

2026-06-04

2026-212673-0001

SLUTRAPPORT

Kemisk och toxikologisk karaktärisering av återvunnen plast

**Magnus Engwall, Maria Larsson, Anna Kärrman, Fredric Södergren
Seilitz, Örebro Universitet**

Rickard Jansson, Svensk Plaståtervinning i Motala AB

**RE:
SOURCE**

Slutrapport för projekt:

Kemisk och toxikologisk karakterisering av återvunnen plast

Engelsk titel: Chemical and toxicological characterisation of recycled plastics

Projektperiod: 2022-10-03 - 2026-02-28

Datum: 2026-05-30

Projektnummer: P2022-00262

Diarienummer: 2022-200423

Projektledare: Magnus Engwall, Maria Larsson

Organisation: Örebro Universitet

Adress: Fakultetsgatan 1, 701 82 Örebro

Ev. övriga projektdeltagare: [Klicka här och skriv]

Nyckelord: 5-7 st: Återvunnen plast; kemikaliesäkerhet; effektbaserad analys; bioassays; högupplösande masspektrometri; hormonstörande ämnen; cirkulär ekonomi

RE:Source är ett strategiskt innovationsprogram och finansieras av



Förord

Detta projekt har genomförts med finansiering från Energimyndigheten och det strategiska innovationsprogrammet RE:Source. Projektet har genomförts i samverkan mellan forskningscentrum MTM vid Örebro universitet och Svensk Plaståtervinning.

Vi vill rikta ett särskilt tack till Svensk Plaståtervinning för tillgång till material, provtagning och värdefull kunskap om plaståtervinningsprocessen. Vi vill även tacka alla medverkande vid Örebro universitet som bidragit till metodutveckling, provberedning, kemisk analys, effektbaserade analyser, datahantering och vetenskaplig tolkning.

Projektet har haft som mål att bidra med ny kunskap om kemikalieinnehåll och biologisk aktivitet i återvunna plastströmmar från hushållsförpackningar. Förhoppningen är att resultaten ska kunna bidra till en mer kunskapsbaserad utveckling av säkra och cirkulära plastflöden.

Magnus Engwall, Maria Larsson

Projektledare

Örebro universitet

Innehåll

1. Sammanfattning.....	7
2. Summary.....	9
3. Inledning och bakgrund	10
3.1. Utmaning och problemformulering	11
3.2. Kunskapsläge och vetenskaplig kontext	12
3.3. Samhälls- och marknadsbehov	16
3.4. Projektets angreppssätt, syfte och hypoteser	17
4. Genomförande.....	18

4.1. WP1. Provtagning av plastfraktioner	19
4.1.1. Provtagning.....	19
4.1.2. Provberedning.....	21
4.2. WP2. Kemisk och toxikologisk karakterisering	22
4.2.1. Metodutveckling och provupparbetning.....	22
4.2.2. Effektbaserad analys (EBA)	24
4.2.3. Kemisk analys (suspect och non-target)	26
4.2.4. Integrerad tolkning.....	27
4.3. WP3. Dataintegration och tillgängliggörande.....	27
5. Resultat och diskussion.....	28
5.1. Resultat – tidsstudien.....	28
5.1.1. Effektbaserad analys.....	28
5.1.1.1. PAH-CALUX – aktivitet kopplad till polycykliska aromatiska kolväten	28
5.1.1.2. ER-CALUX – östrogen aktivitet.....	30
5.1.1.3. AntiAR-CALUX – antiandrogen aktivitet	31
5.1.1.4. Tidstrender.....	33
5.1.1.5. Sammanfattande mönster	34
5.1.2. Kemisk analys	34
5.1.2.1. Jämförelse av plasttyper – opolära ämnen.....	34
5.1.2.2. Prioritering av potentiellt AhR-aktiva kemikalier – opolära ämnen.....	38
5.2. Resultat – fördjupad studie av tvättade flingor och pellets.....	40
5.2.1. Effektbaserad analys.....	40

5.2.2. Kemisk analys	42
5.2.2.1. Jämförelse av sorterade fraktioner och tvättade pellets och flingor – opolära ämnen	42
5.2.2.2. Jämförelse av ingående material och tvättade pellets och flingor – polära ämnen	42
5.3. Diskussion.....	43
5.3.1. Tolkning av effektbaserade analyser	43
5.3.2. Återvunnen plast innehåller mätbar biologisk aktivitet – men bilden är komplex.....	43
5.3.3. Variation mellan prover speglar materialens heterogenitet.....	44
5.3.4. Olika plasttyper uppvisar olika toxikologiska profiler	44
5.3.5. Återvinningsprocessen kan reducera den biologiska aktiviteten –men elimineras den inte	45
5.3.6. En analysmetod räcker inte – extraktionsmetoden avgör vad som syns.....	46
5.3.7. Hotspots – enstaka partier med markant förhöjd aktivitet.....	46
5.3.8. Kemisk analys identifierar relevanta ämnen – men förklarar inte hela effekten	47
5.3.9. Behovet av referensnivåer och standardiserade protokoll	47
5.3.10. Jämförelse med andra matriser analyserade med effektbaserade metoder ..	48
5.3.11. Sammantagen tolkning och implikationer.....	49
6. Slutsatser, nyttiggörande och nästa steg.....	49
6.1. Slutsatser.....	49
6.2. Nyttiggörande och förväntad effekt.....	50
6.3. Nästa steg.....	51

7. Publikationslista.....	51
8. Projektkommunikation	52
9. Referenser.....	52
10. Bilagor.....	54

1. Sammanfattning

Återvunnen plast från hushållsförpackningar innehåller många olika kemiska ämnen. I detta projekt har vi visat att ämnen kan extraheras ur återvunnen plast i laboratoriet och att dessa extrakt i flera fall ger biologiska utslag i cellbaserade tester. Resultaten innebär inte att materialen i sig utgör en påvisad risk för människa eller miljö. Projektet har inte undersökt faktisk migration eller exponering vid normal användning. Resultaten visar i stället vilken biologisk aktivitet som kan observeras när kemikalier extraheras ur materialet under standardiserade laboratorieförhållanden. Sådana totalextraktioner används som ett känsligt screeningverktyg för att identifiera biologiskt aktiva och potentiellt skadliga ämnen i komplexa material samt för att jämföra olika plastflöden och återvinningsprocesser.

Bakgrunden är en central utmaning i den cirkulära ekonomin. Plast behöver återvinnas för att minska resursanvändning, avfall och klimatpåverkan, men plast innehåller också tillsatser, färgämnen, stabilisatorer, nedbrytningsprodukter och andra kemikalier som kan följa med i återvinningsflödena. När material från många olika produkter blandas blir den kemiska sammansättningen svår att förutse. Detta skapar osäkerhet för återvinningsindustri, myndigheter och företag som vill använda återvunnen råvara.

Inom projektet analyserades stickprov av plastfraktioner från olika processteg i återvinningskedjan vid Svensk Plaståtervinnings anläggning Site Zero samt hos nedströms återvinningsaktörer, inklusive material efter sortering samt under och efter mekanisk återvinning. Arbetet omfattade dels en tidsstudie av industriella materialflöden, främst HDPE, LDPE och AggloPO75, dels en fördjupad studie av tvättade plastflingor och pellets. Syftet var att öka kunskapen om vilka kemiska ämnen som förekommer i materialen och om de samlade kemikalieblandningarna kan ge biologiska utslag i olika testsystem.

Projektet kombinerade kemisk analys med effektbaserade analyser. Kemisk analys kan identifiera många enskilda ämnen, men fångar inte hela den kemiska komplexiteten. Effektbaserade analyser fungerar som biologiska varningssystem där extrakt från plasten testas på celler som reagerar på specifika typer av kemisk påverkan, exempelvis hormonliknande aktivitet eller aktivering av cellernas avgiftningssystem. Metoderna kan därmed fånga biologisk aktivitet även från okända ämnen och komplexa blandningar.

Resultaten visar att biologiska utslag kunde mätas i flera material och för flera olika typer av tester. Aktivitet kopplad till PAH-liknande ämnen och antiandrogen aktivitet förekom brett i de analyserade plastflödena. Östrogen aktivitet var tydligare kopplad till vissa material och återfanns framför allt i den mer polära extraktionsfraktionen. LDPE uppvisade generellt högre nivåer och större variation än HDPE, medan AggloPO75 hade särskilt tydlig östrogen aktivitet. Resultaten varierade också mellan provtagningstillfällen,

vilket visar att plastflödena inom återvinning är heterogena och att enskilda partier kan avvika tydligt från normalbilden.

Den kemiska analysen identifierade många plastrelaterade ämnen, men endast en del av den biologiska aktiviteten kunde kopplas till identifierade kemikalier. Detta visar att riktad kemisk analys ensam inte räcker för att beskriva komplexa återvunna material. Kombinationen av kemisk analys och effektbaserade analyser ger därför en mer heltäckande bild av materialens kemiska och biologiska egenskaper.

Den fördjupade studien av flingor och pellets visade att återvinnings- och bearbetningssteg i flera fall minskade den biologiska aktiviteten. Samtidigt kvarstod vissa biologiska utslag även efter bearbetning, vilket visar att de tillämpade återvinningsprocesserna kan reducera men inte nödvändigtvis eliminera biologiskt aktiva ämnen. Resultaten understryker också betydelsen av uppströmsåtgärder, såsom bättre kontroll av kemikalier i plastprodukter redan vid tillverkning.

Projektets viktigaste bidrag är att visa hur kombinationen av kemisk analys och effektbaserade analyser kan användas för att följa, jämföra och bättre förstå plastflöden inom återvinningsprocesser. Metoderna kan bidra till att identifiera avvikande material, följa effekten av förbättrad sortering och processutveckling samt ge stöd för utveckling av säkrare cirkulära materialflöden. Nästa steg är att utveckla mer standardiserade analysstrategier samt komplettera totalextraktioner med studier av migration, faktisk exponering och specifika användningsområden.

2. Summary

Recycled plastic from household packaging contains many different chemical substances. In this project, we have shown that substances can be extracted from recycled plastic under laboratory conditions and that these extracts, in several cases, produce biological responses in cell-based tests. The results do not mean that the materials themselves constitute a demonstrated risk to humans or the environment. The project has not investigated actual migration or exposure during normal use. Instead, the results show the biological activity that can be observed when chemicals are extracted from the material under standardized laboratory conditions. Such total extractions are used as a sensitive screening tool to identify biologically active and potentially harmful substances in complex materials, and to compare different plastic streams and recycling processes.

The background is a central challenge in the circular economy. Plastic needs to be recycled to reduce resource use, waste and climate impact, but plastic also contains additives, colorants, stabilizers, degradation products and other chemicals that can be carried along in recycling streams. When materials from many different products are mixed, the chemical composition becomes difficult to predict. This creates uncertainty for the recycling industry, authorities and companies that want to use recycled raw materials.

Within the project, spot samples of plastic fractions from different process stages in the recycling value chain at Svensk Plaståtervinning's Site Zero facility and downstream recycling actors were analysed, including materials after sorting as well as during and after mechanical recycling. The work included both a time-series study of industrial material streams, mainly HDPE, LDPE and AggloP075, and an in-depth study of washed plastic flakes and pellets. The aim was to increase knowledge about which chemical substances occur in the materials and whether the combined chemical mixtures can produce biological responses in different test systems.

The project combined chemical analysis with effect-based analyses. Chemical analysis can identify many individual substances, but it does not capture the full chemical complexity. Effect-based analyses function as biological warning systems in which extracts from the plastic are tested on cells that respond to specific types of chemical influence, such as hormone-like activity or activation of the cells' detoxification systems. These methods can therefore capture biological activity from unknown substances and complex mixtures.

The results show that biological responses could be measured in several materials and in several types of tests. Activity associated with PAH-like substances and antiandrogenic activity occurred broadly in the analysed plastic streams. Estrogenic activity was more clearly linked to certain materials and was found primarily in the more polar extraction fraction. LDPE generally showed higher levels and greater variation than HDPE, while

AggloP075 showed particularly pronounced estrogenic activity. The results also varied between sampling occasions, showing plastic streams in recycling processes are heterogeneous and that individual batches can deviate clearly from the general pattern.

The chemical analysis identified many plastic-related substances, but only part of the biological activity could be linked to identified chemicals. This shows that targeted chemical analysis alone is not sufficient to describe complex recycled materials. The combination of chemical analysis and effect-based analyses therefore provides a more comprehensive picture of the chemical and biological properties of the materials.

The in-depth study of flakes and pellets showed that recycling and processing steps, in several cases, reduced the biological activity. At the same time, some biological responses remained after processing, showing that the applied recycling processes can reduce but not necessarily eliminate biologically active substances. The results also underline the importance of upstream measures, such as better control of chemicals in plastic products already at the manufacturing stage.

The project's most important contribution is to show how the combination of chemical analysis and effect-based analyses can be used to monitor, compare and better understand plastic streams during recycling processes. The methods can help identify deviating materials, follow the effects of improved sorting and process development, and support the development of safer circular material flows. The next step is to develop more standardized analytical strategies and to complement total extractions with studies of migration, actual exposure and specific use scenarios.

3. Inledning och bakgrund

Övergången till en cirkulär ekonomi innebär att materialflöden i samhället i ökande grad ska slutas genom återvinning och återanvändning. För plast är detta särskilt angeläget, då materialet används i stora volymer och har betydande klimat- och resurspåverkan. Samtidigt utgör plast ett komplext kemiskt system som innehåller ett stort antal tillsatser, restprodukter från tillverkning samt nedbrytningsprodukter, varav många är kända eller misstänkt skadliga för människa och miljö (Monclús et al., 2025; Stenmarck et al., 2017;).

Detta skapar en central målkonflikt: samtidigt som ökad materialåtervinning är nödvändig för hållbar resursanvändning, finns en risk att farliga kemikalier kan följa med in i nya materialflöden och, i vissa fall, ansamlas eller omfördelas i återvunnet material (Aurisano et al., 2021; Carney Almroth et al., 2025). För att återvunnen plast ska kunna betraktas som en säker och marknadsmässig produkt krävs att den uppfyller tekniska och regulatoriska krav, inklusive att den inte medför negativa effekter på miljö eller hälsa (EU

Waste Directive 2008/98/EC). I praktiken är detta svårt att säkerställa, främst på grund av bristande kunskap om innehållet i plastavfallsströmmar och deras kemiska variation.

3.1. Utmaning och problemformulering

Den centrala utmaningen som projektet adresserar är bristen på kunskap om förekomst, ursprung och risker kopplade till kemikalier i återvunnen plast. Plastavfall utgör en heterogen blandning av material från olika källor och användningsområden, vilket innebär att både avsiktligt tillsatta ämnen och oavsiktliga föroreningar kan förekomma. Dessa kan tillföras under produktion, användning eller genom degradering (Stenmarck et al., 2017).

Vid återvinning blandas olika plastfraktioner, vilket kan leda till utspädning av enskilda ämnen men samtidigt till en komplex kemisk blandning där kombinationseffekter kan uppstå. Traditionella kemiska analyser, som fokuserar på fördefinierade ämnen, fångar endast en begränsad del av denna komplexitet. Detta innebär att viktiga riskbidrag, särskilt från okända eller oreglerade ämnen, riskerar att förbises (Escher et al., 2020).

Osäkerheten kring kemikalieinnehåll och toxicitet i återvunnen plast kan i praktiken utgöra ett hinder både för lagefterlevnad (t.ex. REACH och CLP) och för marknadens acceptans av återvunnet material (Aurisano et al., 2021). Ett centralt problem är inte att återvunnet material generellt skulle vara undantaget från kemikalielagstiftning, utan att spårbarhet, informationsöverföring och kontroll av kemikalieinnehåll är svåra i blandade och heterogena materialflöden. Detta skapar en strukturell spänning: återvinning är politiskt prioriterat och lagstadgat i form av allt högre krav på återvunnet innehåll, men de kemikalier som därigenom cirkuleras är inte alltid föremål för samma restriktioner som vid nyttillverkning.

SCIP-databasen (Substances of Concern In articles as such or in complex objects/Products), som infördes 2021 under avfallsramdirektivet, utgör ett försök att öka transparensen genom att säkerställa att information om artiklar som innehåller ämnen på REACH:s kandidatförteckning finns tillgänglig under hela produktens livscykel, inklusive i avfallsledet (ECHA, 2021). Databasen ökar därmed transparensen i princip, men dess praktiska nytta för återvinningsaktörer är begränsad av att den endast omfattar kandidatförtecknade ämnen och att dess användbarhet är beroende av kvaliteten i de uppgifter som rapporteras in.

Det regulatoriska trycket på kemikaliesäkerhet i återvunna material har dock ökat markant under senare år. År 2022 antog EU förordning (EU) 2022/1616 specifikt för återvunna plastmaterial avsedda för livsmedelskontakt, vilken kräver att EFSA och EU-kommissionen bedömer respektive godkänner återvinningsprocesser för att dessa ska anses producera kemiskt säker plast. Även om förordningen är avgränsad till livsmedelskontaktmaterial illustrerar den en bredare regulatorisk riktning: återvunnet

material kan inte antas vara kemiskt säkert utan systematisk verifiering. Den metodologiska ansats som utvecklats i detta projekt – bred kemisk karakterisering kombinerad med effektbaserad analys – är därför relevant för denna typ av verifieringsbehov, oavsett slutlig tillämpning.

3.2. Kunskapsläge och vetenskaplig kontext

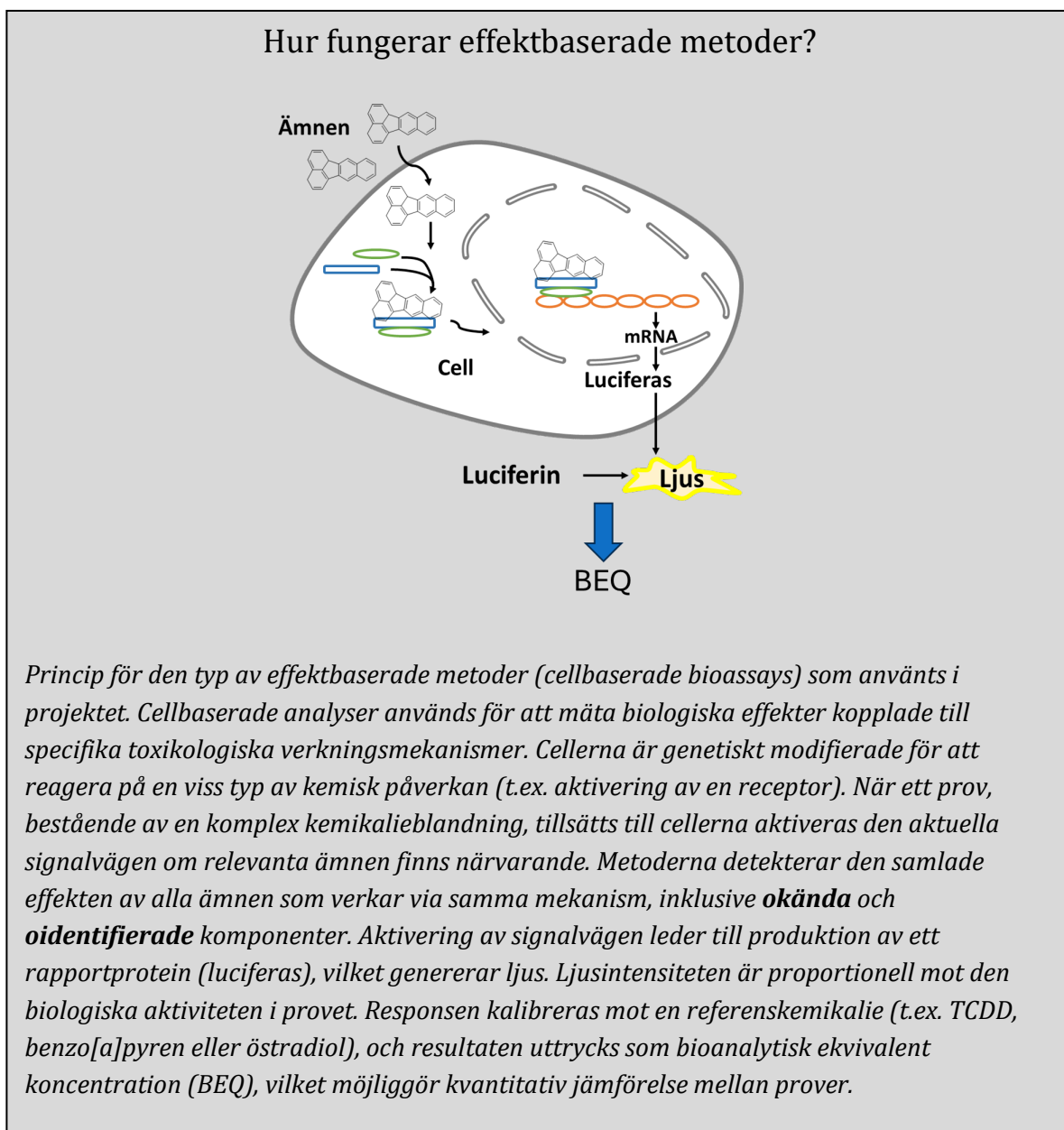
Kunskapsläget inom området präglas i ökande grad av en förskjutning från studier av enskilda ämnen till analys av komplexa kemiska blandningar. Detta speglar en insikt om att exponering i miljön och i tekniska material i praktiken nästan alltid sker som blandningar, där additiva, synergistiska eller antagonistiska effekter kan uppstå. Traditionella riskbedömningsstrategier, baserade på ett begränsat antal prioriterade ämnen, har därför visat sig otillräckliga för att fånga den samlade toxikologiska belastningen i komplexa matriser.

En viktig drivkraft bakom denna komplexitet är den omfattande användningen av kemiska tillsatser i plast. Plastmaterial kan innehålla, utöver polymeren, ett stort antal funktionella tillsatser såsom mjukgörare, flamskyddsmedel, stabilisatorer, antioxidanter, UV-skydd, färgämnen och processhjälpmedel. Antalet kemikalier associerade med plast uppgår till flera tusen, och en betydande andel av dessa är endast delvis karakteriserade avseende egenskaper och toxicitet (Hahladakis et al., 2018; Monclús et al., 2025). Eftersom tillsatser i regel inte är kovalent bundna till polymermatrisen kan de migrera, lakas ut och omvandlas under materialets livscykel. I återvunna material förstärks denna komplexitet ytterligare genom att plast från olika källor blandas, vilket leder till en ackumulering av kemikalier från flera produktgenerationer, inklusive nedbrytningsprodukter och oavsiktligt förekommande ämnen (Stenmarck et al., 2017; Undas et al., 2023).

Samtidigt är regleringen fragmentarisk och omfattar endast en begränsad del av dessa ämnen. Detta innebär att en stor del av det kemiska innehållet i plastmaterial – särskilt i återvunna flöden – varken är systematiskt kartlagt eller regulatoriskt kontrollerat. Dagens kontrollsystem är dessutom i hög grad inriktade på kända och prioriterade ämnen, medan okända ämnen, blandningar och transformationsprodukter i stor utsträckning faller utanför etablerade riskbedömningsramverk.

Under de senaste åren har integrerade angreppssätt, där kemisk analys kombineras med effektbaserade metoder (EBM), fått ökad betydelse inom miljötoxikologi och kemikalieövervakning (Escher et al., 2020; Neale et al., 2023). Dessa angreppssätt syftar till att överbrygga gapet mellan kemisk identifiering och biologisk relevans, genom att koppla förekomst av kemikalier till observerade effekter.

Effektbaserade metoder (EBM), såsom cellbaserade bioassays, möjliggör direkt mätning av biologiska effekter i komplexa prov. Därigenom fångas inte bara effekter från kända ämnen utan även bidrag från okända, oidentifierade eller otillräckligt karakteriserade kemikalier, liksom interaktioner mellan ämnen i blandningen (Neale et al., 2023). Detta gör EBM särskilt värdefulla som screeningverktyg för att identifiera prov med förhöjd toxikologisk aktivitet.



I kombination med avancerad kemisk analys, inklusive suspect- och non-target screening baserad på högupplösande masspektrometri, skapas möjligheter att både brett kartlägga

kemikalieinnehåll och samtidigt koppla detta till observerade biologiska effekter. Inom detta ramverk kan så kallade toxicitetsdrivare identifieras, dvs. de ämnen eller ämnesgrupper som bidrar mest till den uppmätta effekten (Brack et al., 2016). Kemisk karakterisering av återvunnen plast har samtidigt utvecklats snabbt under de senaste åren. Studier baserade på riktad analys, suspect screening och non-target screening har visat att återvunna plastmaterial och pellets kan innehålla ett stort antal organiska ämnen, inklusive plasttillsatser, industrikemikalier, pesticider och andra oavsiktligt förekommande ämnen. I vissa fall har flera hundra individuella kemiska komponenter identifierats i enskilda materialflöden. Trots denna utveckling saknas fortfarande standardiserade analysstrategier och en heltäckande bild av kemikalieinnehållet i återvunnen plast, särskilt med avseende på okända ämnen och transformationsprodukter (Undas et al., 2023). Detta illustreras av en systematisk genomgång publicerad av Food Packaging Forum (Geueke et al., 2023), där 853 kemikalier påvisades i migrat eller extrakt från återvunnen PET. Begreppet omfattar inte enbart godkända tillsatser eller monomerer, utan även icke-avsiktligt tillsatta ämnen (NIAS), kontaminanter och nedbrytningsprodukter. Resultaten visar att återvunnen plast kan innehålla en komplex och varierande kemisk blandning, där en betydande del av ämnena är otillräckligt karakteriserade med avseende på förekomst, migration och farlighet. Detta är särskilt relevant för återvunna material, där kemikalier från tidigare användning, kontamination och processrelaterad nedbrytning kan följa med och potentiellt ackumuleras i nya materialflöden.

Forskningen indikerar att plaståtervinning innebär en inneboende målkonflikt mellan resurseffektivitet och kemikaliesäkerhet. Återvinningsprocesser kan föra vidare eller omfördela farliga ämnen från tidigare användningscykler till nya material, särskilt i system med låg spårbarhet och blandade avfallsströmmar. Legacy-ämnen, kontaminanter och oavsiktligt bildade ämnen (NIAS) kan därmed återintroduceras i nya produkter (Undas et al., 2023; OECD, 2021). Mekanisk återvinning innebär i många fall en utspädning snarare än eliminering av farliga ämnen, vilket ytterligare komplicerar riskbedömningen.

Samtidigt är transparensen kring kemikalieinnehåll i plastmaterial generellt låg, vilket försvårar såväl säker återvinning som efterföljande användning av återvunnet material. Flera policy- och forskningsrapporter framhåller att kemikaliefrågan är en avgörande faktor för att möjliggöra en verkligt cirkulär plastanvändning, där materialflöden kan slutas utan att oacceptabla risker för hälsa och miljö uppstår (OECD, 2021; UNEP, 2023). Flera ämnesgrupper återkommer konsekvent i litteraturen som särskilt relevanta ur risksynpunkt i plast och återvunnen plast. Dessa inkluderar flamskyddsmedel (särskilt bromerade), ftalater, bisfenoler, PFAS, metaller, mineraloljerelaterade ämnen samt polycykliska aromatiska kolväten (PAH). Utöver dessa förekommer ett stort antal så kallade non-intentionally added substances (NIAS), såsom reaktionsbiprodukter, nedbrytningsprodukter och oligomerer. I återvunna material tillkommer ytterligare komplexitet genom förekomst av så kallade legacy contaminants, dvs. ämnen som fasats ut

eller förbjudits men som kvarstår i materialflöden genom återvinning. Källorna till dessa ämnen är flera och omfattar både ursprungliga tillsatser, nedbrytning under användning och processning, kontamination från produktens användningsfas samt felinblandning av andra materialströmmar, exempelvis elektronikplast.

Effektbaserade analyser har börjat tillämpas på plastmaterial, men i betydligt mer begränsad omfattning än kemisk analys. De studier som finns är ofta inriktade på migrat, lakvatten eller mikroplastmodeller, snarare än på industriella återvinningsströmmar. Endast ett fåtal studier har kombinerat bred kemisk karakterisering med bioanalytiska tester för att koppla kemiskt innehåll till biologiska effekter i återvunna plastmaterial.

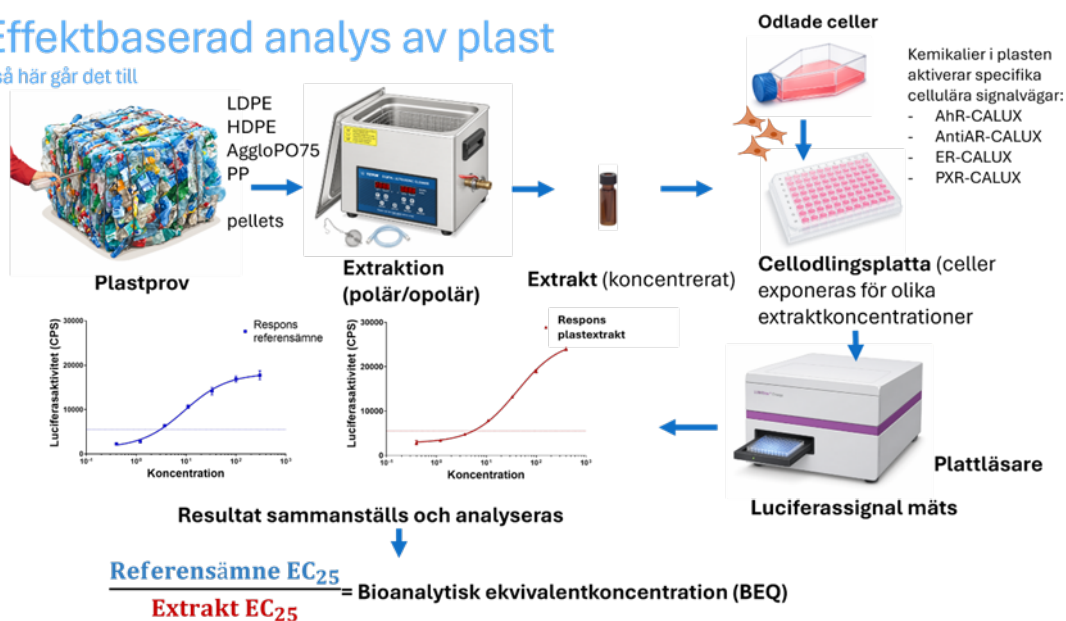
Sammantaget visar litteraturen att det fortfarande finns ett tydligt kunskapsgap när det gäller integrerade studier där bred kemisk karakterisering kombineras med effektbaserad analys av verkliga återvunna plastfraktioner, inklusive pellets och andra industriellt relevanta material. Detta gäller särskilt förståelsen av hur komplexa kemiska blandningar i återvunnen plast relaterar till biologiska effekter och potentiella risker för människa och miljö.

Nya teknologier för plaståtervinning utvecklas för att återvinna material med lägre kemikaliebelastning ska kunna återföras in i den cirkulära ekonomin. Teknologier som kan förbättra vad som sorteras ut för materialåtervinning (t.ex. maskinell sortering baserat på artificiell intelligens) och lösningsmedelsextraktion för att dekontaminera plastmaterial under återvinningsprocessen är tekniker som börjar användas i industriell skala. Metoder och verktyg som utarbetats och tillämpats i detta projekt kan tillämpas för att dokumentera effekten av sådan teknologiutveckling.

Mot denna bakgrund adresserar detta projekt ett centralt kunskapsgap genom att kombinera bred kemisk karakterisering (inklusive suspect- och non-target screening) med effektbaserad analys av industriellt relevanta återvunna plastfraktioner och pellets. Genom att koppla kemiskt innehåll till biologiska effekter i verkliga materialflöden bidrar projektet till en mer heltäckande förståelse av kemikalierisker i återvunnen plast, och till utvecklingen av analysstrategier som är direkt tillämpbara för säker cirkularitet.

Effektbaserad analys av plast

- så här går det till



Figur 1. Effektbaserad analys av återvunnen plast. Schematisk illustration av arbetsflödet från provtagning till kvantifiering av biologisk effekt. Plastmaterial (t.ex. balar av sorterade fraktioner) provtas och fragmenteras, varefter organiska kemikalier extraheras med lösningsmedel under ultraljud. Extrakten koncentreras och appliceras på cellbaserade bioassays (t.ex. CALUX-system) i mikrotiterplattor. Efter exponering mäts den biologiska responsen som luminescens i en plattläsare. Resultaten presenteras som koncentrations–responskurvor för plastextrakt och jämförs med referensämnena. Den biologiska aktiviteten kvantifieras som bioanalytiska ekvivalenter (BEQ) baserat på exempelvis EC₂₅-värden (effektkoncentration som ger 25 % respons), vilket möjliggör jämförelse mellan prover samt en uppskattning om potentiell toxikologisk påverkan.

3.3. Samhälls- och marknadsbehov

Projektet adresserar ett tydligt behov hos flera aktörer. För återvinningsindustrin är tillgång till tillförlitlig information om kemikalieinnehåll avgörande för att kunna producera säkra material och uppfylla regulatoriska krav. För myndigheter behövs bättre beslutsunderlag för att kunna utveckla styrmedel och regelverk som stödjer giftfria och cirkulära materialflöden.

Vidare är osäkerheten kring kemikalieinnehåll en viktig faktor som begränsar efterfrågan på återvunnen plast på marknaden (Aurisano et al., 2021). Ökad transparens och förbättrad karakterisering av kemiska risker är därför centralt för att stärka förtroendet för återvunna material och möjliggöra en skalbar cirkulär plastanvändning.

Projektet förväntas bidra till att:

- förbättra kunskapen om farliga ämnen i återvunnen plast,

- möjliggöra bättre lagefterlevnad,
- minska osäkerhet i värdekedjan, samt
- identifiera åtgärds punkter i återvinningsprocessen för att reducera kemikaliebelastning.

3.4. Projektets angreppssätt, syfte och hypoteser

Mot denna bakgrund syftar projektet till att systematiskt kartlägga kemikaliebelastningen i materialströmmar från hushållsförpackningar genom återvinningsprocesser samt att identifiera källor och potentiella risker kopplade till dessa kemikalier.

Projektet bygger på en integrerad metodansats där:

- bred kemisk karakterisering (target-, suspect- och non-target screening),
- effektbaserade analyser (bioassays),

kombineras för att ge en mer komplett bild av kemisk hazard och potentiell risk i återvunnen plast (Escher et al., 2020; Brack et al., 2016).

Det är samtidigt viktigt att understryka att samtliga analyser baseras på extrakt från plastmaterialet och att de effektbaserade analyserna därmed speglar den potentiella biologiska aktivitet som kan uppstå under förhållanden där kemikalier mobiliseras. Resultaten reflekterar således inte nödvändigtvis faktisk exponering vid normal användning av plastprodukter, där migreringsförhållanden, användningsmönster och exponeringsvägar ofta begränsar biotillgängligheten. Bioassays bör därför i detta sammanhang tolkas som känsliga screeningverktyg för att identifiera och jämföra kemisk aktivitet i material, snarare än som direkta mått på risk vid slutanvändning.

En central hypotes i projektet är att en betydande del av den observerade bioanalytiska aktiviteten i återvunnen plast inte kan förklaras av kända och analyserade ämnen, utan drivs av okända eller otillräckligt karakteriserade kemikalier. Vidare antas att dessa ämnen som driver toxiciteten kan identifieras genom kombinationen av effektbaserad screening och högupplösande kemisk analys.

Genom att koppla samman kemiskt innehåll med biologiska effekter, och genom att spåra möjliga källor längs återvinningskedjan, syftar projektet till att generera användbar kunskap för att bättre förstå och på sikt minska förekomsten av oönskade kemikalier i cirkulära plastsystem, med beaktande av både materialens inneboende egenskaper och relevanta exponeringsscenarier.

4. Genomförande

Projektet har genomförts i nära samverkan mellan forskningscentrum MTM vid Örebro universitet och industripartnern Svensk Plaståtervinning. Arbetet följde i huvudsak den planerade strukturen med fokus på provtagning (WP1) och kemisk och toxikologisk karakterisering (WP2). Arbetspaket 3 (WP3), som avsåg systematisk dataintegration och webbaserat tillgängliggörande, har endast påbörjats och inte kunnat slutföras inom projektets tidsram.

Projektet har genomförts i en tvärvetenskaplig samverkan mellan akademi och industri, där olika deltagare haft tydligt definierade roller. MTM vid Örebro universitet ansvarade för projektledning, metodutveckling, laboratoriearbete och vetenskaplig analys. Den effektbaserade analysen (bioassays) leddes av Maria Larsson och Magnus Engwall, medan Maria Ekesbo ansvarade för metodutveckling, provupparbetning och det praktiska genomförandet av analyserna. Den kemiska analysen (target-, suspect- och non-target screening) genomfördes av Fredric Södergren Seilitz med handledning av Anna Kärrman. Industripartnern Svensk Plaståtervinning, representerad av Rickard Jansson, ansvarade för provtagning, materiallogistik och tillhandahållande av industriell kontext. Den fördjupade delstudien inom ramen för ett masterarbete genomfördes av Solal Gaudin, med fokus på koppling mellan kemiskt innehåll och biologisk effekt samt på förändringar genom återvinningsprocessen.

Arbetet har genomförts i två kompletterande delstudier. Huvudstudien omfattade en systematisk och tidsupplöst provtagning av industriella plastfraktioner, främst high-density polyethylene (HDPE), low-density polyethylene (LDPE) och agglomerat av 75% polyolefiner (AggloP075) från sorteringsanläggningen Site Zero, med syfte att kvantifiera variation i kemikalieinnehåll och biologisk aktivitet över tid, mellan material och mellan extraktionsfraktioner. Parallellt genomfördes en fördjupad studie (masterarbete) med fokus på ett mindre antal prover av polyeten och polypropen i olika processteg under industriell mekanisk återvinning (flingor och pellets), där särskild tonvikt lades på att koppla kemiskt innehåll till biologisk effekt samt att utvärdera hur nedströmsbearbetning, inklusive pelletisering, påverkar kemikalieprofil och toxikologisk aktivitet.

En central utgångspunkt för genomförandet var att besvara följande övergripande frågeställningar:

- Hur varierar kemikalieinnehåll och toxikologisk aktivitet över tid i plastströmmar inom återvinningsprocesser?
- Hur skiljer sig olika materialfraktioner åt avseende kemisk belastning och biologisk effekt?

- Hur påverkas kemikalieinnehåll och toxikologisk aktivitet av nedströmsbearbetning, särskilt pelletisering?
- I vilken utsträckning domineras den biologiska aktiviteten av polära respektive opolära ämnen?
- Vilka specifika toxikologiska verkningsmekanismer (AhR, ER, antiAR, PXR) är mest framträdande i olika material?
- I vilken grad kan observerad biologisk effekt kopplas till identifierade kemikalier (target/suspect/non-target screening)?

Dessa frågeställningar har varit styrande för både provtagningsdesign och val av analytiska metoder.

4.1. WP1. Provtagning av plastfraktioner

4.1.1. Provtagning

Provtagning genomfördes vid Svensk Plaståtervinnings anläggning Site Zero, där plastförpackningar från svenska hushåll sorteras i olika materialfraktioner. De studerade materialen omfattade ett brett spektrum av plasttyper, inklusive polyeten (LDPE, HDPE), polypropen (PP), olika PET-fraktioner samt blandade plastströmmar.

Plastförpackningsavfallet som Svensk Plaståtervinning tar emot kommer både från separat insamlade plastförpackningar (från källsortering) samt från plast som eftersorterats ur hushållsavfall. Utöver plastförpackningar innehåller avfallet även felsorterat material, såsom andra plastprodukter från hushåll, samt andra materialslag, exempelvis textilier, papper och metall. Plastförpackningarna innehåller även i viss grad fukt och produktrester. Nettoandelen plastförpackningar i det totala avfallsflödet som Svensk Plaståtervinning behandlar uppgår till cirka 70 %.

Efter sortering skickas fraktionerna i balad form till industriella processer för mekanisk återvinning. Figur 2 visar exempel på plastbalar producerade vid Site Zero. Vid mekanisk återvinning mals plasten ned till flingor, som därefter tvättas i vattenbad. Olika materialtyper separeras ytterligare innan plasten smälts om till nya plastprodukter eller plastråvara (pellets). I omsmältningsprocessen kan flyktiga ämnen reduceras genom avgasning från plastsmältan, samtidigt som fasta föroreningar filtreras bort.



Figur 2. Sorterade plastfraktioner i balad form hos Site Zero, Svensk Plaståtervinning. Balarna är ca 1 kubikmeter och väger drygt 500 kg styck. Provtagningen fokuserade på sorterade plastfraktioner; inkommande osorterat material inkluderades inte i studien. Under cirka ett år togs månadsvisa stickprov från balar vid Site Zero av de producerade mjukplastfraktionerna LDPE, PP-film och PO75 samt hårdplastfraktionerna HDPE, PP och PO50. Stickproven togs från enskilda balar, där en borrhög användes för att extrahera delprov ur balen. Borrhögen möjliggör att delprovet representerar material från flera olika objekt i balen.

Den valda provtagningsstrategin baserades på följande överväganden:

- Olika materialströmmar kan innehålla varierande grad av kemikaliebelastning, t.ex. beroende på förpackningarnas design (plastfilmer innehåller högre andel tryckfärger och lamineringsadhesiv jämfört med hårdplast) samt vilka användningsområden förpackningsmaterialen har (HDPE används t.ex. mer till hushållskemikalier, medan PP är vanligare i livsmedelsförpackningar).
- Säsongsvariationer kan förekomma beroende på varierande konsumtionsmönster i samhället över året. Detta kan medföra variationer i kemikaliebelastning i plasten över året.
- Varje plastfraktion innehåller en stor variation av olika produktförpackningar. En bal innehåller normalt tusentals objekt. Objekten består huvudsakligen av en plasttyp, men de enskilda objekten kan ha olika tillsatser i plasten och olika produktrester som bidrar till en stor variation av kemiska ämnen. Därutöver förekommer viss andel felsorterat material i varje fraktion.

Utöver dessa borrhögprov från producerade balar vid Site Zero analyserades även industriellt tvättade plastflingor och plastpellets producerade från sorterat material, samt ett

agglomerat baserat på P075. Dessa prover möjliggjorde jämförelser mellan råmaterial och slutprodukt, samt en bedömning av hur återvinnings- och pelletiseringsprocessen påverkar kemikalieinnehåll och toxikologiska egenskaper.

Svensk Plaståtervinning ansvarade för provtagning, provlogistik och dokumentation av materialflöden, vilket möjliggjorde koppling mellan analysresultat och specifika processsteg. När proven anlände till Örebro universitet frystes de för att stoppa biologiska nedbrytningsprocesser i organiska produktrester inför provberedning.

4.1.2. Provberedning

För att efterlikna den industriella tvätt som plastflingorna normalt genomgår så tvättades plastflingorna i laboratoriet med metoder som baserades på APR (föreningen för plaståtervinningsföretag) som är en standardpraxis för plasttvätt. Innan tvätt homogeniserades alla prover genom omrörning av materialet i respektive provpåse. Utrustning som kom i kontakt med proverna rengjordes noggrant med etanol, n-hexan och diklormetan för att minimera risken för kontaminering.

PP och HDPE

Cirka 20 g material vägdes in och klipptes i mindre bitar med sax. Materialet placerades därefter i en glasbägare och blandades med 80 mL MilliQ-vatten (4:1, vatten:plast). Triton X-100 tillsattes till en slutlig koncentration på 0,3 % (w/w).

Tvätten utfördes på skakbord vid rumstemperatur (cirka 20 °C) i 10 minuter. Efter avslutad tvätt avlägsnades tvättvätskan, och plastmaterialet sköljdes därefter tre gånger med 80 mL MQ-vatten per sköljning. Därefter lufttorkades proverna på aluminiumfolie i dragskåp, varefter de förvarades i glasburkar i frys inför provupparbetningen.

LDPE

Cirka 20 g material vägdes in och klipptes i mindre bitar med sax. Materialet placerades därefter i en glasbägare och blandades med MilliQ-vatten i ett förhållande på 24:1 (vatten:plastfilm), motsvarande cirka 480 mL vatten. Tvätten utfördes vid rumstemperatur (cirka 20 °C) med omrörning på magnetomrörare vid 850–1000 rpm i 10 minuter. På grund av sedimentering av materialet kompletterades omrörningen med manuell omrörning. Efter avslutad tvätt avlägsnades tvättvätskan och provet sköljdes därefter två gånger med 480 mL MQ-vatten per sköljning under 5 minuter vid cirka 500 rpm, med manuell omrörning vid behov. Därefter lufttorkades proverna på aluminiumfolie i dragskåp, varefter de förvarades i glasburkar i frys inför provupparbetningen.

AggloP075

Vid ankomst var materialet redan torrtvättat. Det homogeniserades genom omrörning av plasten i respektive provpåse, varefter en delmängd togs ut för provupparbetning och analys.

4.2. WP2. Kemisk och toxikologisk karakterisering

Detta arbetspaket utgjorde projektets huvudsakliga forskningsinsats och omfattade både omfattande metodutveckling och tillämpning av integrerade analysstrategier.

4.2.1. Metodutveckling och provupparbetning

Ett omfattande metodutvecklingsarbete krävdes för att etablera en robust och reproducerbar upparbetningsmetod för plastprover. Detta arbete genomfördes av Maria Ekesbo och utgjorde en central del av projektets experimentella insats.

Plast är en analytiskt komplex matris där polymerstruktur, additivinnehåll och föroreningar påverkar både extraktion och efterföljande analys. Metodutvecklingen syftade till att etablera en upparbetningsstrategi som (i) extraherar ett brett spektrum av organiska kemikalier, (ii) är kompatibel med både bioanalytiska tester och högupplösande masspektrometri, (iii) minimerar matrisinterferenser samt (iv) ger representativa extrakt för toxikologisk analys.

En särskilt utmanande del av metodutvecklingen var att uppnå tillräckligt homogeniserade prov. Eftersom endast små mängder material används vid extraktion ställs höga krav på att delproven är representativa för det heterogena plastmaterialet. De analyserade plastfraktionerna bestod ofta av sega och flexibla material (t.ex. filmer), vilket försvårade mekanisk malning. Den slutliga metoden baserades därför på manuell fragmentering, där plasten klipptes ned i mycket små bitar, följt av noggrant uttag av representativa delprov.

Eftersom syftet var att fånga upp så brett spektrum av organiska kemikalier som möjligt med olika polaritet, och eftersom olika extraktionsmetoder kan ge olika kemiska profiler som påverkar både kemisk analys och effektbaserade tester, testades tre extraktionsmetoder:

1. Sekventiell extraktion, där samma plastprov först extraherades med en blandning av n-hexan:aceton (3:1) och därefter med metanol.
2. Parallell extraktion, där provet delades i två delar: den ena extraherades med n-hexan:aceton (3:1) och den andra med metanol.

3. En metod där plastprovet extraherades med en blandning av diklormetan:metanol (1:1).

Extraktionerna utfördes i ett ultraljudsbad för att förbättra massöverföringen mellan plast och lösningsmedel. I de två första metoderna erhöles två extrakt per prov, medan den tredje gav ett extrakt per prov. N-hexan:acetone användes för att extrahera opolära till svagt polära ämnen, medan metanol användes för att extrahera mer polära föreningar. Den tredje metoden förväntades ge ett extrakt som representerar både opolära och polära ämnen. För att säkerställa jämförbarhet mellan kemisk och effektbaserad analys delades varje provextrakt upp i en del för respektive analys, det vill säga inga separata extraktioner utfördes för kemisk och effektbaserad analys. Detta gjordes för att samtliga analyser skulle baseras på samma extrakt, eftersom förluster under provupparbetning inte kan kompenseras med isotopmärkta standarder i effektbaserade analyser.

Extraktionsmetoderna utvärderades med kemisk analys samt två effektbaserade analyser: ER-CALUX och PAH-CALUX. Resultaten visade att den parallella extraktionsmetoden möjliggjorde extraktion av ett bredare spektrum av kemikalier med olika fysikalisk-kemiska egenskaper, vilket gav en mer fullständig bild av plastens kemiska innehåll. Detta återspeglades även i de effektbaserade analyserna. Metod 2 valdes därför för extraktion av samtliga prover i projektet.

Extraktion

Varje plastprov vägdes in i två glasvialer inför extraktion. Eftersom de olika plasttyperna hade olika densitet varierade provmängderna mellan cirka 0,7 och 1,5 g beroende på plasttyp. Volymförhållandet mellan lösningsmedel och prov under extraktionerna var minst 5:1 (w/w), men ökades vid behov för att säkerställa att proverna var helt täckta med lösningsmedel.

Opolära ämnen

Opolära till svagt polära ämnen extraherades från plastproverna med en blandning av n-hexan och acetone (3:1). Vialerna placerades i ett ultraljudsbad i 30 minuter, vilket hjälper lösningsmedlet att tränga in i plasten och frigöra de kemiska ämnena. För att få ut så mycket som möjligt upprepades extraktionen en gång till, och de två extrakten slogs därefter samman. Extraktet koncentrerades genom avdunstning av lösningsmedlet under kvävgas. För att avlägsna polära och andra störande ämnen som kan påverka analysen renades extrakten på små kolonner (pasteurpipetter) packade med 4 cm silikagel (10 % deaktiverad med vatten). Kolonnerna förtvättades med n-hexan, varefter analyterna eluerades med 4 mL n-hexan:diklormetan (3:1) följt av 4 mL diklormetan. Efter uppreningen koncentrerades extrakten genom att lösningsmedlet avdunstades med hjälp av kvävgas. Därefter delades extrakten upp i två delar, på viktbasis, för kemisk analys

respektive effektbaserad analys. Inför de effektbaserade analyserna byttes lösningsmedlet till dimetylsulfoxid (DMSO). För den kemiska analysen byttes lösningsmedlet istället till toluen, och isotopmärkta standarder tillsattes för att möjliggöra en mer noggrann analys av ämnena.

Polära ämnen

Mer polära ämnen extraherades från plastproverna med metanol. Precis som vid extraktionen av opolära ämnen användes ultraljudsbad i 30 minuter. Extraktionen upprepades en gång för att öka utbytet, och de två extrakten slogs därefter samman. Extraktet koncentrerades genom att lösningsmedlet avdunstades med hjälp av kvävgas. I detta fall genomfördes ingen upprening, eftersom metanol i mindre utsträckning extraherar ämnen från plastmatrisen som kan störa analysen och för att fokus låg på att bevara polära ämnen inför den efterföljande analysen. Extrakten delades upp i två delar, på viktbasis, för kemisk analys respektive effektbaserad analys. Inför den kemiska analysen tillsattes isotopmärkta standarder för att möjliggöra en mer noggrann analys av ämnena. För de effektbaserade analyserna byttes lösningsmedlet till DMSO.

4.2.2. Effektbaserad analys (EBA)

I praktiken kan bioassays beskrivas som biologiska "sensorer" som reagerar på kemisk påverkan. Istället för att mäta enskilda ämnen undersöks hur ett prov påverkar specifika biologiska system i levande celler, vilket gör det möjligt att fånga den samlade effekten av komplexa kemiska blandningar.

Samtliga provextrakt analyserades med effektbaserade analyser (EBA), som är cellbaserade bioassays riktade mot relevanta toxikologiska verkningsmekanismer. Dessa bioassays gör det möjligt att detektera både kända och okända biologiskt aktiva ämnen, samt att fånga upp effekter från blandningar av flera kemikalier. Metoden bygger på genetiskt modifierade celler som är konstruerade för att ge ifrån sig en mätbar ljussignal när de aktiveras av specifika kemikalier, exempelvis genom bindning till receptorer kopplade till biologiska effekter.

Vid analysen exponeras cellerna för olika koncentrationer av provextraktet i cellodlingsmedium i 96-brunnsplattor. Om provextraktet innehåller ämnen som aktiverar receptorn ökar ljussignalen, vilken är proportionell mot graden av receptoraktivering och därmed den samlade biologiska aktiviteten (potensen) i provet. Signalen mäts sedan med en luminometer. Parallellt analyseras en referenssubstans på varje platta, som används för att jämföra och kvantifiera effekten. Genom att jämföra ljussvaret från proverna med referenssubstansen kan resultaten uttryckas som bioanalytiska ekvivalenter (BEQ-bio), vilket möjliggör kvantifiering av den samlade biologiska aktiviteten i proverna (se Figur

1). I detta projekt användes fyra effektbaserade analyser som var inriktade på olika verkningsmekanismer:

PAH-CALUX (AhR-aktivitet) använder H4IIE-luc-celler (råttleverceller) för att mäta aktivering av arylkolvätereceptorn (AhR), en signalväg som ofta påverkas av polycykliska aromatiska kolväten (PAH) och liknande ämnen. Dessa ämnen förekommer naturligt i petroleumprodukter, bildas vid ofullständig förbränning av organiskt material och kan förekomma i vissa industrikemikalier. Testet fungerar som en indikator på förekomst av PAH-liknande ämnen i materialet. Cellerna exponerades i 96-brunnsplattor under fyra timmar i cellodlingsmedium för tre koncentrationer av varje plastextrakt (tre prover per platta) för att bedöma den samlade AhR-aktiviteten. På varje platta analyserades även en koncentrationsserie av referensämnet benso[a]pyren och en DMSO-kontroll. All exponering utfördes i triplikat.

ER-CALUX (östrogen aktivitet) som använder U2OS-celler mäter ämnens förmåga att aktivera östrogenreceptorn (ER). Denna bioassay används för att identifiera innehåll av ämnen med hormonliknande effekter, vilket är relevant för att upptäcka potentiellt hormonstörande kemikalier. Cellerna exponerades i 96-brunnsplattor under 24 timmar i cellodlingsmedium för tre till fyra koncentrationer av varje plastextrakt (tre prover per platta) för att bedöma den samlade ER-aktiviteten. På varje platta analyserades även en koncentrationsserie av 17 β -estradiol som referensämne samt en DMSO-kontroll. All exponering utfördes i triplikat.

Anti-AR-CALUX (anti-androgen aktivitet) baseras också på U2OS-celler och mäter ämnens förmåga att blockera androgenreceptorn, som är central för manliga könshormoners funktion. Testet kan användas för att identifiera ämnen som kan störa hormonbalansen genom att motverka kroppens egna signaler. I Anti-AR-CALUX exponerades cellerna i 96-brunnsplattor under 24 timmar i cellodlingsmedium för tre koncentrationer av varje plastextrakt (tre prover per platta) för att bedöma den samlade anti-androgena aktiviteten. På varje platta inkluderades flutamid som referensämne samt en DMSO-kontroll och både plastextrakt och referenssubstans analyserades i närvaro av dihydrotestosteron (DHT). All exponering utfördes i triplikat.

PXR-CALUX (xenobiotisk respons) mäter aktivering av pregnan X-receptorn (PXR), som är en del av kroppens avgiftningssystem. Denna receptor reagerar på många olika främmande ämnen (xenobiotika), och testet fungerar därför som en bred indikator på kemikalieexponering. I PXR-CALUX exponerades celler i 96-brunnsplattor i cellodlingsmedium för fem koncentrationer av varje plastextrakt (två prover per platta). All exponering utfördes i triplikat. På varje platta inkluderades även en koncentrationsserie med referensämnet nicardipin samt en DMSO-kontroll.

Tillsammans ger dessa bioassays en bred bild av den biologiska aktiviteten i proverna och möjliggör identifiering av relevanta effekter även när de bakomliggande kemikalierna inte är kända. Detta är särskilt värdefullt vid analys av komplexa blandningar, där flera ämnen kan bidra till den totala effekten. Det är samtidigt viktigt att understryka att bioassayresultaten baseras på extrakt från plastmaterialet och därmed speglar den potentiella biologiska aktivitet som kan uppstå om kemikalier mobiliseras. Resultaten representerar således inte faktisk exponering vid normal användning av plastprodukter, där migrering och biotillgänglighet ofta är begränsande. Dessa bioassays används därför främst som screeningverktyg för att jämföra material och identifiera variationer i kemisk aktivitet, och kan fungera som en tidig indikator på förändringar i kemisk sammansättning, exempelvis vid tillkomst av nya eller oväntade ämnen.

4.2.3. Kemisk analys (suspect och non-target)

Den kemiska analysen utfördes med högupplösande masspektrometri kombinerat med vätskekromatografi och gaskromatografi (LC-HRMS och GC-HRMS) med så kallad suspect- och icke-målinriktad screening (suspect och non-target). Dessa metoder kan identifiera ett betydligt större antal kemikalier än traditionell målinriktad analys, utan att vara beroende av individuella referensstandarder. Det gör dem särskilt kraftfulla vid undersökning av okänd eller komplex förorening. Samtidigt är resultaten starkt beroende av provberedning, val av joniseringsmetod, instrumentinställningar och tillgängliga databaser, samt kräver omfattande expertbedömning vid tolkning.

Ur ett kemiskt perspektiv verkar dessa tekniker inom två olika analytiska kemiska domäner, där fokus ligger på att separera, detektera och identifiera kemiska ämnen i komplexa matriser. LC-HRMS är särskilt lämpad för polära (vattenlösliga), termiskt instabila och högmolekylära kemikalier, medan GC-MS främst används för opolära (fettlösliga), flyktiga och termiskt stabila föreningar. Kombinationen av dessa tekniker ger därmed en bred täckning olika kemikaliegrupper och förbättrar möjligheten att kartlägga både kända och tidigare okända ämnen.

Dataanalysen inkluderade förbehandling av masspektrometrisk data såsom toppdetektion, intensitetsfiltrering, dekonvolution, matchning av toppar mellan prover samt blankfiltrering. Tentativ identifiering av kemikalier är baserad på exakta massor, isotopmönster och fragmenteringsdata med hjälp av in-silico fragmenteringsverktyg samt referensbibliotek.

Denna analys möjliggjorde tentativ identifiering av kända eller oväntade kemikalier i plastproverna. De tentativt identifierade kemikalierna klassificerades enligt vedertagna system som effektivt förmedlar konfidensnivån (confidence level, CL), d.v.s. hur tillförlitlig en identifiering är. Konfidensnivå 1 (CL1) innefattar identifierade kemikalier, nivå 2 (CL2)

troliga kandidater eller nära isomerer och nivå 3 (CL3) möjliga (tentativa) kandidater (Schymanski et al., 2014, Koelmel et al., 2022).

Kemisk screening av opolära ämnen utfördes med en GC-HRMS utrustad med en elektronjoniseringskälla. Identifieringen av ämnen baserades på flera referensbibliotek, två bibliotek med nominell massa, NIST23 och Wiley23 som sammanlagt innehåller ca 900.000 referensspektran, samt tre bibliotek med exakt massa, varav ett tidigare publicerat (Price et al., 2021), ett in-house-bibliotek och ett från Thermo Fisher.

Kemisk screening av polära ämnen utfördes med en LC-HRMS utrustad med en elektroprayjoniseringskälla i både positivt och negativt joniseringsläge. En suspect-lista sammanställdes baserad på publicerad litteratur och innefattade kemikalier som tidigare detekterats i plast samt även kemikalier som uppströms associerats med plast och plastproduktion. Denna lista annoterades med strukturell information (SMILES) och användes för simulering (in-silico) av masspektrometriskt fingeravtryck (fragmenteringsmönster) som UNIFI 1.9.4 och SIRIUS. Denna in-silico fragmenteringsanalys utgjorde basen för tentativ identifiering (CL3) av ämnen inom den kemiska screeningen av polära ämnen.

4.2.4. Integrerad tolkning

Resultaten från effektbaserad och kemisk analys integrerades för att ge en samlad bild av kemikalieinnehåll och toxikologisk potential.

Jämförelser mellan uppmätt biologisk effekt (BEQ-bio) och kemiskt baserade uppskattningar användes för att bedöma i vilken utsträckning observerad toxicitet kunde förklaras av identifierade ämnen.

4.3. WP3. Dataintegration och tillgängliggörande

Arbetspaket 3, som avsåg utveckling av en strukturerad databas och webbplattform, har inte kunnat genomföras inom projektets tidsram.

Viss strukturering av data har dock påbörjats.

5. Resultat och diskussion

5.1. Resultat – tidsstudien

5.1.1. Effektbaserad analys

Totalt analyserades 174 prover fördelade på tre plasttyper (HDPE, LDPE och AggloP075), tre bioassays (PAH-CALUX, ER-CALUX och antiAR-CALUX) och två extraktionsmetoder (n-hexan:aceton, Hex:Ac; och metanol, MeOH, för opolära respektive polära ämnen).

Provtagningen sträcker sig från september 2023 till februari 2025. Av de 174 analyserade proverna låg 17 under detektionsgränsen (<LOQ), samtliga i ER-CALUX-assayen. Nedan redovisas resultaten per bioassay.

5.1.1.1. PAH-CALUX – aktivitet kopplad till polycykliska aromatiska kolväten

PAH-CALUX mäter aktivitet kopplad till arylkolvätereceptorn (AhR), en effekt som framför allt associeras med polycykliska aromatiska kolväten (PAH) och liknande strukturer. Resultaten uttrycks som AhR-aktivitet i benzo[a]pyren-ekvivalenter (BEQ) i ng per gram plast (ng BEQ/g).

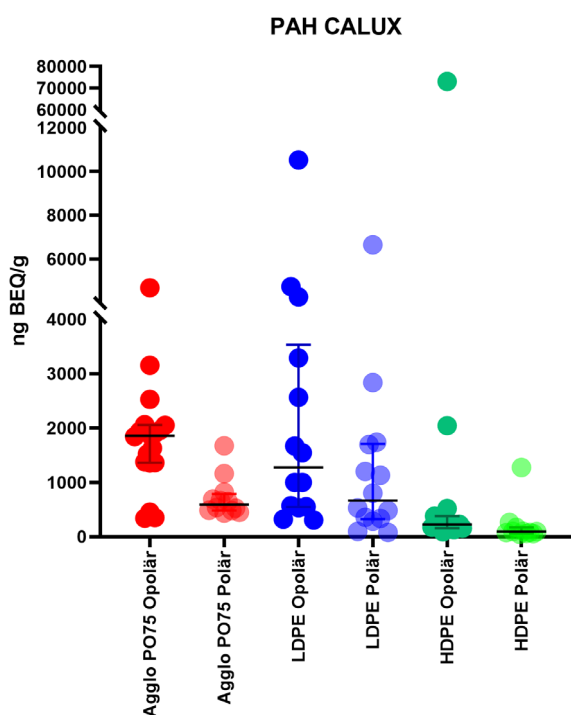
AhR-aktivitet detekterades i samtliga 67 prover vilket motsvarar 100 % detektionsfrekvens oavsett plasttyp eller extraktionsmetod. Detta visar att AhR-aktivitet är ett genomgående inslag i samtliga analyserade materialströmmar. Aktivitetsnivåerna varierade dock markant mellan plasttyper och de två extraktionsmetoderna (Figur 3).

HDPE uppvisade generellt de lägsta AhR-aktiviteterna av de tre materialtyperna med undantag för ett extremvärde på 73 042 ng BEQ/g i ett opolärt extrakt (HDPE101), vilket sannolikt beror på kontaminering av plasten och därför kan betraktas som en avvikande observation (outlier). Bortsett från detta så varierade aktiviteterna i de opolära (Hex:Ac)-extrakten mellan 89,9 och 2 042 ng BEQ/g med en median på 225 ng BEQ/g. Det första provet i tidsserien uppvisade det högsta värdet (2 042 ng BEQ/g) inom detta intervall och avvek tydligt från övriga mätningar, vilka låg mellan 89,9 och 519 ng BEQ/g. I MeOH-extrakten var aktiviteterna generellt lägre, med ett spann på 45,8–1 273 ng BEQ/g och en median på 95 ng BEQ/g. Även här utgjorde det första provet ett tydligt extremvärde (1 273 ng BEQ/g), cirka 14 gånger högre än medianen för övriga prover. Ursprunget till dessa förhöjda initialvärden är oklart men kan spegla variationer i materialflödet, en specifik batch eller inkörningsfas i provtagningen.

LDPE uppvisade bland de högsta AhR-aktiviteterna och den största variationen. I Hex:Ac-extrakten varierade värdena mellan 306 och 10 526 ng BEQ/g med en median på 1 273 ng BEQ/g. Det högsta värdet (10 526 ng BEQ/g, juni 2024) avvek tydligt från övriga mätningar och utgjorde ett extremvärde. I MeOH-extrakten var medianen lägre (665 ng BEQ/g) men variationen fortsatt stor: 79,3–6 646 ng BEQ/g. Även här återfanns

toppvärdet (6 646 ng BEQ/g) vid samma provtagningstillfälle i juni 2024, vilket talar för att avvikelsen är kopplad till materialet, till exempel en avvikande batch, och inte på något som uppstått under analysen.

AggloPO75 uppvisade AhR-aktiviteter i Hex:Ac-extrakten i nivå med eller något lägre än LDPE, med ett spann på 341–4 674 ng BEQ/g och en median på 1 859 ng BEQ/g. Variationen var mer måttlig än för LDPE och de flesta värdena låg i intervallet 1 359–2 038 ng BEQ/g, med undantag för ett toppvärde på 4 674 ng BEQ/g (maj 2024) och ett lägre värde på 382 ng BEQ/g (november 2024). I MeOH-extrakten var aktiviteterna markant lägre än i Hex:Ac-extrakten, med ett spann på 433–1 673 ng BEQ/g och en median på 593 ng BEQ/g. Detta visar en tydlig skillnad mellan fraktionerna, där MeOH-extraktet representerar mer polära föreningar, medan Hex:Ac-extraktet i större utsträckning fångar upp opolära till svagt polära ämnen. För LDPE var detta mönster mindre tydligt uttalat.



Figur 3. AhR-aktivitet (PAH-CALUX) i extrakt från återvunnen plast, uttryckt som benzo[a]pyren-ekvivalenter (ng BEQ/g). Varje punkt representerar ett enskilt prov; horisontella linjer visar medianvärde och staplarna visar interkvartilavståndet (IQR), vilket motsvarar spridningen av de mittersta 50 % av värdena. Färgerna anger plasttyp (HDPE, LDPE och AggloPO75). Figuren visar en genomgående förekomst av AhR-aktivitet i samtliga material, med tydligt högre nivåer och större spridning i LDPE och AggloPO75 jämfört med HDPE, vilket indikerar variation i förekomst av PAH-liknande ämnen mellan plastströmmarna.

Sammantaget framstår n-hexan:acetone som ett mer effektivt extraktionsmedel för AhR-aktiva ämnen i samtliga tre plasttyper, vilket är förväntat då många AhR-agonister är relativt opolära. Kvoten mellan medianvärdena för Hex:Ac- och MeOH-extrakten var störst för AggloP075 (faktor ~3) och lägst för LDPE (faktor ~1,7), vilket tyder på att AhR-aktiva ämnen i LDPE i större utsträckning även återfinns i det mer polära extraktet.

5.1.1.2. ER-CALUX – östrogen aktivitet

ER-CALUX mäter förmågan hos kemikalier i provet att aktivera östrogenreceptorn, en effekt kopplad till hormonstörande potential. Resultaten uttrycks som 17 β -östradiol-ekvivalenter (EEQ) i pikogram per gram plast (pg/g).

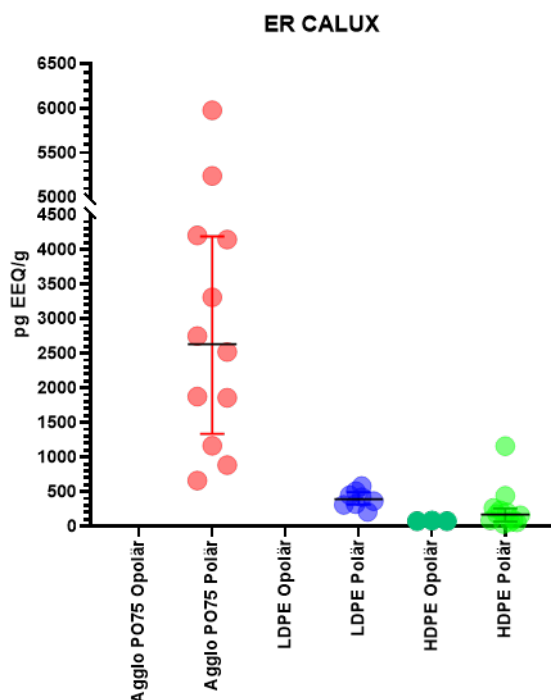
Detektionsfrekvensen varierade kraftigt beroende på både plasttyp och extraktionsmetod, och detta är den assay där valet av extraktionsmetod hade störst betydelse. I Hex:Ac-extrakten var detektionsfrekvensen låg; samtliga analyserade LDPE- och AggloP075-prover låg under detektionsgränsen, medan aktivitet detekterades i tre av de analyserade HDPE-proverna. I MeOH-extrakten var mönstret det motsatta, med 100 % detektionsfrekvens för samtliga tre plasttyper.

Den östrogena aktiviteten återfanns huvudsakligen i MeOH-extrakten, vilket tyder på att de ER-aktiva ämnena i stor utsträckning återfinns i det mer polära extraktet. Detta innebär att en studie som enbart hade använt extraktion med n-hexan:acetone, följt av silika-upprepning, sannolikt hade underskattat östrogen aktivitet i LDPE och AggloP075.

MeOH-extrakten för HDPE uppvisade värden i spannet 159–1 159 pg/g med en median på 248 pg/g. Variationen var påtaglig, där toppvärdet (1 159 pg/g, oktober 2023) låg nästan fem gånger högre än medianen, vilket tyder på att enstaka batcher kan ha en avsevärt högre östrogen belastning kopplad till polära ämnen. När det gäller LDPE så uppvisade MeOH-extrakten värden i spannet 207–580 pg/g med en median på 392 pg/g och en relativt jämn fördelning över tid. Variationen är måttlig jämfört med övriga plasttyper i denna assay.

De i särklass högsta östrogena aktivitetsnivåerna uppmättes i MeOH-extrakten för AggloP075. Värdena varierade mellan 660 och 6 000 pg/g med en median på 2 600 pg/g, vilket motsvarar mer än sex gånger medianen för LDPE och tio gånger medianen för HDPE. Variationen är stor och oregelbunden: värden som 6 000 pg/g (januari 2024), 5 200 pg/g (november 2024) och 4 200 pg/g (maj 2024) varvas med lägre värden som 660 pg/g (augusti 2024) och 880 pg/g (oktober 2024). Något systematiskt tidsmönster kan inte urskiljas. AggloP075 framstår som den fraktion med högst östrogen aktivitet, och detta är ett genomgående fynd som håller över hela mätperioden snarare än drivet av enstaka extremvärden.

I den fördjupade studien av pellets uppvisade två av 13 analyserade prover (MeOH-extrakt) kvantifierbar östrogen aktivitet: prov 86 (LDPE-flingor) och prov 95 (LDPE-flingor). För prov 86 uppmättes ett värde på 210 pg/g. För prov 95 uppmättes värden i intervallet 175,1–316,8 pg/g (tre replikat). För motsvarande pelletsmaterial (prov 87 och 96) låg samtliga mätningar under kvantifieringsgränsen. Övriga analyserade prover (HDPE och PP, både flingor och pellets) uppvisade genomgående värden under kvantifieringsgräns.



Figur 4. Östrogen aktivitet (ER-CALUX) i extrakt från återvunnen plast, uttryckt som 17 β -östradiol-ekvivalenter (pg/g). Varje punkt representerar ett enskilt prov; horisontella linjer visar medianvärde och staplarna visar interkvartilavståndet (IQR), vilket motsvarar spridningen av de mittersta 50 % av värdena. Färgerna anger plasttyp (HDPE, LDPE och AggloP075) samt extraktionsfraktion (opolär och polär). Figuren visar att den östrogena aktiviteten huvudsakligen återfinns i den polära (MeOH) fraktionen, medan aktiviteten i den opolära (Hex:Ac) fraktionen är låg eller under detektionsgränsen. AggloP075 uppvisar generellt de högsta aktivitetsnivåerna, följt av LDPE och HDPE, vilket indikerar att östrogenaktiva ämnen främst är kopplade till mer polära komponenter i materialet.

5.1.1.3. AntiAR-CALUX – antiandrogen aktivitet

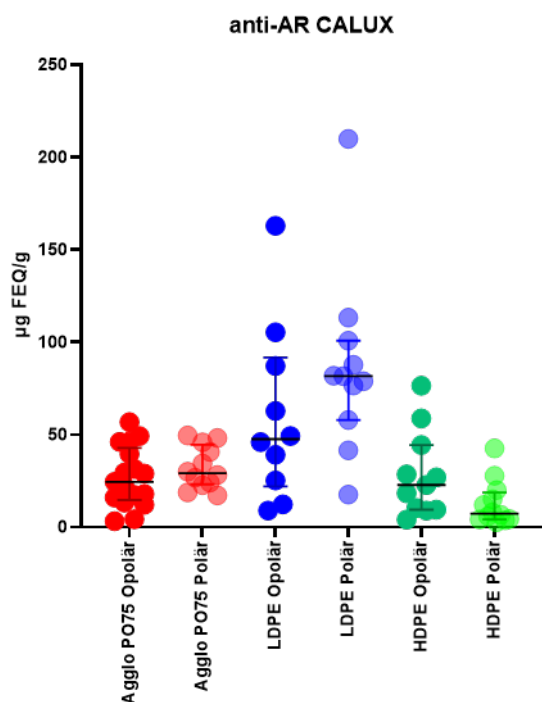
AntiAR-CALUX mäter förmågan hos kemikalier i provet att blockera androgenreceptorn, vilket kan störa kroppens hantering av manliga könshormoner. Resultaten uttrycks som flutamid-ekvivalenter (FEQ) i mikrogram per gram plast ($\mu\text{g/g}$). Aktivitet detekterades i

samtliga 61 prover, vilket motsvarade 100% detektionsfrekvens för samtliga plasttyper och båda extraktionsmetoderna. Till skillnad från ER-CALUX är den uppmätta antiandrogena aktiviteten jämnt fördelad mellan Hex:Ac- och MeOH-extrakten, vilket tyder på att antiandrogena ämnen i dessa material uppträder i ett bredare polaritetsspann.

HDPE uppvisade de lägsta antiandrogena nivåerna. I Hex:Ac-extrakten varierar värdena mellan 4,1 och 76,4 µg/g med en median på 18,7 µg/g. Toppvärdet 76,4 µg/g (oktober 2024) är markant högre än övriga mätningar. I MeOH-extrakten är nivåerna lägre, med ett spann på 2,7–31,3 µg/g och en median på 7,3 µg/g.

LDPE uppvisade de högsta antiandrogena nivåerna och den största variationen. I Hex:Ac-extrakten varierade värdena mellan 20,1 och 162,9 µg/g med en median på 56,0 µg/g. Toppvärdet 162,9 µg/g (oktober 2024) är mer än dubbelt medianen. För MeOH-extrakten är medianen liknande (80,2 µg/g) men skillnaden mellan det lägsta och högsta uppmätta värdet är stor: det högsta värdet (210 µg/g, september 2023) är nästan tolv gånger det lägsta (17,7 µg/g). Den antiandrogena aktiviteten är den effekttyp där LDPE tydligast skiljer sig från övriga material.

AggloP075 uppvisade antiandrogen aktivitet på en nivå som ligger mellan HDPE och LDPE. I Hex:Ac-extrakten varierade värdena mellan 3,2 och 56,8 µg/g med en median på 27,2 µg/g. I MeOH-extrakten var variationen mindre och nivåerna något stabilare: 17,2–49,6 µg/g med en median på 29,2 µg/g. Kvoten mellan Hex:Ac- och MeOH-medianer är nära 1, vilket innebär att antiandrogena ämnen i AggloP075 extraherades lika effektivt med båda extraktionsmetoderna.



Figur 5. Antiandrogen aktivitet (antiAR-CALUX) i extrakt från återvunnen plast, uttryckt som flutamid-ekvivalenter ($\mu\text{g/g}$). Varje punkt representerar ett enskilt prov; horisontella linjer visar medianvärde och staplarna visar interkvartilavståndet (IQR), vilket motsvarar spridningen av de mittersta 50 % av värdena. Färgerna anger plasttyp (HDPE, LDPE och AggloP075) samt extraktionsfraktion (opolär och polär). Figuren visar att antiandrogen aktivitet förekommer i samtliga material och i båda extraktionsfraktionerna, vilket indikerar att de verksamma ämnena återfinns över ett brett polaritetsspann. LDPE uppvisar generellt högst aktivitetsnivåer och störst variation, medan HDPE uppvisar lägre nivåer och AggloP075 ligger intermediärt.

5.1.1.4. Tidstrender

För att undersöka om den biologiska aktiviteten förändras systematiskt över tid testades Spearmans rangkorrelation för samtliga kombinationer av plasttyp, bioassay och extraktionsmetod med tillräckligt antal detekterade prover ($n \geq 5$). Av 15 testade kombinationer uppvisar 14 ingen statistiskt signifikant trend ($p > 0,05$).

Ett undantag noteras: antiandrogen aktivitet i LDPE extraherat med MeOH uppvisade en statistiskt signifikant nedåtgående trend över mätperioden ($r = -0,78$, $p = 0,008$, $n = 10$). Värdena sjönk från 210 $\mu\text{g/g}$ vid studiens start till nivåer kring 70–80 $\mu\text{g/g}$ mot slutet av mätperioden. Trenden bör dock tolkas med försiktighet då det initiala värdet (210 $\mu\text{g/g}$, september 2023) avviker från resterande mätningar och ligger ca 2,7 gånger över medianen för de resterande proverna, och exkluderas detta värde blir den observerade

trenden svagare. Det kan inte uteslutas att detta tidiga prov representerar en avvikande batch snarare än en startpunkt för en bestående förändring i materialflödet.

Ytterligare tre kombinationer uppvisar negativa korrelationer med borderline-signifikans ($p = 0,10-0,12$): PAH-aktivitet i LDPE (MeOH, $r = -0,48$) och PAH-aktivitet i AggloP075 (Hex:Ac, $r = -0,51$). I båda fallen störs mönstret av enstaka extremvärden som gör tolkningen osäker.

Sammantaget visar tidstrendanalysen att variationen i huvudsak är batchvis och oregelbunden, snarare än uttryck för systematiska förändringar över tid.

5.1.1.5. Sammanfattande mönster

Tabell 1. Medianvärden per plasttyp, assay och extraktionsmetod för detekterade prover i tidsstudien.

Assay	Enhet (BEQ)	Extraktion	HDPE	LDPE	AggloP075
PAH-CALUX	ng/g	Hex:Ac	225	1 273	1 859
PAH-CALUX	ng/g	MeOH	95	966	593
ER-CALUX	pg/g	Hex:Ac	75	<LOQ	<LOQ
ER-CALUX	pg/g	MeOH	248	392	2 600
antiAR-CALUX	µg/g	Hex:Ac	19	56	27
antiAR-CALUX	µg/g	MeOH	7	80	29

Tre övergripande mönster framträder. LDPE är konsekvent den fraktion med högst PAH- och antiandrogen aktivitet, med de högsta toppvärdena och den största variationen. AggloP075 är den fraktion med överlägset högst östrogen aktivitet, med medianvärden i MeOH-extrakt som är sex till tio gånger högre än övriga plasttyper. Extraktionsmetoden har avgörande betydelse för vilka aktiviteter som detekteras: PAH-aktiva ämnen återfinns primärt i Hex:Ac-extrakt, östrogena ämnen nästan uteslutande i MeOH-extrakt, medan antiandrogena ämnen förekommer i båda fraktionerna.

5.1.2. Kemisk analys

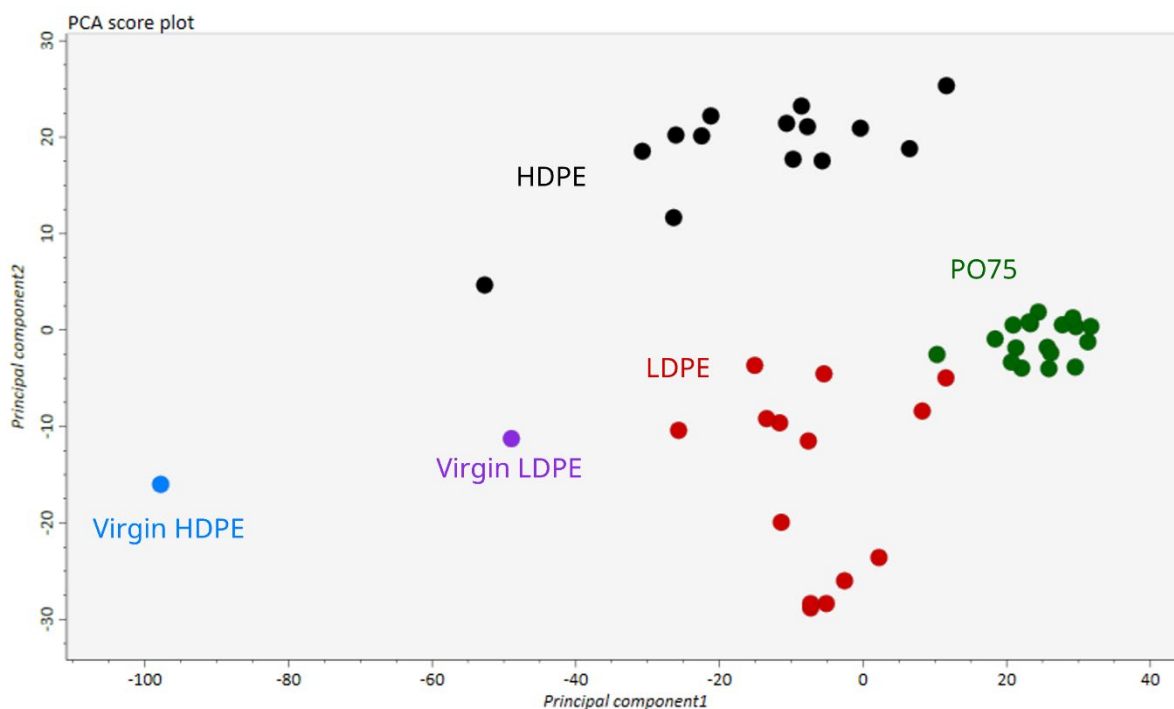
5.1.2.1. Jämförelse av plasttyper – opolära ämnen

Screening av opolära ämnen med GC-HRMS identifierade ~300 kemikalier (CL2-3) i de tre inkluderade fraktionerna LDPE, HDPE och P075. Bland dessa återfanns exempelvis flera ämnen från grupperna ftalater, benzotriazoler, siloxaner och polyaromatiska kolväten (PAH). Ett syfte med den kemiska analysen var undersöka förekomst och fördelning av

kemikalier inom och mellan fraktionerna men också att jämföra om det potentiellt finns skillnader mellan återvunnen och jungfrulig (så kallad virgin) plast av samma typ. I Figur 6 visas en principalkomponentsanalys (PCA) av de ~300 identifierade kemikalierna. Den statistiska analysen visar var ett prov ligger i ett nytt koordinatsystem och därmed hur det relaterar till andra prover baserat på de viktigaste variationsmönstren i de identifierade kemikalierna. Där visas att virgin HDPE är tydligt separerat från återvunnet HDPE. Samma gäller virgin LDPE, men där är skillnaden mindre och spridningen mellan de återvunna plastproverna är större. Resultatet tyder på en skillnad i de identifierade kemikalierna mellan nyproducerat material och återvunnet material men bör tolkas med försiktighet då spridningen inom virginmaterial av HDPE och LDPE saknas då endast ett prov av varje sort var tillgängligt. Analysen visar även en tydlig separation mellan de studerade plasttyperna vilket tyder på att kemikalieinnehållet i de olika plasttyperna skiljer sig åt. P075 visar den minsta spridningen inom gruppen medan HDPE och LDPE däremot visar på större variation vilket tyder på att kemikalieinnehållet i P075 är mer homogent medan för HDPE och LDPE är det mer heterogent. Noterbart är att P075-materialet som ingick i studien har genomgått ytterligare processteg efter sortering, jämfört med HDPE och LDPE fraktionerna. Dessa processteg bestående av kvarning, torrtvätt, blandning och agglomerering kan ha bidragit till homogenisering av materialet. Det bör även noteras att en homogen kemikalieprofil inte är likställt med få detekterade kemikalier utan snarare att kemikalierna som detekterades gjorde det med hög prevalens inom plasttypen.

P075 uppvisade en kemisk profil som i större grad är präglad av kemikalier som förknippas med plastadditiv jämfört med HDPE och LDPE. Det tyder på att denna fraktion i högre grad påverkats av medföljande additivkemikalier från ett blandat återvinningsflöde snarare än enbart av polymermaterialet i sig. En ämnesgrupp som var särskilt tydlig var ftalater, vilka främst detekterades i P075, vilket framgår i Figur 7. Ett fåtal ftalater detekterades även i LDPE och HDPE, men där var signalerna generellt lägre jämfört med P075 och förekomsten inom respektive plasttyp mer heterogen. Totalt detekterades ungefär 15 olika ftalater och många av dessa återfanns genomgående i P075 i jämförelsevis höga nivåer, men endast sporadiskt i LDPE och HDPE och då i lägre nivåer. Förekomsten av ftalater i P075 kan sannolikt förklaras av kontaminering och medföljande föroreningar från avfallsflödet snarare än avsiktlig användning i PO-materialet. Potentiella källor inkluderar felsorterad polyvinylklorid (PVC), där en stor andel av producerade ftalater används, andra ftalatinnehållande material, samt etiketter, lim, tätningsmedel och blandade flerskiktsförpackningar som stannar på materialet under sortering. Oavsett källan till ftalater i P075 visar resultaten att det är högst relevant att utvärdera om denna ämnesgrupp riskerar att kontaminera det återvunna P075-materialet, eller om avgasning under pelletering effektivt avlägsnar dessa ämnen. Att P075-fraktionen även var associerad med andra typer av additiv, såsom adipatestrar och organofosfater stärker ytterligare bilden av ett blandat och kemikalierikt materialflöde. För HDPE och LDPE visade resultaten däremot en mer heterogen förekomst av ftalater och andra additiv,

vilket tyder på att dessa ämnen inte frekvent förekommer i dessa materialflöden utan snarare är kopplade till specifika plastartiklar, tillsatser eller kontaminationskällor.

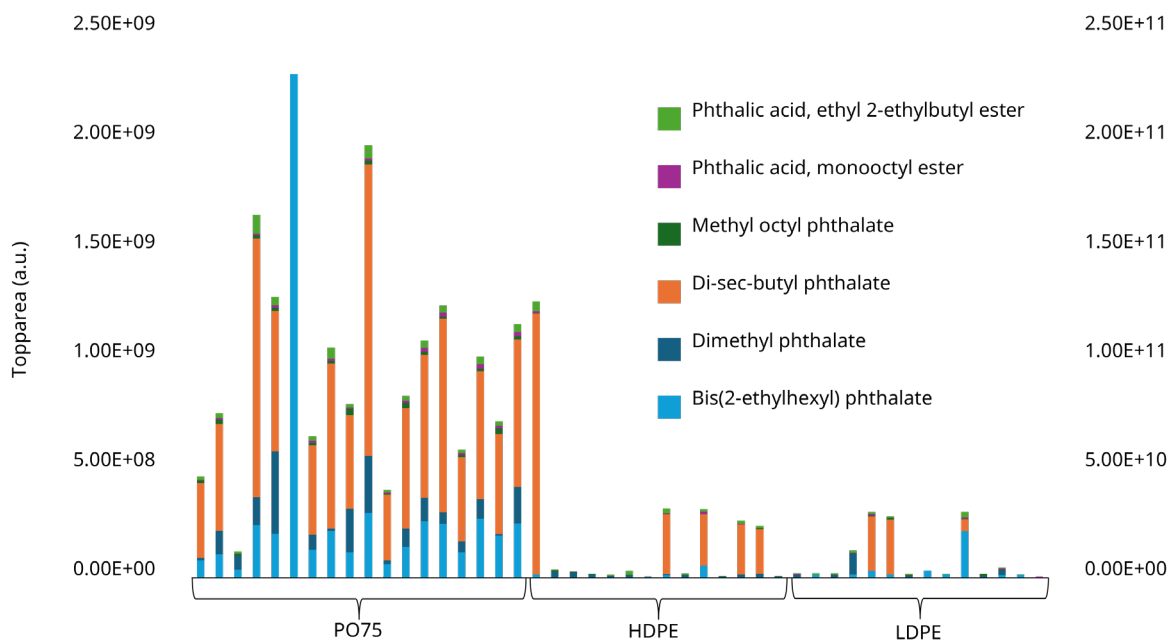


Figur 6. Principalkomponentsanalys (PCA) av ~300 kemikalier identifierade med gaskromatografi kopplad till högupplösande masspektrometri. Svart färg är HDPE, röd LDPE, grön PO75, lila virgin LDPE och blå virgin HDPE.

De ämnen som i högre grad var associerade med HDPE kan inte direkt kopplas till gruppen plastadditiv, utan snarare av ämnen som troligen är rester från tidigare användning av materialet. Flera av de identifierade föreningarna är välkända doftämnen eller parfymkomponenter som används i konsumentprodukter. Detta ligger i linje med tidigare studier, där doftämnen från kosmetika samt tvätt- och rengöringsprodukter identifierades som viktiga föroreningar i återvunnen HDPE (Strangl et al., 2018), samtidigt som konventionell återvinning endast i begränsad utsträckning tycks reducera dessa ämnen (Strangl et al., 2018). Sammantaget talar detta för att den kemiska profil som observerades för HDPE i hög grad speglar tidigare innehåll i förpackningarna eller kontaminering, särskilt från hushålls-, rengörings- och personvårdsprodukter, vilket är relevant att beakta vid bedömning av kemiskt innehåll i återvunnet material.

De ämnen som i högre grad var associerade med LDPE utgjordes huvudsakligen av långkedjade fettsyror och fettsyraestrar. Dessa ämnen kan vara både polymerrelaterade additiv och processhjälpmedel men även rester från tidigare användning, särskilt material som använts i flexibla förpackningar för feta eller oljiga produkter. Resultaten tyder därmed på att den kemiska profil som observerades för LDPE sannolikt speglar en

kombination av materialets additivkemi och medföljande rester från tidigare användning, till skillnad från HDPE där de associerade ämnena troligen främst speglar tidigare användning.



Figur 7. Översikt av fördelning av utvalda identifierade ftalater i de tre plasttyperna. Den högra y-axeln avser bis(2-ethylhexyl) phthalate (blå stapel) medan övriga ämnen tillhör den vänstra. Resultaten visar på hur fördelningen kan se ut för kemikalier associerade med en viss plasttyp.

De ämnen som återkommande identifierades i samtliga tre plasttyper speglar troligen en gemensam kemisk bakgrund i återvinningsflödet. Detta är förenligt med att återvunnet plastmaterial ofta innehåller en blandning av avsiktligt tillsatta additiv, nedbrytningsprodukter och andra icke avsiktligt tillsatta ämnen samt rester från tidigare användning. Ungefär 60 ämnen återfanns i hög detektionsfrekvens i alla tre plasttyper, däribland mjukgörare vilket talar för en generell bakgrund av plastrelaterade kemikalier snarare än koppling till en enskild plasttyp. Listan innehöll även tydliga spår av antioxidantämnen samt även ett ämne som är en känd nedbrytningsprodukt från denna typ av stabilisatorer. Därutöver förekom flera ämnen som ligger nära personvårds- och konsumentproduktrelaterad kemi exempelvis UV-filter. Dessutom förekom ofta många långkedjade estrar, alkoholer och kolväten. Sammantaget tyder resultaten på att de ofta återkommande kemikalierna i de tre plasttyperna speglar ett blandat bidrag från additiv, tidigare användning och blandade avfallsströmmar.

Sammantaget visar den polymerspecifika jämförelsen tydliga skillnader i kemiskt "fingeravtryck" mellan materialen. HDPE framstår främst som kopplat till rester från

tidigare användning av konsumentprodukter, vilket tyder på att dess kemiska innehåll i stor utsträckning speglar tidigare livscyklar. LDPE uppvisar däremot en mer lipidlik kemisk profil, vilket är förenligt med användning i exempelvis livsmedelsförpackningar och relaterade additiv. P075 skiljer ut sig genom en tydlig dominans av mjukgörare och andra tillsatta ämnen.

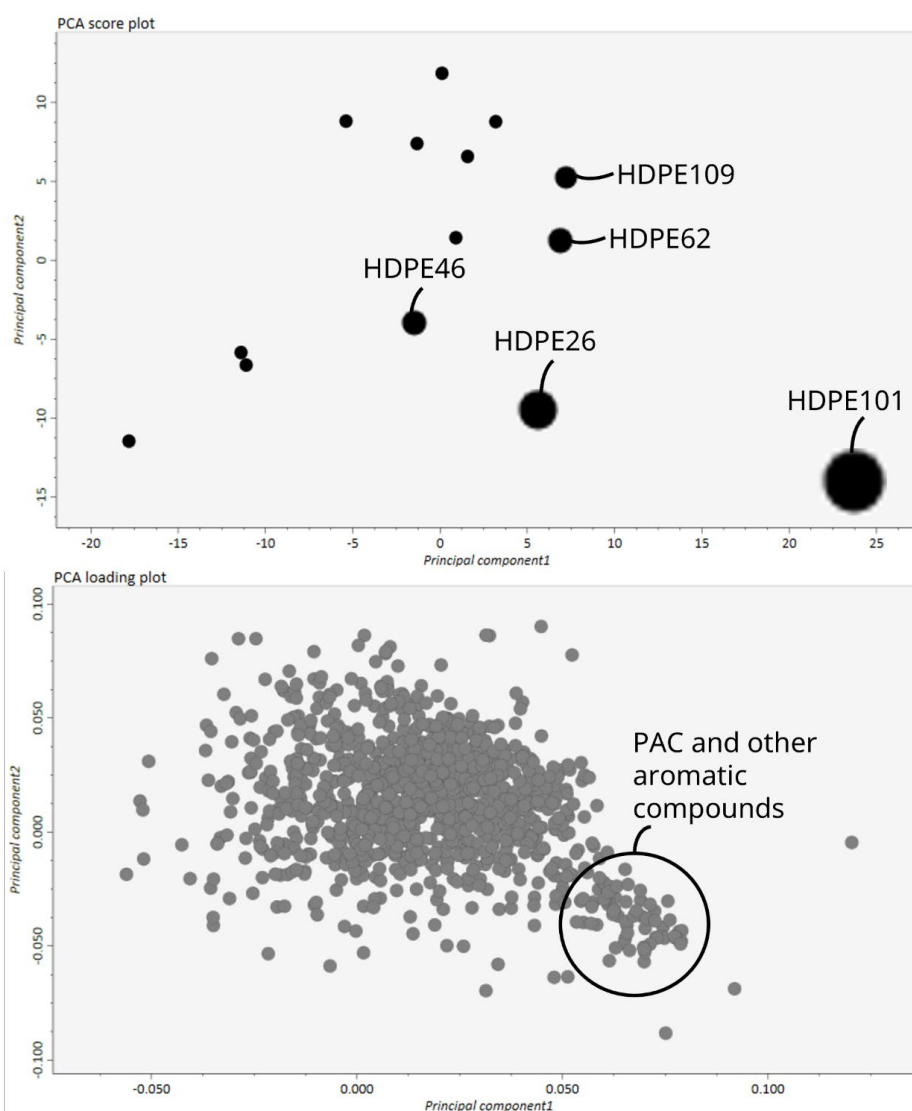
En annan viktig skillnad är hur homogena dessa kemiska profiler är. P075 visar en relativt enhetlig sammansättning, där många ämnen återfinns med hög frekvens inom materialet. Detta återspeglas sannolikt även i den uppmätta AhR-aktiviteten, där variationen är mindre (se avsnitt 5.1.1.1.). LDPE uppvisar i kontrast en mer varierad kemisk sammansättning, vilket också återspeglas i en större spridning i AhR-aktiviteten.

5.1.2.2. Prioritering av potentiellt AhR-aktiva kemikalier – opolära ämnen

Ett prov av återvunnen HDPE (HDPE101) uppvisade särskilt hög AhR-aktivitet jämfört med övriga prover. PCA-analysen av identifierade ämnen i HDPE visade en tydlig separation mellan detta prov och övriga HDPE-prover, se Figur 8. Analysen som visar vilka identifierade kemikalier som skiljer ut HDPE101 från övriga prover (loading plot) tyder på att höga signaler av flera polyaromatiska föreningar (PAC), inklusive PAH och andra aromatiska föreningar, är viktiga. Eftersom PAC är kända AhR-agonister (Larsson et al., 2014) stödjer resultaten hypotesen att dessa ämnen bidrog till den observerade AhR-aktiviteten i provet. Den uppmätta AhR-aktiviteten i HDPE101 var dock jämförelsevis hög, vilket skulle kunna förklaras av extern kontaminering av plasten som inte avlägsnats vid tvättning före extraktion, exempelvis från jord eller oljeprodukter med höga halter av PAC. Detta är en kontamineringskälla som bör begränsas genom att tydliggöra för konsumenter att hälso- och miljöfarligt avfall (t.ex. förpackningar från smörjoljor) inte bör källsorteras som plastförpackningar, utan istället lämnas som miljöfarligt avfall till kommunernas återvinningscentraler. Eftersom provet tydligt avvek från övriga HDPE-prover och de detekterade PAC-ämnena utgjorde en sannolik förklaring till den uppmätta aktiviteten exkluderades HDPE101 från den statistiska analys som låg till grund för prioriteringen av potentiellt bioaktiva ämnen.

Multivariat analys av de kemiska ämnena i P075 möjliggjorde prioritering av ett antal ämnen som därefter jämfördes med databaser och prediktiva modeller för deras potentiella AhR aktivitet. Analysen visade att möjliga identifierade metylerade PAC-ämnen (CL2-3) framstod som en grupp potentiellt AhR-aktiva ämnen i P075. Eftersom många PAC är kända AhR-agonister stödjer resultaten hypotesen att PAC, och särskilt metylerade varianter av dessa ämnen, kan bidra substantiellt till den uppmätta AhR-aktiviteten i P075. Detta är särskilt relevant eftersom dessa ämnen sällan inkluderas i riktade analyser och gränsvärden, trots att metylerade PAC i vissa fall har visats kunna vara mer potenta AhR-agonister än motsvarande icke-metylerade varianter (Lam et al., 2018). Samma multivariat analys utfördes även för LDPE och HDPE, men de prioriterade ämnena kunde

inte kopplas till AhR aktivitet med de inkluderade databaserna eller de prediktiva modellerna. Detta kan sannolikt förklaras av det relativt begränsade antalet prover i kombination med den kemiska heterogeniteten och variationen i uppmätt AhR-aktivitet, vilket sammantaget gav modellen sämre förutsättningar att identifiera robusta samband. Denna tolkning stöds också av att den multivariata modellen uppvisade svagare statistiska samband för HDPE och LDPE jämfört med för P075.



Figur 8. Principalkomponentsanalys (PCA) indelad i score- (övre figuren) och tillhörande loading plot (nedre figuren) för återvunnen HDPE. Storleken på prickarna visar den uppmätta arylkolvätereceptor (AhR) aktiviteten.

Sammantaget pekar resultaten på att PAC kan vara en central ämnesgrupp i P075. Trots att de ofta inte prioriteras i analyser och endast delvis omfattas av etablerade gränsvärden för ett fåtal PAH utgör de en stor och kemiskt varierad grupp, vilket innebär att deras

bidrag lätt underskattas. Här tyder resultaten på att de står för en betydande del av den uppmätta AhR-aktiviteten. Samtidigt visar enskilda prover, som HDPE101, hur starkt resultaten kan påverkas av specifika kontaminationshändelser. Det innebär att variationen inte enbart speglar materialets "normala" kemiska profil, utan ibland också enstaka händelser som sätter tydliga spår i analysen.

Ett logiskt nästa steg är därför en så kallad isbergsanalys riktad mot PAC-ämnena, med särskilt fokus på metylerade varianter. Syftet är att gå bortom de ämnena som vanligtvis mäts och istället uppskatta den samlade förekomsten av relaterade föreningar, likt att synliggöra den del av isberget som annars är dold under ytan. En sådan analys skulle möjliggöra en kvantitativ uppskattning av hur stor andel av AhR-aktiviteten som kan förklaras av PAC, både i P075 som helhet och i avvikande enskilda prover.

5.2. Resultat – fördjupad studie av tvättade flingor och pellets

Som komplement till huvudstudien genomfördes en fördjupad undersökning av pellets, där 13 prover av PE- och PP-baserade material analyserades både som flingor (före omsmältning) och som pellets (efter återvinningsprocessen). Exempel på dessa material visas i figur 9. Därutöver analyserades även jungfrulig (så kallad virgin) plast av LDPE, HDPE och PP.

5.2.1. Effektbaserad analys

För att undersöka hur tvätt och återvinningsprocessen påverkar kemisk aktivitet i plast genomfördes effektbaserad analys med ER-CALUX och PXR-CALUX. Av de 13 analyserade plastproverna uppvisade fem prover kvantifierbar PXR-aktivitet i MeOH-extrakten: (HDPE-flingor), (LDPE-flingor), (PP-flingor), (LDPE-flingor) och (LDPE-pellets). NEQ-värdena varierade mellan 4,2 och 274,6 µg/g. De högsta nivåerna uppmättes i LDPE-flingor, där de tre replikaten av provet låg i intervallet 191,4–274,6 µg/g. För motsvarande pelletsmaterial uppmättes lägre värden, i intervallet 7,9–18,2 µg/g.

För övriga prover låg NEQ-värdena under kvantifieringsgränsen, vilket inkluderade samtliga pelletsprover utom det ovan beskrivna provet.

Av de 13 analyserade proverna uppvisade två prover kvantifierbar östrogen aktivitet. Båda dessa prover var LDPE i flingform och EEQ-värdena för proverna låg mellan 175,1 och 316,8 pg/g. För samtliga pelletsprover och övriga flingprover, låg värdena under kvantifieringsgränsen.



Figur 9. Tvättade plastflingor (t.v.) och plastpellets (t.h.) från mekanisk återvinning av HDPE.

Kvantifierbar aktivitet detekterades i en begränsad andel av proverna. PXR-aktivitet observerades i fem av 13 prover, medan östrogen aktivitet detekterades i två prover. De prover som uppvisade östrogen aktivitet utgjordes uteslutande av LDPE-flingor. PXR-aktivitet detekterades i både PE- och PP-baserade flingor samt i ett pelletprov av LDPE.

Majoriteten av proverna låg under kvantifieringsgränsen i båda analyserna. Analys av de opolära extrakten har påbörjats.

Virgin plastpellets av LDPE, HDPE och PP testades i PAH-CALUX, ER-CALUX och antiAR-CALUX. Opolärt extrakt av LDPE uppvisade låg AhR-aktivitet (2,9 ng BEQ/g) medan virgin HDPE och PP inte visade någon kvantifierbar aktivitet. Ingen av virgin HDPE, LDPE och PP uppvisade någon AhR-aktivitet i MeOH-extrakten. Ingen av extrakten (polärt eller opolärt) för virgin plasterna gav någon östrogen aktivitet.

5.2.2. Kemisk analys

5.2.2.1. Jämförelse av sorterade fraktioner och tvättade pellets och flingor – opolära ämnen

För att undersöka hur tvätt och återvinningsprocessen påverkar kemikalier i plast jämfördes fördelningen av tentativt identifierade (CL2-1) opolära ämnen mellan det sorterade fraktioner (HDPE, LDPE och PP-rigid) och tvättade återvunna pellets och flingor av motsvarande plasttyp. Jämförelsen fokuserade främst på kemiska additiv i plasten och inte på potentiella kemikalier som härrörde från exempelvis användning eller produktkontamination.

Ingen statistiskt säkerställd skillnad kunde identifieras inom gruppen av återvunna flingor och pellets vad gäller antalet och signalstyrkan av detekterade ämnen. Resultaten antyder därmed att den ökade ytan hos flingor jämfört med pellets inte signifikant påverkade antalet extraherade kemikalier med den metodik som användes.

Ingen statistiskt säkerställd skillnad i antalet detekterade ämnen kunde identifieras mellan sorterade fraktioner och det tvättade och återvunna materialet för någon av plasttyperna. En relativ jämförelse visade dock att ämnenas normaliserade intensitet, som indikerar koncentration, generellt var högre i det ingående materialet än i det tvättade och återvunna materialet för LDPE och HDPE, men inte för PP. Detta antyder att tvättning och återvinning potentiellt minskar mängden kemiska additiv i LDPE och HDPE, men inte helt eliminerar dem. Tolkningen försvåras dock av den inneboende heterogeniteten i kemikalieinnehållet, det relativt begränsade antalet tvättade och återvunna flingor- och pelletsprov, samt av att olika ämnen uppvisade olika mönster, där vissa endast detekterades i det ingående materialet och andra endast i pellets och flingor. Resultaten bör därför främst betraktas som en preliminär hypotes snarare än en fastställd slutsats. Det bör även noteras att den extraktionsmetod som användes i denna studie representerar ett värsta scenario och inte motsvarar sannolik migration av kemikalier vid normal användning av plasten. Med större säkerhet kan det dock konstateras att kemiska additiv återfinns i det återvunna materialet för samtliga plasttyper. Resultaten antyder dock på att nivåerna potentiellt är lägre än i det ingående materialet, vilket behöver bekräftas med kvantitativa riktade analyser.

5.2.2.2. Jämförelse av ingående material och tvättade pellets och flingor – polära ämnen

Den kemiska analysen av polära ämnen genomfördes med suspect screening i både positivt och negativt joniseringsläge. Totalt identifierades 12 föreningar i positivt läge och 10 i negativt läge. Tre föreningar identifierades i båda lägena: oxydipropyl dibenzoat, bisfenol S (BPS) och dibutylftalat (DBP).

De identifierade föreningarna bestod av flera typer av plastrelaterade kemikalier, till exempel ftalater, fenoler, fosfater, fettsyror och additivrelaterade ämnen. Bland de

identifierade ämnena fanns både ämnena klassificerade som miljöfarliga och ämnena klassificerade som hälsofarliga.

5.3. Diskussion

5.3.1. Tolkning av effektbaserade analyser

Innan resultaten diskuteras är det viktigt att klargöra vad de effektbaserade analyserna mäter – och inte mäter. Analyserna baseras på koncentrerade plastextrakt framställda med organiska lösningsmedel. De visar vilken biologisk aktivitet som kan påvisas under dessa laboratorieförhållanden, inte hur stor exponeringen faktiskt är vid normal produktanvändning. I verkligheten avgörs exponeringen av i vilken utsträckning ämnena migrerar ut ur materialet under relevanta förhållanden – något som kan skilja sig väsentligt från ett laboratorieextrakt. Resultaten ska därför tolkas som indikatorer på kemikalieinnehåll och potentiell biologisk aktivitet, inte som direkta riskmått. För en fullständig riskbedömning krävs kompletterande migrationsstudier och exponeringsdata.

Det är också centralt att notera att de kemikalier som påvisas i materialströmmarna vid återvinning huvudsakligen härstammar från tillverkning och användning av de ursprungliga förpackningarna – inte från återvinningsprocessen som sådan. Tillsatser introduceras avsiktligt vid plastproduktion, och samma typer av ämnena kan förekomma i jungfrulig plast. Omloppstiden för de förpackningar som Svensk Plaståtervinning hanterar är typiskt kortare än ett år, vilket innebär att kemikalieinnehållet i återvunnet material i hög grad speglar vad som idag produceras och sätts på marknaden. Problemet grund ligger uppströms: i vilka kemikalier som tillåts användas vid tillverkning av plastprodukter från början. En del av kemikalierna kan även ha sitt ursprung i felsorterade plastprodukter (annat än förpackning) som av misstag källsorterats tillsammans med plastförpackningsavfallet, eller komma från hälso- och miljöfarliga produkter förpackade i plastförpackningar och där förpackningen bör sorteras av konsument som miljöfarligt avfall.

5.3.2. Återvunnen plast innehåller mätbar biologisk aktivitet – men bilden är komplex

Analyserna visar att de undersökta plastströmmarna från hushållsförpackningar innehåller kemikalier som ger upphov till mätbar biologisk aktivitet i laborietester. Aktivitet observerades för flera verkningsmekanismer: östrogen aktivitet (ER), antiandrogen aktivitet (antiAR), AhR-aktivitet associerad med polycykliska aromatiska kolväten (PAH) samt PXR-aktivitet, som speglar att celler registrerar närvaron av för kroppen främmande ämnena. PXR-aktivitet är inte i sig ett direkt mått på toxicitet, men indikerar att biologiskt aktiva ämnena är närvarande.

Resultaten visar ingen enhetlig eller enkel signal. Den biologiska aktiviteten varierar kraftigt mellan plasttyper, mellan olika steg i återvinningsprocessen och mellan provtagningstillfällen. Återvunnen plast kan inte behandlas som en kemiskt homogen kategori – det gör det omöjligt att göra generella uttalanden om "återvunnen plast" som kategori.

5.3.3. Variation mellan prover speglar materialens heterogenitet

En stor del av variationen speglar att materialen är genuint heterogena. Varje bal som provtas vid Site Zero innehåller tusentals enskilda förpackningsobjekt med varierande kemiskt innehåll: olika tillsatser, användningsområden, produktrester och en viss andel felsorterat material. Varje prov representerar en komplex blandning av många produkter, snarare än en kemiskt väldefinierad plasttyp.

Tidstrendsanalysen bekräftar detta: trots prover insamlade under ett helt år framträder inga systematiska förändringar i 14 av 15 testade kombinationer. Den enda signifikanta trenden – minskande antiandrogen aktivitet i LDPE (MeOH) – bör tolkas med försiktighet eftersom initialvärdet sannolikt representerar en ovanlig batch. Variationen är i övrigt oregelbunden och speglar batchvis heterogenitet i inkommande material.

Den praktiska konsekvensen är tydlig: enstaka stickprov räcker inte för att beskriva ett plastmaterials kemiska kvalitet över tid. Kontinuerlig provtagning krävs för att fånga verklig variation och identifiera avvikande partier – något effektbaserade analyser har goda förutsättningar att bidra till som löpande screeningverktyg.

5.3.4. Olika plasttyper uppvisar olika toxikologiska profiler

Trots den generella variationen framträder tydliga skillnader på fraktionsnivå. HDPE uppvisar generellt lägre biologisk aktivitet än övriga materialtyper i studien, med undantag för enstaka provtagningstillfällen – troligen kopplade till specifika förpackningstyper som dominerat en given batch.

LDPE är konsekvent kopplat till de högsta nivåerna av AhR- och antiandrogen aktivitet, med de kraftigaste toppvärdena i hela datamaterialet. I pelletsstudien uppvisade LDPE dessutom den enda kvantifierbara östrogena aktiviteten och de högsta PXR-nivåerna. Att polyetenbaserade material generellt uppvisar högre biologisk aktivitet än polypropen ligger i linje med tidigare studier och är sannolikt kopplat till skillnader i tillsatsprofil och förekomst av tryckfärger och lamineringsadhesiv, snarare än polymertypen i sig.

AggloPO75 uppvisar en bredare profil med förhöjd aktivitet i flera assays och är i synnerhet utmärkande genom sin överlägset högsta östrogena aktivitet. Medianvärdena i MeOH-extrakt ligger sex till tio gånger högre än för övriga plasttyper. Att en fraktion som

per definition samlar material från en stor bredd av produktkategorier uppvisar en komplex kemikalieprofil är rimligt.

PP analyserades i pelletsstudien som jämförelsematerial och uppvisade genomgående låg eller ingen aktivitet i ER- och PXR-assayerna. Det är ett viktigt referensresultat: inte alla plasttyper i återvinningsflödet uppvisar förhöjd biologisk aktivitet, och skillnaderna är reella och tolkningsbara.

5.3.5. Återvinningsprocessen kan reducera den biologiska aktiviteten –men eliminerar den inte

Jämförelsen mellan sorterade fraktioner, tvättade flingor och färdiga pellets indikerar att den extraherbara biologiska aktiviteten minskar genom återvinningsprocessen i de undersökta materialen. Flingor uppvisade i allmänhet högre aktivitet än motsvarande pellets. I pelletsstudien var detta särskilt tydligt för LDPE-material, där flingor uppvisade de högsta nivåerna av PXR- och ER-aktivitet i delstudien, medan motsvarande pellets uppvisade lägre nivåer. Den kemiska analysen var konsistent med detta mönster: vissa ämnen, såsom bisfenol S, detekterades i flingor men inte i motsvarande pellets.

Sammantaget tyder resultaten på att nedströmsbearbetning, inklusive pelletisering, kan påverka både kemikalieprofil och biologisk aktivitet, men underlaget är begränsat och resultaten bör tolkas som indikativa.

Minskningen är förenlig med de processteg som tillämpas – nedmalning, tvättning, separering och omsmältning kan bidra till att reducera kemikaliehalten. Flyktiga ämnen kan avgasas och vissa partiklar avlägsnas genom filtrering. Sammantaget tyder detta på att återvinningsprocessen i viss mån kan ha en dekontaminerande effekt, beroende på material och ämnesegenskaper.

Minskningen är dock varken fullständig eller helt systematisk. Biologisk aktivitet kvarstår i pellets materialet, i synnerhet för LDPE, och resultaten indikerar att kemikalieprofilen kan förändras genom processningen. Det finns även indikationer på att ämnen kan tillföras i senare processteg, exempelvis vid pelletisering, även om detta inte entydigt kan fastställas i denna studie. Kemikalier som avsiktligt tillsatts vid ursprunglig tillverkning kan vara tillräckligt persistenta för att delvis överleva mekanisk återvinning – en egenskap hos ämnena snarare än en brist i processen.

Detta mönster ligger i linje med nyligen publicerade studier, men resultaten är inte direkt jämförbara eftersom tidigare studier ofta baseras på migrat snarare än totalextrakt. Arcega et al. (2025) visade att negativa biologiska effekter från migrerande ämnen i återvunna plastmaterial generellt mildrades vid pelletstadiet, vilket understryker betydelsen av dekontaminering under återvinningsprocessen. Daggubati et al. (2025)

visade samtidigt att återvunna plastprodukter kan innehålla högre halter och ett bredare spektrum av kemikalier än jungfrulig plast av samma eller liknande polymertyper, inklusive förhöjda PAH-halter. Detta ger ett relevant kemiskt sammanhang för de förhöjda AhR-aktiviteterna i denna studie.

5.3.6. En analysmetod räcker inte – extraktionsmetoden avgör vad som syns

En av studiens viktigaste metodologiska slutsatser är att valet av extraktionsmetod avgör vilka kemikalier och effekter som överhuvudtaget detekteras. AhR-aktiva ämnen återfinns primärt i Hex:Ac-extrakt, östrogena ämnen nästan uteslutande i MeOH-extrakt, medan antiandrogena ämnen förekommer i båda fraktionerna. En studie som enbart använder en extraktionsmetod riskerar att missa en väsentlig och toxikologiskt relevant del av materialets kemiska innehåll, exempelvis hade östrogen aktivitet i LDPE och AggloP075 förbisetts helt med enbart n-hexan:aceton-extraktion följt av silikaupprepning.

Att östrogen aktivitet framför allt återfinns i det polära extraktet tyder på att delar av den relevanta kemikaliebelastningen utgörs av relativt polära ämnen – exempelvis vissa nedbrytningsprodukter eller processrelaterade föreningar – som inte fångas av traditionell extraktion av opolära ämnen. Slutsatsen för framtida analysprotokoll är tydlig: både polär och opolär extraktion bör ingå för att ge en heltäckande bild. Geueke et al. (2023) stärker detta resonemang genom att visa att en stor andel av kemikalier i återvunna plastmaterial bara påvisats i enstaka studier, vilket tyder på att befintliga analysprogram systematiskt underskattar den faktiska kemiska komplexiteten.

5.3.7. Hotspots – enstaka partier med markant förhöjd aktivitet

För samtliga materialtyper, men tydligast för LDPE, observerades enstaka provtagningstillfällen med aktivitetsnivåer som markant avviker från övriga mätningar. Det tydligaste exemplet är juni 2024-batchen för LDPE, där AhR-aktiviteten i Hex:Ac-extraktet (10 526 ng/g) var mer än sex gånger medianen – och det högsta MeOH-värdet (6 646 ng/g) härrör från samma tillfälle, vilket talar för en verklig materialavvikelse snarare än en analytisk artefakt. Därutöver observerades ett enstaka extremvärde i HDPE (73 040 ng/g) med tillhörande höga PAH-halter i kemisk analys, sannolikt orsakat av kontamination från en PAH-rik källa.

Dessa hotspots understryker att genomsnittsvärden kan ge en alltför jämn bild av ett materials faktiska variation. I ett industriellt återvinningssystem kan en avvikande batch antingen spådas ut eller påverka ett helt produktionsparti. Effektbaserade screeningmetoder har en tydlig potential som verktyg för att identifiera sådana avvikande partier i realtid. Att hotspots uppstår speglar sannolikt variation i inkommande material –

enstaka förpackningstyper med ovanligt hög kemikaliebelastning – snarare än något som skapas i återvinningsprocessen.

5.3.8. Kemisk analys identifierar relevanta ämnen – men förklarar inte hela effekten

Den kemiska analysen identifierade ett antal plastrelaterade ämnen, däribland ftalater och bisfenol S (BPS). Dessa är kemikalier som introducerats avsiktligt vid tillverkning, inte föroreningar som uppstår i återvinningen. I vissa fall kunde specifika ämnen kopplas till observerad biologisk aktivitet: BPS detekterades i pelletsstudien endast i plastflingor med kvantifierbar ER-aktivitet och inte i motsvarande pellets. Ftalater är sedan tidigare kända för att kunna påverka nukleära receptorer och är relevanta som möjliga bidragande ämnen till de observerade responserna.

Samtidigt förklarade de identifierade ämnena inte hela den uppmätta biologiska effekten. En del av aktiviteten förblev kemiskt oförklarad, vilket indikerar att ytterligare ämnen eller blandningseffekter bidrar. Det är en viktig slutsats: enbart riktad kemisk analys av kända ämnen ger inte en fullständig bild av kemikalieinnehållet. Den integrerade ansatsen – kemisk analys kombinerad med effektbaserade metoder – ger därför mer information än vad någon av metoderna kan ge var för sig.

5.3.9. Behovet av referensnivåer och standardiserade protokoll

Det finns idag inga etablerade riktvärden för biologisk aktivitet i plastmaterial, vilket försvårar tolkningen av de uppmätta nivåerna i ett bredare riskperspektiv. Denna studie bidrar med empiriska data som kan utgöra ett underlag för sådant arbete, men fler material, fler plasttyper och fler jämförelser med andra matriser krävs för att referensnivåer ska kunna utvecklas på ett robust sätt.

Studien visar också att standardiserade protokoll för effektbaserad analys av plastmaterial saknas. Erfarenheterna härifrån – framför allt att extraktionsmetoden har avgörande betydelse för vilka effekter som detekteras – är ett konkret bidrag till den pågående metodutvecklingen. På sikt finns anledning att diskutera om och hur effektbaserade krav kan integreras i standarder och certifieringssystem för återvunna material, med beaktande av kopplingen till biotillgänglighet och faktisk exponering – en diskussion som redan pågår inom bland annat EU:s vattenreglering.

5.3.10. Jämförelse med andra matriser analyserade med effektbaserade metoder

För att sätta resultaten från återvunnen plast i ett bredare sammanhang jämfördes de uppmätta bioanalytiska ekvivalenterna med publicerade nivåer från andra komplexa matriser, främst sediment, suspenderat partikulat och andra partikelbundna miljöprover analyserade med liknande bioassays. Jämförelsen bör tolkas försiktigt, eftersom resultaten påverkas av extraktions och upprepningsmetoder, referenssubstans, och provmatris.

Jämförelsen visar att de biologiska aktiviteter som uppmättes i vissa plastprover ligger inom samma storleksordning som nivåer som rapporterats för andra komplexa miljömatriser. Detta gäller särskilt ER- och antiAR-aktivitet, där vissa plastfraktioner uppvisade nivåer jämförbara med tidigare rapporterade data från exempelvis sediment och suspenderat partikulat (Houtman et al., 2004; Legler et al., 2002; Schmitt et al., 2011; Urbatzka et al., 2007). För AhR-/PAH-aktivitet är direkta kvantitativa jämförelser svårare eftersom olika studier ofta använder olika referenssubstanser och extraktionsstrategier (Pieterse et al., 2013; Titaley et al., 2021). I Södergren et al. (2026) observerades tydlig AhR-aktivitet i granulerat gummi material och konstgräs med PAH-CALUX, med BEQ-nivåer som varierade kraftigt mellan materialtyper (SBR: 1 190–31 400 ng/g; TPO/EPDM: ca 24–2 590 ng/g; PE: <7,9–663 ng/g). Den uppmätta AhR-aktiviteten i opolära plastextrakt i denna studie ligger inom detta intervall.

Samma studie visade generellt låg östrogen aktivitet, där endast ett fåtal EPDM-prover uppvisade mätbar ER-aktivitet (530–1 020 pg EEQ/g), medan majoriteten låg under kvantifieringsgränsen. Detta överensstämmer med resultaten i denna studie, där ER-aktivitet endast observerades i tre av de opolära LDPE-extrakten (74–84 pg EEQ/g). Däremot detekterades ingen antiandrogen aktivitet i Södergren et al. (2026), vilket i kontrast till denna studie indikerar att antiAR-aktivitet sannolikt drivs av andra ämnesgrupper än de som dominerar i gummi material, och potentiellt av mer plastspecifika eller processrelaterade kemikalier. Liknande antiandrogen aktivitet har rapporterats för plast från elektriskt och elektroniskt avfall (WEEE), med FEQ-värden på $73 \pm 4 \mu\text{g/g}$ (Alijagic et al., 2025). De opolära extrakten i denna studie ligger i samma storleksordning eller under dessa nivåer. WEEE-relaterade opolära kemikalier uppvisade dessutom östrogen aktivitet i ER-CALUX med EEQ-värden på $1083 \pm 66 \text{ pg/g}$, vilket är ungefär 15 gånger högre än de nivåer som uppmättes i HDPE-extrakt, vilket var det enda material som visade mätbar ER-aktivitet i opolärt extrakt i denna studie. Det är samtidigt viktigt att betona att resultaten bygger på organiska lösningsmedelsextrakt från plastmaterialet och därmed speglar den biologiska aktivitet som kan påvisas under experimentella extraktionsförhållanden. Resultaten säger däremot inte direkt något om faktisk exponering eller risk vid normal användning av plastprodukter, där migration, biotillgänglighet och exponeringsnivåer är beroende av användningsscenario.

Sammantaget visar jämförelsen att återvunnen plast kan innehålla extraherbara kemikalieblandningar med mätbar biologisk aktivitet. Detta är förenligt med det bredare kunskapsläget, där plast beskrivs som en kemiskt komplex materialgrupp med många tillsatser, processkemikalier, nedbrytningsprodukter och oavsiktligt förekommande ämnen (Hahladakis et al., 2018; Aurisano et al., 2021; Geueke et al., 2023; Monclús et al., 2025). Resultaten bör dock främst tolkas som screeningdata för jämförelse och prioritering av materialflöden, snarare än som direkta mått på hälsorisk eller miljörisk.

5.3.11. Sammantagen tolkning och implikationer

De bioanalytiska resultaten, tillsammans med den kemiska analysen, visar att återvunnen plast från hushållsförpackningar innehåller kemikalier med mätbar biologisk aktivitet i laboratorietester. Aktiviteten varierar tydligt mellan materialtyper och processteg, reduceras men elimineras inte av traditionell mekanisk återvinning, och variationerna är i huvudsak batchvisa och oregelbundna snarare än systematiska.

En central slutsats är att den kemikaliebelastning som observeras i återvunnet material i huvudsak är ärvd från ursprunglig tillverkning och användning. Återvinningsprocessen kan reducera belastningen, men kan inte ensam lösa ett problem som uppstår uppströms. Att styra vilka kemikalier som tillåts i plastprodukter redan vid tillverkning är den mest grundläggande förutsättningen för att materialåtervinning ska kunna förenas med kemikaliesäkerhet. Denna slutsats sammanfaller med de policysteg som Carney Almroth et al. (2025) formulerat för en övergång till säkrare plaståtervinning, där kemikalieövervakning och kvalitetskontroll i industriella återvinningsflöden utgör ett centralt åtgärdsområde.

På kortare sikt visar studien att effektbaserad analys har tydlig potential som screeningverktyg för att identifiera, jämföra och följa materialströmmar utifrån deras kemikalieinnehåll. Sådan information kan användas för att identifiera flöden som bör undersökas närmare, stödja kvalitetssäkring längs återvinningskedjan och bidra till mer kunskapsbaserade kriterier för återvunnet material – till nytta för återvinningsindustrin, reglerande myndigheter och utvecklingen av en kemikaliesäkrare cirkulär ekonomi.

6. Slutsatser, nyttiggörande och nästa steg

6.1. Slutsatser

Projektet visar att sorterade plastfraktioner från hushållsförpackningar innehåller komplexa kemiska blandningar med mätbar bioanalytisk aktivitet. Aktiviteten varierar tydligt mellan materialtyper och processteg och reduceras men elimineras inte av de

mekaniska återvinningsprocesser som studerats. Variation mellan partier är genomgående och speglar att materialflödena är heterogena – sammansättningen påverkas av produkternas ursprung, användning och insamlingstidpunkt snarare än av systematiska förändringar över tid.

Endast en del av den observerade aktiviteten kunde kopplas till identifierade ämnen. Det visar att enbart riktad kemisk analys inte ger en fullständig bild, och att kombinationen av kemisk karakterisering och effektbaserade metoder är nödvändig för en mer komplett bedömning. Befintliga EU-regelverk – REACH, CLP och produktlagstiftning för livsmedelskontaktmaterial – är huvudsakligen utformade för kända, individuella ämnen och saknar direkta verktyg för att hantera komplexa och delvis okända blandningar. Detta skapar ett tydligt behov av kompletterande analysstrategier som non-target screening och effektbaserade metoder.

En central slutsats är att kemikaliebelastningen i återvunnet material i stor utsträckning är ärvd från ursprunglig tillverkning och speglar vad som idag produceras och sätts på marknaden. Att styra vilka kemikalier som tillåts redan vid tillverkning av plastprodukter är därför den mest grundläggande förutsättningen för kemikaliesäker cirkularitet – något återvinningsprocessen ensam inte kan åstadkomma.

6.2. Nyttiggörande och förväntad effekt

Projektets huvudsakliga bidrag är verktyg och kunskap för att förstå och följa kemisk kvalitet i cirkulära plastflöden. En central insikt är att effektbaserad analys (EBA) kan användas som ett praktiskt kvalitetsverktyg – inte för att ifrågasätta återvunnet material, utan för att ge industrin bättre möjligheter att dokumentera och förbättra sina materialflöden.

Den praktiska kärnan är ett EBA-baserat övervakningssystem där representativa kompositprov tas vid centrala processteg – inkommande flingor, efter tvätt och färdiga pellets – och analyseras löpande mot interna referenser eller jungfrulig plast. Ett sådant system skapar förutsättningar för kontinuerlig förbättring längs hela kedjan:

- **Sortering och insamling** – variation i inkommande material kan spåras till specifika fraktioner och ge underlag för dialog med insamlingsled och förpackningstillverkare
- **Tvätt och processning** – mätningar före och efter processteg dokumenterar i vilken grad kemikalier avlägsnas och stödjer processutveckling
- **Pelletisering** – löpande uppföljning möjliggör tidig upptäckt av avvikande partier och bidrar till jämnare materialkvalitet

- **Kvalitetsdokumentation** – relativa tröskelvärden (EBT) ger ett praktiskt och kommunicerbart mått på kemisk variation när absoluta gränsvärden saknas

EBA kan också fungera som verktyg för dialog uppströms i värdekedjan. Genom att synliggöra hur materialval och tillsatser i produktionsledet påverkar återvunnet material skapas en faktabaserad grund för samtal med förpackningstillverkare – med målet att underlätta återvinning redan i designfasen.

Forskning och utveckling kring nya återvinningsteknologier kan dra nytta av EBA som verktyg för att dokumentera hur effektiva teknologierna är vid dekontaminering av plastströmmar som innehåller problematiska kemikalier.

På sikt kan EBT-baserade referensintervall, exempelvis genom jämförelser med jungfrulig plast eller högkvalitativa återvinningsströmmar, bidra till tydligare och mer transparenta kvalitetskriterier för återvunna material. Det vore värdefullt för återvinningsindustrin, för myndigheter och för den bredare omställningen mot cirkulär ekonomi.

6.3. Nästa steg

För att vidareutveckla och bredda nyttan av resultaten behövs i första hand studier av migrering och biotillgänglighet under relevanta användningsförhållanden, för att bättre koppla bioanalytisk aktivitet till faktisk risk. Parallellt behöver den kemiska analysen fördjupas genom suspect- och non-target-screening för att identifiera vilka ämnen som driver de observerade effekterna. Ett bredare datamaterial – fler material och flöden – är också nödvändigt för att bygga referensramar för normal variation och möjliggöra jämförelser över tid och mellan aktörer.

På metodsidan behövs standardiserade arbetssätt för provtagning, analys och tolkning som kan integreras i befintliga system för kvalitetsuppföljning. Att omsätta resultaten i praktiska tillämpningar kräver dessutom fortsatt samverkan mellan forskning, industri och myndigheter för att utveckla gemensamma referensramar och verktyg som är direkt användbara i industriell kontext.

7. Publikationslista

Identification of bioactive compounds in post-consumer plastics via effect-based and GC/LC HRMS screening – manuscript in preparation

Chemical and toxicological characterization of recycled plastic polymers across recycling stages, masterarbete 45 hp, Örebro Universitet 2025

8. Projektkommunikation

Hazards of chemicals in recycled plastic. Effect-based analysis and suspect screening. Fredric Seilitz, Wilma Villbrand, Anna Kärrman, Maria Larsson, Ulf Norinder, Magnus Engwall. Nordic Screening Group Seminar on chemicals in plastic, Naturvårdsverket, Stockholm, 2023. Målgrupp andra forskare.

Maria Larsson, Örebro Universitet, Effect-based characterisation of plastics for safer materials. SWACCS workshop on chemicals & circular economy, 11 - 12 December 2025. Målgrupp andra forskare.

9. Referenser

Vetenskapliga artiklar

- Alijagic, A., Södergren Seilitz, F., Bredberg, A., Hakonen, A., Larsson, M., Selin, E., Sjöberg, V., Kotlyar, O., & et al. (2025). Deciphering the phenotypic, inflammatory, and endocrine disrupting impacts of e-waste plastic-associated chemicals. *Environmental Research*, 269.
- Aurisano, N., Huang, L., Milà i Canals, L., Jolliet, O., & Fantke, P. (2021). Enabling a circular economy for chemicals in plastics. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(30), 10055–10066.
- Brack, W., Ait-Aissa, S., Burgess, R. M., et al. (2016). Effect-directed analysis supporting monitoring of aquatic environments—An in-depth overview. *Science of the Total Environment*, 544, 1073–1118.
- Carney Almroth, B., et al. (2025). Addressing the toxic chemicals problem in plastics recycling. *Cambridge Prisms: Plastics*. DOI: 10.1017/plc.2025.1
- Escher, B. I., Stapleton, H. M., & Schymanski, E. L. (2020). Tracking complex mixtures of chemicals in our changing environment. *Science*, 367(6476), 388–392.
- Geueke B, Phelps DW, Parkinson LV, Muncke J. Hazardous chemicals in recycled and reusable plastic food packaging. *Cambridge Prisms: Plastics*. 2023;1:e7. doi:10.1017/plc.2023.7
- Hahladakis, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Iacovidou, E., & Purnell, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 179–199.
- Hahladakis, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Iacovidou, E., & Purnell, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 179–199.
- Houtman, C. J., Booij, P., Jover, E., Pascual del Río, D., Swart, K., van Velzen, M., Vreuls, J. J., & Legler, J. (2004). Estrogenic and dioxin-like compounds in sediment

- from Zierikzee harbour identified with CALUX assay-directed fractionation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(1), 32–40.
- Koelmel, J. P., Xie, H., Price, E. J., Lin, E. Z., Manz, K. E., Stelben, P., et al. (2022). An actionable annotation scoring framework for gas chromatography-high-resolution mass spectrometry. *Exposome*, 2(1), osac007. DOI: 10.1093/exposome/osac007.
 - Lam, M. M., Bülow, R., Engwall, M., Giesy, J. P., & Larsson, M. (2018). Methylated PACs are more potent than their parent compounds: A study of aryl hydrocarbon receptor-mediated activity, degradability, and mixture interactions in the H4IIE-luc assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37(5), 1409–1419. DOI: 10.1002/etc.4087
 - Larsson, M., Giesy, J. P., & Engwall, M. (2014). AhR-mediated activities of polycyclic aromatic compound (PAC) mixtures are predictable by the concept of concentration addition. *Environment International*, 73, 94–103. DOI: 10.1016/j.envint.2014.06.011.
 - Legler, J., Dennekamp, M., Vethaak, A. D., Brouwer, A., Koeman, J. H., van der Burg, B., & Murk, A. J. (2002). Detection of estrogenic activity in sediment-associated compounds using in vitro reporter gene assays. *Science of the Total Environment*, 293(1–3), 69–83.
 - Monclús, L., Wagner, M., Wang, Z., Groh, K. J., et al. (2025). Mapping the chemical complexity of plastics. *Nature*, 643, 349–355.
 - Neale, P. A., Altenburger, R., Ait-Aïssa, S., et al. (2023). Application of effect-based methods to water quality monitoring. *Environmental Science & Technology*, 57, 11190–11216.
 - Pieterse, B., Felzel, E., Winter, R., van der Burg, B., & Brouwer, A. (2013). PAH-CALUX, an optimized bioassay for AhR-mediated hazard identification of polycyclic aromatic hydrocarbons as individual compounds and in complex mixtures. *Environmental Science & Technology*, 47(20), 11651–11659.
 - Price, E. J., Palát, J., Coufalíková, K., Kukučka, P., Codling, G., Vitale, C. M., Koudelka, Š., & Klánová, J. (2021). Open, high-resolution EI+ spectral library of anthropogenic compounds. *Frontiers in Public Health*, 9, 622558. DOI: 10.3389/fpubh.2021.622558.
 - Schmitt, C., Streck, G., & Brack, W. (2011). Effect-directed analysis of riverine sediments: The usefulness of *Potamopyrgus antipodarum* for in vivo effect confirmation of endocrine disruption. *Aquatic Toxicology*, 101(1), 237–243.
 - Schymanski, E. L., Jeon, J., Gulde, R., Fenner, K., Ruff, M., Singer, H. P., & Hollender, J. (2014). Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence. *Environmental Science & Technology*, 48(4), 2097–2098. DOI: 10.1021/es5002105.
 - Strangl, M., Schlummer, M., Maeurer, A., & Buettner, A. (2018). Comparison of the odorant composition of post-consumer high-density polyethylene waste with corresponding recycled and virgin pellets by combined instrumental and sensory analysis. *Journal of Cleaner Production*, 181, 599–607. DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.01.137.
 - Södergren Seilitz, F., Au Musse, A., Struwe, N., Alijagic, A., Kärrman, A., Hashmi, A., Wang, T., Engwall, M., & et al. (2026). Virtual effect-directed analysis of granulated rubber identifies bioactive chemicals and distinct hazard profiles. *Journal of Hazardous Materials*, 507.
 - Titaley, I. A., Larsson, M., Eek, E., et al. (2021). Characterization of polycyclic aromatic compounds in historically contaminated soil by targeted and non-

targeted chemical analysis combined with in vitro bioassay. *Environmental Pollution*, 289.

- Undas, A. K., et al. (2023). A review of chemical contaminants in recycled plastics and textiles and their environmental and human health implications. *Chemosphere*, 318, 137917.
- Urbatzka, R., van Cauwenberge, A., Maggioni, S., Viganò, L., Mandich, A., Benfenati, E., Lutz, I., & Kloas, W. (2007). Androgenic and antiandrogenic activities in water and sediment samples from the River Lambro, Italy, detected by yeast androgen screen and chemical analyses. *Chemosphere*, 67(6), 1080–1087.

Rapporter

- European Union (2008). Directive 2008/98/EC on waste (Waste Framework Directive).
- European Commission (2022). Regulation (EU) 2022/1616.
- ECHA (2021). SCIP database – Substances of Concern In articles as such or in complex objects (Products). European Chemicals Agency.
- OECD (2021). Global Plastics Outlook: A Chemicals Perspective on Designing with Sustainable Plastics.
- Stenmarck, Å., et al. (2017). Hazardous substances in plastics – ways to increase recycling. IVL.
- UNEP (2023). Chemicals in Plastics: A Technical Report.

10. Bilagor

Chemical and toxicological characterization of recycled plastic polymers across recycling stages, masterarbete 45 hp, Örebro Universitet 2025



RE:Source är ett strategiskt innovationsprogram som fokuserar på att utveckla cirkulära, resurseffektiva materialflöden. Vårt mål är att uppnå en hållbar materialanvändning där vi håller oss inom planetens gränser.

**RE:
SOURCE**

resource-sip.se