoratets notat af 22. oktober 1999 angående ”Oplæg til strategi for en dansk indsats til begrænsning af dioxinindholdet i fødevarer”. Fødevareministeriets dioxinhandlingsplan, der blev igangsat fra 2000 har løbet frem til med 2004. Handlingsplanen er blevet gennemført i et koordineret samarbejde med Miljøstyrelsen i Miljøministeriet.

Nærværende rapport beskriver de aktiviteter af Fødevareministeriets dioxinhandlingsplan der har foregået ved Danmarks Fødevareforskning (tidligere Institut for Fødevareundersøgelser og Ernæring under Fødevaredirektoratet). Følgende personer har bidraget til arbejdet: Arne Büchert og Tommy Cederberg fra Afdeling for Kemiske Fødevareundersøgelser samt Peter Laier, John Chr. Larsen og Anne Marie Vinggaard fra Afdeling for Toksikologi og Risikovurdering.

1. Indledning

Med den belgiske dioxinskandale i 1999, hvor PCB-forurenede fødevarer førte til en uacceptabel dioxinforurening af fødevarer kom der fornyet international fokus på fødevarer og foderstoffer med hensyn til dioxiner og lignende stoffer. Samtidig blev de erhvervsøkonomiske konsekvenser af forbrugernes usikkerhed og myndighedernes reaktioner understreget.

På baggrund af skandalen blev der både i Danmark og i andre europæiske lande indenfor EU taget initiativ til en forstærket indsats for at reducere dioxinindholdet i fødevarer og foderstoffer med henblik på en reduktion af befolkningens belastning med dioxiner gennem kosten. I Danmark blev denne indsats igangsat fra år 2000 i form af Fødevareministeriets dioxinhandlingsplan, der gennemføres i et koordineret samarbejde med Miljøministeriet.

1.1 Baggrund

De såkaldte dioxiner – eller blot dioxin - omfatter i alt 210 nært beslægtede kemiske forbindelser af typen polychlorerede dibenzo-*p*-dioxiner (PCDD) og polychlorerede dibenzofuraner (PCDF). Dioxiner dannes i det moderne industrisamfund som en utilsigtet forurening, der spredes til miljøet, hvor de på grund af deres store modstandsdygtighed overfor nedbrydning og deres lipofile karakter, akkumuleres og opkoncentreres i fødekæden. Dioxinerne finder således vej til vore fødevarer, der er den helt dominerende kilde til befolkningens belastning med disse stoffer.

Polychlorerede biphenyler (PCB) har været anvendt i en lang række produkter, især elektriske artikler, hydrauliske væsker og transformere, på grund af deres isolerende evne mod elektricitet og varme. PCB er blandinger af 209 beslægtede stoffer (congenerer). PCB er fedtopløselige, og nogle er modstandsdygtige over for nedbrydning og opkoncentreres i fødekæderne. Nogle PCB congenere har samme giftvirkning som dioxin og kaldes samlet for dioxinlignende PCB.

Dioxiner hører til blandt de mest toksiske stoffer, der kendes. Den mest karakteristiske effekt i mennesker efter høj dioxinbelastning er hudsygdommen chloracne. Dioxinerne kan desuden påvirke bl.a. leverfunktion og udviklingen af immunsystemet, nervesystemet og kønsorganerne. WHO fastsatte i 1998 en tolerabel daglig indtagelse (TDI) på 1–4 picogram (pg) WHO-TEQ per kg legemsvægt og anbefalede samtidig, at indtagelsen på længere sigt reduceres. I dette tal medregnes dioxinlignende PCB, der kan give anledning til tilsvarende effekter.

WHO estimerede i 1998 den daglige dioxin-belastning i de europæiske lande til at være 1-3 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt/dag eller 2-6 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt/dag når de dioxinlignende PCB medtages. I 1999 har Fødevaredirektoratet på basis af udenlandske data fra bl.a. Tyskland, Holland, England og Norge for dioxinindholdet i fødevarer foretaget et konservativt skøn over den danske gennemsnitsforbrugers belastning og estimeret den samlede indtagelse til ca. 5 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt/dag.

EUs Videnskabelige Komité for Levnedsmidler (SCF) offentliggjorde i november 2000 en risikovurdering af dioxiner (Opinion of the SCF on the Risk Assessment of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food, Adopted on 22 November 2000), men udsendte allerede en opdatering i juni 2001 (Opinion of the SCF on the Risk Assessment of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food, Update based on new scientific information available since the adoption of the SCF opinion of 22nd

November 2000. Adopted on 30 May 2001). SCF foreslog en tolerabel ugentlig indtagelse (TWI) på 14 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt. Den gennemsnitlige daglige indtagelse af PCDD og PCDF, baseret på de nyeste analyseresultater og indtagelsesberegninger (1995-1999) fra især Nord-europæiske lande, blev estimeret til mellem 0.4 og 1.5 pg I-TEQ/kg legemsvægt. Dette angives at være 3-4 gange lavere end i 1970-80'erne. For dioxinlignende PCB estimeres indtagelsen til mellem 0.8 og 1.5 pg PCB-TEQ/kg legemsvægt/dag. Samlet vurderede SCF den gennemsnitlige indtagelse til mellem 1.2 og 3.0 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt/dag. Sagt med andre ord, betød det, at en betragtelig del af befolkningen på daværende tidspunkt havde et dioxin-indtag, der overskrider SCFs toksikologiske tærskelværdi.

Skønt dioxinniveauerne i fødevarer og i modermælk har været faldende gennem en årrække er der med disse estimater af dioxinindtagelsen og med WHO's og SCFs vurderinger fortsat behov for en indsats, der kan reducere dioxinbelastningen yderligere. Når det samtidig erindres, at der er almindelig enighed blandt eksperterne om, at kosten er den helt dominerende kilde til indtagelsen af stofferne, er der i høj grad brug for en indsats, der kan reducere fødevarernes indhold af dioxiner og dermed styrke fødevarerens sikkerhed med hensyn til disse stoffer.

1.2 Dioxinhandlingsplanens indhold

Dioxinhandlingsplanen blev iværksat på baggrund af Fødevaredirektoratets notat af 22. oktober 1999 ang. "Oplæg til strategi for en dansk indsats til begrænsning af dioxinindholdet i fødevarer". Notatet omfattede forslag til en indsats rettet mod:

- Kilder til dioxin i miljøet
- Dioxiner i fødevarer
- Dioxiner i foderstoffer
- Internationale aktiviteter

I finansåret 2000 blev der allokeret ressourcer der muliggjorde en opstart i Fødevaredirektoratet og Plantedirektoratet under Fødevareministeriet og i Miljøstyrelsen under Miljøministeriet. Indsatsen blev videreført i de følgende år og for de to direktorater under Fødevareministeriet skete det i kraft af en særbevilling over finansloven for 2001 for perioden 2001 – 2004.

1.3 Indsatsen mod dioxiner i fødevarer

Denne rapport beskriver de aktiviteter, der har foregået i Danmarks Fødevareforskning (tidligere Institut for Fødevareundersøgelser og Ernæring under Fødevaredirektoratet) i 2000 – 2004.

Indsatsen i relation til fødevarerne har omfattet en række delelementer, der samlet har sigtet mod en indsamling og opdatering af den eksisterende viden om forekomsten af dioxiner i kosten og mod en forbedring af grundlaget for risikovurderingen. Konkret har indsatsen omfattet følgende delelementer:

- *Undersøgelser af animalske fødevarer og aquakultur produkter*
Undersøgelserne gennemføres som et led i den løbende kontrol af animalske produkter i henhold til direktiv 96/23/EF
- *Supplerende kontrol af øvrige fødevarer og modermælk*
Undersøgelserne omfatter bl.a. konsumfisk og visse fødevarer, der ikke er dækket af direktiv 96/23/EF, samt løbende undersøgelser af modermælk som indikator for den humane belastning og den samlede eksponering gennem kosten.
- *Udvikling af screeningsmetoder*
Aktiviteten sigter mod udvikling af hurtige og mindre omkostningstunge screeningsmetoder til brug for den fremtidige overvågning og kontrol af dioxiner i fødevarer og med henblik på vurderingen af det samlede indhold af dioxinlignende stoffer i disse fødevarer. Screeningsmetoderne baseres på cellekulturer og udvikles i et samarbejde mellem DFVFs to afdelinger. Det blev fra start understreget, at der var tale om et udviklingsarbejde, hvor det næppe ville være muligt, at gennemføre og afslutte udviklingen med et tilfredsstillende resultat indenfor handlingsplanens første år.
- *Udvikling af modeller til beregning af optageligheden af dioxiner fra foderstoffer og fødevarer.*
Udvikling af modellerne sigter mod etablering af et værktøj til beskrivelse og forudsigelse af den humane optagelse af dioxiner fra fødevarer. De udviklede modeller vil være af betydning for en mere præcis og pålidelig risikovurdering, og de vil dermed være af betydning for fødevareresikkerheden.
- *International indsats på fødevareområdet*
Dioxin er en grænseoverskridende forurening og en langsigtet signifikant nedsættelse af dioxinforureningen kan kun ske i et internationalt samarbejde. Både af hensyn til forbrugerne og af hensyn til fødevareeksporten er en aktiv dansk deltagelse i det internationale arbejde af stor vigtighed, bl.a. i relation til fastsættelse af grænseværdier for dioxiner, og for at påvirke den internationale regeldannelse og beslutningsproces. Indsatsen har omfattet deltagelse i det fagligt-videnskabelige samarbejde om risikovurderinger og analyser samt forskningsbaseret rådgivning til Fødevarestyrelsen især med henblik på de løbende forhandlinger i EU-kommissionen omkring fastsættelsen af grænseværdier for dioxinindholdet i fødevarer.

2. Kortlægningsundersøgelser – kemiske analyser

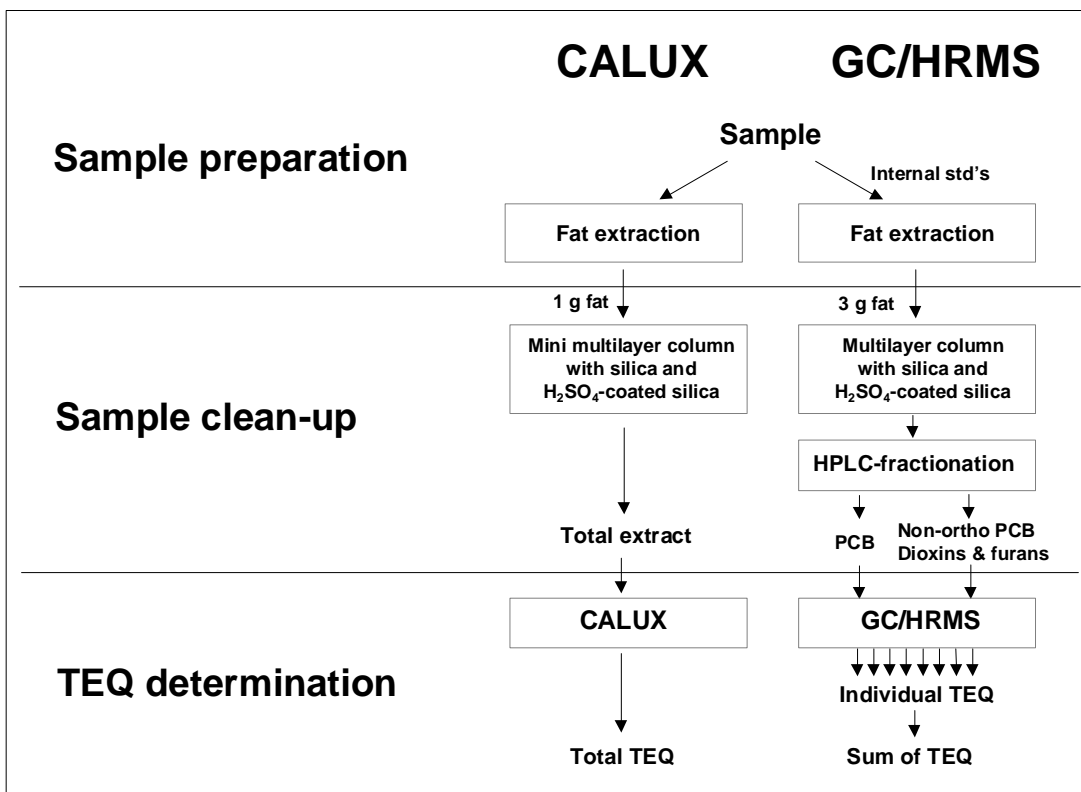
2.1 Analysemetode – udvikling og vedligeholdelse

Afdeling for Kemiske Fødevarerundersøgelser har tidligere udført analyser for dioxiner (1987-88) og dioxinlignende PCB (1995-97). Med udsigten til rutinemæssige analyser for dioxiner og dioxinlignende PCB over en længere årrække, og med et forholdsvis stort antal prøver, har det været målet at foretage en metodeudvikling og optimering, der tager hensyn til en mere effektiv arbejdsgang. Effektiv med hensyn til analysetid og med mulighed for automatisering af nogle af oprensningstrinene. En akkreditering af metoden har også været en målsætning, dels som en naturlig forlængelse af metodevalideringen, som dokumentation for den analytiske kvalitet, og dels fordi nogle af kontrolprøverne udføres i henhold til et EU kontroldirektiv, hvor der er krav om akkrediteret prøvning.

Med yderligere behov for dioxinanalyser til kontrol af grænseværdier og til kortlægning af dioxinindhold i vilde fisk var det fra starten forudset, at der ville blive behov for nye laboratoriefaciliteter. Dette forhold er beskrevet i afsnit 2.2.

Analyseprincip

Dioxiner og dioxinlignende PCB er fedtopløselige og findes derfor i de højeste koncentrationer i fedtet i de fede fødevarer. Koncentrationerne af dioxiner og non-ortho PCB i fødevarer er typisk i det lave pg/g fedt niveau og derunder. For at kunne opnå fornuftige detektionsgrænser er det nødvendigt både at tage relativt store prøvemængder i arbejde, svarende til ca. 3 g fedt, og at prøveekstraktet bliver kraftigt opkoncentreret til et slutvolumen på 20 µl. Det stiller store krav til analysemetoden, der foruden at fjerne interfererende stoffer også skal reducere fedtmatricen til et tilstrækkeligt lavt niveau, så en opkoncentrering af prøven er mulig. Selv med disse prøvemængder og prøveoprensning er det nødvendigt at analysere ekstrakterne med et højtopløsende GC/MS system, for at opnå tilstrækkelig høj følsomhed og specificitet. Det er den ressourcekrævende prøveoprensning og det dyre instrument, der gør dioxinanalyser forholdsvis dyre. Figur 2.1.1 viser et flowdiagram med de forskellige trin i analysemetoden. Af figuren fremgår også den mindre krævende oprensningsprocedure, som anvendes til bestemmelse af dioxinaktivitet i et biologisk testsystem, CALUX (afsnit. 4).



Figur 2.1.1. Flowdiagram med det analytiske princip for bestemmelse af TEQ ved anvendelse af hhv. et CALUX bioassay og en kemisk analysemetode med GC/HRMS. CALUX bioassay omtales i afsnit 4 om screeningsmetoder.

Efter homogenisering af prøven ekstraheres fedtet med organiske opløsningsmidler og det isolerede fedt oprenses derefter i to forskellige chromatografiske systemer. Det første system består af en søjle pakket med silica og svovlsyreimprægneret silica. Her sker der en nedbrydning af fedtet og andre stoffer, der ikke tåler syrer samtidigt med at polære forbindelser tilbageholdes på søjlematerialet. Prøven fraktioneres efterfølgende med HPLC i tre fraktioner: mono- og di-ortho PCB, non-ortho PCB og dioxiner.

Efter inddampning analyseres fraktionerne ved hjælp af gaschromatografi med højtopløsende massespektrometrisk detektion.

Den kvantitative bestemmelse sker med isotopfortyndningsteknik, dvs. der tilsættes en række kulstof-13 mærkede standarder (dioxiner og PCB) til prøven før den oprenses. Der tilsættes ligeledes isotopmærkede standarder til ekstraktet lige før GC/MS analysen, så genfindingen, og dermed kontrol af prøveoprensningen, kan følges for den enkelte prøve.

Rapportering af analyseresultater

Ved omtale af en prøves dioxinindhold nævnes som regel kun en enkelt værdi. Det er den såkaldte TEQ-værdi, der udtrykker prøvens samlede indhold af stoffer med dioxinlignende effekt. En række stoffer har dioxinlignende effekter og for 29 enkeltstoffer er der fastsat en faktor (toksicitets-ækvivalent-faktor: TEF), der vægter stoffets giftighed i forhold til den mest giftige dioxinforbindelse. Ved den kemiske analyse for dioxin analyseres der for disse enkeltstoffer, og efter at koncentrationerne er korrigeret med TEF-værdierne, adderes de til en samlet TEQ-værdi for prøven. Der er i øjeblikket TEF-værdier for 17 dioxiner (PCDD og PCDF) og 12 dioxinlignende PCB-forbindelser (se Tabel 2.1.2).

WHO-TEF for dioxiner		WHO-TEF for dioxinlignende PCB	
PCDD		Non-ortho PCB	
2,3,7,8-TCDD	1	PCB 77	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB 81	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 169	0,01
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	Mono-ortho PCB	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 105	0,0001
OCDD	0,0001	PCB 114	0,0005
PCDF		PCB 118	0,0001
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 156	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 157	0,0005
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 189	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1		
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Tabel 2.1.2. Toksicitets-ækvivalent-faktorer, fastsat af WHO, for dioxiner (PCDD og PCDF) og dioxinlignende PCB.

I mange prøver vil der være en eller flere af dioxinerne eller de dioxinlignende PCBer, der ikke kan detekteres. Ved beregning af TEQ kan koncentrationerne af disse ikke-detekterbare forbindelser sættes til nul eller til detektionsgrænsen. Den sande værdi for koncentrationen vil ligge et sted mellem nul og detektionsgrænsen, og ved at benytte nul som værdi vil den beregnede TEQ underestimere det sande indhold, mens anvendelsen af detektionsgrænsen vil overestimere den sande TEQ. Det er almindelig praksis internationalt at rapportere TEQ-værdier, hvor koncentrationen af ikke-detekterbare forbindelser er sat til detektionsgrænsen.

Der har i de sidste 20 år været mest fokus på dioxinerne, så det er på disse forbindelser der p.t. er den største analysetekniske ekspertise og laboratoriekapacitet. Derfor er de maksimalgrænseværdier, der indtil videre er vedtaget i EU, udelukkende baseret på TEQ fra dioxinerne.

2.2 Etablering af udvidet analysekapacitet til dioxinkontrol

Med fastsættelsen af grænseværdier for dioxinindholdet i fødevarer og i foderstoffer juni 2001 opstod der et mere permanent behov for danske kontrol- og overvågningsundersøgelser. Efter nærmere overvejelser i Fødevarerministeriets departement blev det i 2001 besluttet at etablere en analysefunktion ved Fødevarerstyrelsens laboratorium i Fødevarerregion Ringsted. Det er planen, at dette laboratorium skal varetage de kommende kontrolopgaver på Fødevarerministeriets område, dvs. både på fødevarer- og foderstofområderne. Laboratoriet skal desuden medvirke til løsning af andre opgaver for Fødevarerministeriet, hvor der kræves undersøgelser for dioxiner. Det er yderligere tanken, at laboratoriet skal foretage dioxinanalyser på markedsvilkår for eksterne rekvirenter i den udstrækning, der vil være ledig kapacitet på laboratoriet. Indledningsvis er laboratoriet startet med at foretage analysearbejdet i forbindelse med den planlagte undersøgelse af dioxinindholdet i danske konsum- og industrifisk.

Arbejdet med etableringen af den nye analyseenhed blev fra start forsinket pga. af et cirkulære om ansættelses- og udgiftsstop, der blev indført i forbindelse med regeringsskiftet i 2001. Efter ophævelsen af dette cirkulære har der været arbejdet målrettet mod etableringen af laboratoriet. Dette arbejde er gennemført i et samarbejde mellem Ringsted-laboratoriet, som den hovedansvarlige og Afdeling for Kemiske Fødevarerundersøgelser, der har virket som rådgiver. I løbet af 2002 blev der foretaget ombygning og indretning af laboratorielokaler i Ringsted, samt gennemført anskaffelse af det nødvendige specialudstyr, herunder højtopløsende massespektrometer, der blev anskaffet efter en offentlig udbudsforretning i EU. Efterfølgende er det nye udstyr installeret og dioxinmetoden er afprøvet og indkørt i laboratoriet. Dioxinmetoden er akkrediteret i henhold til ISO17025 normen af den danske akkrediteringsmyndighed DANAK.

2.3 Prøveplan

Mere end 90% af den humane eksponering for dioxiner kommer fra indtagelse af fødevarer kontamineret med dioxiner, og langt hovedparten af indtagelsen stammer fra de fede animalske fødevarer og fede fisk. Kortlægningsundersøgelserne er tilrettelagt med det formål at få analyseret de mest relevante fødevarer og til at få et billede af det generelle niveau af dioxinindholdet i danske fødevarer.

Prøveudtagningen sker i forbindelse med et EU kontroldirektiv (EF/96/23), der omhandler animalske produkter dvs. mælk, æg, kød og dambrugsfisk. I den oprindelige dioxinhandlingsplan er disse

prøver suppleret med prøver af mejeriprodukter og vilde fisk. Desuden er prøver af modermælk periodevis også med i kortlægningundersøgelserne for at følge den humane eksponering med dioxin m.m.

I Tabel 2.3.1 er den oprindelige prøveplan for fødevareranalyserne vist. Det blev desuden planlagt at analysere ca. 20 modermælksprøver hvert andet år. Af Tabel 2.3.2 fremgår den faktiske gennemførte samlede prøveplan.

	2000	2001	2002	2003	2004	2000-2004
Svin	5	30*	40*	40*	40*	180*
Okse	5					
Lam						
Fjerkræ	5					
Æg	5					
Mælk	5					
Akvakultur	5					
Import (ikke EU)		10	10	10	10	40
Totalt direktiv 96/23	70		50	50	50	220
Mejeriprodukter		10	10	10	10	40
Vilde fisk	10	10	10	10	10	50
Antal prøver i alt	100		70	70	70	310

Tabel 2.3.1 Oprindelig prøveplan for fødevarer. * betyder at prøveantallet skal fordeles på svin, okse, lam, fjerkræ, æg, mælk og akvakultur.

	2000	2001	2002	2003	2004	2000-2004
Svin	5	5	5	10	10	35
Okse	5	5	5	10	10	35
Lam		5	5	10	10	30
Fjerkræ	5	5	5	26	29	70
Æg	5	5	10	3	20	43
Mælk	5	5	5	4	20	39
Mejeriprodukter		10			6	16
Frukt, grønt og cerealier					15	15
Vegetabilsk olie					6	6
Akvakultur	5		5	10	10	30
Vilde fisk	5		20	15	12	52
Fiskeolie – kosttilskud	5				9	14
Modermælk	19 ¹		19		13	51
Antal prøver i alt	59	40	79	88	170	436

Tabel 2.3.2 Den gennemførte prøveplan for dioxinundersøgelser af fødevarer og modermælk i perioden 2000-2004. (¹Prøverne er indsamlet i 1999)

I forhold til det oprindelige forslag er der sket to ændringer.

- 1) Fra d. 1. juli 2002 blev de nye EU grænseværdier for dioxin i fødevarer indført, og det har betydet en forøgelse i at antallet af kontrolanalyser. De ekstra prøver er blevet indarbejdet fra 2003 og frem, og hænger i øvrigt også sammen med den øgning i kapaciteten for dioxinanalyser der er sket med etableringen af det nye dioxinlaboratorium i Fødevarestyrelsens Fødevareregion Ringsted.
- 2) EU-kommissionen har i en henstilling foreslået, at der i 2003, 2004 og 2005 foretages en koordineret monitoring af dioxin og PCB i EU, og ifølge denne henstilling skal Danmark analysere 66 prøver/år. Nogle af disse prøver er dog allerede dækket af den oprindelige prøveplan.

I foråret og sommeren 2004 førte analyseresultater, der lå over dioxingrænseværdien, på laks fra Østersøen og sild fra Østersøen øst for Bornholm til, at Fødevarestyrelsen indførte restriktioner for den danske fangst af laks og sild fra Østersøen. De første prøver af sild fra Østersøen, der viste overskridelser af dioxingrænseværdien var udtaget i forbindelse med dioxinhandlingsplanens prøveplan, og de næste prøver af sild og laks fra Østersøen var fra et forskningsprojektet, der handler om dioxin og PCB i danske industri- og konsumfisk.

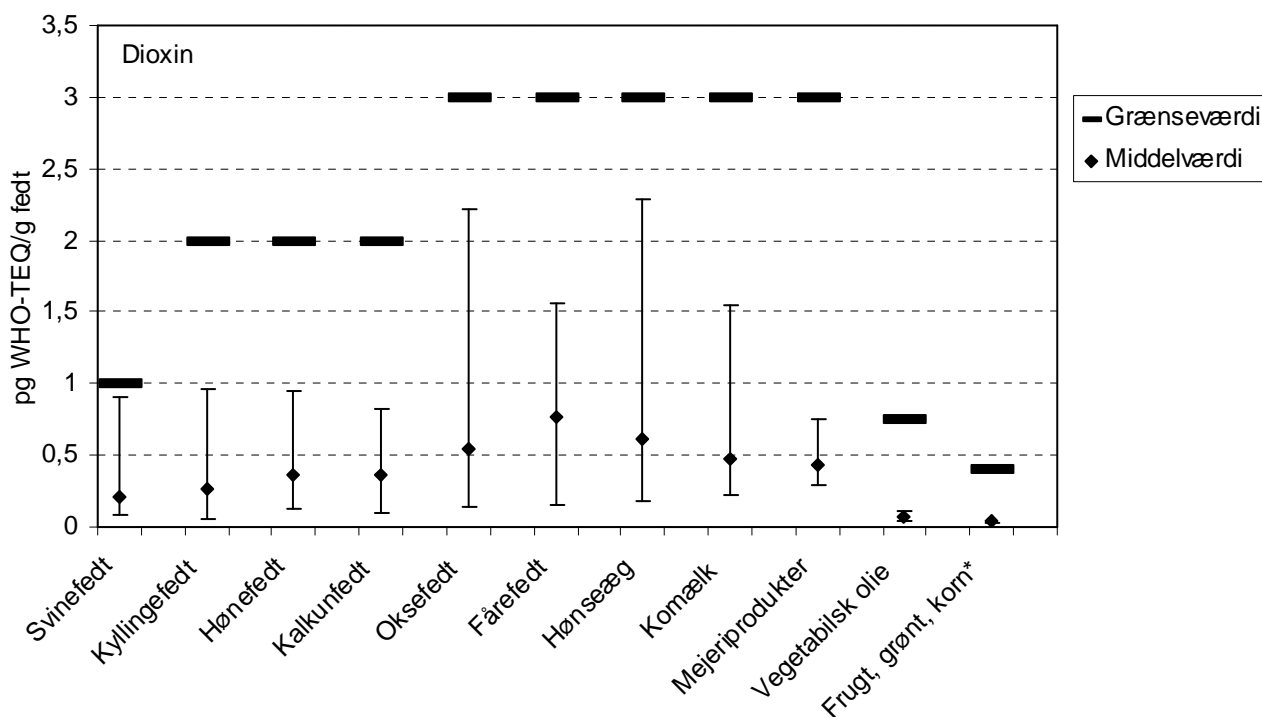
Som opfølgning på disse resultater gennemførte Fødevarestyrelsen i 2004 i samarbejde med Danmarks Fødevareforskning, Danmarks Fiskeriundersøgelser og Danmarks Fiskeindustri- og Eksportforening to projekter med laks. Det ene projekt drejede sig om analyser af laks fra forskellige vægtklasser for at undersøge sammenhængen mellem størrelsen af laksen og indhold af dioxin og PCB. Det andet projekt var en pilotundersøgelse, hvor forskellige forarbejdningsprocessors eventuelle indflydelse på indholdet af dioxin og PCB i laksefileter blev undersøgt. Resultaterne fra disse to projekter er omtalt i næste afsnit.

2.4 Resultater af kortlægningsundersøgelserne

Resultater af de 436 gennemførte dioxin og PCB analyser i årene 2000 til 2004 fremgår af tabellerne i bilag A og B. Tabellerne i bilag A er inddelt i de enkelte fødevarer og viser de målte indhold af dioxin, dioxinlignende PCB og summen af dioxin og PCB (total TEQ). Tabellen i bilag B indeholder de målte indhold af dioxin og PCB i dansk modernmælk.

Indhold i fødevarer bortset fra fisk

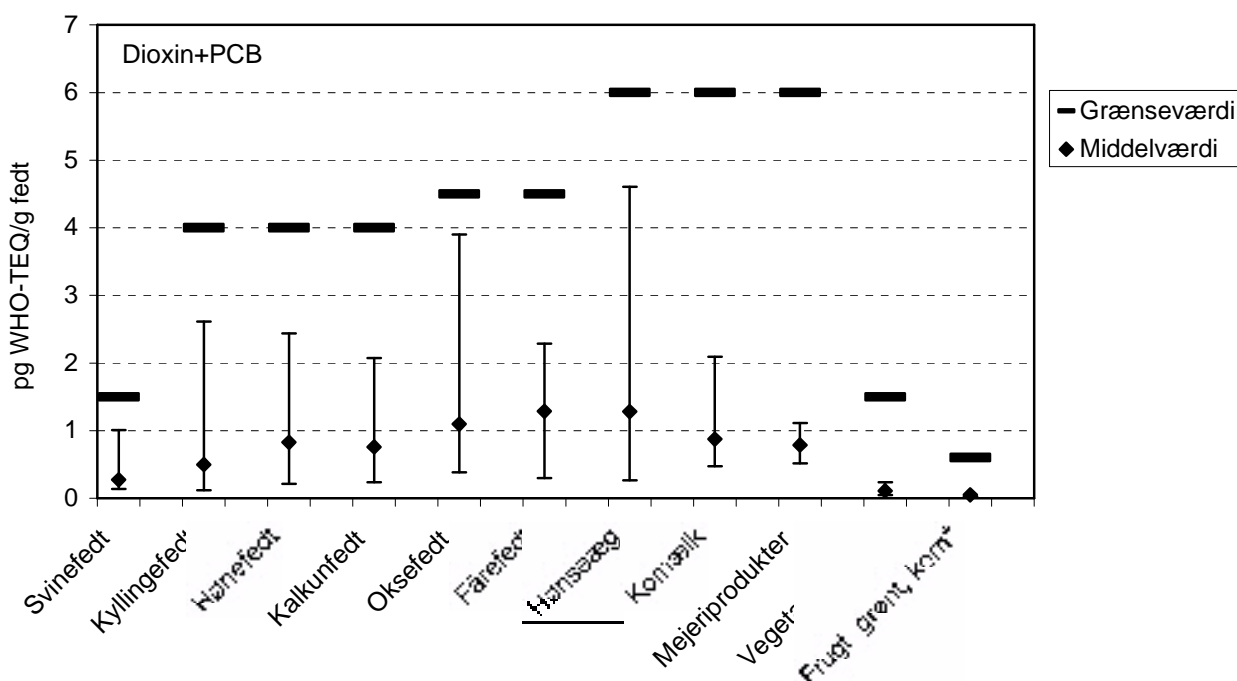
Figur 2.3.1 og Figur 2.3.2 viser de fundne indhold i perioden 2000 til 2004 af hhv. dioxin og summen af dioxin og dioxinlignende PCB. Indenfor hver af fødevarer er indholdet vist ved gennemsnitsværdien af alle de analyserede prøver og med angivelse af maksimum- og minimumsværdien. Endvidere er de gældende grænseværdier for dioxinindhold afbilledet i Figur 2.3.1, og i Figur 2.3.2 er det de foreslåede nye grænseværdier for summen af dioxin og dioxinlignende PCB der er vist.



Figur 2.3.1 Målte indhold af dioxin-TEQ i danske fødevarerprøver fra 2000-2004. De målte indhold er angivet ved en middelværdi og hhv. maximums- og minimumsværdierne. Øverst er maksimalgrænseværdierne vist. (*) For Frugt, grønt og kornprodukter er enheden pg WHO-TEQ/g produkt og aktionsværdien er angivet, da der ikke er maksimalgrænseværdi for disse fødevarer typer.

Som det fremgår af Figur 2.3.1 ligger de typiske indhold af dioxin i danske fødevarer et pænt stykke fra grænseværdierne. I perioden 2000 til 2004 er der kun fundet én prøve af oksefedt, der overskred indgrebsværdien. Indgrebsværdien ligger på ca. 75% af grænseværdien, og hvis indholdet af dioxin i en vare er over indgrebsværdien men under grænseværdien, må den godt omsættes, men myndigheder er forpligtiget til at foretage yderligere undersøgelser med henblik på en udredning af årsagen til det forhøjede indhold. Hønseæg fra økologiske bedrifter udviser stor variation i dioxinindhold, og nogle af prøverne ligger tæt på indgrebsværdien. I andre lande er der også observeret højere indhold i økologiske æg eller æg fra udegående høns. Nogle steder skyldes det, at jorden som hønsene prikker i er kontamineret med dioxin, men andre forhold kan også spille ind, bl.a. tilsætning af fiskeolie til hønsefoderet og at der kan være forskel på optaget af dioxin i forskellige hønseracer.

For fødevarerprøverne ligger indholdene på et tilsvarende niveau som for de øvrige europæiske lande, der ligger tæt på Danmark, og hvor der er gennemført dioxinanalyser. Sammenlignet med de danske undersøgelser fra 1987 er der sket et markant fald i dioxinindholdet, fx ca. 80% for oksekød og ca. 75% for mælk. Et tilsvarende fald er også observeret i bl.a. Tyskland, Storbritannien og Sverige.



Figur 2.3.2 Målte indhold af summen af dioxin og PCB (Total TEQ) i danske fødevarerprøver fra 2000-2004. De målte indhold er angivet ved en middelværdi og hhv. maximums- og minimumsværdierne. Øverst er de foreslåede maksimalgrænseværdier vist. (*) For Frugt, grønt og kornprodukter er enheden pg WHO-TEQ/g produkt og summen af aktionsværdierne for dioxin og PCB er angivet, da der ikke er maksimalgrænseværdier for disse fødevarer typer.

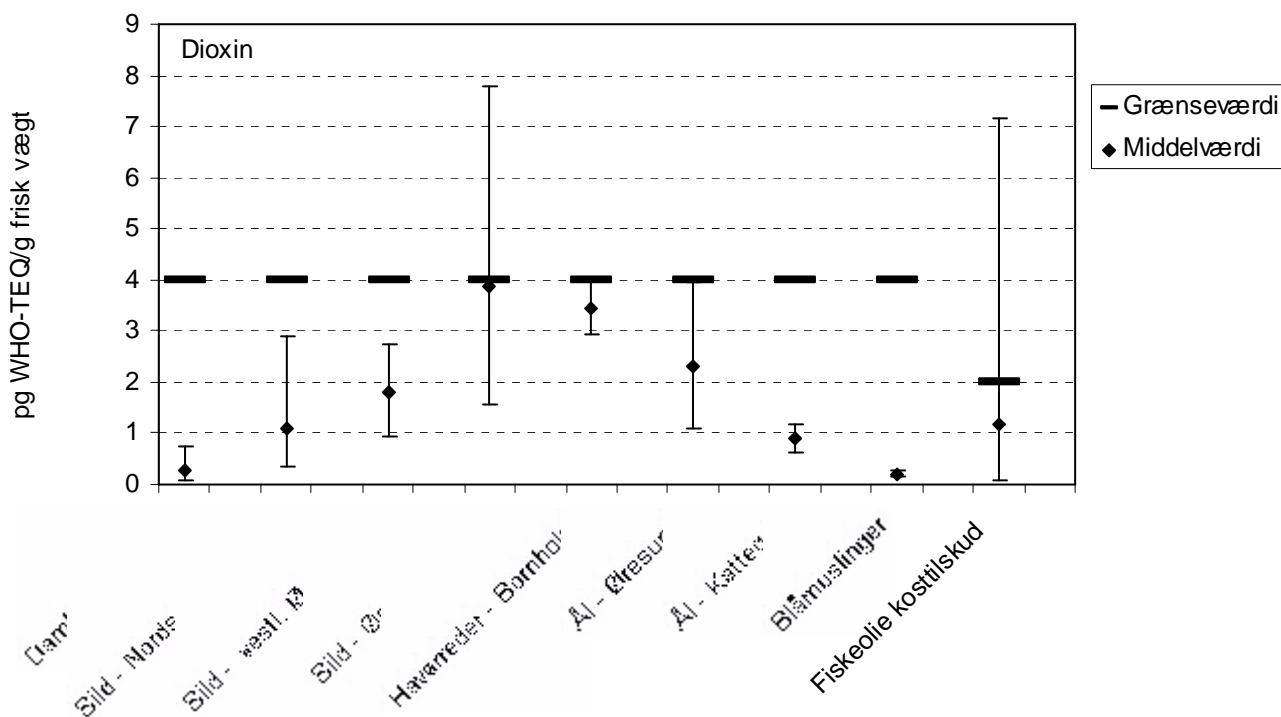
Af Figur 2.3.2 kan det ses, at de foreslåede nye grænseværdier for summen af dioxin og PCB generelt ligger på et niveau, der ikke giver anledning til fund af fødevarer med for højt indhold af dioxin og dioxinlignende PCB. Det skal dog understreges, at det prøveantal der ligger til grund for indholdstallene kun kan siges at udgøre en stikprøvekontrol, og med flere prøver vil det være sandsynligt, at der kan forekomme prøver med indhold over grænseværdierne eller indgrebsværdierne. Det gælder dioxin såvel som summen af dioxin og dioxinlignende PCB.

Indhold i konsumfisk og fiskeolie til kosttilskud

Figur 2.3.3 og Figur 2.3.4 viser de målte indhold af hhv. dioxin og summen af dioxin og dioxinlignende PCB i et udvalg af danske konsumfisk. Endvidere er prøver af fiskeolie til kosttilskud også analyseret for indhold af dioxin og dioxinlignende PCB. Grænseværdierne for dioxin og de foreslåede nye grænseværdier for summen af dioxin og dioxinlignende PCB er afmærket i figurene.

Der er fundet indhold over dioxingrænseværdien i laks fra Østersøen og sild fanget øst for Bornholm. Desuden er der fundet indhold over indgrebsværdien for dioxin i havørreder fra Bornholm og Ål fra Øresund. I vilde fisk er det forureningsgraden af det farvand fisken lever i der bestemmer hvor meget dioxin og PCB der ophobes i fisken. Da dioxin og PCB bindes i fedtet er problemet størst for de fede fisk som sild, ål og havørreder. I laks fra Østersøen er der også fundet indhold over grænseværdien (se omtalen senere i afsnittet). Indholdet i dambrugsørreder er relateret til ind-

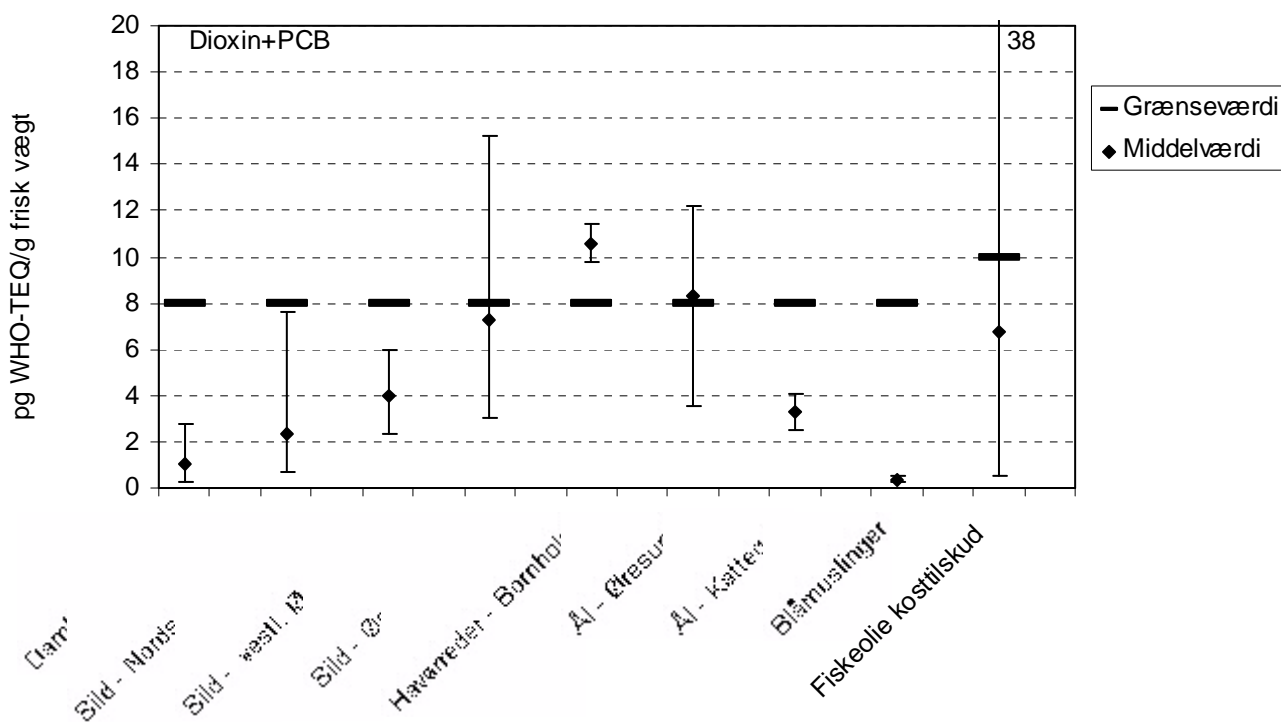
holdet af dioxin og PCB i fiskefoderet, og det ses, at der er fundet indhold et godt stykke fra grænseværdien.



Figur 2.3.3 Målte indhold af dioxin-TEQ i danske konsumfisk og fiskeolie til kosttilskud i prøver fra 2000-2004. De målte indhold er angivet ved en middelværdi og hhv. maximums- og minimumsværdierne. Øverst er maksimalgrænseværdierne vist.

Når de fundne indhold af summen af dioxin og dioxinlignende PCB sammenlignes med de foreslåede nye grænseværdier gentages mønsteret fra dioxin alene. For nogle fiskearter fx laks, havørreder og ål akkumuleres der forholdsvis mere PCB end dioxin, og i de tilfælde er der endnu større problemer med at overholde den foreslåede nye grænseværdi for summen af dioxin og PCB, da den kun er dobbelt så stor som for dioxin alene.

Grafen for indholdet af dioxin og dioxinlignende PCB i fiskeolie til kosttilskud viser markante overskridelser både for dioxin og summe af dioxin og PCB. Prøverne er udtaget i år 2000 og i år 2004. Overskridelserne er fra nogle af prøverne fra 2000, dvs. før dioxingrænseværdien trådte i kraft. Prøverne fra 2004 overholder både dioxingrænseværdien og den foreslåede grænseværdi for summen af dioxin og PCB. De undersøgte fiskeleverolier udviser dog store variationer, hvor nogle har lavt indhold af både dioxin og PCB, mens andre har forholdsmæssigt højt indhold af PCB, der i nogle tilfælde resulterer i værdier af dioxin og PCB i nærheden af den foreslåede grænseværdi. De fleste fiskeleverolier er sikkert blevet underkastet en renseproces for at reducere indhold af bl.a. dioxin og PCB, men noget kunne tyde på, at renseprocesserne ikke i alle tilfælde har været tilstrækkelig effektive mht. reduktion af PCB.



Figur 2.3.4 Målte indhold af summen af dioxin og PCB (Total TEQ) i danske konsumfisk og fiskeolie til kosttilskud i prøver fra 2000-2004. De målte indhold er angivet ved en middelværdi og hhv. maximums- og minimumsværdierne. Øverst er de foreslåede maksimalgrænseværdier vist.

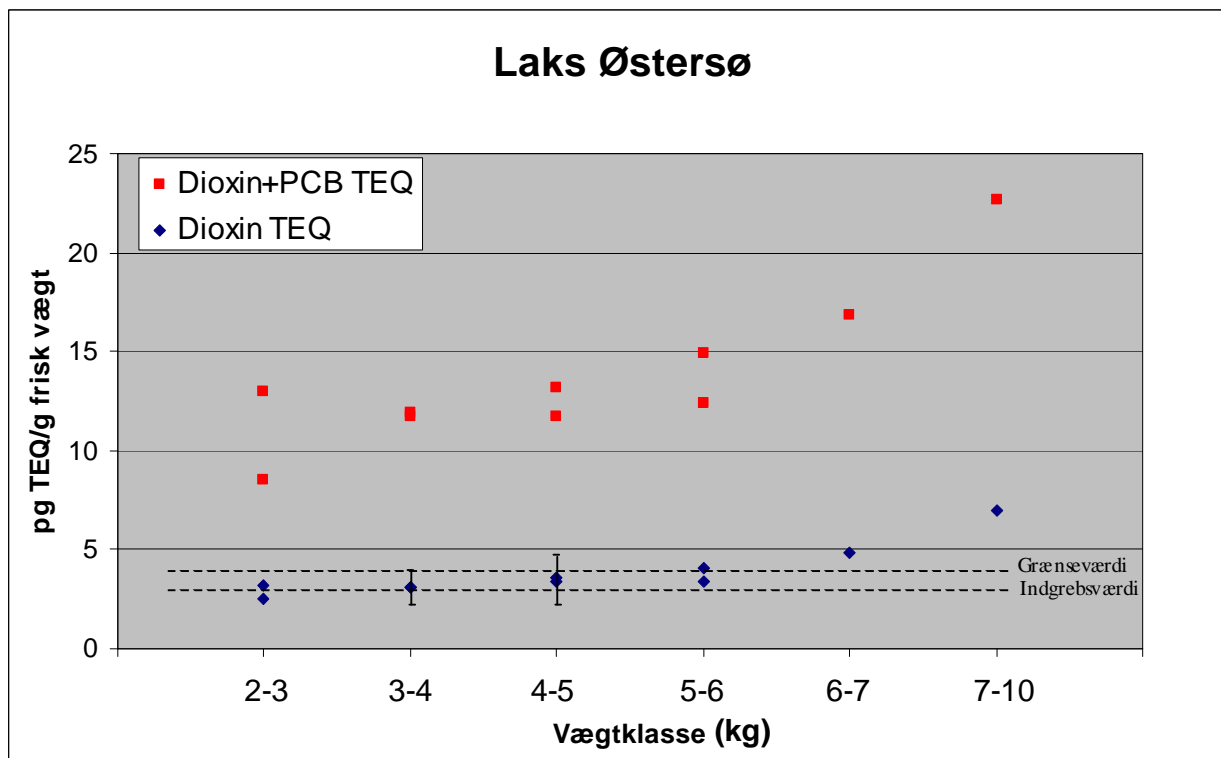
Opfølgingsprojekt til undersøgelse af forskellige størrelser af laks

Et forskningsprojekt i samarbejde mellem Danmarks Fødevareforskning og Danmarks Fiskeriundersøgelser, drejer sig om bestemmelser af indhold af dioxin og PCB i danske industri- og konsumfisk. Projektet er finansieret af Danmarks Fødevareerhverv over Innovationsloven og løber fra 2002 – 2005. Et delresultat fra dette projekt viste i marts 2004 en overskridelse af dioxingrænseværdien i laks fra Østersøen. På den baggrund indførte Fødevarestyrelsen et fangst- og landingsforbud for laks fra Østersøen.

Fødevarestyrelsen gennemførte i samarbejde med Danmarks Fødevareforskning, Danmarks Fiskeriundersøgelser og Danmarks Fiskeindustri- og Eksportforening et opfølgingsprojekt med det formål at få fastlagt sammenhængen mellem indhold af dioxin og PCB og størrelsen af laks fra Østersøen.

Der blev udtaget friskfanget laks fra seks vægtklasser. Fra hver af de fire laveste vægtklasser (2-3 kg, 3-4 kg, 4-5 kg og 5-6 kg) blev der analyseret to samleprøver, hvori der indgik ti laks. For vægtklasserne 4-5 kg og 5-6 kg blev det ene sæt af ti laks analyseret individuelt for kunne vurdere variationsbredden. For vægtklasserne 6-7 kg og 7-10 kg blev der kun analyseret én samleprøve.

Resultaterne af de kemiske analyser for indhold af dioxin og PCB fra projektet er afbilledet i Figur 2.3.5. De nederste sæt af punkter er indhold af dioxin og det øverste sæt summen af dioxin og PCB.



Figur 2.3.5 Målte indhold af TEQ for hhv. dioxin og summen af dioxin og PCB i laks fra Østersøen sorteret efter vægtklasser.

Der ses et forholdsvis ens indhold i vægtklasserne 2-3 kg og 3-4 kg, mens der herfra sker en stigning i indholdet af dioxin og summen af dioxin og PCB. Med hensyntagen til analyseusikkerhed førte undersøgelsen til, at det blev tilladt af fange laks mindre end 4 kg renset vægt, svarende til 4,4 kg levende vægt, da disse størrelser laks ikke overskrider dioxingrænseværdien på 4 pg dioxin-TEQ/gram fisk.

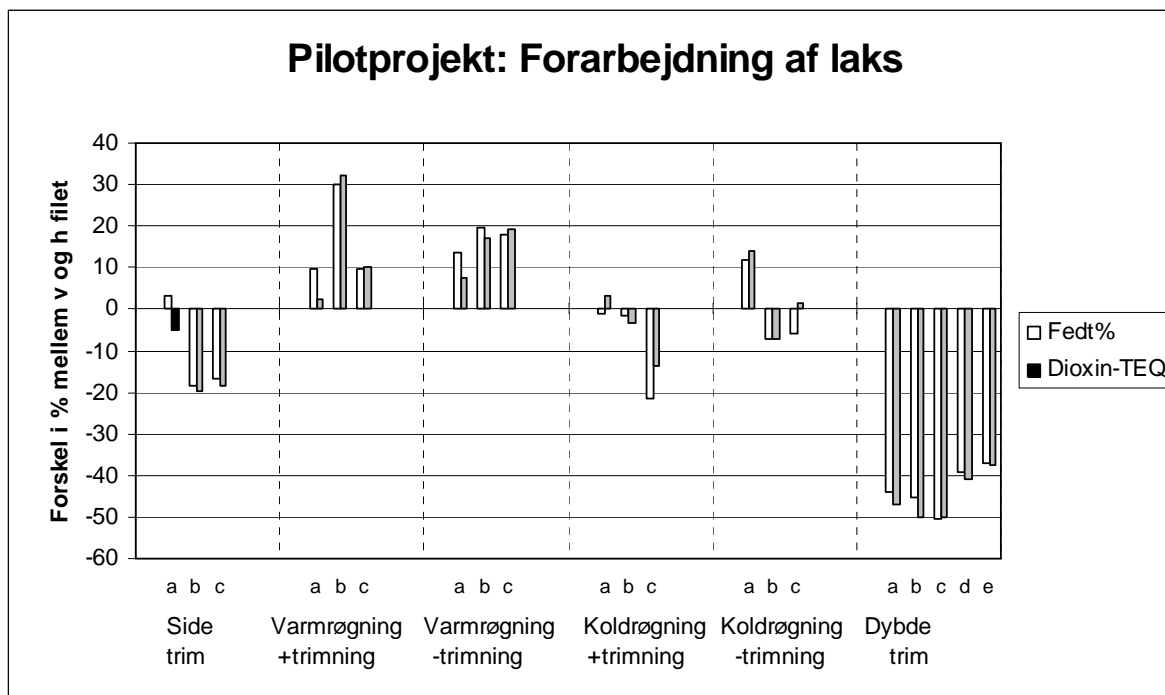
Pilotprojekt vedrørende forarbejdning af laks

Som følge af de indførte restriktioner på fangst af laks over en størrelse på 4,4 kg levende vægt var der fra fiskeerhvervet side en interesse i at finde en måde at gøre de store laks brugbare til konsum. Derfor gennemførte Fødevarestyrelsen i samarbejde med Danmarks Fødevareforskning, Danmarks Fiskeriundersøgelser og Danmarks Fiskeindustri- og Eksportforening et mindre pilotprojekt med det formål at undersøge i hvilket omfang forarbejdning af laks medfører et mindre indhold af dioxin og PCB.

Trimning, dvs. bortskæring af fedtholdige stykker af fedt- og muskelvæv, betyder, at fedtindholdet i den trimmede laksefilet reduceres, og det vil resultere i et mindre indhold af dioxin og PCB. Røgning kan medføre at der under røgningsprocessen afsmelter fedt, og det vil også, alt andet lige, resultere i et mindre indhold af dioxin og PCB.

I projektet blev ændringen i dioxin- og PCB-indholdet fulgt ved for hver laks at analysere den venstre ubearbejdede filet, og sammenligne den med den højre forarbejdede filet fra samme laks. Figur

2.3.6 viser den observerede ændring i dioxin- og fedtindholdet, som følge af trimning af fedt og hhv. varm- og koldrøgning. Der er udført tre gentagelser for hver forarbejdningsforsøg, dybdetrimning er dog udført med fem gentagelser. Resultaterne for PCB er ikke vist, men de følger samme mønster som dioxin og fedt.



Figur 2.3.6 Ændring i indhold af dioxin-TEQ og fedt i laksefileter som følge af forskellige forarbejdningsprocesser.

Varm- og koldrøgning giver ingen ændring i dioxin og fedtindhold. Varmrøgning giver endda anledning til et stigende indhold, og det skyldes sandsynligvis udtørring af laksefileten under varmrøgningsprocessen. Dioxin- og fedtindholdet er udregnet relativt til det analyserede produkt, og fjernelse af vand vil derfor give sig udslag i et stigende indhold.

Trimning af fedtvæv resultater som ventet i et reduceret indhold af dioxin og fedt. Forskellen på ”sidetrim” og ”dybdetrim” er mængden af fedtvæv der er skåret fra laksefileten. Det kan konstateres, at det kun er dybdetrimningen, der giver en så stor reduktion, at den evt. kan anvendes industrielt til at gøre ellers uomsættelige laks salgbare.

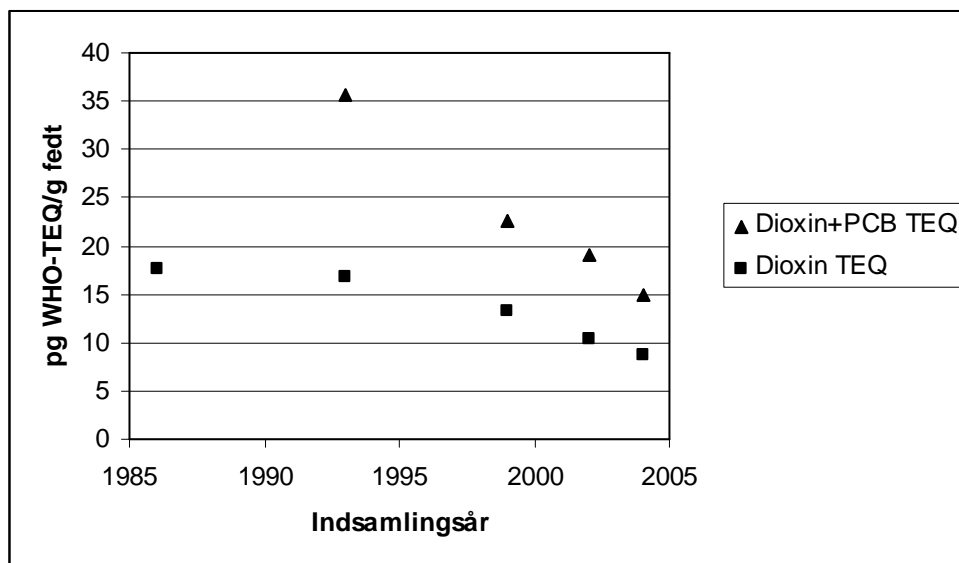
Analyser af dansk modermælk

I planlægningen af dioxinhandlingsplanen blev der lagt vægt på, at medtage modermælksprøver som en prøvematrix til at følge den humane belastningen med dioxin og PCB. Da mere end 90% af det humane dioxinindtag kommer fra fødevarerne vil analyser af indholdet af dioxin og PCB i mennesker, fx modermælk, give et billede af den samlede humane belastning med disse stoffer.

Prøverne er udtaget på modermælkscentralerne på Hvidovre Hospital og Skejby Hospital. Modermælken stammer fra førstegangsfødende mellem 25 og 29 år, og er fortrinsvis udmalket

mellem 3. og 8. uge efter fødslen. Prøveudtagningen er på denne måde standardiseret og kan derfor sammenlignes med tidligere undersøgelser af modermælk i Danmark.

I Figur 2.3.7 er middelværdierne for resultaterne af analyserne for hvert af årene 1999, 2002 og 2004 afbilledet. På samme figur fremgår også resultaterne fra tidligere danske undersøgelser i hhv. 1986 og 1993¹. Der ses et tydeligt fald i indholdet af dioxin og PCB. Fra 1993 og til 2004 er der et fald på 48% for dioxin, 67% for dioxinlignende PCB og 58% for summen af dioxin og dioxinlignende PCB.



Figur 2.3.7 Indhold af dioxin og summen af dioxin og PCB i dansk modermælk. Figuren viser middelinhold i modermælksprøver indsamlet i årene 1986, 1993/94, 1999, 2002 og 2004.

Siden udfasningen af brugen af PCB i 1980-erne er der observeret et fald i den humane belastning med PCB. Da dioxinlignende PCB udgør en del af den samlede mængde PCB er faldet i dioxinlignende PCB en følge af det generelle faldende niveau af PCB. Dioxin stammer fra andre kilder end PCB, nemlig primært forskellige forbrændingsprocesser, før det til sidst optræder som en miljøforurening, der via fødekæden finder vej til fødevarerne. Sidst i 1980-erne blev der internationalt gjort en del for at finde og reducerer de værste kilder til dioxinforurening. Faldet i dioxinbelastningen i modermælk tyder på, at disse tiltag er slået igennem og resulterer i en reduceret human belastning med dioxin.

De senere år har der internationalt været adskillige tilfælde af kontaminering af fødevarer med dioxin og PCB. Der har hovedsagligt været tale om en kontaminering af dyrefoder, som har resulteret i et forhøjet indhold af dioxin eller PCB i fødevarer. Det kan frygtes, at den positive udvikling med faldende indhold af dioxin og PCB i mennesker ikke fortsætter, såfremt der ikke

¹ Sundhedsstyrelsen og Fødevedirektoratet (1999). Indhold af dioxiner, PCB, visse chlorholdige pesticider, kviksølv og selen i modermælk hos danske kvinder 1993-94.

fortsat er fokus på at stoppe den direkte kontaminering bla. af dyrefoder med dioxin og PCB, og reducere niveauerne i miljøet.

2.5 Konklusion vedrørende kortlægningsundersøgelserne

Kortlægningsundersøgelserne af dioxinindholdet i danske fødevarer, bortset fra visse typer af fisk, viser, at niveauet generelt er et pænt stykke under de gældende grænseværdier.

Kortlægningsundersøgelserne viser, at niveauet af summen af dioxin og dioxinlignende PCB i danske fødevarer, bortset fra visse typer af fisk, generelt ikke forventes at give anledning til problemer i forhold til de foreslåede nye grænseværdier for summen af dioxin og dioxinlignende PCB.

Der er i én prøve af oksefedt konstateret overskridelse af indgrebsværdien for dioxin, og det er sandsynligt, at der i fremtiden også vil kunne optræde prøver med overskridelser. Især hønseæg fra økologiske bedrifter udviser stor variation i indholdet af dioxin og PCB.

Der er fundet overskridelser af grænseværdien for dioxin i laks over 4,4 kg fra Østersøen, og i sild fanget øst for Bornholm. Der er desuden fundet en overskridelse af indgrebsværdien for dioxin i ål fra Øresund.

Med de foreslåede nye grænseværdier for summen af dioxin og dioxinlignende PCB vil der foruden overskridelser i laks fra Østersøen og sild øst for Bornholm, også være overskridelser af grænseværdien for havørreder fra Bornholm og Ål fra Øresund.

Undersøgte prøver af fiskeolier til kosttilskud, der er udtaget efter ikrafttrædelse af dioxingrænseværdierne viser indhold under både dioxingrænseværdien og den nye foreslåede grænseværdi for summen af dioxin og dioxinlignende PCB. Nogle af fiskeleverolierne har dog forholdsmeæssigt højt indhold af PCB, og det tyder på, at de anvendte renseprocesser til reduktion af bl.a. dioxin og PCB ikke alle er effektive overfor PCB.

Indholdet i dansk modermælk af dioxin og PCB er faldende. Fra 1993 til 2004 er dioxin faldet med 48%, dioxinlignende PCB med 67% og summen af dioxin og PCB med 58%.

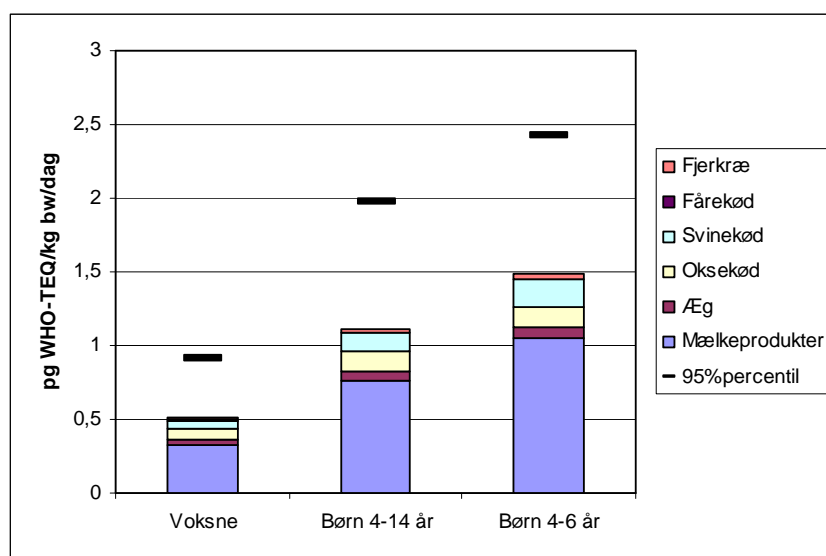
3. Beregning af det danske humane dioxinindtag

Det humane indtag af dioxiner og dioxinlignende PCB er blevet beregnet på baggrund af kortlægningsundersøgelsernes indholdsdata af dioxin og dioxinlignende PCB i fødevarer fra år 2000 til 2004. Danskernes daglige indtag af forskellige fødevarer er baseret på Danmarks Fødevareres kostundersøgelse gennemført fra 2000-2002. I kostundersøgelsen deltog 4120 danskere i alderen 4-75 år. Ved at kombinere målte indholdsdata med kostundersøgelsens indtogsdata kan der beregnes estimer for indtag af dioxin og dioxinlignende PCB fra forskellige fødevarergrupper, samt indtagsfordelinger for forskellige befolkningsgrupper.

I det følgende omtales først indtagsestimaterne fra fødevarer bortset fra fisk, og derefter omtales indtagsestimaterne fra fødevarer inklusiv fisk.

Indtagsestimater for fødevarer eksklusiv fisk

Af Figur 3.1 fremgår det danske indtag af dioxin og dioxinlignende PCB fra alle fødevarer med undtagelse af fisk. Indtaget er vist for voksne, og for børn i alderen 4-14 og 4-6 år. Søjlerne viser middelindtaget fordelt på fødevarergrupperne mælk og mælkeprodukter, æg og kød. Udover middelindtaget er 95%-percentilen afmærket på grafen. Det er det indtagniveau som inkluderer 95% af befolkningen.



Figur 3.1 Det danske humane indtag af dioxin og dioxinlignende PCB fra fødevarer bortset fra fisk. Søjlerne er middelindtaget, mens 95%-percentilen angiver det indtag, som inkluderer 95% af den pågældende befolkningsgruppe.

For voksne ligger middelindtaget af dioxin og dioxinlignende PCB fra fødevarer, bortset fra fisk, på 0,51 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag. For børn i alderen 4-14 år er middelindtaget 1,1 og i alderen 4-6 år 1,5 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag. 95%-percentilen er for voksne 0,91, og de to børnegrupper på hhv. 2,0 og 2,4 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag. Mælk og mælkeprodukter udgør mel-

lem 65 og 70% af bidraget til dioxin og PCB fra disse fødevarergrupper. Belastningen med dioxin og PCB af børn er højere end for voksne, da kostindtaget er højere for børn i forhold til deres kropsvægt. 95%-percentilen for voksne ligger på ca. 50% af det tolerable ugentlige indtag, der er på 14 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag (se afsnit 7). For børn i alderen 4-14 år ligger 95% på niveau med TWI, og en del af børnene i alderen 4-6 år overskrider TWI.

Indtagsestimater for fødevarer inklusiv fisk

Estimering af indtaget af dioxin og dioxinlignende PCB fra fisk er forbundet med stor usikkerhed da variationen i indholdet af dioxin og PCB i fisk er stor, og det afhænger både af fiskeart og fangstfarvand. Ved beregningen af indtagsestimaterne er der brugt typiske indholdsniveauer for de magre og fede fisk der indgår i kostundersøgelsen. Til illustration af betydningen af hvilke indholdsniveauer for dioxin og PCB, der anvendes i beregningerne er der brugt tre forskellige niveauer for indholdet af dioxin og PCB i laks.

Tabel 3.1 viser de estimerede indtag af dioxin og dioxinlignende PCB fra fødevarer inklusiv fisk. Indtaget gælder for voksne (15-75år).

Fødevarer inkl. fisk	Dioxin- og PCB-indtag: pg WHO-TEQ/kg bw/dag								
	Laks - lav niveau			Laks - mellem niveau			Laks - på dioxingrænse		
TEQ	Dioxin	PCB	Dioxin+PCB	Dioxin	PCB	Dioxin+PCB	Dioxin	PCB	Dioxin+PCB
Middelindtag	0,4	0,4	0,8	0,4	0,5	0,9	0,5	0,6	1,1
95% percentil	0,8	1,0	1,8	1,0	1,4	2,3	1,3	2,3	3,7

Tabel 3.1 Det danske humane indtag af dioxin og dioxinlignende PCB fra fødevarer inklusiv fisk. Tabellen viser indtaget beregnet med værdier for dioxin og PCB i fisk på et gennemsnitsniveau, dog er der brugt tre forskellige scenarier for lakseindtaget. 1) Indtaget af laks er udelukkende fra laks med forholdsvis lavt dioxin- og PCB-indhold, fx opdrætsslaks (1 pg dioxin-TEQ/g og 2 pg PCB-TEQ/g). 2) Indtaget af laks er en blanding af laks med forholdsvis lavt dioxin- og PCB-indhold og laks med højere indhold fx opdrætsslaks og laks fra Østersøen (2 pg dioxin-TEQ/g og 4 pg PCB-TEQ/g). 3) Indtaget af laks er fra laks med et dioxinindhold på grænseværdien (4 pg dioxin-TEQ/g og 8 pg PCB-TEQ/g). Indtaget er beregnet dels som et middelindtag og dels på 95%-percentilniveau.

Middelindtaget for voksne varierer mellem 0,8 og 1,1 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag, dvs. på ca. 50% af TWI. 95%-percentilerne varierer mellem 1,8 og 3,7 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag svarende til mellem 90% og 185% af TWI. Den procentvise fordelingen af middelindtaget af dioxin og dioxinlignende PCB fra alle fødevarergrupperne er på mellem 30-40% for mælk og mælkeprodukter, 3-4% for æg, 13-18% for kød og 38-55% for fisk.

De her beregnede estimater er lavere end de tidligere estimater fra dioxinhandlingsplanens statusrapporter af flere grunde. Kostindtaget var tidligere baseret på den foregående kostundersøgelse, og der er sket en reduktion i indtaget af mælkefedt. Endvidere er indtaget af fisk også faldet. Ændringen i forhold til tidligere er dog også en konsekvens af, at der tidligere blev anvendt et skøn for ind-

holdet af dioxin og PCB i et middelmåltid af fisk. Især for PCB var dette indhold højere end de tal der nu indgår i estimaterne.

Det skal bemærkes, at kostundersøgelsen viser, at danskerne spiser for lidt fisk. Det gennemsnitlige fiskeindtag er kun cirka halvt så stort, som kostrådene tilsiger. I Tabel 3.2 er indtagsestimaterne fra Tabel 3.1. gentaget, men kun for de personer i kostundersøgelsen, der indtog den anbefalede mængde fisk på 200-300 g om ugen. Tabellen viser, ikke overraskende, at når der fokuseres på personer der indtager den anbefalede mængde fisk, så vil tendensen fra Tabel 3.1 forstærkes. Jo mere fed fisk der indtages med højt dioxin- og PCB-indhold, jo større del af befolkningen vil nærme sig eller overskride TWI. Indtagsberegningerne understreger, at det er fornuftigt at følge Fødevarestyrelsens kostråd vedrørende fisk². Det betyder, at indtaget af fisk ikke skal ske ensidigt med fede fisk fra belastede områder, men at der skal veksles mellem fed og mager fisk fra forskellige farvande.

Fødevarer inkl. fisk 200-300 g fisk pr. uge	Dioxin- og PCB-indtag: pg WHO-TEQ/kg bw/dag		
	Laks - lav niveau	Laks - mellem niveau	Laks - på dioxingrænse
TEQ	Dioxin+PCB	Dioxin+PCB	Dioxin+PCB
Middelindtag	1,1	1,3	1,8
95% percentil	2,0	2,8	4,8

Tabel 3.2 Det danske humane indtag af dioxin og dioxinlignende PCB fra fødevarer inklusiv fisk. Estimaterne er beregnet ud fra de personer i kostundersøgelsen, der spiste den anbefalede mængde fisk dvs. 200-300 g fisk om ugen. Indtaget er beregnet dels som et middelindtag og dels på 95%-percentilniveau. Se i øvrigt forklaringen til tabel 3.1

Beregningerne viser, at en del af den danske befolkning regelmæssigt må forventes at overskride SCFs tærskelværdi (TWI). Det skal understreges, at dette ikke er ensbetydende med, at der er en mærkbar sundhedsrisiko for personer, som overskrider TWI, men det betyder, at fødevarerensikkerheden med hensyn til dioxiner er forringet, og at der er tale om en udhuling af den beskyttelse, som er indbygget i TWI. Der er på den baggrund fortsat behov for en indsats med henblik på en reduktion af fødevarernes indhold af dioxiner.

² Fødevaredirektoratet (2003). Helhedssyn på fisk og fiskevarer.

4. Screeningsmetode til bestemmelse af dioxinaktivitet i fødevarer

I forbindelse med dioxinhandlingsplanen har der været undersøgt, hvorvidt der kunne findes en alternativ screeningsmetode til bestemmelse af dioxiner og dioxin-lignende stoffer i fødevarer og foderstoffer.

Da traditionelle kemiske metoder til analyse for dioxin-lignende stoffer er omkostningstunge, var det ønskeligt at undersøge, om et nyt cellebaseret assay kunne anvendes til en initial screening af fødevarer og foderstoffer for dioxinindhold med henblik på at udvælge 'positive' prøver til efterfølgende verifikation ved kemisk analyse. Arbejdet startede i 2000 med indkøring og etablering af det såkaldte CALUX[®] ('chemically-activated luciferase expression') assay. Screeningsmetoden har potentiale til at kunne anvendes til indledende kontrol af fødevarer- og foderstofprøver for at reducere omfanget af prøver, der skal analyseres ved kemisk analyse og dermed mindske udgifterne til kontrolanalyser. Om nogle år forventes det, at grænseværdierne for dioxin i fødevarer bliver fastsat som en summen af dioxin og dioxin-lignende PCB og i den forbindelse har assayet den fordel, at det er det totale indhold af dioxin-lignende stoffer, dvs. både dioxiner, furaner og PCB, der måles samtidig.

Instituttet har af patentindehaverne fra BioDetection Systems købt en særlig licens til brug af CALUX[®] assayet. Licensen er udelukkende til forsknings- og udviklingsformål og koster i alt 10.000 Euro for en tre-årig periode. Den pris, der for øjeblikket er fastsat på en licens til screening af prøver, er 10.000 Euro for statsinstitutioner og 20.000 Euro for kommercielle organisationer per år. Dertil kommer en afgift på 35 Euro per prøve (ved <500 prøver per år) og 25 Euro per prøve (ved >501 prøver per år).

4.1 Princippet i CALUX bioassay

CALUX bioassay er et cellebiologisk testsystem, der kan bruges til detektion af stoffer med dioxin-lignende aktivitet. Det end-point der måles på er aktivering af den såkaldte Ah-receptor (Aryl hydrocarbon receptor), der aktiveres af alle stoffer med dioxin-lignende aktivitet og som findes udtrykt i hovedparten af kroppens celler. Den fysiologiske funktion af Ah receptoren kendes ikke, og der er ikke endnu påvist endogene ligander med højere affinitet end den mest potente dioxin, 2,3,7,8-TCDD. Den overvejende del af dioxinernes skadelige virkninger medieres via Ah-receptoren, og derfor giver CALUX bioassay et funktionelt og integreret mål for den totale dioxinaktivitet i en given prøve.

CALUX bioassay er baseret på en cellelinie af leverkræft-celler fra rotter (H4IIE celler), der har fået indsat genet for luciferase, som er den enzymaktivitet, der i naturen får ildfluer til at lyse. Ved kemikaliers binding til og aktivering af Ah-receptoren i cellerne induceres luciferaseenzymet. Ved tilsætning af substratet luciferin og ATP, opstår en lysudvikling (luminiscens), som er målbar. Jo større lysudvikling, des højere aktivitet af dioxinlignende stoffer i prøven.

Cellerne udsås i mikrotiter-plader og inkuberes i 24 timer i inkubator, hvorefter teststoffer eller ekstrakter af fødevarerprøver tilsættes, og cellerne inkuberes yderligere i 24 timer. Herefter lyseres cellerne og luciferaseaktiviteten måles ved hjælp af kemiluminescens måling. Såfremt en passende cellemængde er opdyrket, kan de oprensede prøver analyseres i CALUX bioassay i løbet af 3 dage.

Prøver opløst i DMSO testes i CALUX bioassay samtidig med en koncentrationsrække af TCDD. Responset for en given prøve sammenlignes med responset for TCDD-standarden og koncentrationen af TCDD-ækvivalenter i prøven beregnes (CALUX-TEQ). Det har vist sig at koncentrationsresponskurven for TCDD ved lavere koncentrationer (0.6 – 6.0 pM) kan fittes til en lineær funktion ($y = ax + b$). Det tilstræbes typisk at teste to fortyndinger af hver prøve for at opnå et respons, der ligger pænt inden for TCDD-standardkurven. Såfremt niveauet for prøvetypens dioxinindhold er ukendt eller varierer meget, er det nødvendigt med flere fortyndinger.

4.2 Udvikling og optimering af forsøgsbetingelser og oprensningsprocedure

Optimering af forsøgsbetingelser for CALUX

Initialt blev foretaget en optimering af antallet af celler per brønd på mikrotiter-pladen og det optimale antal celler per brønd blev fastsat til 2.2×10^4 celler. Dette antal sikrer, at cellernes respons i assayet er optimalt og varierer mindst muligt. Dernæst blev det optimale opløsningsmiddel for standarder og ekstrakter bestemt, og DMSO, som kan opløse lipofile stoffer og samtidig er blandbart med vand, blev fundet mest egnet. Da koncentrationer højere end 0.5% DMSO i mediet påvirker cellernes respons, blev den optimale DMSO koncentration fastsat til 0.4%.

Celledyrkningsmediet er tilsat 5% føtalt kalveserum for at sikre en konstant og ensartet vækst. Det har vist sig, at denne koncentration af kalveserum under selve forsøget nedsætter assayets følsomhed, og den optimale serumkoncentration i mediet under selve assayproceduren blev fundet at være 1%. Endelig blev forholdet mellem substrat (luciferin) og celleekstrakt optimeret. For at sikre at cellernes totale induktion af luciferase-aktivitet måles, skal der tilsættes overskud af substrat (luciferin), mens et for stort overskud omvendt vil hæmme responset.

Optimering af oprensningsprocedure

Forberedelse af fødevareprøver eller modermælksprøver til CALUX bioassay kræver en kortere oprensningsprocedure, end den der kræves til traditionel kemisk analyse for dioxiner. Først ekstraheres fedtet, da dioxinerne findes ophobet og bundet til fedtet i fødevaren. Herefter oprenses fedtet på en syre-søjle, og prøven opløses til sidst i DMSO. Ved oprensning af en prøve tages typisk 1 gram fedt fra prøven i arbejde. I de indledende forsøg var der tegn på, at mængden af fedt der blev taget i arbejde, kunne influere på den endelige TEQ bestemmelse. Derfor blev der i forbindelse med optimering af oprensningsprocedure samt assaybetingelser testet varierende fedtmængder af diverse prøvetyper. De prøvetyper, der blev anvendt, inkluderede fiskeolie (vildtfanget og dambrug) samt okse og kalkunfedt. I enkelte forsøg med fiskeolie så vi en stigende TEQ mængde jo mindre mængde fedt, der blev taget i arbejde, men da disse fund ikke var konsistente, er den overordnede konklusion på forsøgene, at prøvernes TEQ værdier ikke ændres ved variation i mængden af fedt, der oprenses på, og de valgte 1 gram fedt er derfor en velegnet mængde at tage i arbejde til screeningsformål.

Generelt blev inter- og intraassay variationen fundet at være hhv. 22% og 6% ved bestemmelse af CALUX-TEQ for en repræsentativ fiskeolieprøve. Detektionsgrænsen i assayet blev efter optimering fundet til at være 1.5 pg TEQ/g fedt ved oprensning af 1 gram fedt.

Flere modermælk- og fiskeolieprøver blev ekstraheret under varierende forsøgsbetingelser og en del af ekstrakterne blev yderligere opdelt i subfraktioner indeholdende hhv. dioxiner/furaner, mono-, og di-ortho-PCBer, hvorefter der både blev udført kemisk analyse og kørt CALUX bestemmelse.

pg TEQ/g fedt	Prøve	11	12	13	14
	GC/MS Total sum	38.5	38.9	38.9	38.6
	PCDD/PCDF	22.3	21.3	20.0	19.1
	Non-ortho PCB	6.8	4.4	9.2	8.6
	Mono/di-ortho PCB	9.4	13.2	9.7	10.9
	CALUX Total prøve	36.3	39.2	55.8	39.6
	CALUX Sum af fraktioner	35.5	46.8	67.1	38.5
	PCDD/PCDF	24.5	26.7	33.6	24.6
	Non-ortho PCB	7.8	5.1	10.7	10.8
	Mono/di-ortho PCB	3.2	15.0	22.8	3.1

Tabel 4.2.1 TEQ i fire modernælksprøver bestemt ved GC/MS og CALUX bioassay inklusiv separate analyser af subfraktioner med PCDD/PCDFs, non-ortho PCBs and mono-ortho PCBs. Data repræsenterer gennemsnittet af tre individuelle eksperimenter med en gennemsnitlig variation på 11% (1-35%).

Lignende resultater er opnået for fraktionering af fiskeolie, hvor der som for prøve 11 og 14 i Tabel 4.2.1 er observeret en lav CALUX TEQ i mono/di-ortho-PCB fraktionen sammenlignet med GC/MS bestemmelsen. Ved sammenligning af aktiviteter i den totale prøve med aktiviteter i subfraktionerne er opnået en bedre viden om stoffernes samspilseffekter i assayet. Derudover har sammenligning af resultater for den kemiske og den biologiske metode givet viden om den indbyrdes potens af undergrupperne af dioxinlignende stoffer ved de to analysemetoder.

Deltagelse i interkalibreringsstudier

DFVF har deltaget i to interkalibreringsstudier for CALUX i perioden 2002-2004. I 2002 var det i et interlaboratorie-studie planlagt af Örebro Universitet. En torskelever-prøve undergik seks serielle oprensninger og hver af disse 6 prøver blev testet i tre individuelle screeninger i CALUX assayet. Resultaterne viste en meget lav variation både oprensningerne og screeningerne imellem (se Tabel 4.2.2). Der blev ikke observeret varierende TEQ-værdier ved varierende fedtmængde for den pågældende prøve.

TEQ-værdier i torskeleverprøve				
	1. screening	2. screening	3. screening	Middel
pg/g tørvægt	19.9	18.5	19.4	19.3
pg/g fedt	31.4	29.1	30.6	30.4

Tabel 4.2.2 Screening med CALUX assayet af en torskeleverprøve udvalgt til interlaboratorie-studie. TEQ-værdierne for hver screening er gennemsnittet af 6 forskellige oprensninger.

De overordnede fælles resultater fra interlaboratoriestudiet blev præsenteret ved Dioxin-konferencen i Barcelona 2002, og de viste generelt stor overensstemmelse mellem laboratorier. Endvidere viste det sig, at CALUX gav lavere dioxin-niveauer end de kemiske analyser for denne fødevareretype.

Det seneste interlaboratorie-studie var ligeledes designet og planlagt af Örebro Universitet. Foruden DFVF deltog de fleste internationale laboratorier, som udvikler og arbejder med CALUX assay. Der blev testet en lakse-prøve og to ukendte, men standardiserede, blandinger af dioxin-lignende stoffer – én blanding indeholdende mono-ortho PCBer og én uden. Generelt var der rimelig overensstemmelse mellem fundne TEQ værdier.

4.3 Sammenligning af CALUX og kemisk analyse

For at vurdere om CALUX var velegnet til screeningsformål, blev der for en række fødevarer- og foderstofprøver foretaget bestemmelse af TEQ værdier både ved GC/MS og i bioassayet og resultaterne fra de to metoder blev sammenlignet. I første omgang blev 16 danske modermælksprøver undersøgt³. Som det fremgår af Tabel 4.3.1 gav modermælksprøverne generelt et højere TEQ-værdier ved analyse i CALUX end ved kemisk analyse. Dette overrasker dog ikke, da CALUX assayet måler det integrerede funktionelle respons af den totale mængde af stoffer, der er i stand til at binde til Ah receptoren, mens de kemiske analyser bestemmer den nøjagtige koncentration af hver komponent for sig. Der var god korrelation mellem de to analysemetoder, således at prøver med højt indhold ifølge kemisk analyse generelt også ligger højt, når de bestemmes med CALUX bioassay.

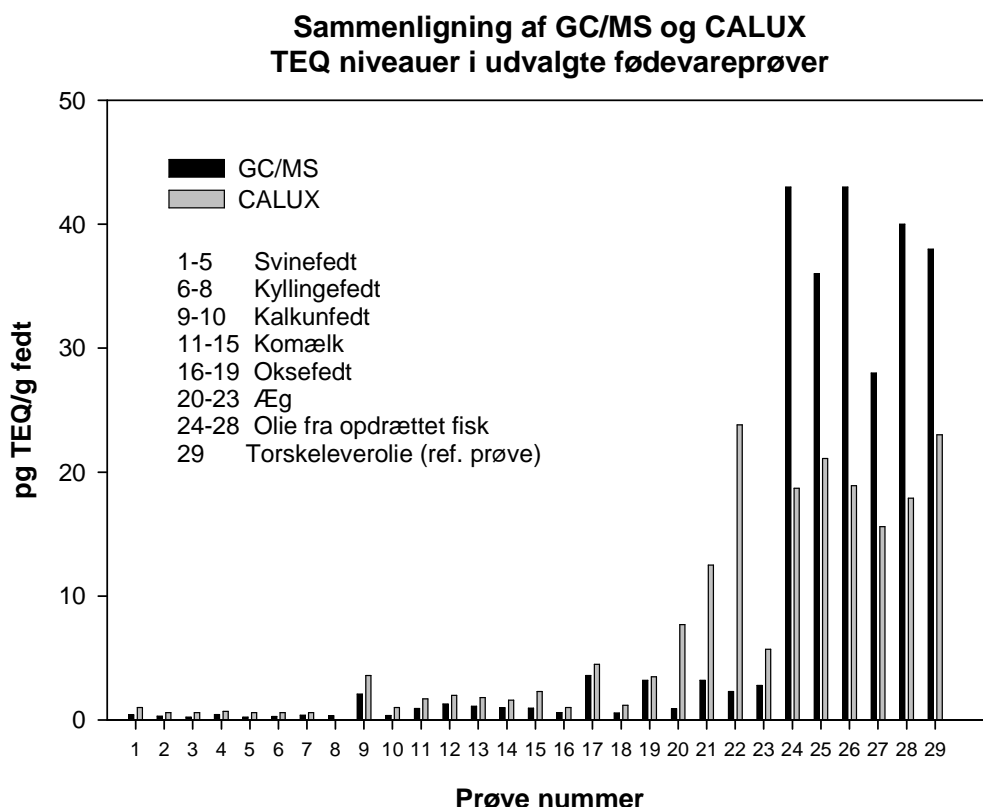
Prøve	GC/MS pg TEQ/g fat	CALUX pg TEQ/g fat	CV %	CALUX : GC/MS
1	14.8	27.2	12	1.84
2	16.4	22.2	15	1.35
3	17.2	24.2	49	1.41
4	18.6	20.5	13	1.10
5	18.6	29.7	11	1.60
6	18.7	24.2	22	1.29
7	24.3	34.2	15	1.41
8	24.6	22.7	11	0.92
9	25.1	50.1	12	2.00
10	26.1	34.7	6	1.33
11	35.8	36.3	20	1.01
12	36.2	39.2	9	1.08
13	36.2	55.8	7	1.54
14	36.5	39.6	26	1.08
15	40.0	40.8	10	1.02
16	43.6	42.3	31	0.97

Tabel 4.3.1 Sammenligning af analyser af modermælksprøver med kemisk analyse (GC/MS) og CALUX.

Syv forskellige fødevareretyper (kyllinge-, kalkun-, svine- og oksefedt samt æg, komælk og fiskeolie fra dambrugsfisk) blev testet i CALUX (Figur 4.3.1) og sammenlignet med GC/MS-bestemmelser.

³ Laier P, Cederberg T, Larsen J.C. and Vinggaard A.M. (2003) Applicability of the CALUX bioassay for screening of dioxin levels in human milk samples. *Food Add. Contam.* 2003 20 (6) 583-596

Bortset fra en enkelt svinefedtprøve, var det muligt at opnå et detekterbart respons i alle fødevareprøverne, hvilket viser en høj følsomhed af screeningsmetoden. GC/MS-værdierne for fødevareprøverne var 0.23-43 pg TEQ/g fedt, mens CALUX-værdierne lå mellem 0.6-23.8 pg TEQ/g fedt. Fiskeolieprøverne gav alle lavere TEQ-værdier i bioassayet end ved den kemiske analyse. Dette kan skyldes et højt indhold af bestemte PCBER, hvis TEF-værdi er sat væsentligt højere af WHO end den relative potens stofferne udviser i CALUX. Prøverne fra æg viste alle markant højere TEQ-værdier i bioassayet end ved GC/MS (helt op til ti gange så høje TEQ-værdier), hvilket tyder på at denne prøvetype indeholder et eller flere stoffer med dioxinlignende effekt, som ikke analyseres ved GC/MS metoden. De resterende fødevareprøver viste en særdeles god korrelation mellem CALUX- og GC/MS-værdierne, hvor alle værdierne i bioassayet lå højere end de kemiske værdier.



Figur 4.3.1 TEQ-værdier i 28 fødevareprøver bestemt i CALUX bioassay og ved GC/MS (GC/MS-værdier inkluderer dioxiner, furaner og dioxin-lignende PCB).

Enkelte udvalgte foderstofprøver fra Plantedirektoratet er testet i CALUX for at teste metoden og dens følsomhed for prøvetyper, som forventedes at have et forholdsvist lavt dioxinindhold. DFVF stod for oprensningen, der blev udført under samme betingelser som ved oprensningen af fødevareprøver. Dioxinindholdet i de udvalgte foderstofprøver var alle i forvejen bestemt ved GC/MS-analyse (Tabel 4.3.2).

Prøvetype	GC/MS pg TEQ/g fedt	CALUX pg TEQ/g fedt	CALUX : GC/MS
Fuldfoder til høns	3,9	3,9	1,00
Fuldfoder til smågrise	3,3	4,2	1,27
Fiskemel	10,9	18,9	1,73
Fuldfoder til fisk	28,3	30,7	1,08

Tabel 4.3.2 Sammenligning af foderprøver analyseret med GC/MS og CALUX.

TEQ-værdierne for foderstofprøverne testet i CALUX var i høj grad sammenlignelige med værdierne bestemt ved den kemiske analyse. Dog var TEQ for fiskemelsprøven væsentlig højere i CALUX bioassay, hvilket kan skyldes at fordelingen af de enkelte dioxin-lignende stoffer var væsentlig anderledes i fiskeprøver, som indeholder markant højere PCB-niveauer.

Ved de foregående dioxin-konferencer har der været enighed om, at TEQ-værdier i prøvetyper som eksempelvis fisk, der har et højt indhold af mono- og di-ortho PCBer, afviger forholdsvis mere fra kemiske analyser end andre prøvetyper. Det var også hvad vi fandt i fiskeolier, torskelever og fiskemel. En del af forklaringen er sandsynligvis at fiskeprøver er specielle ved det, at de indeholder en stor mængde bestemte PCBer som eksempelvis PCB 118, hvis TEF-værdi er sat højere af WHO end den relative potens stofferne udviser i CALUX (Tabel 4.3.3).

Dioxinlignende stof	EC ₅₀ (pM)	CALUX REP	WHO-TEF
2,3,7,8-TCDD	5.6	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	6.0	0.94	1
2,3,4,7,8-PeCDF	9.3	0.60	0.5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	18.4	0.31	0.1
3, 3', 4, 4', 5-PeCB PCB 126	25.2	0.22	0.1
2, 3, 3', 4, 4', 5-HxCB PCB 156	2.5 x 10 ⁴	2.2 x 10 ⁻⁴	5.0 x 10 ⁻⁴
2, 3', 4, 4', 5-PeCB PCB 118	2.2 x 10 ^{6*}	2.6 x 10 ^{-6*}	1.0 x 10 ⁻⁴

Tabel 4.3.3 "Relative potencies" (REPs) for induktion af luciferase-aktivitet i CALUX cellelinien for syv udvalgte dioxinlignende stoffer sammenlignet med deres "Toxic Equivalency Factors" (WHO-TEFs).

Alternativt kan TEQ-værdien bestemt ved GC/MS udregnes ved brug af CALUX-REP, og således vil TEQ-værdierne for de to analysemetoder blive mere sammenlignelige. Det er dog i den sammenhæng vigtigt at bemærke at grænseværdierne for dioxin håndhæves ved GC/MS-bestemmelser baseret på WHO-TEF.

Det er endnu ikke muligt at validere CALUX assayet med en intern standard som ved GC/MS-analyse. Såfremt der rutinemæssig skal screenes prøver af samme fødevaretype med sammenlignelig fordeling af de enkelte dioxin-congener, vil det være fordelagtigt at korrigere for genfindingen af de enkelte oprensningsserier med en kontrolprøve, der har tilsvarende fordeling af dioxiner.

Endelig er det vigtigt at fastsætte en "grænseværdi" i assayet (cut-off) for de enkelte fødevaretyper, således at alle prøver, der ligger under denne værdi i assayet, også ligger under grænseværdien, når de bestemmes ved GC/MS. Antallet af disse falsk negative prøver skal ideelt set være 0. For at CA-

LUX assayet forbliver en effektiv screeningsmetode bør antallet af falsk positive prøver samtidigt ligge så lavt som muligt, således at grænseværdien i assayet ikke sættes så lavt, at for mange negative prøver skal bestemmes ved GC/MS. Dette vil kræve indledende valideringsarbejde for de enkelte fødevarer, der rutinemæssigt skal screenes.

4.4 Undersøgelse af humane blodprøver

Til vurdering af den humane eksponering af dioxiner har vi undersøgt CALUX assayets anvendelighed til screening af humane serum- og plasmaprøver. Da prøvemængden der fås fra humane studier ofte er begrænset, og da den normale oprensningsprocedure kræver relativt større mængder fedt, undersøgte vi om assayet kunne anvendes således, at serum/plasma-prøverne kunne appliceres direkte til cellerne uden forudgående oprensning. I samarbejde med Kræftens bekæmpelse blev blodprøver fra kvinder mellem 50 og 60 år, taget over en 2-3 ugers periode, og testet i assayet. Diverse faktorer så som kost, rygning og medicinering var kendte og blev undersøgt om de influerede på dioxin-bestemmelserne. Alle blodprøver havde et detekterbart niveau af stoffer med dioxinlignende effekt. Det viste sig, at de intraindividuelle variationer var højere end de interindividuelle variationer, dvs. responset var ikke konstant for blodprøver fra samme individ taget på forskellige tidspunkter. Dette skyldes formodentligt, at forskellige naturligt forekommende stoffer, der indtages med kosten, og som derfor mht. indhold i blodet varierer over tid, aktiverer Ah-receptoren og dermed påvirker det målte respons i assayet. Denne målbare effekt af kostfaktorer betyder, at bioassayet ikke kan anvendes som screeningsmetode for humane blodprøver uden en forudgående isolering og oprensning af fedtet fra plasma/serum-prøverne.

4.5 Automatisering af CALUX bioassay

DFVF indkøbte i starten af 2003 en laboratorierobot (Biomek 2000) til automatisering af flere arbejdsrutiner i forbindelse med cellebaserede screeningsmetoder. Robotten indkøbt således, at det anvendes til langt de fleste CALUX analyser. Metoderne til screening af fødevarerprøver er automatiseret på robotten, hvilket har medført en enklere og mere effektiv arbejdsgang omkring analyserne. Kapaciteten med hensyn til antal prøver er blevet forbedret, men især fejl og variationer, som skyldes pipettering, er blevet reduceret væsentligt. Apparaturet bliver derfor med fordel anvendt i laboratoriet i bl.a. større forsøgsdesign som interlaboratorie-studier. Denne automatisering af analyse-proceduren kan fremover være fordelagtig, hvis CALUX assayet på sigt skal anvendes som screeningsmetode i forbindelse med kontrolanalyser af dioxin i fødevarer.

4.6 Konklusion vedrørende CALUX

CALUX bioassay er en lovende screeningsmetode til bestemmelse af den totale aktivitet af dioxinlignende stoffer i fødevarer. Metoden kan anvendes til at bestemme den totale dioxin-aktivitet i fødevarer- og foderstofprøver.

Screeningsmetoden har potentiale til at kunne anvendes til indledende kontrol af fødevarer- og foderstofprøver for at reducere omfanget af prøver, der skal analyseres ved kemisk analyse og dermed mindske udgifterne til kontrolanalyser.

Der opnås generelt højere TEQ-værdier i CALUX bioassay sammenlignet med kemisk analyse, hvilket skyldes forskel mellem WHO-TEF og CALUX-REP, men det indikerer desuden, at andre kemiske stoffer end dioxiner, furaner og PCB'er bidrager til den samlede dioxin-lignende aktivitet. Ved screening åbnes herved mulighed for detektion af hidtil upåagtede forureninger med dioxin-lignende aktivitet.

Om nogle år forventes grænseværdierne for dioxin og dioxinlignende PCB i EU at blive fastsat som summen af dioxin og PCB. Når det sker vil CALUX være en velegnet screeningsmetode, da assayet måler det totale indhold af dioxinlignende stoffer, dvs. både dioxiner og dioxinlignende PCB.

5. Modelberegninger af husdyrs optagelse af dioxin fra foder

Langt den overvejende del (mere end 90%) af menneskers kropsbelastning med dioxiner kommer fra fedtholdige animalske fødevarer, inklusive fisk. Dioxinindholdet i disse fødevarer skyldes primært den generelle forurening af det foder som dyrene og fiskene spiser, men isolerede punktkilder kan også spille en rolle. Som et led i dioxinhandlingsplanen er det forsøgt at opstille modeller, som kan forudsige betydningen af foderets dioxinindhold for indholdet i de fødevarer, som konsumeres af mennesker. Disse estimater kan efterfølgende ud fra kendskabet til danskernes kostvaner, anvendes til at forudsige indtagelsen af dioxiner. Når den daglige indtagelse af dioxiner kendes, kan modellerne bruges til at estimere den kropsbelastning, der opnås over lang tid. Kropsbelastningen spiller en langt større rolle end den daglige indtagelse for eventuelle skadelige påvirkninger. Formålet med modellerne er således at kunne udpege de vigtigste kilder til menneskers indtagelse af dioxiner og løbende forudsige effekten af eventuelle reguleringsmæssige tiltag på menneskers dioxinbelastning, herunder den forventede effekt ved fastsættelse af grænseværdier for dioxinindholdet i foderstofkomponenter og fødevarer.

I 2000 fremkom nye oplysninger, dels i rapporten om dioxin i foderstoffer fra EU Kommissionens Videnskabelige Komite for Dyreernæring (SCAN), dels som følge af dioxinhandlingsplanens iværksættelse, der tilvejebragte resultater vedrørende indhold af dioxin i danske foderstoffer og fødevarer. På denne baggrund er der udført omfattende beregninger af dioxinbelastningen i diverse husdyr, som blev anvendt til at estimere det daglige dioxinindtag for mennesker.

Overordnet set er der kun sparsomme oplysninger om hvordan de enkelte dioxiner opkoncentreres i husdyr og fisk. Det er derfor forbundet med stor usikkerhed at beregne overførsel af dioxiner fra foder til kød for alle dyrearter, da der mangler baggrundsviden omkring de toksikokinetiske parametre, såsom biotilgængelighed (absorptionsfraktion), biologisk halveringstid ($T_{1/2}$), og transfer faktorer for de enkelte PCDD, PCDF og dioxinlignende PCB congenere i de forskellige dyrearter. Hertil kommer, at dioxinernes biotilgængelighed varierer afhængig af foderets sammensætning og dette spørgsmål er også utilstrækkeligt belyst i litteraturen. På grund af disse usikkerhedsmomenter er beregningerne baseret på en række forudsætninger. Det er således antaget at:

- Det samlede WHO-TEQ indhold i foder og fødevarer, som efter kemisk analyse beregnes ud fra TEF værdierne for de enkelte PCDD, PCDF og dioxinlignende PCB, følger samme toksikokinetik som 2,3,7,8-TCDD. Dette bidrager med en ukendt usikkerhed, fordi TEF værdierne er fastsat ud fra de enkelte stoffers toksikologiske effekt i forhold til TCDD, ikke ud fra deres toksikokinetiske egenskaber.
- De toksikokinetiske parametre følger simpel 1. ordens kinetik.
- Foderforbruget er fordelt, således at dyret spiser en konstant mængde foder pr. kg kropsvægt pr. dag gennem hele levetiden.
- Eliminationshalveringstider ($T_{1/2}$) og absorptionsfraktioner er skønnet ud fra et worst-case princip

Ved de tidligere grove estimater blev det antaget, at dyrenes dioxinindtagelse ville føre til ligevægt (steady state) mellem kropsbelastningen og den daglige indtagelse inden aflivning. For stoffer som

TCDD, der antages at følge 1. ordens kinetik, blev kropsbelastningen ved steady-state beregnet med følgende formel:

$$\text{Kropsbelastning (pg WHO-TEQ/kg)} = \text{Indtagelse (pg WHO-TEQ/kg bw/dag)} \times T^{1/2}/\ln 2 \times \text{Absorptionsfraktionen}$$

I teorien opnår kropsbelastningen først ligevægt efter mere end ca. 5 halveringstider. I praksis er det dog sådan, at kropsbelastningen allerede efter 3-4 halveringstider vil være tæt på den endelige belastning i ligevægt. Derfor vil dioxinkoncentrationen i f.eks. kødet blive overestimeret i de tilfælde, hvor dyrene kun fodres med dioxinholdigt foder i tidsperioder, som er kortere end 3-4 halveringstider (dvs. hvor dyret slagtes inden der er forløbet 3-4 $T^{1/2}$). For at tage højde for dette, er modelberegningerne suppleret med beregning af kropsbelastningen efter tiden t (i dage):

$$\text{Kropsbelastning (pg WHO-TEQ/kg)} = \text{Indtagelse (pg WHO-TEQ/kg bw/dag)} \times T^{1/2}/\ln 2 \times \text{Absorptionsfraktionen} \times (1 - e^{-\ln 2/T^{1/2} \times t})$$

5.1 Beregninger af dioxinindhold i animalske fødevarer og fisk

Det blev valgt at anvende oplysningerne fra SCAN rapporten om fodersammensætninger og dioxinindhold som basis for vurderingerne af fødevarernes indhold af dioxiner. SCANs data blev omregnet til ng WHO-TEQ/kg foder under antagelse af at foderet indeholder 12% vand. For de enkelte dyrearter opgiver SCAN fra 1 (fisk) til 5 forskellige fodertyper (svin). Gennemsnitsindhold af dioxiner i disse diæter blev beregnet og anvendt i de kinetiske beregninger, dog med undtagelse af slagtekvæg, hvor en bestemt diæt blev valgt.

En forudsætning for gyldigheden af at anvende SCANs data for dioxinindhold i foderstoffer til modelberegninger af dioxinindhold i danske fødevarer er, at der ikke er markante afvigelser mellem forureningsgrader af typisk europæisk og dansk foder.

En sammenligning af SCANs beregnede dioxinindhold i diverse foderstoffer med Plantedirektoratets (PDs) målinger fra 2000 - 2004 på foderstoffer, der anvendes i Danmark, viste generelt en høj grad af overensstemmelse (Tabel 5.1.1). Som eksempler kan nævnes at fuldfoder til høns ifølge SCAN indeholder 0.11 ng dioxin/kg foder, mens PDs gennemsnitlige tal fra 2001 var 0.11 ng/kg, for fuldfoder til fisk er tallene 1.6 ng/kg (SCAN), 1.4 ng/kg (PD2001) og 1,9 ng/kg (PD2002) og for tilskudsfoder til kvæg uden indhold af fiskemel er tallene 0.11 ng/kg (SCAN), 0.11 ng/kg (PD2001) og 0.09 ng/kg (PD2002). Det skal bemærkes, at der i PDs analyseprogram indgår fra 1-17 prøver af hver type foderstof og da der i visse tilfælde – specielt for fiskeprodukterne – er stor variation på data, er de gennemsnitlige TEQ værdier behæftet med nogen usikkerhed. Eksempelvis er det målte indhold i 2002 i fiskeolie 7.3 ± 11.3 ng/kg, hvilket afspejler den store variation på data. Men alt i alt er der ikke grund til at tro, at foderstoffer til danske dyr er væsentlig forskellig fra foderstoffer i andre lande indenfor EU mht. dioxinindhold og der er heller ikke holdepunkter for at antage at dioxinniveauet er ændret mærkbart i danske foderstoffer i løbet af de seneste år.

	2001	2002	2003	2004	SCAN 2000
	Dioxin (ng/kg produkt)				
Fiskemel	0,5 (17)	0,9 (13)	0,4 (10)	0,44 (23)	1,0 ^a
Fiskeolie	5,4 (8)	7,3 (14)	6,6 (1)	1,8 (11)	4,2 ^a
Fuldfoder til fisk	1,4 (8)	1,9 (14)	0,5 (7)	3,9 (9)	1,6
Fuldfoder til høns	0,11 (3)				0,11
Fuldfoder til kyllinger	0,1 (2)	0,1 (1)	0,1 (1)	0,09 (1)	0,15
Tilskudsfoder kvæg	0,11 (4)	0,09 (3)	0,1 (5)	0,06 (5)	0,11
Animalsk fedt	0,35 (2)		0,2 (1)	0,34 (7)	0,9 ^a
Vegetabilsk fedt	0,53 (3)	0,49 (3)	0,4 (5)	0,4 (6)	0,2 ^a
Fuldfoder slagtesvin		0,11 (4)	0,1 (2)		0,11

a) Omregnet fra ng/kg tør vægt (12% vandindhold)

Tallene i parentes angiver antallet af prøver der er analyseret

Tabel 5.1.1. Sammenligning af Plantedirektoratets analysedata for dioxinindhold i danske foderstoffer med SCANs data.

5.2 Sammenligning af modelberegninger med faktiske dioxinindhold i danske fødevarer

De beregnede dioxinindhold er sammenfattet i efterfølgende tabel, hvor resultaterne er sammenholdt med SCFs estimater og med de gennemsnitlige danske måleresultater fra perioden 2000-2004.

Fødevarer	Estimeret SCF pg WHO-TEQ/g fedt	Estimeret DFVF pg WHO-TEQ/g fedt ¹⁾	Målt DFVF 2000-04 pg WHO-TEQ/g fedt	
			middel	90% per- centil
Svin	0,26	0,62	0,21	0,33
Slagtekvæg	0,68	0,53*	0,55	0,87
Mælkeprodukter	0,88	0,52 (0,31)	0,47	0,65
Havbrugsfisk		2,3 (10,8) eller 0,23 (1,08)**		
Dambrugsørreder	8,84	14,2 (40) 0,38 (1,08)**	0,26**	0,66**
Kyllinger	0,52	0,71	0,27	0,55
Æg/æglæggende høns	1,19	1,15 (1,44)	0,61	1,5

Tabel 5.2.1. Sammenligning mellem beregnede og målte indhold af dioxin (PCDD/F) i forskellige fødevarer.

1) Tal i parentes er beregnet på basis af biokoncentrationsfaktorer

* Beregnet på basis af typisk dansk foder,

** pg WHO-TEQ/g helvægt

Som det fremgår af tabellen er der generelt rimelig overensstemmelse mellem målte og estimerede værdier. Dog med undtagelse af tallene for svin, hvor modellen giver et mere end dobbelt så højt dioxinindhold end det fundne. Dette skyldes sandsynligvis, at de toksikokinetiske parametre så som T½ og absorptionsfraktion er overestimerede.

5.3 Konklusion vedrørende modelberegningerne

Det overordnede formål med at foretage modelberegninger for overførsel af dioxiner fra foder til fødevarer, var at undersøge om det var muligt relativt simpelt at beregne f.eks. dioxinindhold i en fødevarer i en situation, hvor der var kendskab til at dyrene var fodret med kontamineret foder (som fx den belgiske dioxinskandale) eller at beregne f.eks. konsekvenserne af en given grænseværdifastsettelse for en bestemt foderingrediens. Alt sammen med henblik på at kunne foretage en mere præcis human risikovurdering i de givne situationer.

I betragtning af det spinkle datagrundlag og de mange antagelser, der blev gjort undervejs i beregningerne, var det overraskende, at modellerne viste sig rimeligt anvendelige til at forudsige dioxinindhold i slagtekvæg, mælkeprodukter, fisk, kyllinger og æg. Der var størst usikkerhed ved beregningen på svinekød, hvor modellen overestimerede indholdet ca. 2.5 gange.

Alt i alt konkluderes det, at modellerne kan benyttes som et forholdsvis simpelt værktøj til at give et overslag over forureningsniveauet mht. dioxiner i animalske fødevarer, inklusive fisk.

6. Den internationale indsats for en reduktion af dioxinforureningen

Dioxiner er en grænseoverskridende forurening, og en holdbar nedbringelse af dioxinproblemerne kan derfor kun ske i et internationalt samarbejde. Fortsat deltagelse i det løbende internationale samarbejde, herunder især indenfor EU og CODEX, er derfor en vigtig del af den danske dioxin-handlingsplan. Deltagelsen omfatter både arbejdet i videnskabelige komiteer og ad-hoc nedsatte task-forces samt ved regelfastsættelsen på området, herunder det fortsatte arbejde med fastsættelse af grænseværdier for dioxiner i fødevarer og i foderstoffer. DFVF har desuden løbende fulgt og deltaget i det internationale videnskabelige arbejde på området, herunder ved deltagelse i internationale symposier og kongresser.

Fødevarestyrelsen har fulgt og deltaget i EU-kommissionens arbejde vedrørende fastsættelse af grænseværdier for dioxinindholdet i fødevarer. Her blev det tidligt besluttet, at gennemføre en systematisk indsamling af data for dioxin og dioxin-lignende PCB i fødevarer gennem et videnskabeligt samarbejde i form af et såkaldt SCOOP projekt, og på baggrund af dette udredningsarbejde, at foretage en estimering af befolkningens indtag. Det blev samtidig besluttet, at udredningsarbejdet skulle forelægges de Videnskabelige Komiteer for henholdsvis Fødevarer (SCF) og Foderstoffer (SCAN) med henblik på en nærmere vurdering, herunder risikovurdering af forureningens sundhedsmæssige betydning.

SCOOP projektet om indsamling af data og vurdering af befolkningens indtag af dioxin og dioxin-lignende PCB fra fødevarer blev påbegyndt i 1999 og afsluttet sommeren 2000. DFVF deltog i udredningsarbejdet og vurderingerne af de indsamlede data. Projektgruppens rapport "Assessment of dietary intake of dioxins and related PCBs by the population of EU Member States" blev endelig udsendt den 7. juni 2000. Rapporten sammenfatter en stor datamængde men noterede samtidig, at der er store mangler i vores viden omkring forekomst og niveauer på en række områder af betydning for en mere præcis risikovurdering af dioxinforureningen af vore fødevarer. Rapporten anbefaler, at fremtidige undersøgelser ikke blot medtager gennemsnitsværdier for dioxinindhold i fødevarer, men sigter mod en nærmere fastlæggelse af spredningen af disse indhold. Rapporten blev som planlagt oversendt til de videnskabelige komiteer, hvor den indgik som en væsentlig del af grundlaget for den risikovurdering, som EUs Videnskabelige Komité for Levnedsmidler (SCF) blev bedt om at foretage mht. den humane eksponering for dioxiner og dioxinlignende PCB fra fødevarer.

EU krav til analysekvalitet

I direkte forlængelse af EU's grænseværdier for dioxin i foderstoffer og fødevarer udstedte EU et direktiv der omhandlede krav til analysekvalitet: Kommissionens direktiv 2002/69/EF af 26. juli 2002 om prøveudtagnings- og analysemetoder til officiel kontrol af dioxinindholdet og bestemmelse af dioxinlignende PCB i levnedsmidler. Formålet med disse krav er, at der opnås en ensartet analysekvalitet på tværs af laboratorier og landegrænser.

DFVF har deltaget løbende i Kommissionens arbejde med formuleringen af dette direktivet, herunder ved en workshop i Holland arrangeret af Kommissionen, samt ved direkte kontakt og via Fødevarestyrelsens deltagelse i Kommissionens ekspertgrupper.

I direktivets bilag II opstilles en række krav der bør overholdes ved analyse af prøver i forbindelse med officiel kontrol af indholdet af dioxin i foderstoffer og fødevarer. Der er krav både til verifikationsanalyser (GC/MS) og screeningsanalyser. Samtidig blev krav og specifikationer til dioxinana-

lyser udbygget, så de foruden kemiske analyser som GC/MS også omfatter biologiske screeningsmetoder, herunder CALUX assayet.

Derudover har EU-arbejdet bl.a. omfattet forslag til ændringer og tilføjelser til direktivet der omhandler krav til analysekvalitet: Kommissionens direktiv 2002/69/EF af 26. juli 2002 om prøveudtagnings- og analysemetoder til officiel kontrol af dioxinindholdet og bestemmelse af dioxinlignende PCB i levnedsmidler. Formålet med disse krav er, at der opnås en ensartet analysekvalitet på tværs af laboratorier og landegrænser.

Ændringerne har drejet sig om prøveudtagningen for fisk og definitionen af hvornår et analyseresultat overskrider en grænseværdi. Det er blevet beskrevet hvordan analyseusikkerheden skal tages i betragtning ved vurderingen af om et analyseresultat signifikant overskrider grænseværdien. Endvidere er der en tilføjelse om hvordan bestemmelsesgrænserne defineres.

Deltagelse i det internationale risikovurderingsarbejde

DFVF har aktivt deltaget i internationale ekspertgrupper, som har foretaget risikovurderinger af dioxiner. Allerede i 1997 og 1998 deltog DFVF i de to WHO ekspertgrupper, som dels fastsatte de nugældende værdier for toksicitetsækvivalenter af PCDD, PCDF og dioxinlignende PCB, dels gennemførte den første samlede internationale risikovurdering af dioxinerne. I perioden for dioxinhandlingsplanen har DFVF deltaget i risikovurderingsarbejdet i 2000 og 2001 i EU's Videnskabelig Komite for Levnedsmidler (SCF) og i den internationale vurdering, der i 2001 blev foretaget af FAO/WHOs ekspertgruppe vedrørende tilsætningsstoffer og forureninger i fødevarer (JECFA). Endelig har DFVF spillet en aktiv rolle ved Den Europæiske Fødevarer Autoritets (EFSA) colloquium i 2004 vedrørende metoder og principper for fastsættelse af grænseværdier for dioxiner, furaner og dioxinlignende PCB.

SCFs vurdering

SCF offentliggjorde sin første risikovurdering af dioxiner (Opinion of the SCF on the Risk Assessment of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food, Adopted on 22 November 2000) i november 2000 og udsendte allerede en opdatering i juni 2001 (Opinion of the SCF on the Risk Assessment of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food, Update based on new scientific information available since the adoption of the SCF opinion of 22nd November 2000. Adopted on 30 May 2001). Da SCF vurderingen har været en væsentlig baggrund for det videre arbejde med at nedsætte befolkningens udsættelse for dioxiner, herunder fastsættelser af aktionsgrænser/grænseværdier for dioxiner i fødevarer, omtales hovedpunkterne i det følgende. Vurderingen omfatter 3 hovedområder: Eksponering, Toksikologisk vurdering og Risikokarakterisering (som integrerer eksponering og toksikologisk vurdering), og endelig er der et kort afsnit vedrørende strategier for risikohåndtering.

Eksponering

SCF anvendte førnævnte EU SCOOP-rapport som baggrund for sine estimater af indholdet af dioxiner og dioxin-lignende PCBer i forskellige typer fødevarer i Europa og af indtagelsen i europæiske lande.

Den gennemsnitlige daglige indtagelse af PCDDs og PCDFs, baseret på de nyeste analyseresultater og indtagelsesberegninger (1995-1999) fra især nordeuropæiske lande, blev estimeret til mellem 0.4 og 1.5 pg I-TEQ/kg legemsvægt. Dette angives at være 3-4 gange lavere end i 1970-80'erne. For de dioxin-lignende PCB blev indtagelsen estimeret til mellem 0.8 og 1.5 pg PCB-TEQ/kg

legemsvægt/dag. Samlet vurderer SCF den gennemsnitlige indtagelse til mellem 1.2 og 3.0 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt/dag. Validiteten af dette sum-estimat kan diskuteres, især af statistiske grunde, og fordi resultaterne stammer fra få europæiske lande. Endvidere er estimerne afhængige af de varierende forudsætninger for beregning af kostindtagelser, som de enkelte lande har anvendt.

SCF vurderede, at mere end 90% af menneskers udsættelse for dioxiner kom fra fødevarerne, heraf mere end 80% fra animalske fødevarer (inklusive fisk).

SCF gennemførte en større statistisk analyse af SCOOP rapportens rådata for indhold af dioxiner og dioxin-lignende PCB i forskellige typer fødevarer og viste fordelingskurver for PCDD og PCDF indhold i fisk, æg, mælk og mælkeprodukter, fjerkræ, svinekød, okse- og kalvekød og kød og kødprodukter samlet. For de dioxin-lignende PCB var der kun tilstrækkelige data for fisk og kød og kødprodukter samlet. Disse fordelingskurver var nyttige til at illustrere effekten af de eventuelle fremtidige grænseværdier f.eks. til illustration af hvor stor en procentdel af den pågældende fødevare, der måtte have indhold højere end en given grænseværdi.

Toksikologisk vurdering

I sin første vurdering fra november 2000 foreslog SCF en midlertidig tolerabel ugentlig indtagelse (t-TWI) på 7 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt. SCF anførte, at den tolerable ugentlige indtagelse var gjort midlertidig, fordi der var betydelig usikkerhed med hensyn til vurderingen af de afgørende, kritiske toksikologiske undersøgelser i rotter og aber. På grund af manglende data anvendte SCF ved den midlertidige vurdering i 2000 derfor en forsigtig holdning. Umiddelbart efter at vurderingen var afsluttet, blev der imidlertid offentliggjort nye undersøgelser, både i rotter og aber, som kunne belyse de afgørende usikkerheder i vurderingen. SCF besluttede derfor at opdatere sin risikovurdering. Den opdaterede risikovurdering blev offentliggjort i juni 2001. Som resultat af opdateringen, der nu udelukkende blev baseret på undersøgelser i rotter, fastsatte SCF en tolerabel ugentlig indtagelse (TWI) for mennesker på 14 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt. Da der nu var et mere sikkert grundlag for vurderingen blev den midlertidige status for TWI fjernet.

SCF tog udgangspunkt i WHO vurderingen fra 1998 af dioxiner og dioxin-lignende PCB, men foretog sin egen, grundige gennemgang af de studier, der dannede baggrund for WHO- vurderingen og inddrog selvfølgelig yderligere undersøgelser offentliggjort siden WHO- konsultationen. Begge vurderinger tager udgangspunkt i en vurdering af den mest toksiske dioxin, 2,3,7,8-TCDD (TCDD). WHO vurderingen estimerede TCDD kropsbelastningerne i de forsøgsdyr (aber og rotter), hvor de mest følsomme toksikologiske effekter af TCDD var rapporteret, og beregnede, at mennesker skulle indtage mellem 10 og 40 pg TCDD/kg legemsvægt/dag i 20-30 år for at nærme sig tilsvarende kropsbelastninger. De følsomme effekter, der er rapporteret om i dyreforsøg, er dels påvirkning af udviklingen af det ufødte fosters reproduktionsorganer og immunsystem hos rotter og af centralnervesystemet hos aber, dels udvikling af endometriose i voksne hun-aber. Ved anvendelse af en usikkerhedsfaktor på 10 fastsatte WHO en tolerabel daglig indtagelse (TDI) på 1-4 pg TCDD/kg legemsvægt/dag. At TDI blev udtrykt som et interval afspejlede usikkerheden ved at vurdere hvilken af de anvendte følsomme undersøgelser, der var af størst relevans for forudsigtelse af effekter i mennesker. Ved at anvende princippet om toksicitets ækvivalensfaktorer blev TDI udvidet til også at omfatte de andre dioxiner og de dioxinlignende PCB, udtrykt som WHO-TEQ. WHO nævner, at man anser 4 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt/dag som tolerabelt på en midlertidig basis, mens bestræbelserne for at nedsatte dioxinbelastningen på længere sigt bør medføre, at indtagelsen bliver mindre end 1 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt/dag.

SCF var enig med WHO i, at de foreliggende undersøgelser af dioxinernes effekter i mennesker (primært fra arbejdsmiljø og ulykker) er helt utilstrækkelige som baggrund for en kvantitativ risikovurdering af den generelle befolknings indtagelse af dioxiner på baggrundsniveauet som følge af forureningen af fødevarerne. SCF anvendte derfor også estimater af TCDD- kropsbelastningen i de mest følsomme studier i forsøgsdyr som udgangspunkt for vurderingen. SCF havde adgang til nyere oplysninger om kropsbelastningen i de mest følsomme undersøgelser, som var rotteforsøg. På denne baggrund estimerede SCF, at mennesker skulle indtage 20 pg dioxin/kg legemsvægt/dag i 20-30 år for at nærme sig kropsbelastninger svarende til de kritiske rotteforsøg. SCF vurderede endvidere, at anvendelse af en usikkerhedsfaktor på 10 var tilstrækkelig ved fastsættelse af en tolerabel indtagelse for mennesker. I erkendelse af, at stoffer som TCDD og de andre dioxiner og PCB har meget lange halveringstider i menneskekroppen (7½ år for TCDD), fandt SCF det mere passende at udtrykke den tolerable indtagelse på en ugentlig basis frem for en daglig basis. Derfor etablerede Komiteen en **tolerabel ugentlig indtagelse (TWI) på 14 pg 2,3,7,8-TCDD/kg legemsvægt**.

SCF konkluderede endvidere, at TWI for 2,3,7,8-TCDD burde udvides til at omfatte alle 2,3,7,8-substituerede PCDDs og PCDFs og de dioxinlignende PCBs, og etablerede en gruppe TWI på 14 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt for disse stoffer.

Både SCF og WHO anfører, at den kræftfremkaldende effekt af dioxiner (TCDD) kræver kropsbelastninger, der både i mennesker og forsøgsdyr er væsentligt højere end for ovennævnte kritiske effekter. Da man endvidere vurderer, at der findes en tærskelværdi for TCDDs kræftfremkaldende effekt (TCDD beskadiger ikke arveanlæggene), anses denne effekt ikke som værende den mest kritiske i forbindelse med risikovurdering af den almindelige befolknings udsættelse for de lave dioxin niveauer i fødevarer.

Risikokarakterisering

SCF konstaterede, at selv om bestræbelserne for at nedbringe udledning af dioxiner havde været succesfulde i forskellige europæiske lande, så ville en betragtelig del af den europæiske befolkning stadig kunne overskride TWI på 14 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt. SCF anfører, at dette ikke nødvendigvis betyder, at der er en mærkbar sundhedsrisiko for personer, som overskrider TWI. Dette skyldes, at en TWI ikke er en nedre grænse for toksicitet, men er fastsat konservativt ud fra nul-effekt - eller laveste-effekt niveauer under anvendelse af usikkerhedsfaktorer. En overskridelse af TWI betyder imidlertid en udhuling af den beskyttelse, som er indbygget i TWI.

Risikohåndtering

SCF understregede, at fortsatte bestræbelser på at nedbringe udledningen af disse stoffer til omgivelserne til det teknisk muligt laveste niveau, er den mest effektive måde til at begrænse menneskers udsættelse for dioxiner. Herudover diskuterede SCF fastsættelse af maksimalgrænseværdier, aktionsgrænser, og målgrænser (target values) for dioxiner i fødevarer og anførte, at de fordelingskurver over indholdet af dioxiner i forskellige fødevarer, som Komiteen havde udarbejdet, kunne danne baggrund for regulatoriske beslutninger.

Med hensyn til fastsættelse af **maksimalgrænseværdier** for dioxiner i fødevarer, så som mejeriprodukter, kød, fjerkræ, æg og grøntsager, anførte SCF, at indtagelsen af fødevarer med de nuværende gennemsnitlige baggrundsindhold allerede resulterer i ugentlige indtagelser, der er omkring eller højere end TWI. For signifikant at nedsætte menneskers kropsbelastning med dioxin skulle eventuelle maksimalgrænseværdier i givet fald være lavere end de nuværende gennemsnitlige bag-

grundniveauer. Dette ville resultere i, at en betragteligt del af den nuværende fødevareforsyning ville blive erklæret uegnet som menneskeføde.

SCF anser derfor fastsættelse af aktionsgrænser og målgrænser for de fødevaregrupper, som bidrager mest til menneskers dioxinbelastning, som en mere realistisk fremgangsmåde. En **målgrænse** indikerer det gennemsnitlige forureningsniveau i en given fødevare, der er nødvendig for at nedbringe menneskers indtagelse til TWI værdien, mens en **aktionsgrænse** er et (højere) forureningsniveau, som udløser specifikke håndteringsmæssige reaktioner. Aktionsgrænsen kunne for eksempel fastsættes ved hjælp af 90-, 95- eller 99- percentilen af fordelingskurven for dioxinniveauet i den pågældende fødevare, eller ved at anvende de tilsvarende confidengrænser. Hvis aktionsgrænsen overskrides bør årsagen til den specifikke forurening spores, ligesom det må besluttes fra gang til gang, om det specifikke produkt skal fjernes fra markedet. Dette vil kunne fjerne de mest forurenede fødevarer fra konsum. Dette har formentlig minimal betydning for hovedparten af befolkningen, men vil beskytte de personer, som ofte konsumerer de særligt højt forurenede fødevarer.

Målgrænser vil normalt være lavere end de nuværende baggrundsniveauer og kan kun opnås gennem en yderligere reduktion i udledningen af dioxiner og PCB til miljøet. I takt med at udledningen til miljøet begrænses, vil fordelingen af forureningsniveauerne i de forskellige fødevarer forskyde sig mod lavere niveauer og nærme sig målgrænserne. Som følge heraf bør aktionsgrænserne revideres fra tid til anden. Anvendelse af aktions- og målgrænser kræver, at indholdet af dioxiner i de forskellige fødevaretyper overvåges løbende.

FAO/WHO's vurdering

FAO/WHO's ekspertgruppe vedrørende tilsætningsstoffer og forureninger (JECFA) vurderede også dioxinerne i juni 2001. JECFA's vurdering følger i store træk SCF's vurdering men JECFA fastsatte her en tolerabel månedlig indtagelse på 70 pg WHO-TEQ/kg legemsvægt for at signalere, at for disse stoffer, som opkoncentreres i kroppen, er det den samlede indtagelse over meget lang tid, der har toksikologisk betydning.

7. Sammenfattende konklusioner

Kortlægningsundersøgelser

Kortlægningsundersøgelserne af dioxinindholdet i danske fødevarer viser, at niveauet generelt er et pænt stykke under de gældende grænseværdier. De foreslåede nye grænseværdier for summen af dioxin og dioxinlignende PCB forventes ikke at give anledning til problemer i forhold til det generelle niveau i danske fødevarer.

I perioden fra grænseværdierne indførelse i juli 2002 og frem til og med 2004 er der i de udtagne prøver kun konstateret overskridelse af indgrebsværdien for dioxin i én prøve af oksefedt. Det er sandsynligt, at der i fremtiden også vil kunne optræde fødevarerprøver med overskridelser. Især hønseæg fra økologiske bedrifter udviser stor variation i indholdet af dioxin og PCB.

Visse typer af fed fisk kan dog ikke overholde grænseværdierne. Der er fundet overskridelser af grænseværdien for dioxin i laks over 4,4 kg fra Østersøen og i sild fanget øst for Bornholm. Der er desuden fundet en overskridelse af indgrebsværdien for dioxin i ål fra Øresund

Med de foreslåede nye grænseværdier for summen af dioxin og dioxinlignende PCB vil der foruden overskridelser i laks fra Østersøen og sild øst for Bornholm, også være overskridelser af grænseværdien for havørreder fra Bornholm og Ål fra Øresund.

Undersøgte prøver af fiskeolier til kosttilskud, der er udtaget efter ikrafttrædelse af dioxingrænseværdierne viser indhold under både dioxingrænseværdien og den nye foreslåede grænseværdi for summen af dioxin og dioxinlignende PCB. Nogle af fiskeleverolierne har dog et forholdsmæssigt højt indhold af PCB, og det tyder på, at de anvendte renseprocesser til reduktion af bl.a. dioxin og PCB ikke er lige effektive overfor PCB.

Indholdet i dansk modermælk af dioxin og PCB er faldende. Fra 1993 til 2004 er dioxin faldet med 48%, dioxinlignende PCB med 67% og summen af dioxin og PCB med 58%.

CALUX screeningsmetode

CALUX bioassay er en lovende screeningsmetode til bestemmelse af den totale aktivitet af dioxinlignende stoffer i fødevarer. Metoden kan anvendes til at bestemme den totale dioxin-aktivitet i fødevarer- og foderstofprøver. Screeningsmetoden har potentiale til at kunne anvendes til indledende kontrol af fødevarer- og foderstofprøver for at reducere omfanget af prøver, der skal analyseres ved kemisk analyse og dermed mindske udgifterne til kontrolanalyser.

Der opnås generelt højere TEQ-værdier i CALUX bioassay sammenlignet med den kemiske analyse, hvilket skyldes forskel mellem WHO-TEF og CALUX-REP, men det indikerer desuden, at andre kemiske stoffer end dioxiner, furaner og PCB bidrager til den samlede dioxinlignende aktivitet. Ved screening åbnes herved mulighed for detektion af hidtil upåagtede forureninger med dioxinlignende aktivitet.

Om nogle år forventes grænseværdierne for dioxin og dioxinlignende PCB i EU at blive fastsat som summen af dioxin og PCB. Når det sker vil CALUX være en velegnet screeningsmetode, da assayet måler det totale indhold af dioxinlignende stoffer, dvs. både dioxiner og dioxinlignende PCB.

Modelberegninger

Det overordnede formål med at foretage modelberegninger for overførsel af dioxiner fra foder til fødevarer, var at undersøge om det var muligt relativt simpelt at beregne f.eks. dioxinindhold i fødevarer i en situation, hvor der var kendskab til at dyrene var fodret med kontamineret foder eller at beregne f.eks. konsekvenserne af en given grænseværdifastsættelse for en bestemt foderingrediens. Alt sammen med henblik på at kunne foretage en mere præcis human risikovurdering i de givne situationer.

På trods af det spinkle datagrundlag og de mange antagelser, der blev gjort undervejs i beregningerne viste modellerne sig rimeligt anvendelige til at forudsige dioxinindhold i slagtekvæg, mælkeprodukter, fisk, kyllinger og æg. Der var størst usikkerhed ved beregningen på svinekød, hvor modellen overestimerede indholdet ca. 2.5 gange.

Alt i alt kan det konkluderes, at modellerne kan benyttes som et forholdsvis simpelt værktøj til at give et overslag over forureningsniveauet mht. dioxiner i animalske fødevarer, inklusive fisk.

Humant indtag

Middelindtaget af dioxin og dioxinlignende PCB fra fødevarer er for den danske voksne befolkning estimeret til at være mellem 0,8 og 1,1 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag, dvs. på ca. 50% af TWI. Når 95% af den voksne befolkning medtages går indtaget af dioxin og dioxinlignende PCB op til mellem 1,8 og 3,7 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag svarende til mellem 90% og 185% af TWI. Den største usikkerhed ved de estimerede indtag kommer fra vurderingen af bidraget fra fisk, da fisk varierer meget i dioxin- og PCB-indhold afhængig af fiskeart og fangstområde.

Den procentvise fordelingen af middelindtaget af dioxin og dioxinlignende PCB fra alle fødevarergrupperne er på mellem 30-40% for mælk og mælkeprodukter, 3-4% for æg, 13-18% for kød og 38-55% for fisk

Belastningen med dioxin og PCB af børn er højere end for voksne, da kostindtaget er højere for børn i forhold til deres kropsvægt. Hvis der ses bort fra fisk, så er det estimerede middelindtag fra de øvrige fødevarer for børn i alderen 4-14 år på 1,1 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag og i alderen 4-6 år på 1,5 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag. 95%-percentilen for de to børnegrupper er på hhv. 2,0 og 2,4 pg WHO-TEQ/kg kropsvægt/dag, svarende til 100% og 120% af TWI.

Beregningerne viser, at en del af den danske befolkning regelmæssigt må forventes at overskride SCFs tærskelværdi. Det skal understreges, at dette ikke er ensbetydende med, at der er en mærkbar sundhedsrisiko for personer, som overskrider TWI, men det betyder, at fødevaresikkerheden med hensyn til dioxiner og dioxinlignende PCB er forringet, og at der er tale om en udhuling af den beskyttelse, som er indbygget i TWI. Der er på den baggrund fortsat behov for en indsats med henblik på en reduktion af fødevarernes indhold af dioxiner.

Bilag A. Dioxin og dioxinlignende PCB i danske fødevarer

A.1 Occurrence of dioxins in selected foods in 2000-2004

Foodstuff	Number of samples	Minimum	Mean	Median	90% percentile	Maximum
pg WHO-TEQ upper bound/g*						
Chicken fat	61	0,06	0,27	0,21	0,55	0,97
Hen fat	4	0,12	0,36	0,19		0,94
Turkey fat	5	0,10	0,36	0,21		0,83
Beef fat	35	0,14	0,55	0,43	0,87	2,22
Pork fat	35	0,08	0,21	0,17	0,33	0,90
Sheep fat	30	0,15	0,76	0,62	1,24	1,57
Hen eggs	43	0,18	0,61	0,39	1,50	2,28
Cows milk	39	0,23	0,47	0,40	0,65	1,55
Dairy products	16	0,30	0,43	0,42	0,55	0,75
Fruit, vegetables, cereals	15	0,02	0,04	0,04	0,07	0,08
Vegetable oil	6	0,04	0,07	0,05		0,12
Farmed trout	30	0,07	0,26	0,17	0,66	0,75
Herring - North Sea and Belts	16	0,36	1,11	1,05	1,79	2,89
Herring - S. Baltic Sea, w. of Bornholm	10	0,95	1,79	1,65	2,60	2,76
Herring - S. Baltic Sea, e. of Bornholm	9	1,56	3,87	3,12		7,78
Sea Trout , Bornholm	2	2,94	3,46	3,46		3,99
Eel - The Sound	5	1,11	2,29	2,12		3,94
Eel - The Kattegat w. of Hirsholmen	5	0,65	0,89	0,93		1,19
Blue mussels	5	0,14	0,21	0,23		0,26
Fish oil supplement	14	0,07	1,17	0,35	0,20	7,14

*pr. g fat except for fish, mussels, fruit, vegetables and cereals, which is pr. g fresh weight

A.2 Occurrence of dioxin-like PCB in selected foods in 2000-2004

Foodstuff	Number of samples	Minimum	Mean	Median	90% percentile	Maximum
		pg WHO-TEQ upper bound/g*				
Chicken fat	61	0,01	0,24	0,11	0,70	1,65
Hen fat	4	0,09	0,47	0,14		1,49
Turkey fat	5	0,03	0,40	0,22		1,24
Beef fat	35	0,20	0,57	0,38	1,17	1,86
Pork fat	35	0,04	0,08	0,06	0,14	0,21
Sheep fat	30	0,10	0,53	0,51	0,90	1,10
Hens eggs	43	0,08	0,67	0,39	1,76	2,82
Cows milk	39	0,18	0,41	0,38	0,59	0,78
Dairy products	16	0,20	0,35	0,35	0,46	0,47
Fruit, vegetables, cereals	15	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02
Vegetable oil	6	0,01	0,04	0,03		0,12
Farmed trout	30	0,17	0,74	0,46	1,81	2,02
Herring - North Sea and Belts	16	0,31	1,21	1,10	1,72	4,70
Herring - S. Baltic Sea, w. of Bornholm	10	1,29	2,18	2,07	3,04	3,49
Herring - S. Baltic Sea, e. of Bornholm	9	1,48	3,42	2,65		7,44
Sea Trout , Bornholm	2	6,81	7,12	7,12		7,43
Eel - The Sound	5	2,44	6,02	6,79		8,29
Eel - The Kattegat w. of Hirsholmen	5	1,83	2,43	2,31		2,94
Blue mussels	5	0,11	0,17	0,17		0,22
Fish oil supplement	14	0,18	5,56	2,40	0,85	30,90

*pr. g fat except for fish, mussels, fruit, vegetables and cereals, which is pr. g fresh weight

A.3 Occurrence of total TEQ (dioxins and dioxin-like PCB) in selected foods in 2000-2004

Foodstuff	Number of samples	Minimum	Mean	Median	90% percentile	Maximum
		pg WHO-TEQ upper bound/g*				
Chicken fat	61	0,12	0,50	0,33	1,29	2,62
Hen fat	4	0,21	0,83	0,33		2,44
Turkey fat	5	0,24	0,76	0,31		2,07
Beef fat	35	0,38	1,10	0,71	1,97	3,91
Pork fat	35	0,14	0,28	0,25	0,34	1,01
Sheep fat	30	0,30	1,29	1,22	2,06	2,29
Hens eggs	43	0,26	1,28	0,76	3,05	4,60
Cows milk	39	0,47	0,87	0,85	1,19	2,09
Dairy products	16	0,52	0,79	0,78	0,99	1,11
Fruit, vegetables, cereals	15	0,03	0,05	0,05	0,08	0,10
Vegetable oil	6	0,05	0,11	0,08		0,24
Farmed trout	30	0,26	1,00	0,61	2,52	2,74
Herring - North Sea and Belts	16	0,68	2,32	2,15	3,50	7,58
Herring - S. Baltic Sea, w. of Bornholm	10	2,30	3,97	3,60	5,36	5,94
Herring - S. Baltic Sea, e. of Bornholm	9	3,05	7,28	5,47		15,22
Sea Trout , Bornholm	2	9,75	10,58	10,58		11,42
Eel - The Sound	5	3,56	8,31	9,38		12,24
Eel - The Kattegat w. of Hirsholmen	5	2,48	3,33	3,28		4,05
Blue mussels	5	0,25	0,38	0,39		0,48
Fish oil supplement	14	0,48	6,73	2,82	1,04	38,04

*pr. g fat except for fish, mussels, fruit, vegetables and cereals, which is pr. g fresh weight

Bilag B. Dioxin og dioxinlignende PCB i dansk modermælk

B.1 Occurrence of dioxins and PCB in human milk collected in 1999, 2002 and 2004

Human milk collected 1999, 2002 and 2004

Compound	Number of samples	Minimum	Mean	Median	90% percentile	Maximum
		pg WHO-TEQ upper bound/g fat				
TEQ WHO dioxin	51	4,5	11,0	10,5	14,9	24,0
TEQ WHO PCB	51	2,8	8,4	7,4	11,3	25,3
TEQ WHO Total (dioxin & PCB)	51	7,3	19,4	18,1	26,7	45,6