



Statlig program for
forurensningsovervåking

Rapport 718/97

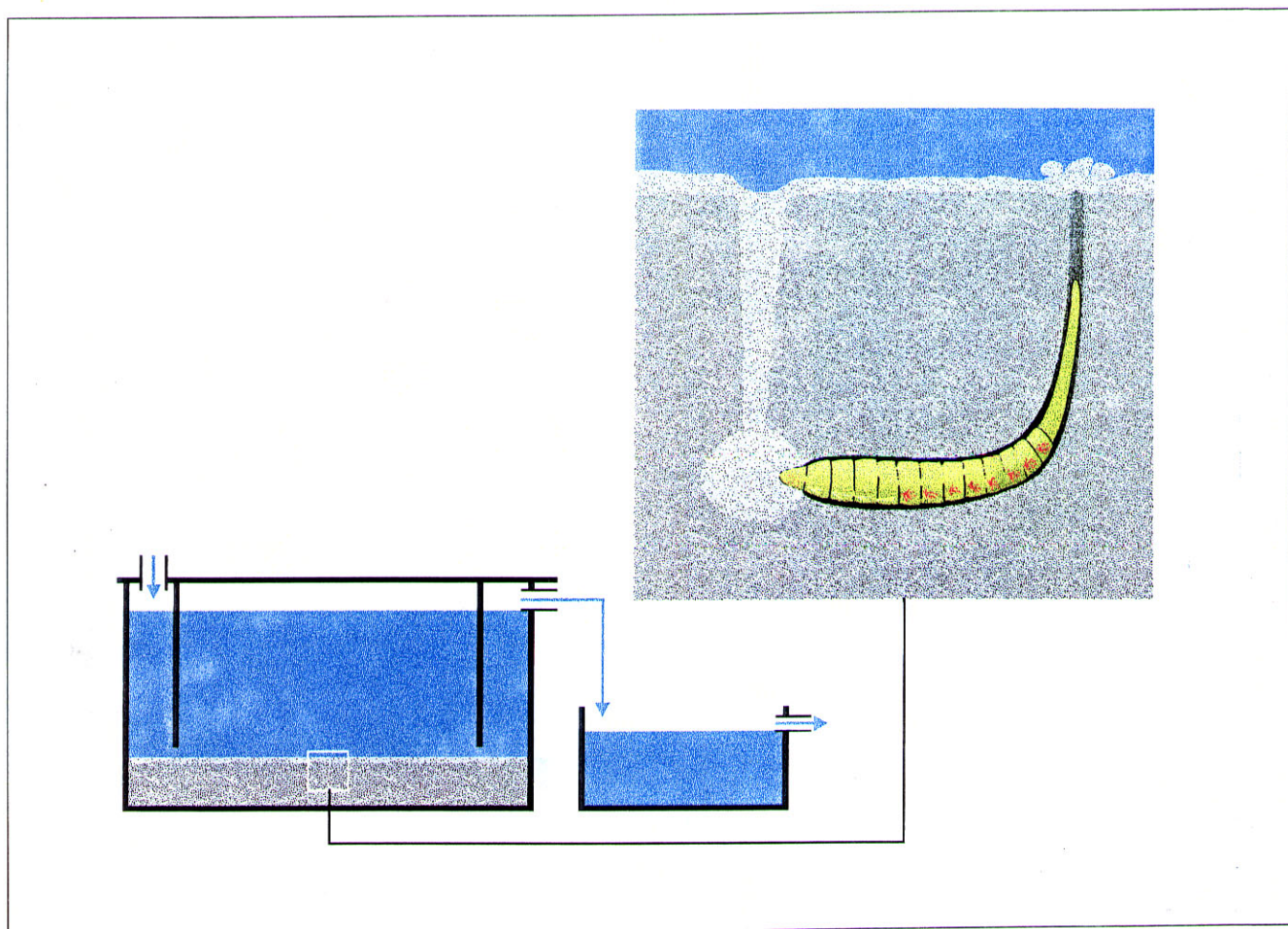
Oppdragsgiver

Statens forurensningstilsyn

Utførende institusjon

NIVA

Interaksjoner mellom olje og miljøgifter i marine sediment



Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00

Sørlandsavdelingen

Televeien 1
4890 Grimstad
Telefon (47) 37 29 50 55
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 41
2312 Ottestad
Telefon (47) 62 57 64 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Nordnesboder 5
5005 Bergen
Telefon (47) 55 30 22 50
Telefax (47) 55 30 22 51

Akvaplan-NIVA A/S

Søndre Tollbugate 3
9000 Tromsø
Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 77 68 05 09

| | | |
|--|-------------------------------------|-----------------------|
| Tittel Interaksjoner mellom olje og miljøgifter i marine sediment | Løpenr. (for bestilling) 3766-97 | Dato 8 januar 1998 |
| | Prosjektnr. Undernr. 96002 | Sider Pris 42 |
| Forfatter(e) Ketil Hylland | Fagområde Marinøkologisk | Distribusjon |
| | Geografisk område | Trykket NIVA |

| | |
|---|---|
| Oppdragsgiver(e) SFT (Statlig program for forurensningsovervåking) | Oppdragsreferanse Per Erik Iversen Turid Winther-Larsen |
|---|---|

Sammendrag

Hovedmålet med prosjektet var å avklare om tilstedeværelsen av olje i sediment vil påvirke bioakkumulering av miljøgifter fra dette sedimentet, fordeling av miljøgifter i sedimentet, utlekking av miljøgifter fra sedimentet og/eller ha effekter på sediment-levende organismer. Et underordnet mål var å kvantifisere betydningen av bioturbasjon for bioakkumulering, fordeling og utlekking av de valgte miljøgiftene, samt påvirkning av bioturbasjon på biologiske effekter av miljøgifter og/eller olje. Det ble benyttet to sediment-levende børstemark, en sediment-spiser og bioturberer (fjæremark *Arenicola marina*) og en altetende børstemark som ikke bioturberer vesentlig (*Hediste diversicolor*). I tillegg ble det satt blåskjell i små akvarier på utløpet fra hvert sedimentakvarium. Sedimentet i alle akvariene ble tilsatt miljøgifter (5 mg/kg Cd, 1 mg/kg TBT, 1 mg/kg PCB) og enten olje (3.7 g/kg), alger (8.8 g/kg) eller intet. Forsøket varte i fire måneder. Tilstedeværelsen av olje i sedimentet reduserte akkumulering av alle miljøgifter (Cd, TBT, PCB) i *H. diversicolor*. Mens tilsetning av alger ga økt akkumulering av Cd i fjæremark, var den ingen forskjeller mellom behandlingene med hensyn til akkumulering av organiske tinnforbindelser. Olje hadde ingen åpenbare effekter på vekst eller bioturbasjon i forhold til kontroll, men både vekst og bioturbasjon var høyere i akvarier med alge-tilsetning enn i de to andre behandlingene.

| | |
|---------------------|-----------------------|
| Fire norske emneord | Fire engelske emneord |
| 1. olje | 1. oil |
| 2. sediment | 2. sediment |
| 3. miljøgift | 3. contaminants |
| 4. interaksjon | 4. interactions |



Ketil Hylland
Prosjektleder

ISBN 82-577-3338-5



Bjørn Braaten
Forskningsjef

O-96002/P-954471

**Interaksjoner mellom olje og miljøgifter i marine
sediment**

Forord

Dette prosjektet er en del av en større satsning på å avklare hvordan andre miljøfaktorer påvirker bioakkumulering og effekter av miljøgifter. En hoveddel av prosjektet er finansiert av SFT der kontaktpersoner har vært Per Erik Iversen og Turid Winther-Larsen. I tillegg har en del av prosjektet vært støttet av NIVAs instituttprogram om interaksjoner mellom eutrofi og miljøgifter. Oddbjørn Pettersen, NIVA Solbergstrand, takkes for assistanse i forbindelse med oppsett og drift av det eksperimentelle systemet. Morten Schaanning har gitt råd og bistand til redoks-målingene. Norunn Følsvik har gjort analysene for organiske tinnforbindelser, Grethe Sigernes PCB-analysene og Arne Godal kadmium-analysene.

Oslo, 8.1.1998

Ketil Hylland

Innhold

| | |
|--|-----------|
| Sammendrag | 6 |
| Summary | 7 |
| 1. Innledning | 8 |
| 1.1 Bakgrunn | 8 |
| 1.2 Målsetting og problemstillinger | 9 |
| 1.3 Valg av miljøgifter og organismer | 9 |
| 2. Materiale og metoder | 11 |
| 2.1 Innsamling av sediment og børstemark | 11 |
| 2.2 Beskrivelse av eksperimentelle betingelser | 11 |
| 2.2.1 Generelt | 11 |
| 2.2.2 Tilsetning av miljøgifter | 12 |
| 2.2.3 Tilsetning av alger og olje | 12 |
| 2.3 Miljøparametre og prøvetaking | 13 |
| 2.3.1 Redoks | 13 |
| 2.3.2 Sediment | 13 |
| 2.3.3 Børstemark | 13 |
| 2.4 Kjemiske analyser | 13 |
| 2.4.1 Totalt organisk karbon | 14 |
| 2.4.2 Klororganiske miljøgifter | 14 |
| 2.4.3 Organiske tinnforbindelser | 14 |
| 2.4.4 Kadmium | 15 |
| 2.5 Vekst og bioturbasjon | 15 |
| 2.6 Statistiske analyser | 15 |
| 3. Resultater | 17 |
| 3.1 Temperatur og salinitet | 17 |
| 3.2 Redoks og organisk karbon i sedimentet | 17 |
| 3.3 Miljøgifter i sedimentet | 20 |
| 3.4 Bioakkumulering av miljøgifter | 22 |
| 3.4.1 Kadmium (Cd) | 22 |
| 3.4.2 Organiske tinnforbindelser | 25 |
| 3.5 Effekter på vekst og bioturbasjon | 27 |
| 4. Diskusjon | 29 |
| 4.1 Redoks, TOC og miljøgifter i sediment | 29 |
| 4.1.1 Redoksforhold | 29 |
| 4.1.2 Totalt organisk karbon (TOC) | 29 |
| 4.1.3 Miljøgifter | 29 |
| 4.1.4 Betydning av bioturbasjon | 30 |
| 4.2 Effekter av alge- og oljetilsetning på bioakkumulering | 30 |
| 4.3 Effekter av bioturbasjon på bioakkumulering | 31 |
| 4.4 Biologiske effekter | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 5. Konklusjoner | 32 |
| 6. Referanser | 33 |
| Vedlegg A. Organisk karbon og Cd i sediment | 34 |
| Vedlegg B. TBT og PCB i sediment og børstemark | 36 |
| Vedlegg C. Cd i organismer | 37 |
| Vedlegg D. Vanngjennomstrømning i akvariene | 39 |
| Vedlegg E. Redoks-potensiale | 40 |
| Vedlegg F. Overlevelse og vekst | 41 |
| Vedlegg G. Temperatur og salinitet | 42 |

Sammendrag

1. Hovedmålet med prosjektet var å avklare om tilstedeværelsen av olje i sediment vil påvirke bioakkumulering av miljøgifter fra dette sedimentet, fordeling av miljøgifter i sedimentet, utlekking av miljøgifter fra sedimentet og/eller ha effekter på sediment-levende organismer. Et underordnet mål var å kvantifisere betydningen av bioturbasjon for bioakkumulering, fordeling og utlekking av de valgte miljøgiftene, samt påvirkning av bioturbasjon på biologiske effekter av miljøgifter og/eller olje.
2. Det ble benyttet rent sediment som ble tilsatt miljøgifter (5 mg kadmium/kg tørt sediment, 1 mg TBT¹/kg tørt sediment, 1 mg PCB²/kg tørt sediment) og enten olje (3.7 g/kg tørt sediment), alger (8.8 g/kg tørt sediment) eller intet (kontroll). Det ble tilsatt to sediment-levende børstemark. Den ene forsøksorganismen spiser sediment og vil føre til blanding av sedimentet, økt bioturbasjon (fjæremark *Arenicola marina*). Den andre forsøksorganismen er en altetende børstemark som ikke spiser mye sediment og ikke blander sedimentet (*Hediste diversicolor*). Alle akvariene ble tilsatt *H. diversicolor*, mens bare halvparten ble tilsatt fjæremark. Små akvarier med blåskjell (*Mytilus edulis*) ble plassert etter utløpet fra hvert sedimentakvarium for å kunne få et mål for hvor mye miljøgift som ble transportert vekk fra sedimentet. Alle akvariene mottok ufiltrert vann fra 60 m dyp utenfor Marin Forskningsstasjon, Solbergstrand.
3. Etter fire måneders eksponering ble det tatt prøver av sediment og organismer til kjemiske analyser (organisk karbon, kadmium, organiske tinnforbindelser, klororganiske forbindelser). Det ble også gjort analyser av bioturbasjon i alle akvariene og vekst hos *H. diversicolor*.
4. Tilstedeværelsen av olje i sedimentet reduserte akkumulering av alle miljøgiftene (kadmium, TBT, PCB) i *H. diversicolor*. Mens olje og alger ga økt akkumulering av kadmium i fjæremark, var det ingen forskjeller mellom behandlingene med hensyn til akkumulering av organiske tinnforbindelser.
5. Olje hadde ingen åpenbare effekter på vekst eller bioturbasjon, men både vekst og bioturbasjon var høyere i akvarier med alge-tilsetning enn i kontroll-akvariene.

¹ tributyltinn

² polyklorerte bifenyl

Summary

Title: Interactions between oil and contaminants in marine sediments

Year: 1997

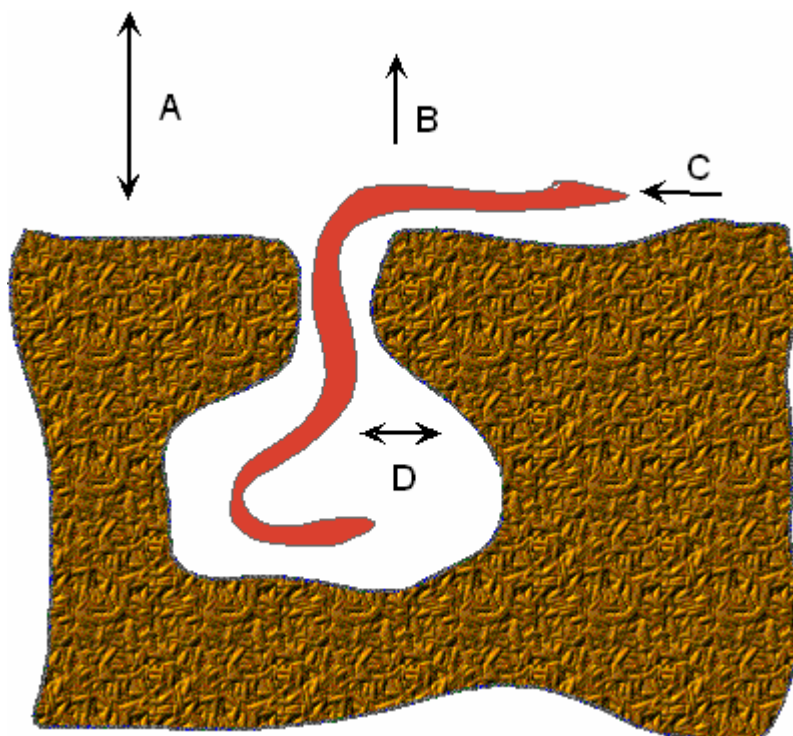
Author: Ketil Hylland

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: 82-577-3338-5.

1. Innledning

1.1 Bakgrunn

I havneområder vil det ofte være en blandet tilførsel av ulike forurensende stoffer. Sedimentene i havneområder er derfor nesten alltid forurenset med miljøgifter og olje. Olje inneholder komponenter som er miljøgifter, deriblant polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH), men tilstedeværelsen av olje vil også påvirke sedimentet og sediment-levende organismer på andre måter. Hovedandelen av olje er hydrokarboner som vil kunne være en kilde til næring for mikroorganismer og meio- eller makrofauna (direkte eller indirekte). Olje i sediment kan imidlertid også ha den motsatte effekten ved at den gjør at organisk materiale i sedimentet "smaker vondt" og at fødeinntaket for sediment-spisere synker. Olje vil også påvirke de fysiske egenskapene til sedimentet gjennom at sedimentpartiklene bindes sammen i større grad enn i sediment uten olje. Det kan derfor tenkes at utlekking av miljøgifter fra sedimentet reduseres. De mulige effektene av olje i sediment på akkumuleringen av miljøgifter er oppsummert i Figur 1.



Figur 1. Mulige effekter av olje på fordeling av miljøgifter. **A** – (i) redusert transport til vannfasen (redusert resuspensjon), (ii) økt transport av lipofile miljøgifter (som følge av bakteriell aktivitet); **B** – redusert bioturbasjon (og derved transport); **C** – (i) økt mengde karbon tilgjengelig (økt vekst og akkumulering), (ii) "vond smak" som reduserer fødeopptak eller (iii) narkotiserende effekt; **D** – (i) redusert tilgjengelighet (olje "binder" miljøgifter i sedimentet), (ii) narkotiserende effekt (uendret akkumulering, men redusert påvirkning fra organisme på sediment).

I tillegg til abiotiske betingelser vil også faunaens sammensetning ha betydning. Ofte vil det være slik at arter som bioturberer vil være blant de første som blir borte ved miljøgift-belastning eller reduserte oksygen-nivåer. Bioturbasjon vil kunne ha stor betydning for tilgjengelighet av miljøgifter og det er også sannsynlig at bioturbasjon kan endres direkte eller indirekte ved tilstedeværelse av olje.

1.2 Målsetting og problemstillinger

Hovedmålet med prosjektet var å avklare om tilstedeværelsen av olje i sediment vil påvirke bioakkumulering av miljøgifter fra dette sedimentet, fordeling av miljøgifter i sedimentet, utlekking av miljøgifter fra sedimentet og/eller ha effekter på sediment-levende organismer. Et underordnet mål var å kvantifisere betydningen av bioturbasjon for bioakkumulering, fordeling og utlekking av de valgte miljøgiftene, samt påvirkning av bioturbasjon på biologiske effekter av miljøgifter og/eller olje.

Prosjektets mål kan inndeles i fem delmål:

- (1) avklare om tilstedeværelsen av olje vil påvirke fordeling av utvalgte miljøgifter mellom sediment og sediment-levende organismer (altså biotilgjengeligheten av miljøgifter);
- (2) avklare hvorvidt tilstedeværelsen av olje påvirker vekst hos sediment-levende børstemark;
- (3) kvantifisere utlekking av miljøgifter fra sediment med og uten olje;
- (4) sammenligne akkumulering, effekter og utlekking av miljøgifter fra sediment med og uten organismer med sterk bioturberende aktivitet.
- (5) kvantifisere innvirkning av olje og/eller miljøgifter på bioturbasjon.

Disse målene vil kunne nås hvis følgende problemstillinger besvares:

- (1) *påvirker olje bioakkumulering av miljøgifter i sediment-levende organismer (eksemplifisert ved to børstemark-arter)?*
- (2) *har tilstedeværelsen av olje negative effekter på vekst eller bioturbasjon hos utvalgte sediment-levende organismer?*
- (3) *vil det lekke mer eller mindre miljøgifter fra et sediment der også olje er tilstede?*
- (4) *vil bioturbasjon påvirke effektene av olje eller miljøgifter på bioakkumulering og/eller vekst?*

1.3 Valg av miljøgifter og organismer

Forsøkene ble utført i akvarier av glass. Det ble valgt betingelser i sedimentet som vil kunne ligne på forhold som finnes i havneområder. Det øverste laget av sediment i alle akvariene i forsøket ble derfor tilsatt kadmium (Cd), tributyltinn (TBT) og PCB (aroclor 1254) i konsentrasjoner som finnes i sedimentet i norske havner.

Det øverste laget av sedimentet i en tredjedel av akvariene (6 akvarier) ble tilsatt diesellolje. For å kunne vurdere betydningen av olje som kilde til organisk karbon, ble det øverste sedimentlaget i 6 andre akvarier tilsatt alger. De siste 6 akvariene ble ikke tilsatt hverken olje eller alger.

Makrofaunaen i forurensede områder kan variere mye. Sammensetningen av makrofauna vil påvirke tilgjengelighet og utlekking av miljøgifter ved at ulike arter påvirker sedimentet på forskjellige måter. Blanding av sedimentet, eller bioturbasjon, er en sentral prosess. I halvparten av akvariene ble det derfor tilsatt en art som vil blande sedimentet, fjæremark *Arenicola marina*. For å kunne kvantifisere bioakkumulering i en "typisk" børstemark ble alle akvarier tilsatt *Hediste diversicolor*. Denne arten vil bare i liten grad blande sedimentet.

Ulike egenskaper ved sedimentet og makrofaunaen vil kunne påvirke utlekking og transport av miljøgifter fra sedimentet. For å kunne vurdere betydningen av slik transport under ulike betingelser ble det satt små akvarier med blåskjell, *Mytilus edulis*, i avløpet fra alle akvariene med sediment. Blåskjell filtrerer vann svært effektivt og konsentrasjonen av en miljøgift i vevet til blåskjell vil gi et rimelig mål for konsentrasjonen av den samme miljøgiften i vann over en periode. Et slikt oppsett har vært benyttet tidligere (Hylland et al., 1996).

2. Materiale og metoder

2.1 Innsamling av sediment og børstemark

Sediment og organismer ble samlet inn ved Fuglevik på Jeløya. Dette er et område med begrenset båttrafikk (fritidsbåter) og ingen kjente punktkilder for noen miljøgifter. De målte konsentrasjonene av ulike miljøgifter i sedimentet er innenfor det som må betraktes som bakgrunnsnivåer (Tabell 1).

Tabell 1. Karakterisering av basis-sediment. Alle verdier for tørt sediment. Konsentrasjoner av miljøgiftene er alle i tilstandsklasse I ("god").

| sted | < 0.63 µm | TOC (mg/g) | PCB* (ng/g) | Cd (µg/g) |
|------------------|-----------|---------------|----------------|--------------|
| Fuglevik, Jeløya | 68% | 10.5-11.0 | 6 | 0.10-0.11 |

* sum "seven Dutch"

Børstemark, *Hediste diversicolor*³ og fjæremark, *Arenicola marina*, ble innsamlet på samme sted som sedimentet. Blåskjell, *Mytilus edulis*, ble innsamlet utenfor NIVAs marine forskningsstasjon på Solbergstrand (MFS).

2.2 Beskrivelse av eksperimentelle betingelser

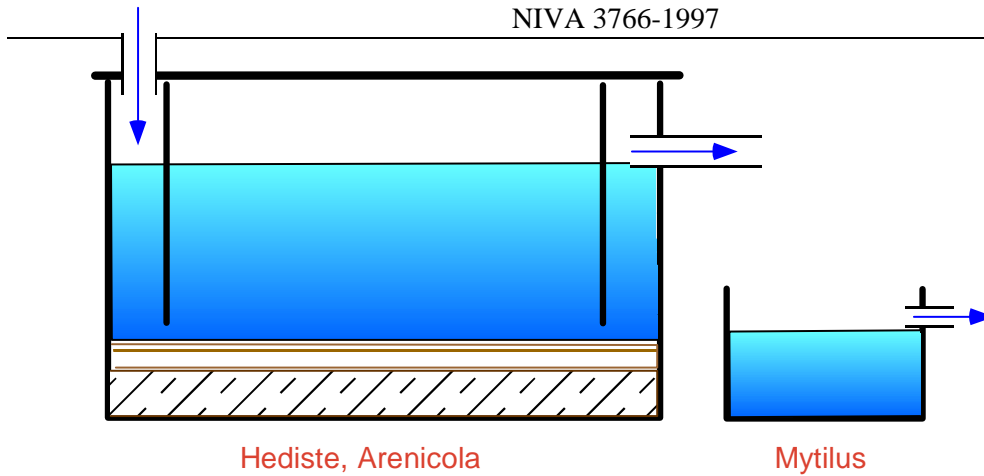
2.2.1 Generelt

Det ble benyttet glass-akvarier (360 x 480 mm grunnflate) med kontinuerlig tilførsel av vann fra 60 m dyp utenfor stasjonen. Vannet ble ikke filtrert. I alle akvariene ble det lagt 5 cm med et homogenisert, silt (1 mm), ikke-kontaminert sediment. Det samme sedimentet ble brukt som utgangspunkt for sediment med miljøgifter (Cd, Aroclor 1254, TBT) og olje eller fytoplankton. Alle sediment ble homogenisert i sement-blander (30 min) før tilsetning til akvariene. Det behandlede sedimentet ble tilsatt alle akvarier i et 1-1.5 cm tykt lag på toppen av sedimentet som allerede var tilsatt (5 cm). Etter tilsetning av det behandlede sediment fikk oppsettet stå med gjennomstrømmende vann i en uke før organismene ble tilsatt.

De nederste 5 cm sediment i hvert akvarium ble tilsatt som mer eller mindre fast sediment. Det behandlede sedimentet (1-1.5 cm på toppen) ble tilsatt som følger: I hvert akvarium ble 2 L sediment forsiktig rørt ut i omtrent 10 L vann og tillatt å sedimentere i et døgn. Deretter ble vanntilførselen satt på. En uke etter dette ble 0-prøver tatt og organismene tilsatt.

I alle akvariene ble børstemarken *H. diversicolor* tilsatt. I halvparten av akvariene ble i tillegg en bioturberende organisme, børstemarken *A. marina*, tilsatt (Tabell 2). Ved utløpet til alle akvariene ble det satt akvarier med blåskjell (Figur 2). Forsøket ble startet 13.9.96 og avsluttet 16.1.97.

³ tidligere het denne børstemarken *Nereis diversicolor*



Figur 2. Skisse over akvarie-oppsettet som ble benyttet.

Tabell 2. Oversikt over forsøket. Antall individer tilsatt i hvert akvarium er angitt i parentes.

| Antall replikate akvarier | tilsetning i øverste lag | organismer i sediment | organismer på avløp |
|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------|
| 3 | - | Hediste (20) | Mytilus (10) |
| 3 | olje | Hediste (20) | Mytilus (10) |
| 3 | alger | Hediste (20) | Mytilus (10) |
| 3 | - | Hediste (20), Arenicola (1) | Mytilus (10) |
| 3 | olje | Hediste (20), Arenicola (1) | Mytilus (10) |
| 3 | alger | Hediste (20), Arenicola (1) | Mytilus (10) |

2.2.2 Tilsetning av miljøgifter

De to organiske miljøgiftene TBT og PCB (Aroclor 1254) ble veid ut og blandet inn i aceton. Denne løsningen ble tilsatt 400 g tørket, knust sediment og blandet godt. Etter inndamping i avtrekk ble dette stam-sedimentet igjen blandet før det ble tilsatt et oppmålt volum sediment i slurry i sement-blander.

2.2.3 Tilsetning av alger og olje

Tarmgrønnske (*Enteromorpha* sp.) ble innsamlet ved MFS og tørket ved 150°C. De tørkede algene ble knust og homogenisert før 59 g ble tatt ut og tilsatt det aktuelle sedimentet direkte i sement-blander. Oljen som ble benyttet var båt-diesel. For å fjerne de mest flyktige komponentene ble 24.8 g olje tilsatt en liten mengde sediment-slurry og "luftet" i sement-blander i 30 minutter før resten av sedimentet og miljøgift-innblandet sediment ble tilsatt. Tabell 3 gir en oversikt over konsentrasjoner og mengder av alger, olje og miljøgifter i den øverste del av sedimentet.

Tabell 3. Konsentrasjoner og mengder tilsatt den øverste cm av sedimentet. TS – tørt sediment.

| komponent | mengde tilsatt (mg) | antall akvarier | forventet konsentrasjon i sediment (mg/kg TS) | g C/kg TS |
|--------------------|---------------------|-----------------|---|-----------|
| alge | 59300 | 6 | 8824,4 | 1,98* |
| dieselolje | 24750 | 6 | 3683,0 | 3,11** |
| TBT | 22,7 | 18 | 1,1 | |
| Cd | 100 | 18 | 5,0 | |
| PCB (Aroclor 1254) | 24,9 | 18 | 1,2 | |

* benyttet data fra Pihl et al. (1996)

** antatt gjennomsnittlig kjedelengde på 10 karbon

2.3 Miljøparametre og prøvetaking

2.3.1 Redoks

Redoks-potensialet ble målt 2 cm ned i sedimentet ved start av forsøket og etter en og to måneder. Det ble benyttet en Radiometer 101 platina elektrode og en Ag|AgCl referanseelektrode.

2.3.2 Sediment

Sediment ble prøvetatt ved start og slutt av forsøket med en avkuttet sprøyte av PVC (13 mm intern diameter). Det ble tatt en kjerne fra hvert akvarium ved start og fem kjerner fra hvert akvarium ved slutt. Den øverste cm av prøven fra enkeltakvariene ved start ble slått sammen til tre samleprøver for hver av de tre behandlingene (med olje, med alger, ingen tilsetning). De fem prøvene som ble tatt fra hvert akvarium ved slutt ble snittet i 1 cm, 1-2 cm og 2-5 cm. Snittene for hvert dyp ble slått sammen til en prøve. Sediment-prøver ble frosset og frysetørket før videre analyser.

2.3.3 Børstemark

Individer av *H. diversicolor* ble tørket forsiktig og veid før tilsetning (etter at de hadde gått seg tomme i rent vann). Det ble også tilsatt et individ av *A. marina* i halvparten av akvariene. I små akvarier ved utløpet av alle akvariene ble det plassert blåskjell.

Ved slutten av forsøket ble sedimentene silt gjennom en 1 mm sil og børstemarkene tatt ut. Både *A. marina* og *H. diversicolor* ble overført til akvarier med rent vann der de fikk gå i 6-8 timer før videre behandling. *H. diversicolor* ble tørket forsiktig, veid individuelt og alle individer fra hvert akvarium slått sammen før kjemisk analyse. Bløtdelene ble tatt ut av blåskjellene og alle fem fra hvert akvarium slått sammen til en blandprøve. Alt biologisk materiale ble frosset og så frysetørket før homogenisering og kjemiske analyser.

2.4 Kjemiske analyser

Det ble ikke analysert på alle parametre i både sediment og organismer. En oversikt over gjennomførte analyser er vist nedenfor (Tabell 4). Analysemetodene for TOC, klororganiske stoffer og metaller er akkrediterte.

Tabell 4. Oversikt over gjennomførte analyser. OC – klororganiske, OT – organiske tinnforbindelser.

| prøve | ved start | ved slutt | kommentar |
|--|-----------|-----------|---|
| blandprøve av sediment fra hver behandling | TOC | OC, OT | 0-1 cm |
| sediment fra hvert akvarium – 3 dyp | | TOC, Cd | 0-1 cm, 1-2 cm, 2-6 cm |
| blandprøve – <i>H. diversicolor</i> | OC, OT | OC, OT | ikke målt i gruppene holdt i sediment med tilsetning av alger |
| blandprøve hvert akvarium – <i>H. diversicolor</i> | Cd | Cd | 10-20 individer/akvarium |
| prøve hvert akvarium – <i>A. marina</i> | Cd, OT | Cd, OT | 1 individ/akvarium |
| blandprøve hvert akvarium – <i>M. edulis</i> | | Cd | 5 individer/akvarium analysert |

2.4.1 Totalt organisk karbon

Uorganisk karbon ble drevet ut av prøvene ved syrebehandling. Tørr prøve ble deretter veid inn i tinnkapsler som ble forbrent i oksygenmettet heliumgass ved ca. 1800 °C. Ved hjelp av katalysatorer vil forbrenningen bli fullstendig. Overskudd av oksygen fjernes ved hjelp av kobber ved ca. 650 °C. Her reduseres også nitrogenoksyder til N₂-gass. Forbrenningsgassene passerer deretter en kromatografisk kolonne, og N₂- og CO₂-gassene detekteres i en varmetrådsdetektor. Arealet under toppene integreres og konsentrasjon beregnes i forhold til en standard.

2.4.2 Klororganiske miljøgifter

Prøvene ble tilsatt indre standard og ekstrahert med organiske løsemidler. Ekstraktene gjennomgikk ulike rensetrinn for å fjerne interfererende stoffer. Tilslutt ble ekstraktet analysert ved bruk av gasskromatograf utstyrt med elektroninnfangningsdetektor, GC/ECD. De klor-organiske forbindelsene identifiseres utfra de respektives retensjonstider på to kolonner med ulik polaritet. Kvantifisering utføres ved hjelp av indre standard.

2.4.3 Organiske tinnforbindelser

Ett til 2 g av prøvene ble oppløst med en løsning av tetraetylammoniumhydroksid i metanol. Dette bryter ned bindingene mellom tinnforbindelsene og vevet og løser disse som "frie" klorider og hydroksider. Før derivatisering med natriumtetraetylborat justeres prøvenes pH. De derivatiserte forbindelsene ble ekstrahert med n-heksan og prøvene oppkonsentrert ved inndampning med nitrogen før analyse. Opprensing av prøvene ble utført v.h.a. gel-permeasjons kromatografi (HPLC-GPC).

De tinnorganiske forbindelsene ble identifisert og kvantifisert med en HP 5921A atomemisjonsdetektor koblet til en HP 5890 gasskromatograf. Injeksjonene ble utført med en HP 7673 automatinjektor på en 30 m HP-5 kolonne (5% fenyl metyl siloxan) som hovedsaklig separerer forbindelsene etter stigende kokepunkt. I enden av kapillærkolonnen ble analyttene ført inn i et mikrobølgeindusert heliumplasma hvor de atomiseres og eksiteres og lyset som sendes ut måles med et spektrofotometer. De ulike organotinn forbindelsene ble identifisert ved sammenligning med rene standarder mens en intern standard ble benyttet i den kvantitative analysen.

Et biologisk referansemateriale, NIES No.11, og en biologisk "husstandard" brukes til kvalitetskontroll av metoden. Blindprøver opparbeides og analyseres for hver prøveserie eller for hver tiende prøve.

2.4.4 Kadmium

Maksimum 200 mg frysetørket, homogenisert sediment ble veid i en teflonbombe og tilsatt kongevann og flussyre. Beholderen ble lukket og prøven oppsluttet i mikrobølgeovn. Etter avkjøling ble innholdet overført til en 100 ml målekolbe som på forhånd var tilsatt et overskudd av borsyre. Prøven ble fortynnet med avionisert vann og ristet på ristemaskin til borsyren var løst.

En innveid mengde frysetørket biologiske materiale ble oppsluttet med salpetersyre i autoklav ved 120 °C.

Et passende volum oppsluttet prøve (sediment eller biologisk materiale) ble overført til et grafittrør som ble oppvarmet elektrotermisk. Ved trinnvis øking av temperaturen etter et program tilpasset for hvert enkelt metall, gjennomføres tørking, foraskning og atomisering. Som lyskilde ble det benyttet en hulkatodelampe, der katoden inneholder det metallet som skal bestemmes. Lampene avgir et linjespektrum som er spesifikt for lampen og det metallet som skal bestemmes. Lyset absorberes selektivt av dette elementets atomer når det passerer gjennom den atomiserte prøven. Metallkonsentrasjonen ble bestemt ved å sammenholde prøvens absorbanse med kjente kalibreringsløsningers absorbanse.

2.5 Vekst og bioturbasjon

Effektene av de ulike behandlingene ble vurdert ved kvantifisering av vekst hos børstemarken *H. diversicolor* og ved å kvantifisere bioturbasjon, hovedsakelig ved *A. marina*. Vekst hos *H. diversicolor* ble målt ved å veie tilsatt mengde mark ved starten av forsøket og tilsvarende ved avslutningen. Som nevnt ovenfor ble mark holdt i minst 6 timer i rent vann for å gå seg tomme før veiingen ble utført. Individuell vektendring ble beregnet ved å benytte vekten til de største individene før og etter (sortert) – resultatet her bygger altså på en forutsetning at det er de største individene som overlever.

Konsentrasjonen av Cd i ulike dyp av sedimentet ble benyttet som mål for bioturbasjon. Kadmium vil være bedre enn TOC (som også ble målt) siden den er mer konservativ og har mindre direkte interaksjoner med biologiske prosesser. Konsentrasjonene i sedimentet vil være så høye at det vil være forsvinnende små mengder som bioakkumulerer og derved tas ut av sedimentet. Diffusjon vil videre være så langsom at den ikke vil ha noen praktisk betydning for denne bestemmelsen. Bioturbasjonen ble beregnet med følgende formel:

$$([\text{Cd}] \text{ i } 2\text{-}6 \text{ cm} / [\text{Cd}] \text{ i } 0\text{-}1 \text{ cm}) \times 100$$

Høy bioturberende aktivitet vil gi en relativt sett større mengde Cd dypere i sedimentet (og eventuelt lavere konsentrasjon av Cd i topplaget), noe som vil føre til en høy verdi.

2.6 Statistiske analyser

Miljøgift-konsentrasjoner i ulike komponenter (sediment, organismer) fra akvarier med forskjellig behandling ble sammenlignet med enveis variansanalyse (ANOVA) under H_0 : Ingen forskjell mellom behandlingene (Sokal & Rohlf, 1981). Varianslikhet mellom gruppene ble kontrollert med metoden beskrevet av Levene (1960) og variablene transformert hvis nødvendig. Ved eventuelle signifikante forskjeller ble gruppene sammenlignet mot kontrollgruppen ved metoden beskrevet av Dunnett (1955).

Toveis ANOVA ble benyttet til å identifisere eventuelle bidrag fra de ulike behandlingene (olje, alge eller intet og bioturbasjon) på konsentrasjoner av miljøgifter i sediment eller organismer.

3. Resultater

Det ble utført målinger av temperatur og salinitet i vannet gjennom hele forsøksperioden. Det ble videre målt redoks-potensiale i sedimentet i alle akvarier på tre tidspunkter. Ved start ble det tatt prøve av de sediment-levende forsøksorganismene (0-prøve). Det ble ikke tatt slik prøve av blåskjell. Det ble videre tatt prøver av sediment fra de ulike behandlingene ved start av forsøket. Ved avslutning av forsøket ble det tatt prøver av sediment (tre dyp) og organismer. Totalt organisk karbon (TOC) og Cd ble bestemt i alle sedimentprøver.

Det var lav dødelighet av forsøksorganismene i de fleste akvariene. Konsentrasjonene av organiske tinnforbindelser ble bestemt i alle fjæremark (*Arenicola marina*) og i blandprøver av *Hediste diversicolor* fra de ulike behandlingene. Videre ble konsentrasjonen av Cd målt i alle fjæremark og i blandprøver av *H. diversicolor* fra hvert akvarium. Konsentrasjonen av klororganiske forbindelser ble målt i blandprøver av *H. diversicolor* fra de ulike behandlingene.

3.1 Temperatur og salinitet

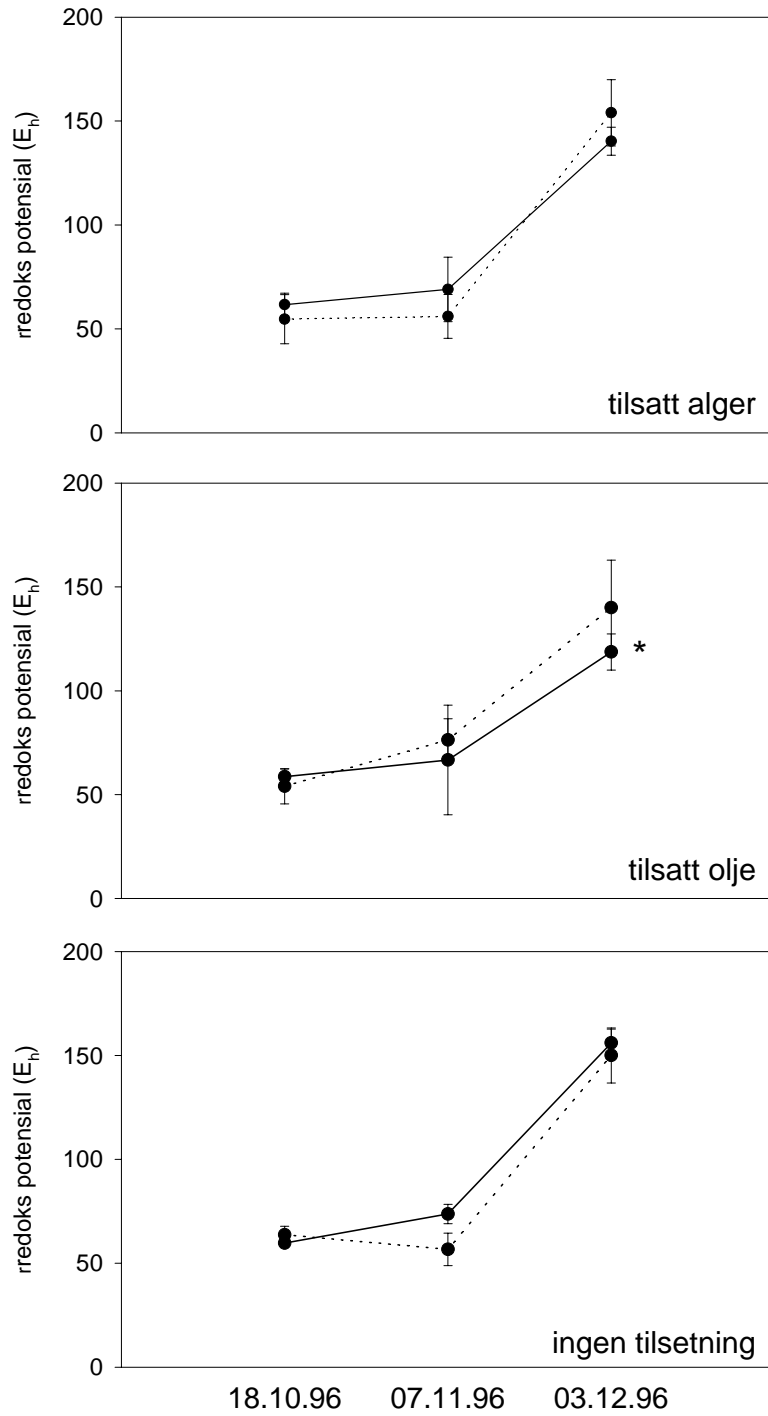
Temperaturen varierte mellom 6.6 og 10.4°C og saliniteten mellom 33.5 og 34.7. Se Vedlegg G. for detaljer.

3.2 Redoks og organisk karbon i sedimentet

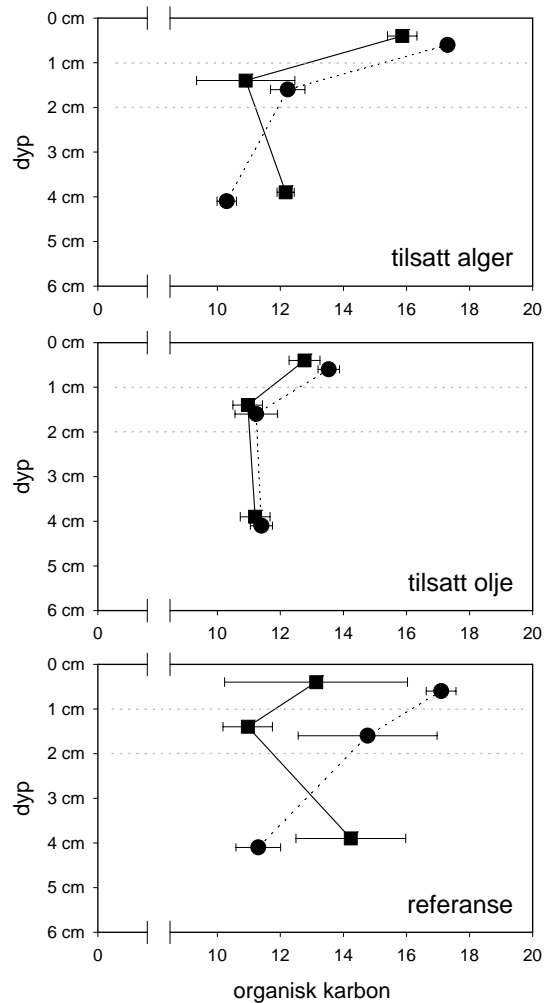
Det var små forskjeller mellom behandlingene med hensyn til redoks-potensialet på 2 cm dyp. Det var lavt potensiale i alle behandlingene ved start og etter en måned, mens det steg til verdier som er i normalområdet for naturlige sediment etter to måneder. Det var signifikant lavere redoks-potensiale i akvariene der sedimentet var behandlet med olje og det var en bioturberende organisme tilstede sammenlignet med sediment uten tilsetning (Figur 3).

Det var forskjeller i fordelingen og konsentrasjonene av totalt organisk karbon (TOC) mellom sediment med ulike tilsetninger (alger, olje eller ingen tilsetning). Det var høyest variabilitet i sedimentet i akvarier uten tilsetning, særlig der det var fjæremark tilstede (Figur 4). Konsentrasjonen av organisk karbon var lavere i overflatelaget av akvariene med olje tilsatt i forhold til akvariene med alger tilsatt. Det er imidlertid uklart hvorfor nivåene av TOC var så høye i akvariene uten tilsetning. Det var videre høyest variabilitet i TOC mellom akvariene som ikke var tilsatt hverken olje eller alger.

Tilstedeværelse av fjæremark førte til en transport av TOC fra overflaten direkte til det dypeste laget i sedimentet i begge gruppene uten olje, noe som førte til et minimum i laget like under overflaten av sedimentet. Denne effekten var særlig tydelig i sediment uten tilsetning, men også synlig for sediment som hadde blitt tilsatt alger.



Figur 3. Redoks-potensialet på 2 cm dyp i akvariene ved tre tidspunkt. Bioturbert – heltrukket linje, referanse – stiplet linje, gjennomsnitt og standard-feil (n=3).



Figur 4. Totalt organisk karbon (TOC), mg/g, i tre dyp i akvariene ved slutten av forsøket. Bioturbert – heltrukket linje og firkanter, referanse – stiplet linje og sirkler, gjennomsnitt og standardfeil (n=3).

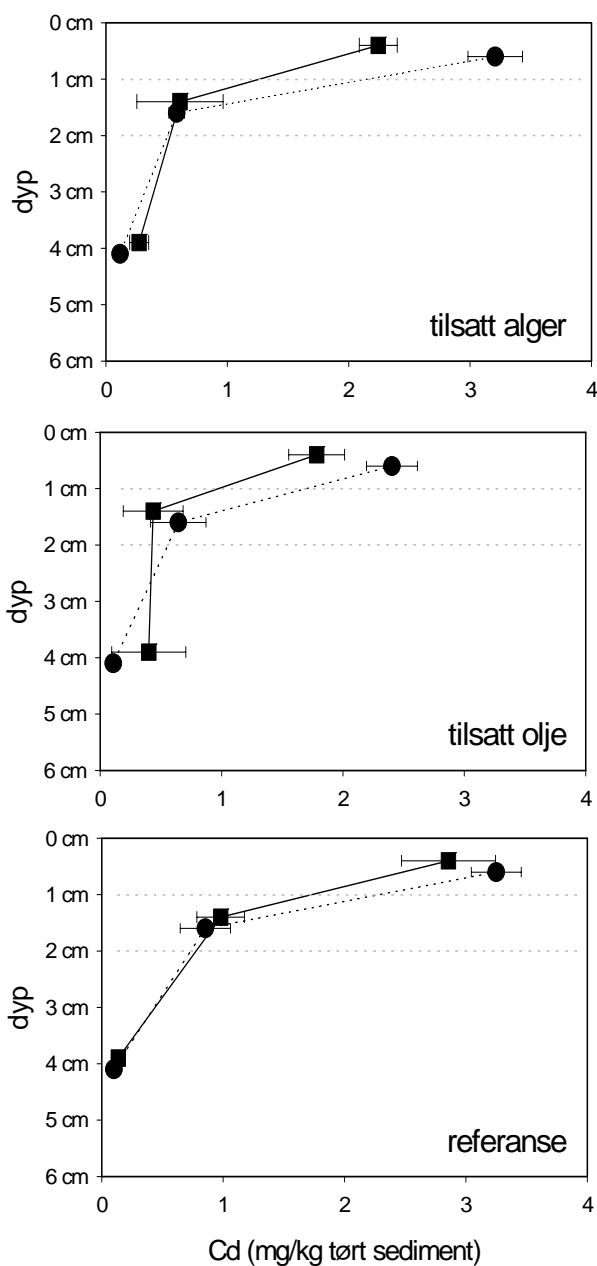
Som det vil framgå av Figur 4 er det en verdi for TOC i overflatesediment som er svært høy. Denne verdien ble tatt ut før dataene ble analysert med toveis ANOVA (Tabell 5).

Tabell 5. Toveis ANOVA med TOC i overflatesediment (0-1 cm) som avhengig variabel og behandling (tilsetning av alge, tilsetning av olje, ingen tilsetning) og bioturbasjon som forklarende variable. Justert $R^2=0.92$, $n=17$, $p<0.0001$.

| faktor | DF | F-ratio | p-verdi |
|---------------------------|----|---------|---------|
| behandling | 2 | 40.0 | <0.0001 |
| bioturbasjon | 1 | 75.3 | <0.0001 |
| behandling x bioturbasjon | 1 | 28.7 | <0.0001 |

3.3 Miljøgifter i sedimentet

Det var små forskjeller mellom behandlingene når det gjaldt fordelingen av Cd i sedimentet (Figur 5). Det var imidlertid tegn til at akvarier med fjæremark hadde lavere konsentrasjon av Cd i overflatesedimentet enn akvarier med bare *H. diversicolor*, en observasjon som ble bekreftet i en toveis ANOVA (Tabell 6).

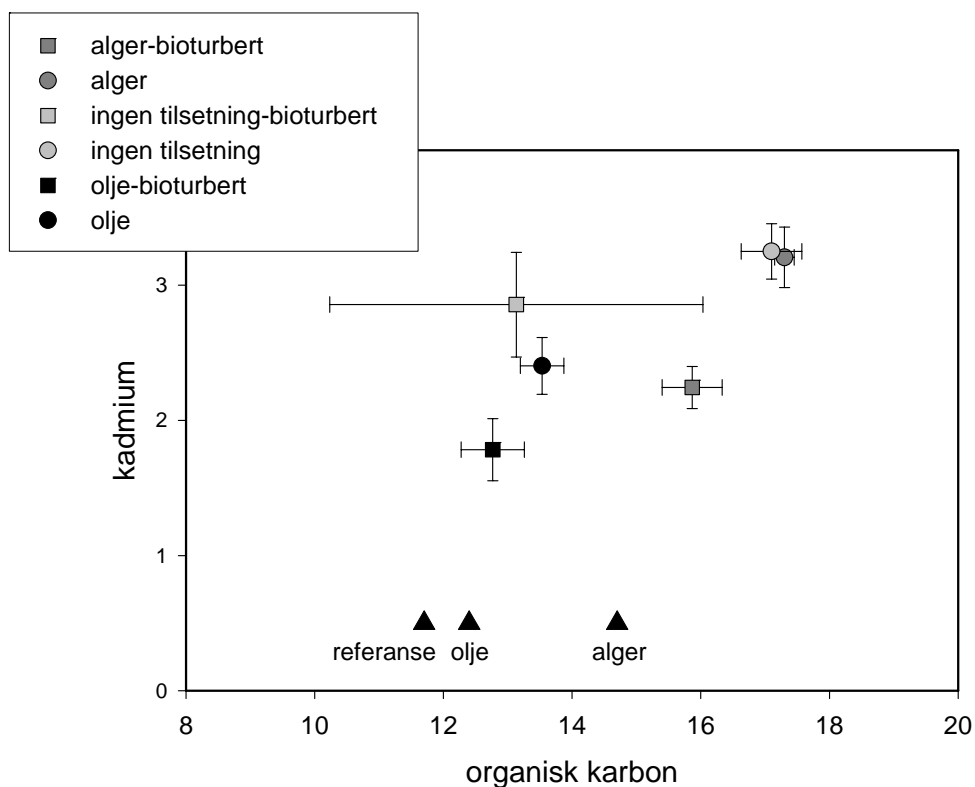


Figur 5. Kadmium (Cd) i tre dyp i akvariene ved slutten av forsøket. Bioturbert – heltrukket linje og firkanter, referanse – stiptet linje og sirkler, gjennomsnitt og standardfeil (n=3).

Tabell 6. Toveis ANOVA med Cd i overflatesediment (0-1 cm) som avhengig variabel og behandling (tilsetning av alge, tilsetning av olje, ingen tilsetning) og bioturbasjon som forklarende variable. Justert $R^2=0.57$, $n=18$, $p=0.007$.

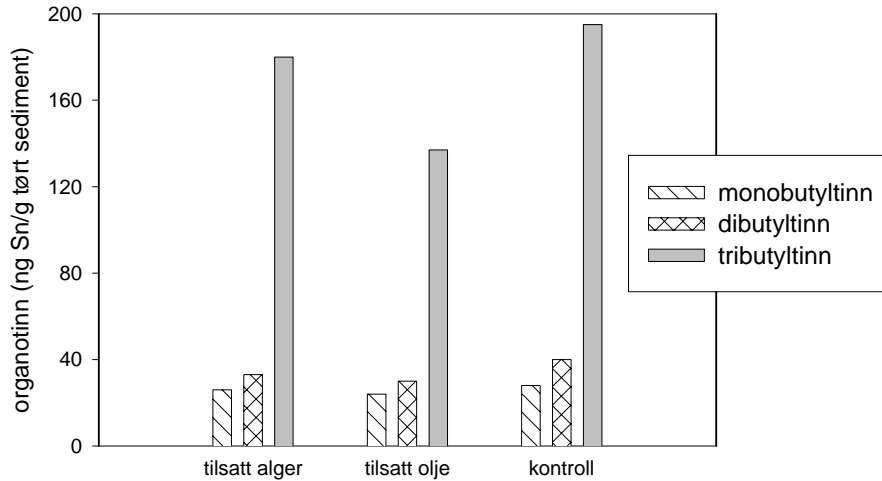
| faktor | DF | F-ratio | p-verdi |
|---------------------------|----|---------|---------|
| behandling | 2 | 7.9 | 0.007 |
| bioturbasjon | 1 | 10.7 | 0.007 |
| behandling x bioturbasjon | 1 | 0.7 | 0.52 |

Det var en positiv sammenheng mellom TOC og Cd i overflatesedimentet ved avslutning av forsøket (Figur 6). Det var også tegn til at verdiene for begge parametrene lå lavere i akvarier med bioturberende organisme i forhold til akvarier uten. Det var stor variasjon mellom de tre referanse-akvariene (to hadde TOC omkring 10, mens den tredje hadde TOC på 18 mg/g tørt sediment).



Figur 6. TOC og Cd i overflatesedimentet (0-1 cm) ved avslutning av forsøket. Gjennomsnitt og standard feil ($n=3$). Det er indikert hva TOC-verdiene var i overflatesediment fra de ulike behandlingene ved starten av forsøket.

Det var ingen forskjeller mellom sediment tilsatt alger, olje eller intet med hensyn på konsentrasjonene av organiske tinnforbindelser i sedimentet ved slutten av forsøket (Figur 7). Verdiene representerer en blandprøve med bidrag fra alle akvariene med angitt behandling.



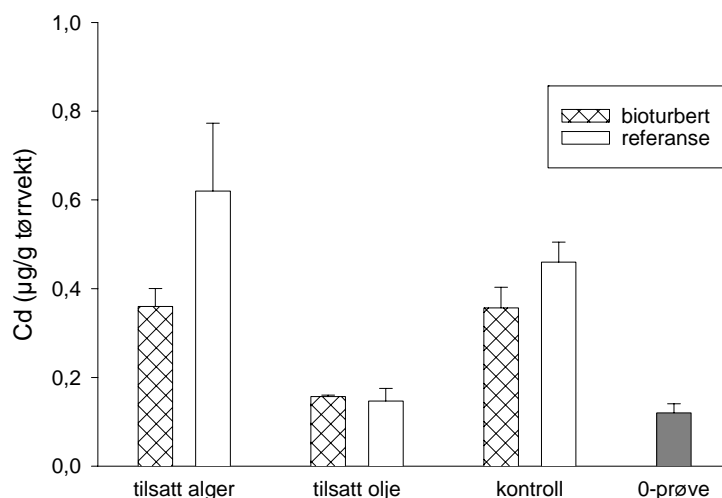
Figur 7. Konsentrasjoner av organiske tinnforbindelser i overflatesediment ved slutten av forsøket.

3.4 Bioakkumulering av miljøgifter

3.4.1 Kadmium (Cd)

Hediste diversicolor som ble holdt i akvarier med olje tilsatt akkumulerte mindre Cd enn individer av samme art som ble holdt i sediment med alger tilsatt eller hverken olje eller alger tilsatt (Figur 8). *H. diversicolor* som ble holdt i akvarier med olje akkumulerte svært lite Cd i løpet av den 4-måneders eksponeringsperioden. I begge behandlingene med akkumulering var det tegn til at denne børstemarken akkumulerte mer der det ikke var *A. marina* tilstede.

En samlet analyse med behandling (tilsetning alger, olje, eller intet) og bioturbasjon indikerte at behandling, det vil si olje-tilsetning, hadde størst betydning for konsentrasjonen av Cd hos *H. diversicolor* (Tabell 7). Bioturbasjon kom ikke signifikant inn som påvirkende faktor, men ville ha gjort det hvis olje-behandlede akvarier hadde blitt holdt utenfor (resultat ikke vist).

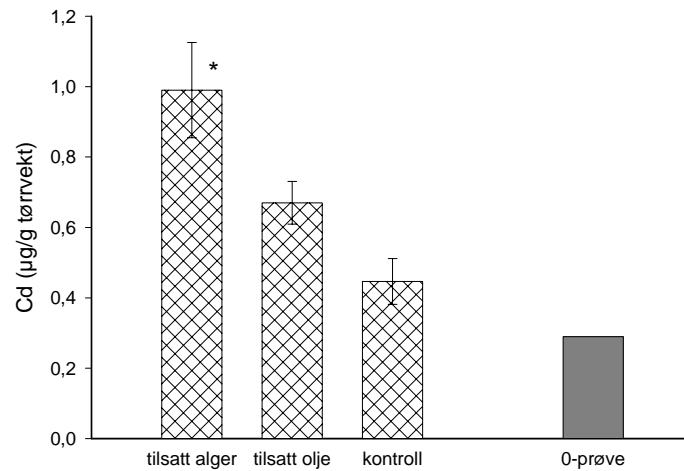


Figur 8. Konsentrasjon av Cd i *Hediste diversicolor* holdt i sediment med ulike tilsetninger. Skraverte søyler representerer akvarier med bioturbasjon (*A. marina* tilstede), mens søyler uten skravering representerer akvarier uten bioturbasjon. Gjennomsnitt med standardfeil (n=3).

Tabell 7. Toveis ANOVA med Cd i *H. diversicolor* som avhengig variabel og behandling (tilsetning av alge, tilsetning av olje, ingen tilsetning) og bioturbasjon som forklarende variable. Justert $R^2=0.78$, $n=18$, $p=0.0002$.

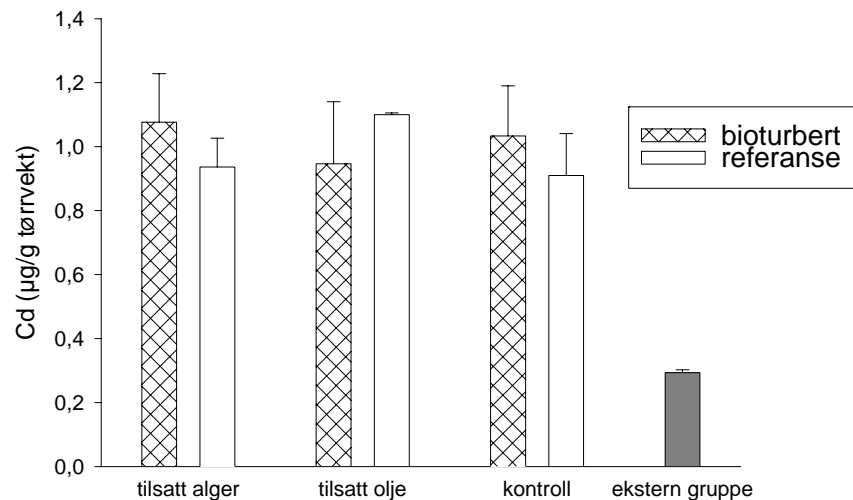
| faktor | DF | F-ratio | p-verdi |
|---------------------------|----|---------|---------|
| behandling | 2 | 28.9 | <0.0001 |
| bioturbasjon | 1 | 2.6 | 0.13 |
| behandling x bioturbasjon | 1 | 1.8 | 0.21 |

Også for fjæremark *A. marina* hadde tilsetningene betydning for akkumulering av Cd. Fjæremark akkumulerte mest i akvarier med alger tilsatt, fulgt av akvarier med olje og med de laveste verdiene i akvarier uten tilsetning (Figur 9). Konsentrasjonen av Cd i fjæremark i de to siste gruppene var ikke signifikant forskjellige. Tilsetning av olje hadde mindre betydning for Cd-akkumulering hos fjæremark enn akkumulering av Cd hos *H. diversicolor*, og fjæremark i sediment med olje akkumulerte minst like mye Cd som individer i sediment uten tilsetning.



Figur 9. Konsentrasjon av Cd i fjæremark, *Arenicola marina*, holdt i sediment med ulike tilsetninger. Gjennomsnitt med standardfeil (n=3).

Alle gruppene akkumulerte Cd i forhold til normalverdien for denne blåskjell-populasjonen på denne årstiden (Figur 10). Blåskjell fra alle akvariene akkumulerte tilsvarende mengder Cd og det var ingen forskjeller mellom behandlingene.

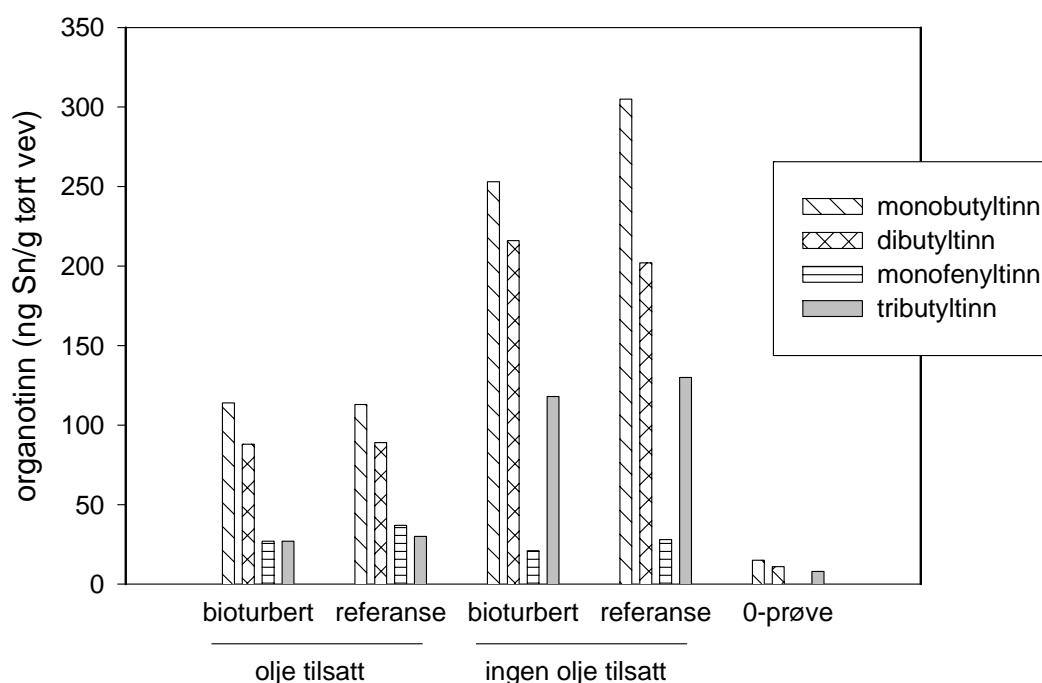


Figur 10. Konsentrasjoner av Cd i blåskjell, *M. edulis*, holdt i akvarier som mottok vann fra sediment med ulike behandlinger. Gjennomsnitt med standardfeil (n=3). Referanseverdiene er fra en tidligere undersøkelse med blåskjell av samme størrelse hentet på samme sted og målt på samme tid på året (benyttet på grunn av manglende 0-prøve).

3.4.2 Organiske tinnforbindelser og klororganiske miljøgifter

Børstemarken *H. diversicolor* akkumulerte og metaboliserte organiske tinnforbindelser. Resultatene viser at børstemarken akkumulerer mindre organiske tinnforbindelser (hovedsakelig TBT) i sediment med olje tilsatt i forhold til sediment uten olje (Figur 11). Videre var det ingen åpenbar effekt av bioturbasjon på akkumulering av organiske tinnforbindelser.

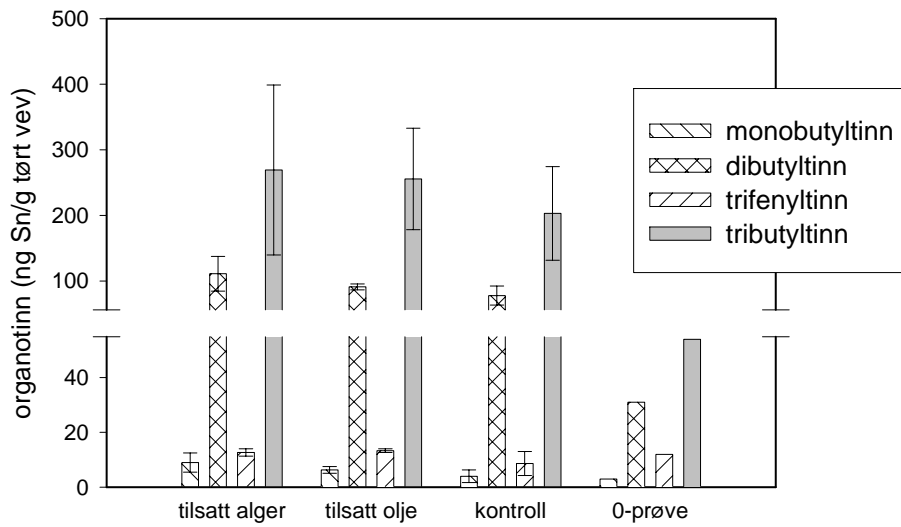
I sedimentet var det meste av organiske tinnforbindelser tilstede som TBT (se avsnitt 3.3) og denne arten metaboliserer TBT til monobutyltinn (MBT) og dibutyltinn (DBT). I tillegg ble det funnet en fjerde organisk tinnforbindelse som tentativt er angitt som monofenyltinn. Denne var ikke tilstede i noen av de andre prøvene (sediment, 0-prøve, fjæremark).



Figur 11. Konsentrasjoner av organiske tinnforbindelser i børstemarken *H. diversicolor* holdt i sediment med ulike behandlinger. Hver søyle representerer en blandprøve fra alle akvarier med angitt behandling.

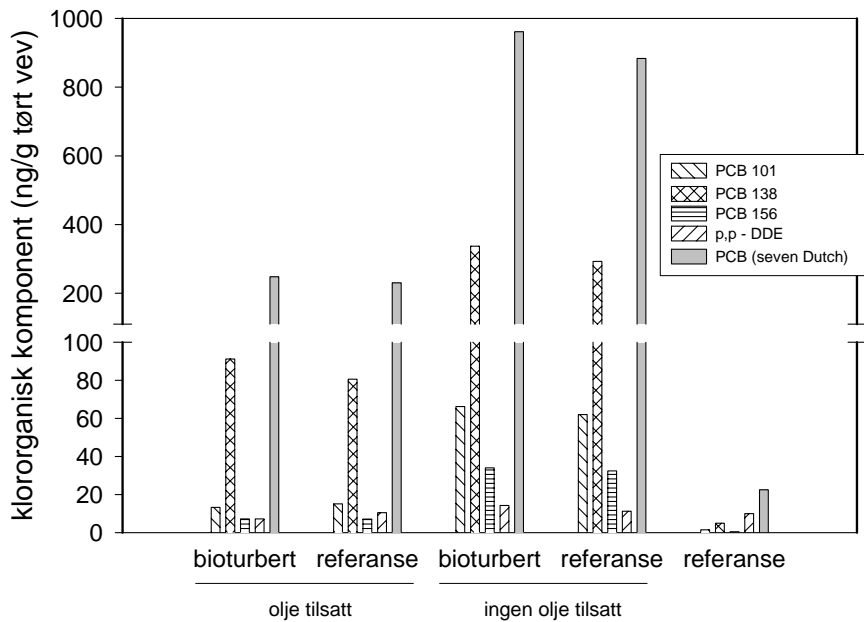
Det var stor forskjell mellom de to børstemark-artene med hensyn på akkumulerings- og metaboliseringsmønstre for organiske tinnforbindelser. Fjæremark, *A. marina*, akkumulerte også organiske tinnforbindelser fra sedimentet (Figur 12).

Hos denne arten forble imidlertid en vesentlig andel av akkumulert TBT som morstoff og hovedmetabolitten var DBT. Bare en svært liten andel forekom som MBT. Som hos *H. diversicolor* ble det funnet en organisk tinnforbindelse som ikke forekom i sediment og ikke er en kjent metabolitt av TBT. Denne ble tentativt identifisert som trifenyltinn og fantes også i 0-prøven.



Figur 12. Konsentrasjoner av organiske tinnforbindelser i fjæremark *Arenicola marina* holdt i sediment med ulike behandlinger. Gjennomsnitt med standardfeil (n=3).

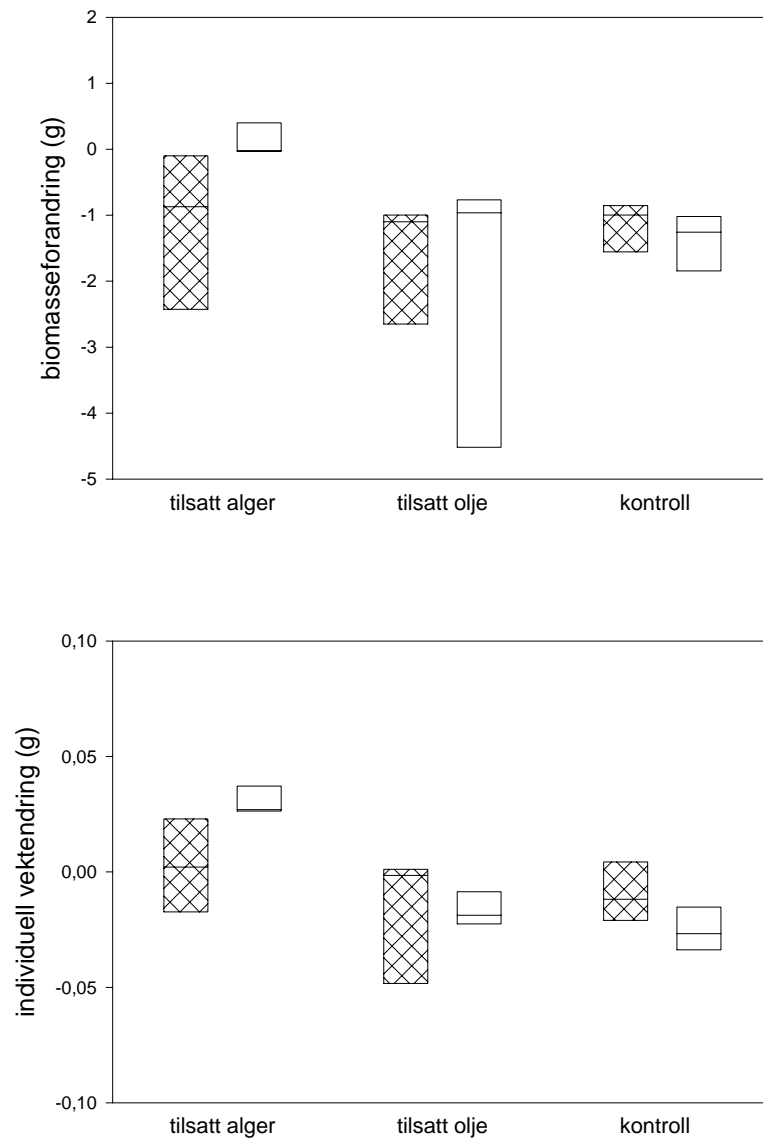
Bioakkumulering av PCB i *H. diversicolor* fulgte mønsteret for organotin: Det var lavere bioakkumulering i børstemark som ble holdt i sediment med olje tilsatt (Figur 13).



Figur 13. Konsentrasjoner av klororganiske forbindelser i børstemarken *H. diversicolor* holdt i sediment med ulike behandlinger. Hver søyle representerer en blandprøve fra alle akvarier med angitt behandling.

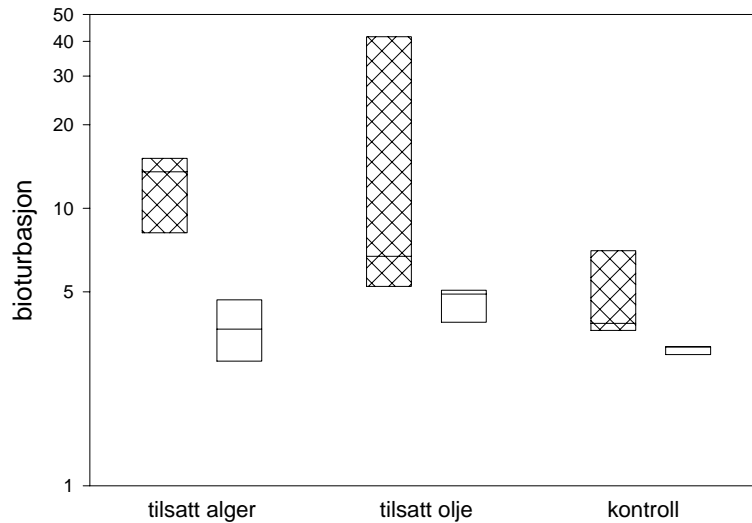
3.5 Effekter på vekst og bioturbasjon

Det var bare små effekter av behandlingene på vekst hos *H. diversicolor* (Figur 14). Mens det var vekt-tap i de andre behandlingene var det imidlertid en svak økning i behandlingen med alge-tilsetning og ingen bioturbasjon. Generelt syntes bioturbasjon (eller kanskje fjerning av organisk materiale) å ha negativ effekt på både biomasse og individuell størrelse. Det var økt dødelighet i de to olje-behandlede gruppene, noe som førte til store forskjeller mellom gruppene med hensyn til total biomasse.



Figur 14. Endring i total biomasse (øverst) og gjennomsnittlig størrelse (nederst) av *H. diversicolor* holdt i sediment med ulike behandling. Skravert er tilsatt *A. marina* og ikke-skravert referanse. Det er tre observasjoner for hver behandling. Median, minimum og maksimum er angitt.

Som nevnt ovenfor var det ikke åpenbar sammenheng mellom hvordan TOC og Cd fordelte seg i sedimentet til tross for at begge ble tilsatt i den øverste centimeteren ved starten av forsøket. Bioturbasjonsindeksen (Figur 15) var imidlertid klart påvirket av behandlingene. Det er åpenbart at tilsetning av fjæremark *A. marina* øker bioturbasjonen og det var bare små forskjeller mellom akvariene som ikke ble tilsatt *A. marina*. Sett bort fra et olje-behandlet akvarium der det var et stort individ *A. marina* som var svært aktivt, var det tendenser til at bioturberende aktivitet øker ved tilsetning av alger. Videre syntes det ikke som om tilsetning av olje påvirket bioturbasjon ved denne arten negativt.



Figur 15. Bioturberende aktivitet i sediment med ulike behandlinger. Skravert er tilsatt *A. marina* og ikke-skravert referanse. Det er tre observasjoner for hver behandling. Median, minimum og maksimum er angitt. Merk log-akse.

4. Diskusjon

Samvirkende effekter mellom olje og miljøgifter har vært lite undersøkt tidligere. Det finnes enkeltstudier av hvordan olje påvirker vekst og reproduksjon hos opportunistiske børstemark (Bridges 1996, Levin et al., 1996) og andre feltstudier der både olje og miljøgifter er tilstede (Conides et al. 1996). Videre er det gjort mange studier som omhandler biotilgjengelighet og bioakkumulering av Cd (se Hylland et al. 1997 med referanser), men få som omhandler organiske tinnforbindelser i sediment.

4.1 Redoks, TOC og miljøgifter i sediment

4.1.1 Redoksforshold

Tilsetning av alger hadde ingen tilleggseffekt på redoksforsholdene i sedimentet. I alle akvariene var det lave redokspotensialer ved start og etter en måned. Årsaken til dette kan være at behandlingen av sedimentet før start gjør at raten av biologiske eller kjemiske oksygen-forbrukende prosesser øker. Det er eksempelvis mulig at organisk materiale som i et etablert sediment ikke normalt benyttes blir gjort tilgjengelig gjennom homogenisering og oppvirvling før forsøket startes. Det var signifikant lavere redokspotensiale i sedimentet med oljetilsetning og bioturbasjon, men dette er trolig mer enn tilfeldighet enn resultatet av behandlingen.

4.1.2 Totalt organisk karbon (TOC)

Det er vanskelig å forklare hvordan konsentrasjonen av organisk karbon økte i sediment med tilsetning av alger og sediment uten tilsetning av hverken alger eller olje. Vannet som ble tilført forsøket ble ikke filtrert. Siden vannet blir hentet fra 60 m dyp utenfor forsøksstasjonen og forsøket ble utført høst-vinter er det imidlertid ikke sannsynlig at det vil være mye organisk materiale i dette vannet. Det var store forskjeller i TOC-konsentrasjon mellom sedimentene i de tre akvariene som hadde fjæremark og som ikke ble tilsatt organisk materiale. I to av akvariene var slutt-konsentrasjonen av TOC i overflatesedimentet på nivå med start-konsentrasjonen, mens det i det tredje sedimentet var nesten dobbelt så høy konsentrasjon. Den eneste forskjellen mellom disse var at vann-gjennomstrømningen var lavere i det tredje akvariet (målt ved avslutningen av forsøket), noe som kan ha ført til økt sedimentering av det organiske materialet som eventuelt var tilstede i vannet. En annen mulighet er at måleverdien er et analyseartefakt. Den ene høye verdien samstemmer imidlertid med TOC i overflatesedimentet i kontroll-akvariene som ikke ble tilsatt fjæremark. Den eneste kilden til denne økte TOC er det tilførte vannet, men det er uklart hvorfor et lignende signal ikke kommer fram i olje- og alge-tilsatte sediment.

4.1.3 Miljøgifter

Både for Cd og TBT var det tilsynelatende lavere konsentrasjoner av miljøgifter i det øverste sedimentlaget i akvarier med olje-tilsetning. Denne forskjellen er trolig knyttet til metoden som ble benyttet for å etablere sedimentet. Det er mulig at tilstedeværelsen av olje ga en noe langsommere utsynking av finpartikulært materiale, noe som så førte til at dette materialet med dets miljøgifter ble skylt ut når gjennomstrømningen ble satt på etter to døgn. Disse forskjellene var imidlertid ikke statistisk signifikante og vil ikke ha vesentlig betydning for andre konklusjoner. Alle sedimentene lakk ut Cd etter at forsøket var startet (målt som Cd-akkumulering i blåskjell), men det var ingen forskjeller mellom behandlingene.

4.1.4 Betydning av bioturbasjon

I begge behandlingene (tilsetning av alger eller olje) var det tegn til at tilstedeværelsen av *A. marina* førte til reduserte konsentrasjoner av Cd i overflatelaget og økte konsentrasjoner lenger ned i sedimentet. Denne effekten var klarest i akvariene med tilsetning av alger og ikke tilstede i akvarier uten tilsetning. Resultatene tyder på at denne arten reduserer opptaket av sediment hvis det ikke har over et visst innhold av organisk materiale. Videre synes det som om *A. marina* oppfatter olje eller andre egenskaper ved olje-kontaminert sediment (f.eks. forhøyd mikrobiell biomasse) som "organisk materiale" siden bioturbasjonen (og ned-transporten av Cd) var sterkere her enn i sedimentet som ikke hadde fått noen tilsetning.

4.2 Effekter av alge- og oljetilsetning på bioakkumulering

Tilsetning av alger eller olje hadde klare effekter på bioakkumulering av både Cd, klororganiske stoffer og organiske tinnforbindelser i *H. diversicolor*. For alle miljøgiftene førte tilstedeværelsen av olje i sedimentet til redusert akkumulering i forhold til børstemark i kontroll-akvariene og i akvariene som ble anrikt med alger. Det var også tegn til at tilsetning av alger økte akkumulering av Cd i forhold til kontroll, noe som er i overensstemmelse med tidligere observasjoner (Schaanning et al., 1996). Denne effekten ble imidlertid borte der det også var fjæremark tilstede i sedimentet.

Økt akkumulering av Cd var knyttet til vekst hos *H. diversicolor* slik at den eneste gruppen som hadde vekst (algetilsetning men ikke bioturbasjon) var også den som akkumulerte mest Cd.

Tilsetning av olje førte til redusert akkumulering av organiske tinnforbindelser i *H. diversicolor*. I gruppene som akkumulerte mest (uten olje) var det en større andel TBT i forhold til nedbrytningsproduktene MBT og DBT sammenlignet med gruppene som akkumulerte minst. Dette er neppe en effekt av oljen, men reflekterer muligens en kontinuerlig akkumulering av TBT og en begrenset kapasitet til metabolisering. Det er også mulig at MBP, DBT eller TBT inhiberer sin egen nedbrytning. Akkumuleringsmønsteret for PCB i *H. diversicolor* var likt det som ble funnet for de organiske tinnforbindelsene.

Det var ikke store forskjeller i innholdet av TOC i sedimentet (1-1.8%). Det observerte akkumuleringsmønsteret for alle miljøgiftene i *H. diversicolor* kan imidlertid også tilsynelatende være relatert til TOC i overflatesedimentet. Det var minst TOC i overflatesedimentet i olje-behandlet sediment, der børstemarken akkumulerte minst, og mest TOC i overflatesedimentet i algetilsatt og det ene kontroll-sedimentet, der børstemarken akkumulerte mest. TOC kan altså også trekkes inn som en forklaringsvariabel, noe som også har blitt funnet tidligere (Hylland et al., 1996; Schanning et al., 1996).

Også for *A. marina* var det høyere akkumulering av Cd i akvarier med algetilsetning. Som nevnt ovenfor er det mulig at denne arten reduserer fødeopptaket når det organiske innholdet i sedimentet synker under en terskelverdi. Akkumuleringen av Cd var lavest i kontroll-akvariene. Det er imidlertid uklart hvorfor dette akkumuleringsmønsteret ikke også omfatter organotinn. For organotinn var det ingen forskjeller i bioakkumulering mellom gruppene, selv om alle gruppene akkumulerte TBT til nivåer 4-6 x nivået før start av forsøket.

Det var ingen effekter av hverken bioturbasjon, alge- eller oljetilsetning på akkumulering av Cd i blåskjell, *Mytilus edulis*. Ingen av behandlingene hadde altså tilsynelatende effekt på utlekking av Cd fra sedimentet.

4.3 Effekter av bioturbasjon på bioakkumulering

Det var ingen effekt av bioturbasjon på akkumuleringa av organotinn eller PCB, men det var en tendens til at økt bioturbasjon ga lavere akkumulering av Cd. Dette var imidlertid bare synlig i de behandlingene der det var en målbar akkumulering av Cd (altså ikke i sediment med olje tilsatt). Den sannsynlige årsaken til dette er at veksten også var bedre i akvarier uten bioturbasjon (se nedenfor) og at *H. diversicolor* akkumulerer mer Cd når den vokser (og altså har høyere metabolisme) enn når den ikke vokser.

4.4 Biologiske effekter

Noe av det mest påtagelige i resultatene for biomasseforandring hos *H. diversicolor* var de store forskjellene mellom akvarier som hadde fått samme behandling. Både med hensyn til total biomasse og individuell vektendring (av de overlevende) var det best betingelser i akvarier med alger tilsatt. For total biomasse var de to andre gruppene (tilsatt olje og kontroll) like, men det var høyere dødelighet i to av akvariene med olje tilsatt. Det var derfor tilsynelatende noe bedre utvikling for de individene som overlevde i olje-behandlede akvarier enn i sediment uten tilsetning.

Bioturbasjon (hovedsakelig ved *A. marina*) var høyest i akvarier med alger tilsatt og tilsynelatende lavest i akvarier uten tilsetning. I sediment med olje tilsatt var det tegn til at bioturberende aktivitet ved fjæremark var noe høyere enn i kontroll-sediment. Det var bare små forskjeller mellom sediment uten *A. marina*, men kontroll-gruppen syntes her å ha minst aktivitet, mens det var mest aktivitet i olje-behandlet sediment.

5. Konklusjoner

Ved starten av forsøket ble det satt opp et sett problemstillinger som skulle besvares for å kunne oppnå målene ved prosjektet. Svarene vil også være konklusjoner for prosjektet.

Påvirker olje bioakkumulering av miljøgifter i sediment?

Ja, men det er klare artsforskjeller. Mens olje entydig reduserte akkumulering (Cd, TBT, PCB) i børstemarken *H. diversicolor*, var det ingen effekt av olje på bioakkumulering av TBT i fjæremark *A. marina*. Hos fjæremark var det til og med tegn til at tilsetning av olje kunne øke akkumulering av Cd (men mindre enn ved tilsetning av organisk materiale).

Har tilstedeværelsen av olje negative effekter på vekst eller bioturbasjon hos utvalgte sedimentlevende organismer?

Det var ingen åpenbare negative effekter på hverken vekst eller bioturbasjon i sediment med olje-tilsetning i forhold til kontroll-sediment. Hvis noe, var bioturbasjonen noe høyere i olje-behandlet sediment. Vekst og bioturbasjon var imidlertid klart høyest i sediment der det hadde blitt tilsatt alger.

Vil det lekke mer eller mindre miljøgifter fra et sediment der også olje er tilstede?

I dette systemet synes det ikke å være noen effekt av oljetilsetning på utlekkingen av Cd. Slik utlekking vil åpenbart også være avhengig av strømstyrke og andre faktorer som påvirker resuspensjon. Det ble imidlertid observert slike forskjeller i et eksperiment der reduserte oksygenkonsentrasjoner ga lavere utlekking av Cd, mens tilsetning av organisk materiale økte utlekkingen (Hylland et al., 1997).

Vil bioturbasjon påvirke effektene av olje og/eller miljøgifter på bioakkumulering og/eller vekst?

Ulike arter vil ha ulike typer bioturberende aktivitet. Fjæremark vil transportere mye sediment fra overflaten ned til dypere lag, men feces avsettes på overflaten (men såpass "rolig" at det trolig ikke bidrar vesentlig til økt resuspensjon). I dette forsøket ga fjæremark tilsynelatende en noe økt transport av Cd (og trolig de organiske miljøgiftene) fra overflatelag, men denne effekten var svak.. Resultatene kan tyde på at tilstedeværelsen av bioturberende organismer gir redusert akkumulering av noen miljøgifter hos ikke-turberende arter (som *H. diversicolor*). Det er imidlertid minst to forklaringer: En stadig forstyrrelse av sedimentet kan føre til en stress-situasjon for andre arter (og derved redusert vekst). En annen mulighet er at organisk materiale effektivt fjernes av arter som fjæremark og derved tas ut av næringsveiene til ikke-turberende arter. Bioturbasjon hadde tilsynelatende en negativ effekt på vekst hos *H. diversicolor*. Resultatene funnet her tyder ikke på at økt bioturbasjon fører til økt tilgjengelighet av miljøgifter og derved økt bioakkumulering.

6. Referanser

- Bridges, T.S. (1996). Effects of organic additions to sediment, and maternal age and size, on patterns of offspring investment and performance in two opportunistic deposit-feeding polychaetes. *Mar. Biol.*, **125**, 345-357.
- Conides, A., Diapoulis, A., Koussouris, T. (1996). Ecological study of an oil polluted coastal lake ecosystem in Greece. *Fresenius environ. Bull.*, **5**, 324-332.
- Dunnett, C.W. (1955). A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J. Am. Stat. Ass.* **50**, 1096-1121.
- Hylland, K., Sköld, M., Gunnarsson, J.S., Skei, J. (1996). Interactions between eutrophication and contaminants. IV. Effects on sediment-dwelling organisms. *Mar. Pollut. Bull.*, **33**, 90-99.
- Hylland, K., Schaanning, M., Skei, J., Berge, J.A., Eriksen, D.Ø., Sköld, M., Gunnarsson, J. (1997). Interaction between eutrophication and contaminants – partitioning, bioaccumulation and effects on sediment-dwelling organisms. NIVA-rapport 3700, 53 s.
- Levene, H. (1960) Robust tests for the equality of variances. I: Olkin, I. (red.) *Contributions to probability and statistics*, Stanford University Press.
- Levin, L., Caswell, H., Bridges, T., DiBacco, C., Cabrera, D., Plaia, G. (1996). Demographic responses of estuarine polychaetes to pollutants: life table response experiments. *Appl. Ecol.*, **6**, 1295-1313.
- Pihl, L., Magnusson, G., Isaksson, I. and Wallentinus, I. (1996). Distribution and growth dynamics of ephemeral macroalgae in shallow bays on the Swedish west coast. *J. Sea Res.* **35**, 169-180.
- Schaanning, M.T., Berge, J.A., Hylland, K., Eriksen, D.Ø., Selnæs, T.D. and Skei, J. (1996) Interactions between eutrophication and contaminants. II. Mobilisation and bioaccumulation of Hg and Cd from spiked marine sediments. *Mar. Pollut. Bull.*, **33**, 71-79.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. (1981). *Biometry*, 2nd edn. New York: W.H. Freeman & Co.

Vedlegg A. Organisk karbon og Cd i sediment

Totalt organisk karbon (TOC) og kadmium (Cd) i sediment.

| akvarium | kode | olje | alger | bioturbasjon | dyp | tidspunkt | TOC (µg/mg) | Cd (µg/g) |
|----------|------|------|-------|--------------|-----|-----------|-------------|-----------|
| 1 | OR | 1 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 14,2 | 2,24 |
| 1 | OR | 1 | 0 | 0 | 1-2 | slutt | 12,5 | 1,10 |
| 1 | OR | 1 | 0 | 0 | 2-* | slutt | 10,7 | 0,11 |
| 2 | NR | 0 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 16,2 | 3,44 |
| 2 | NR | 0 | 0 | 0 | 1-2 | slutt | 13,7 | 1,05 |
| 2 | NR | 0 | 0 | 0 | 2-* | slutt | 10,8 | 0,10 |
| 3 | AR | 0 | 1 | 0 | 0-1 | slutt | 17,1 | 3,56 |
| 3 | AR | 0 | 1 | 0 | 1-2 | slutt | 13,3 | 0,61 |
| 3 | AR | 0 | 1 | 0 | 2-* | slutt | 10,9 | 0,09 |
| 4 | NR | 0 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 17,8 | 2,84 |
| 4 | NR | 0 | 0 | 0 | 1-2 | slutt | 19 | 1,07 |
| 4 | NR | 0 | 0 | 0 | 2-* | slutt | 12,7 | 0,09 |
| 5 | OB | 1 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 12,8 | 1,90 |
| 5 | OB | 1 | 0 | 1 | 1-2 | slutt | 10,4 | 0,11 |
| 5 | OB | 1 | 0 | 1 | 2-* | slutt | 12,1 | 1,01 |
| 6 | OB | 1 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 11,9 | 1,34 |
| 6 | OB | 1 | 0 | 1 | 1-2 | slutt | 10,6 | 0,28 |
| 6 | OB | 1 | 0 | 1 | 2-* | slutt | 10,5 | 0,09 |
| 7 | AB | 0 | 1 | 1 | 0-1 | slutt | 15 | 2,04 |
| 7 | AB | 0 | 1 | 1 | 1-2 | slutt | 13,6 | 1,32 |
| 7 | AB | 0 | 1 | 1 | 2-* | slutt | 12,7 | 0,13 |
| 8 | NB | 0 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 18,9 | 3,38 |
| 8 | NB | 0 | 0 | 1 | 1-2 | slutt | 11,8 | 1,13 |
| 8 | NB | 0 | 0 | 1 | 2-* | slutt | 11,4 | 0,13 |
| 9 | AB | 0 | 1 | 1 | 0-1 | slutt | 16 | 2,55 |
| 9 | AB | 0 | 1 | 1 | 1-2 | slutt | 8,2 | 0,26 |
| 9 | AB | 0 | 1 | 1 | 2-* | slutt | 11,8 | 0,40 |
| 10 | OB | 1 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 13,6 | 2,11 |
| 10 | OB | 1 | 0 | 1 | 1-2 | slutt | 11,9 | 0,92 |
| 10 | OB | 1 | 0 | 1 | 2-* | slutt | 11 | 0,10 |
| 11 | NB | 0 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 9,7 | 3,09 |
| 11 | NB | 0 | 0 | 1 | 1-2 | slutt | 9,4 | 0,59 |
| 11 | NB | 0 | 0 | 1 | 2-* | slutt | 17,4 | 0,11 |
| 12 | NB | 0 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 10,8 | 2,10 |
| 12 | NB | 0 | 0 | 1 | 1-2 | slutt | 11,7 | 1,22 |
| 12 | NB | 0 | 0 | 1 | 2-* | slutt | 13,9 | 0,17 |
| 13 | OR | 1 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 13,1 | 2,82 |
| 13 | OR | 1 | 0 | 0 | 1-2 | slutt | 10,2 | 0,43 |
| 13 | OR | 1 | 0 | 0 | 2-* | slutt | 11,8 | 0,10 |
| 14 | AB | 0 | 1 | 1 | 0-1 | slutt | 16,6 | 2,14 |
| 14 | AB | 0 | 1 | 1 | 1-2 | slutt | 10,9 | 0,25 |
| 14 | AB | 0 | 1 | 1 | 2-* | slutt | 12 | 0,29 |
| 15 | AR | 0 | 1 | 0 | 0-1 | slutt | 17,2 | 2,79 |
| 15 | AR | 0 | 1 | 0 | 1-2 | slutt | 11,5 | 0,46 |
| 15 | AR | 0 | 1 | 0 | 2-* | slutt | 10,1 | 0,14 |

| | | | | | | | |
|-------|---|---|---|-----|-------|------|------|
| 16 OR | 1 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 13,3 | 2,15 |
| 16 OR | 1 | 0 | 0 | 1-2 | slutt | 11 | 0,40 |
| 16 OR | 1 | 0 | 0 | 2-* | slutt | 11,7 | 0,11 |
| 17 NR | 0 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 17,3 | 3,47 |
| 17 NR | 0 | 0 | 0 | 1-2 | slutt | 11,6 | 0,44 |
| 17 NR | 0 | 0 | 0 | 2-* | slutt | 10,4 | 0,11 |
| 18 AR | 0 | 1 | 0 | 0-1 | slutt | 17,6 | 3,27 |
| 18 AR | 0 | 1 | 0 | 1-2 | slutt | 11,9 | 0,68 |
| 18 AR | 0 | 1 | 0 | 2-* | slutt | 9,9 | 0,12 |
| AB | 0 | 1 | 1 | 0-1 | slutt | 13,6 | 1,74 |
| AR | 0 | 1 | 0 | 0-1 | slutt | 20,1 | 3,12 |
| NB | 0 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 13,5 | 2,03 |
| NR | 0 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 17,8 | 3,27 |
| OB | 1 | 0 | 1 | 0-1 | slutt | 14,8 | 2,45 |
| OR | 1 | 0 | 0 | 0-1 | slutt | 14 | 2,22 |
| AR | 0 | 1 | | 0-1 | start | 14,7 | |
| NR | 0 | 0 | | 0-1 | start | 11,7 | |
| OR | 1 | 0 | | 0-1 | start | 12,4 | |

Vedlegg B. TBT og PCB i sediment og børstemark

mbt – monobutyltinn; dbt – dibutyltinn; mft – monofenyltinn, tft – trifenyltinn; tbt – tributyltinn

Konsentrasjoner av organotinn i sediment (ng Sn/g tørt sediment)

| behandling | mbp | dbt | mft | tft | tbt |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Olje tilsatt | 24 | 30 | 0 | 0 | 137 |
| Alger tilsatt | 26 | 33 | 0 | 0 | 180 |
| Referanse | 28 | 40 | 0 | 0 | 195 |

Konsentrasjoner av organotinn og PCB i *Hediste diversicolor* (hhv ng Sn/g tørt vev og ng/g tørt vev)

| behandling | mbp | dbt | mft | tft | tbt | PCB- 101 | PCB- 138 | PCB- 156 | PCB ₇ |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|-------------|-------------|------------------|
| OB | 114 | 88 | 27 | 0 | 27 | 13,3 | 91,2 | 7,2 | 248 |
| OR | 113 | 89 | 37 | 0 | 30 | 15,1 | 80,6 | 7,1 | 230 |
| NB | 253 | 216 | 21 | 0 | 118 | 66,2 | 337 | 34 | 961 |
| NR | 305 | 202 | 28 | 0 | 130 | 62,0 | 293 | 32,4 | 884 |
| 0 | 15 | 11 | 0 | 0 | 8 | | | | |

Konsentrasjoner av organotinn i *Arenicola marina* (ng Sn/g tørt vev) – 3 replikater for hver behandling.

| behandling | mbt | dbt | tft | tbt |
|------------|-----|-----|-----|-----|
| AB | 6 | 81 | 14 | 129 |
| | 16 | 164 | 14 | 528 |
| | 5 | 88 | 10 | 151 |
| NB | 4 | 88 | 14 | 106 |
| | 8 | 100 | 14 | 364 |
| | 7 | 85 | 12 | 297 |
| OB | 0 | 58 | 0 | 120 |
| | 8 | 106 | 12 | 345 |
| | 4 | 69 | 14 | 144 |
| 0 | 3 | 31 | 12 | 54 |

Vedlegg C. Cd i organismer

Konsentrasjoner av Cd i organismer ($\mu\text{g/g}$ tørt vev)

| akvarium | organisme | Cd | behandling |
|----------|--------------|------|------------|
| | 1 mytilus | 1,09 | OR |
| | 2 mytilus | 1,07 | NR |
| | 3 mytilus | 0,92 | AR |
| | 4 mytilus | 1,01 | NR |
| | 5 mytilus | 0,67 | OB |
| | 6 mytilus | 1,32 | OB |
| | 7 mytilus | 1,28 | AB |
| | 8 mytilus | 0,78 | NB |
| | 9 mytilus | 0,78 | AB |
| | 10 mytilus | 0,85 | OB |
| | 11 mytilus | 1,32 | NB |
| | 12 mytilus | 1 | NB |
| | 13 mytilus | 1,11 | OR |
| | 14 mytilus | 1,17 | AB |
| | 15 mytilus | 1,1 | AR |
| | 16 mytilus | 1,1 | OR |
| | 17 mytilus | 0,65 | NR |
| | 18 mytilus | 0,79 | AR |
| | 5 arenicola | 0,56 | OB |
| | 6 arenicola | 0,68 | OB |
| | 7 arenicola | 0,72 | AB |
| | 8 arenicola | 0,35 | NB |
| | 9 arenicola | 1,14 | AB |
| | 10 arenicola | 0,77 | OB |
| | 11 arenicola | 0,42 | NB |
| | 12 arenicola | 0,57 | NB |
| | 14 arenicola | 1,11 | AB |
| | 0 arenicola | 0,29 | 0 |
| ref | arenicola | 1,02 | REF |
| ref | arenicola | 0,51 | REF |
| | 1 nereis | 0,09 | OR |
| | 2 nereis | 0,55 | NR |
| | 3 nereis | 0,89 | AR |
| | 4 nereis | 0,42 | NR |
| | 5 nereis | 0,15 | OB |
| | 6 nereis | 0,16 | OB |
| | 7 nereis | 0,31 | AB |
| | 8 nereis | 0,44 | NB |
| | 9 nereis | 0,44 | AB |
| | 10 nereis | 0,16 | OB |
| | 11 nereis | 0,35 | NB |
| | 12 nereis | 0,28 | NB |
| | 13 nereis | 0,17 | OR |
| | 14 nereis | 0,33 | AB |
| | 15 nereis | 0,61 | AR |

| | | |
|-----|-----------|----------|
| | 16 nereis | 0,18 OR |
| | 17 nereis | 0,41 NR |
| | 18 nereis | 0,36 AR |
| ref | nereis | 0,16 REF |
| ref | nereis | 0,09 REF |
| ref | nereis | 0,11 REF |

Vedlegg D. Vanngjennomstrømning i akvariene

Vanngjennomstrømning ved slutten av forsøket .

| akvarium | kode | gjennomstrømning (ml/min) |
|----------|------|------------------------------|
| 1 | OR | 130 |
| 2 | NR | 480 |
| 3 | AR | 570 |
| 4 | NR | 106 |
| 5 | OB | 420 |
| 6 | OB | 540 |
| 7 | AB | 420 |
| 8 | NB | 40 |
| 9 | AB | 140 |
| 10 | OB | 90 |
| 11 | NB | 140 |
| 12 | NB | 90 |
| 13 | OR | 660 |
| 14 | AB | 660 |
| 15 | AR | 144 |
| 16 | OR | 132 |
| 17 | NR | 160 |
| 18 | AR | 460 |

Vedlegg E. Redoks-potensiale

Redoks-potensial i sediment fra hvert akvarium

| | behandling | 18.10.96 | 07.11.96 | 03.12.96 |
|--------|------------|----------|----------|----------|
| Akv.1 | OR | 41 | 85 | 125 |
| Akv.2 | NR | 70 | 57 | 130 |
| Akv.3 | AR | 75 | 43 | 132 |
| Akv.4 | NR | 56 | 70 | 175 |
| Akv.5 | OB | 55 | 46 | 103 |
| Akv.6 | OB | 66 | 35 | 120 |
| Akv.7 | AB | 52 | 45 | 153 |
| Akv.8 | NB | 60 | 81 | 155 |
| Akv.9 | AB | 62 | 98 | 138 |
| Akv.10 | OB | 55 | 119 | 133 |
| Akv.11 | NB | 56 | 65 | 145 |
| Akv.12 | NB | 63 | 75 | 168 |
| Akv.13 | OR | 51 | 88 | 185 |
| Akv.14 | AB | 71 | 64 | 130 |
| Akv.15 | AR | 55 | 48 | 145 |
| Akv.16 | OR | 70 | 56 | 110 |
| Akv.17 | NR | 65 | 43 | 145 |
| Akv.18 | AR | 34 | 77 | 185 |

Vedlegg F. Overlevelse og vekst

Hediste diversicolor i akvarier ved slutten av forsøket

| akvarium | antall | biomasseforandring | størrelsesforandring |
|----------|--------|--------------------|----------------------|
| 1 | 6 | -5,705 | -0,024 |
| 2 | 18 | -1,256 | -0,036 |
| 3 | 20 | 0,539 | 0,027 |
| 4 | 14 | -2,041 | -0,027 |
| 5 | 14 | -3,168 | -0,064 |
| 6 | 16 | -1,101 | -0,002 |
| 7 | 13 | -2,946 | -0,024 |
| 8 | 17 | -0,996 | -0,012 |
| 9 | 17 | -0,871 | 0,002 |
| 10 | 16 | -0,962 | 0,002 |
| 11 | 15 | -0,807 | 0,010 |
| 12 | 15 | -1,745 | -0,024 |
| 13 | 18 | -0,702 | -0,019 |
| 14 | 18 | 0,157 | 0,030 |
| 15 | 16 | -0,036 | 0,041 |
| 16 | 15 | -0,962 | -0,005 |
| 17 | 16 | -0,940 | -0,011 |
| 18 | 17 | -0,022 | 0,026 |

Vedlegg G. Temperatur og salinitet

Figuren illustrerer temperatur og salinitet i tilført vann i forsøksperioden.

