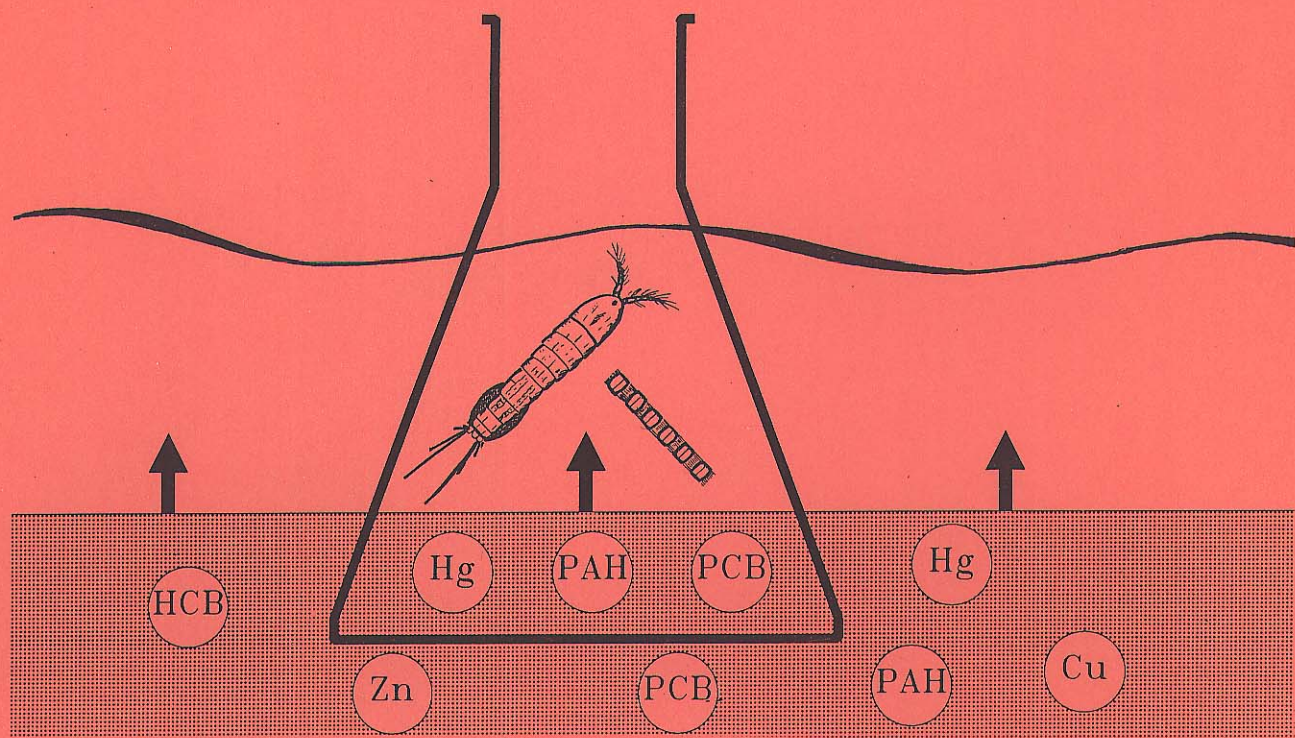




O-89157

Testing av forurensede marine sedimenter Klassifisering og giftighet



NIVA – RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Hovedkontor Postboks 69, Korsvoll 0808 Oslo 8 Telefon (02) 23 52 80 Telefax (02) 39 41 89	Sørlandsavdelingen Televeien 1 4890 Grimstad Telefon (041) 43 033 Telefax (041) 43 033	Østlandsavdelingen Rute 866 2312 Ottestad Telefon (065) 76 752 Telefax (065) 78 402	Vestlandsavdelingen Breiviken 5 5035 Bergen-Sandviken Telefon (05) 95 17 00 Telefax (05) 25 78 90
--	---	--	--

Prosjektnr.: 0-89157
Undernummer:
Løpenummer: 2449
Begrenset distribusjon:

Rapportens tittel: Testing av forurensede marine sedimenter - Klassifisering og giftighet	Dato: 11.07.90
	Prosjektnummer: 0-89157
Forfatter (e): Torsten Källqvist Jens Skei	Faggruppe: Analyse
	Geografisk område:
	Antall sider (inkl. bilag): 40

Oppdragsgiver: Statens Forurensningstilsyn	Oppdragsg. ref. (evt. NTNf-nr.): I. Austrheim
--	---

Ekstrakt:

En vurdering av metoder for karakterisering og klassifisering av marine sedimenter m.h.t. gifteffekter er foretatt på grunnlag av gjennomgang av litteratur og innledende forsøk med aktuelle biologiske testmetoder. Konklusjonen er at et sett av biologiske tester kan brukes til klassifisering av sedimentkvalitet. Systemet foreslås utprøvet på et større prøvemateriale av sedimenter fra ulike, forurensede områder.

4 emneord, norske:

1. Sedimenter
2. Miljøgifter
3. Økotoksikologi
4. Biotester

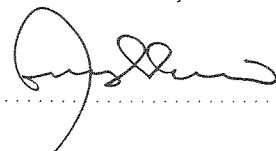
4 emneord, engelske:

1. Sediments
2. Pollutants
3. Ecotoxicology
4. Biological testing

Prosjektleder:


Torsten Källqvist

For administrasjonen:


Jens Skei

ISBN 82-577-1759-2

Norsk Institutt for Vannforskning

0-89157

TESTING AV FORURENSEDE MARINE SEDIMENTER

KLASSIFISERING OG GIFTIGHET

NIVA, Oslo 30.05.90

Prosjektleder: Torsten Källqvist

Medarbeidere: Jens Skei
Harry Efraimsen
Jozsef Kotai
Randi Romstad
Aud Helland

FORORD

På oppdrag av Statens Forurensningstilsyn er det foretatt en gjennomgang av litteratur om sedimentkvalitetskriterier og biologisk testing av sedimenter for å finne frem til et opplegg for kartlegging av forurensningsgrad og prioritering av tiltak i forurensede fjorder. Det er også foretatt innledende forsøk med ekstraksjons- og testmetoder for biologiske tester av giftighet i marine sedimenter.

Litteratursøkingen er foretatt dels ved søking i databaser som dekker vannforurensning og miljøtoksikologi og litteratur tilgjengelig ved NIVAs bibliotek. Berit Kramer og Aud Helland har fremskaffet mesteparten av den litteratur som er gjennomgått.

Bearbeiding av sedimenter for biologiske tester er utført av Aud Helland. Jozsef Kotai har utført den organiske ekstraksjonen av sedimentprøver. Toksisitetstestene ble utført av Harry Efraimsen, Randi Romstad og Torsten Källqvist.

Rapporten er sammenstilt av Torsten Källqvist i samarbeid med Jens Skei.

INNHOLDSFORTEGNELSE

Avsnitt	Side
1. Sammendrag og konklusjoner	4
2. Behov og anvendelsesområder for sediment- kvalitetskriterier	7
3. Metoder for fastlegging av sedimentkvalitets- kriterier	8
4. Sedimentbiotester - oversikt over metodikk	11
4.1. Eksponeringsmetode	11
4.2. Prøvetaking	16
4.3. Oppbevaring av prøver	17
5. Eksempler på anvendelse av biologiske sedimenttester	18
6. Innledende forsøk med biologisk testing av sedimentprøver	24
6.1. Sedimenter	25
6.2. Forbehandling av sedimentprøver	26
6.3. Testmetoder	27
6.4. Resultat	28
7. Konklusjoner og anbefalinger	33
8. Referenser	36

1. SAMMENDRAG OG KONKLUSJONER

En gjennomgang av litteratur om sedimentkvalitetskriterier og sediment-biotester er foretatt for å finne frem til egnede fremgangsmåter for klassifisering av marine sedimenter m.h.t. innhold av forurensningskomponenter med giftvirkning.

Vannkvalitetskriterier er som regel stoff-spesifikke, d.v.s. de er basert på konsentrasjoner av enkelt-forbindelser i sedimenter. De kan fastlegges enten ved sammenligning med bakgrunnsnivåer eller på bakgrunn av ulike biologiske effekter. Ulike systemer for fastlegging av sedimentkvalitetskriterier er beskrevet i avsnitt 3.

Et system for klassifisering av sedimenter m.h.t. forurensningsgrad behøver ikke å være basert på kjemisk karakterisering av forurensningskomponenter, men kan i stedet ta utgangspunkt i biologiske effekter som kan undersøkes in situ (bunnfauna, fysiologiske stressindikasjoner etc.) eller ved biologiske tester. Biologiske tester har flere fortrinn i denne forbindelse ved at de:

- * Tar hensyn til giftstoffenes tilstandsform og biologiske tilgjengelighet.
- * Kan standardiseres - gir grunnlag for sammenligninger f. eks. utviklingstrender og regionale kartlegginger.
- * Kan gi informasjon om dose/respons-forhold - mulighet for gradering av gifteffekter.
- * Er direkte effektrelatert
- * Er forholdsvis lite resurskrevende

De biologiske testenes viktigste begrensninger består i at de:

- * Ikke er representative for alle naturlig forekommende organismer (krever et batteri av tester)
- * Gir lite informasjon om hva som spesifikt er årsak til eventuelle gifteffekter-
- * Ikke kan forutsi alle toksiske effekter ved langtidseksponering i et økosystem

En oversikt over aktuelle biologiske testmetoder er gitt i avsnitt 4. Et stort antall ulike testmetoder er utviklet for måling av toksisitet i sedimenter. Testmetodene kan inndeles i tre kategorier m.h.t. hvordan eksponeringen til sedimentet skjer:

- * Eksponering til fast sediment
- * Eksponering til elutriat (vannekstrakt) eller porevann
- * Eksponering til ekstrakt (organisk løsningsmiddel)

Ved eksponering til fast sediment brukes gjerne testorganismer som oppholder seg i sedimenter. Dette gir den mest "totale" eksponeringen, hvor testorganismen blir eksponert både via vannfasen og ved direkte kontakt med partikkelfasen. Allikevel er ikke alltid tester med eksponering til fast sediment de mest "følsomme". Til ulempene med denne testkategorien hører at de er lite standardisert, er forholdsvis arbeidskrevende og at de ikke lett gir informasjon om dose/responsforløp.

Ved eksponering til vannekstrakt eller porevann kan standard testmetoder for vannløselige stoffer og avløpsvann benyttes. Mange forholdsvis enkle metoder er tilgjengelige. Den viktigste ulempen er at eksponeringsmåten ikke er representativ for de organismer som hovedsakelig eksponeres ved direkte kontakt, evt. spising av sediment.

Ekstraksjon av organiske giftstoffer med løsningsmiddel for biologisk testing øker muligheten for å detektere organiske miljøgifter i sedimentene. Denne metoden tar imidlertid ikke hensyn til stoffenes biologiske tilgjengelighet i sedimentene. Ved at eksponeringen skjer i vannfasen er en rekke standard testmetoder-og organismer tilgjengelige.

Eksempler på bruk av biologiske sedimenttester er beskrevet i avsnitt 5. Testene er blitt brukt som grunnlag for sedimentkvalitetskriterier eller til kartlegging av forurensningsgrad i sedimenter i kystområder, elver og innsjøer.

De fleste resultater viser klar sammenheng mellom antatt forurensningsbelastning og sedimentgiftighet. Det er imidlertid ofte vanskelig å forklare gifteeffektene ut fra innholdet av analyserte enkeltforbindelser p.g.a. forskjeller i biologisk tilgjengelighet og at flere giftstoffer ofte er tilstede samtidig.

I de fleste tilfelle hvor flere biologiske tester er benyttet har man

funnet at et batteri av tester gir det beste samlede bildet av forurensningsgraden. Testene kompletterer hverandre ved at de representerer ulike eksponeringsveier og toksikologiske mekanismer.

Resultater av innledende forsøk med tester av sedimenter fra norske fjorder er beskrevet i avsnitt 6. Testene er utført på elutriat og ekstrakter fra sedimenter og med en marin planktonalge (Skeletonema costatum) og en copepode (Nitocra spinipes) som testorganismer.

Tester av sediment-elutriat viste klare gifteffekter i metallforurensede sedimenter fra Ballangen, men ikke i sedimenter fra Frierfjorden. Giftvirkning i organiske sedimentekstrakt ble påvist i Frierfjorden og Ranafjorden men ikke i ekstrakt fra en referansestasjon i Ofotfjorden. Testen med Skeletonema var gjennomgående den mest følsomme av de to testmetodene.

Resultatene tyder på at testmetodene kan egne seg for enkel kartlegging av sedimentkvalitet i norske fjorder, men et større erfaringsgrunnlag er nødvendig for å fastlegge kriterier for klassifisering.

Testene bør suppleres med en biologisk test med eksponering til fast sediment.

Det anbefales at sedimenter fra lokaliteter med ulik forurensningsbelastning samles inn for utprøving av et testopplegg for klassifisering av sedimentkvalitet i f. eks. tre kategorier. På grunnlag av resultatene utarbeides kriterier for klassifisering. Prøvetakingen kan senere utvides med sikte på en kartlegging av sedimentkvalitet i norske kystområder.

2. BEHOV OG ANVENDELSESOMRÅDER FOR SEDIMENTKVALITETSKRITERIER

For mange miljøgifter er de økologiske effektene tilstrekkelig godt kartlagt ved biologisk testing til at man har kunnet fastlegge vannkvalitetskriterier, d.v.s. den konsentrasjon av miljøgiftene som ikke gir påviselige skader på livet i vann. Eksempel på slike kriterier er EIFACs kriterier for metaller (Alabaster and Lloyd 1982) og U.S. EPAs vannkvalitetskriterier. Vannkvalitetskriteriene er fremkommet på grunnlag av biologiske tester og andre eksperimentelle undersøkelser hvor man prøver å bestemme den konsentrasjon av hvert enkelt stoff som ikke gir biologiske effekter.

Erfaringen har vist at oppfyllelse av vannkvalitetskriterier ikke alltid er tilstrekkelig for å unngå miljøeffekter. Spesielt organismer som lever nær eller i sedimentene blir ofte påvirket selv om vannkvalitetskriteriene ikke er overskridet. Dette skyldes at mange av de mest alvorlige miljøgiftene har en sterk affinitet til partikler. På den måten kan betydelige mengder miljøgifter lagres i sedimenter selv om konsentrasjonene i vannmassen til enhver tid er lav.

På grunn av miljøgiftenes bestandighet og dyrs gravende virksomhet i sedimentene, må vi regne med at de øvre 20-30 cm av et forurenset sediment vil forbli forurenset i lang tid, selv etter at tilførslene av miljøgifter stopper.

Denne trusselen utøves på fire måter:

- * Direkte utlekking av miljøgifter fra sedimentflaten (diffusjon via porevann).
- * Friggjøring av miljøgifter ved mekanisk påvirkning, f.eks. ved mudring.
- * Akkumulasjon av miljøgifter i organismer som lever på eller under sedimentoverflaten (børstemark, skalldyr etc.) og som utgjør en del av dietten til fisk som brukes til konsum.
- * Direkte skadevirkninger på bunnfisk (f.eks. flyndre, ål) eller andre organismer som lever i fysisk kontakt med et forurenset sediment.

Det er vesentlig å få konstatert graden av kontaminering av sediment og fastlagt risikoen for at noen av de problemer som er listet ovenfor skal

opptre. Dette er bakgrunnen for forsøkene på å etablere sedimentkvalitetskriterier.

Identifisering og klassifisering av "problemsedimenter" og kartlegging av utbredelse av forurensede (giftige) sedimenter forutsetter ikke bruk av stoff-spesifikke sedimentkvalitetskriterier, men problemstillinger og fremgangsmåter har mange fellestrekk. En oversikt over metoder for fastlegging av sedimentkvalitetskriterier gis nedenfor.

3. METODER FOR FASTLEGGING AV SEDIMENTKVALITETSKRITERIER

Forskjellige fremgangsmåter kan tenkes brukt for å utvikle sedimentkvalitetskriterier. Vanligst er å fastlegge kriterier for hver enkelt kjemikalie (og eventuelt kombinasjoner av kjemikalier). Bruken av kriteriene forutsetter altså en omfattende kjemisk karakterisering av sedimentene. Chapman (1989) beskriver 7 ulike alternativer for å utvikle slike kriterier:

1. Sammenligning av innhold av miljøgifter med sedimenter fra referenseområder (bakgrunnsverdier).
2. Bruk av vannkvalitetskriterier på porevann
3. Bruk av vannkvalitetskriterier og beregnede likevektskonsentrasjoner i porevann
4. Artsammensetning i bunnfauna.
5. Terskelnivåer for biologiske effekter
6. Biotester
7. "Sediment kvalitets triad" (kjemi, biotester og in situ biologi)

1. Sammenligning med bakgrunnskonsentrasjoner

Kriterier basert på bakgrunnsnivåer forutsetter at et referansesediment må defineres. Man må altså velge et "naturlig kontamineringsnivå", f. eks. fra et område med bare fjernttransportert forurensning. Denne fremgangsmåten tar altså ikke hensyn til effekter av kontamineringen.

2. Vannkvalitetskriterier brukt på porevann

Ved bruk av vannkvalitetskriterier på interstitialvann (porevann) blir kriteriene effektrelatert, men det er usikkert hvorvidt vannkvalitetskriteriene er relevante for å vurdere biologiske effekter i sedimentene. Sedimentlevende organismer eksponeres ikke til kjemikalier bare via interstitialvannet, men også ved opptak via partikler. Videre er prøvetakingen for analyse av interstitialvann vanskelig å standardisere.

3. Vannkvalitetskriterier og likevektskonsentrasjoner i porevann

Porevann-baserte kriterier er modifisert av Pavlou (1987) ved bruk av en modell for beregning av fordelingslikevekter for kjemikalier mellom sediment, vann og organismer. Modellen tar hensyn til betydningen av sedimentes karboninnhold for kjemikalienes fordeling. Det betyr at også kjemikalienes biotilgjengelighet indirekte blir tatt hensyn til. Biologiske effekter beregnes fra kroniske vannkvalitetskriteria. Det forutsettes at de sedimentlevende organismene blir eksponert til kjemikalier bare via porevannet og ikke direkte ved å spise partikler. Synergistiske/antagonistiske effekter blir ikke tatt hensyn til. Metoden forutsetter at en rekke analyser utføres for å karakterisere sedimentets fysiske/kjemiske egenskaper. Modellen er utviklet for upolare organiske forbindelser, men det bør være mulig å utvikle en modell også for metaller (Shea 1988). En generell modell for polare organiske stoffer er derimot vanskelig å lage.

En ulempe med å basere sedimentkvalitetskriteriene på vannkvalitetskriterier er at disse foreløpig bare eksisterer for et begrenset antall kjemikalier. I USA foreligger f. eks. bare kriterier for 10 uorganiske og 9 organiske stoffer på listen av "priority pollutants". Bland disse savnes f. eks. PAH.

4. Bunnfaunaundersøkelser

Ved samtidig kartlegging av bløtbunnfauna og kjemisk analyse av sedimenter i områder med varierende forurensningsbelastning kan man finne de høyeste konsentrasjonene som tolereres av f. eks. 95% av bunnfaunaen ("Screening level concentration approach" SLC). Fremgangsmåten krever et minimum av 20 stasjoner og 20 undersøkte bunndyrsarter for å fastlegge SLC for en kjemikalie. Datainnsamlingen blir derfor omfattende hvis ikke tilstrekkelig bakgrunnsmateriale allerede eksisterer. En fordel med denne fremgangsmåten er at kriteriene blir basert på observerte biologiske effekter i felt. En vanskelighet er å relatere observerte effekter til enkeltkjemikalier fordi flere forurensningskomponenter som regel forekommer samtidig. Uidentifiserte kjemikalier kan også komplisere tolkingen av feltobservasjonene. Ved analyse av bunnfauna må det også tas hensyn

til at også andre faktorer enn giftvirkning påvirker bunnfaunaen.

5. Terskelnivåer for biologiske effekter

En beslektet fremgangsmåte er den s.k. "Apparent effects treshold approach (AET)" som går ut på å finne den konsentrasjon av en kjemikalie over hvilken statistisk signifikante biologiske effekter (i forhold til referansesediment) kan observeres. Ulike biologiske indikatorer kan benyttes, f. eks. biotester, samfunnsstruktur i bunnfauna, skader på bunnlevende fisk eller bioakkumulering). Fremgangsmåten krever en stor database med kjemiske analyser og minst en biologisk indikator. En ulempe er at resultatene påvirkes sterkt av ikke analyserte giftstoffer i sedimentene. AET-verdier for marine sedimenter er fastlagt for 64 organiske og uorganiske kjemikalier i USA (Chapman 1989).

6. Biotester

Biologiske tester (giftighetstester) av sedimenter kan, sammen med kjemisk karakterisering brukes til å fastlegge konsentrasjonsnivåer av kjemikalier, enkeltvis og i blanding som gir biologiske effekter. Denne fremgangsmåten er analog med den som ble brukt for fastlegging av vannkvalitetskriterier av EPA i USA. Biologiske tester gir imidlertid også mulighet for en helt annen strategi, nemlig å bruke gifteffekt i stedet for konsentrasjoner av ulike kjemikalier som grunnlag for klassifisering av sedimenter. Fordeler med denne fremgangsmåten er at den ikke krever omfattende kjemiske analyser, at den tar hensyn til biologisk tilgjengelighet og virkningen av kjemikalier (også ukjente) i blanding.

Sedimentbiotester er spesielt egnet for identifisering av problem-sedimenter men gir ikke informasjon om hvilke kjemikalier som er årsak til problemene. Ulempene med å basere sedimentkvalitetskriteriene på biotester er bl.a. at biologiske tester av sediment er mer komplisert enn tester av kjemikalier i vann. Metodene er foreløpig ikke standardisert. Aktuell metodikk er beskrevet i avsn. 4.

7. "Sedimentkvalitetstriaden"

Sedimentkvalitetstriaden ("Sediment quality triad", Chapman 1989), inneholder elementer fra flere av de alternativer som er beskrevet ovenfor. Fremgangsmåten er basert på sammenhengen mellom tre ulike mål på sedimentkvalitet; konsentrasjoner av kjemikalier, sedimentbiotester og in situ effekter på bunnfauna, hvor man har definert "minimale" og "alvorlige" biologiske effekter. Fordelen med å kombinere tre ulike

kvalitetsmål er at feilkilder som skyldes naturlig variasjon og laboratorie-artefakter reduseres. Til ulempene h r at man foreløpig er usikker på tolking av biotestene og at det kreves en stor database. Videre kan resultatene påvirkes sterkt av ikke analyserte giftstoffer i sedimentene. Foreløpig er kriterier på grunnlag av sedimentkvalitetstriaden fastlagt for bly, PAH og PCB (Chapman 1989).

4. SEDIMENTBIOTETSTER – OVERSIKT OVER METODIKK

Toksisitetstester av sedimenter kan, som nevnt i foregående avsnitt, brukes dels til å fastlegge sedimentkvaliteskriterier for definerte kjemikalier enkeltvis eller i blanding, eller som direkte grunnlag for klassifisering av sedimenter. I det siste tilfellet er utgangspunktet den samlede effekten av kjemikaliebelastningen målt med biotester. Bruken av biotester til disse formålene forutsetter at det eksisterer egnede testmetoder. Sedimenttestene befinner seg i en tidlig fase av utviklingen sammenlignet med toksisitetstester i vannfasen, som er et etablert verktøy i karakterisering av kjemikaliers og avløpsvanns miljøeffekter. En rekke forskjellige tester som gir informasjon om gifteffekter av forurensningskomponenter i sedimenter på ulike marine- og ferskvannsorganismer er imidlertid utviklet og tatt i bruk for kartlegging av forurensningsbelastning i sedimenter.

Nedenfor gis en kort oversikt over ulike testkategorier og en omtale av ulike viktige forhold ved testing av sedimentprøver.

4.1. Eksponeringsmetode

Sedimentbiotester kan deles inn i tre hovedkategorier med hensyn til hvordan testorganismene eksponeres til sedimentet:

- * Eksposering til fast sediment
- * Eksposering til elutriat (vannekstrakt)
- * Eksposering til ekstrakt

Eksposering til fast substrat er den metodikk som mest etterligner den eksponeringssituasjonen som oppleves av bløtbunnsfaunaen. Testorganismene blir eksponert både til l ste forbindelser i vannfasen og stoffer som er adsorbent til partikler. Eksposeringen til partikkel-fasen vil imidlertid være avhengig av testorganismenes adferd. Organismer som graver i, og spiser av sedimentet f r den mest "totale" eksponeringen. Tester med sedimentlevende organismer eller andre

organismer i direkte kontakt med sedimenter har vært gjort både i ferskvann og sjøvann. Eksempler på organismer og testresponser som er brukt er gitt i tabell 1.

Tabell 1. Oversikt over testorganismer brukt i toksisitetstester med eksponering til fast sediment.

Testorganisme	Respons	Sjø/Fersk/Brakk.	Ref.
Pelecypoder	dødelighet	S	Swartz et al. 1979
Polycheter	"	S	" " " "
Amfipoder	"	S	" " " "
Cumaceer	"	S	" " " "
Nematoder	død. vekst	S	Tietjen & Lee 1984
Fisk	død. histopat.	S/B	Hargis et al. 1984
Reker	død	S/B	Alden et al. 1982
Reker	resp. osmoreg.	S/B	Alden et al. 1988
Døgnfluer	død.	F	Malueg et al. 1983,
Østers	egg/larve utv.	S	Chapman & Morgan 1983
Bakterier	luminiscens	S	Williams et al. 1986
Oligochaeter	respirasjon	S	Chapman 1987
Alger	fotosyntese	F	Munawar & Munawar 1987
Lansettfisk	adferd (graving)	S	Clark & Patrick 1987
Døgnfluer	dødelighet	F	Prater & Anderson 1977
Vannlopper	dødelighet	F	" " "
Isopoder	dødelighet	F	" " "
Polychaeter	død. adferd	S	Pesch & Hoffmann 1983
"Worms"	død. vekst. repr.	F	Wiederholm et al. 1987
Fisk	egg/larve utv.	F	van de Guchte & Maas-
Fjærmygglarver	død.	F	Diepeveen 1987
Vannlopper	død. reproduksjon	F	" " "
Vannlopper	dødelighet	F	Burton 1989
Blåskjell	død. utvikl.	S	Chapman et al. 1987
Copepoder	reproduksjon	S	" " " "
Muslinger	adferd (graving)	S	" " " "
Amfipode	død	F	Schuytema et al. 1989
Fjærmygglarver	vekst	F	Giesy et al. 1990
Døgnfluelarver	død.	F	" " " "

Hvis dose/responsforløpet og EC_{50} -eller LC_{50} verdier skal fastlegges i giftighetstester med hel-sedimenteksponering må gifteeffekten undersøkes i en konsentrasjonsserie av sedimentet. Denne kan lages ved å

blande sedimentprøven med et referanse-sediment fra en antatt ikke-forurenset lokalitet (Giesy et al. 1990).

Elutriat-eksponering

Ved tester av elutriat kan de fleste giftighetstester som er utviklet for testing av kjemikalier i vannløsning benyttes. Dette gir mulighet for å benytte etablerte og standardiserte tester, f. eks. med bakterier (*Microtox*), alger (vekstinhibering av *Selenastrum capricornutum* eller *Skeletonema costatum*) eller krepsdyr (dødelighet eller reproduksjonstest med *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia* eller marine krepsdyr). Disse testene er vel kjent og blir derfor ikke beskrevet nærmere her.

Fremstilling av elutriat skjer ved oppslemming av fast sediment i vann (ferskvann eller sjøvann) og risting eller lufting av blandingen for å oppnå kjemisk likevekt mellom vann-og sedimentfasene. Deretter separeres fasene ved sedimentering, sentrifugering eller filtrering. Noen eksempler på ulike prosedyrer er sammenstillt i tabell 2.

Tabell 2. Oversikt over fremgangsmåter for fremstilling av sediment-elutriat for toksisitetstesting.

Sed./vann (vekt)	Sjøv./Ferskv.	blanding tid.	separering	ref.
1:1	F	3 min.	sentrif.	Dutka et al.
0.2:1000	S	kort	sentrif.	Chapman 1987
?	S	24 tim.	sentrif.	Williams et al. 1986
1:4	F	30 min.	sent+filt.	Munawar & Munawar 1987
1:4	S	1 time	sedim.	Alden et al. 1988
1:4	S	1 time	sed.+filt.	" " " "
1:4	F	2 timer	filt.	Ross & Henebry 1989

Den mest benyttede blandingsforholdet synes å være én del sediment til 4 deler vann. Dette forholdet er bl. a. foreskrevet i EPAs retningslinjer (USEPA 1977). En undersøkelse av betydningen av blandingsforholdet sediment/vann, forskjellige ristingsmetoder- og tider er rapportert av Daniels et al. 1989. Undersøkelsen ble foretatt på ferskvannssedimenter og viste at utløsningen av både metaller og PCB økte med konsentrasjonen av sediment i intervallet 5-25 % (blandingsforhold 1:20 - 1:4). Økningen var imidlertid ikke proporsjonal og resultatene kan tyde på at man oppnår en metningskonsentrasjon av stoffene i vannfasen. Giftighetstester med alger viste en

forholdsvis liten økning i gifteffekt med økende mengde tilsatt sediment.

Forskjellen i agiteringsmetode ga størst utslag i utløsningen av jern, som var mye lavere med lufting enn risting. Dette ble forklart med luftingens effekt på redox-forholdene i blandingen. Utlekkingen av PCB og elutriatenes giftvirkning var ganske lik ved de ulike agiteringsmetodene. Man konkluderer med at en roterende agitering, hvor flaskene er festet radiært på en horisontalt roterende akse gir det beste resultatet. Av de ulike agiteringsmetoder som ble prøvd ble lufting vurdert som minst egnet.

Det publiserte datamaterialet inneholder lite informasjon om betydningen av agiteringstid, men ledningsevnen i vannfasen økte, særlig ved den laveste sedimentkonsentrasjonen (1:20), når agiteringstiden økte fra 1 time til 24 timer. Ved sedimentkonsentrasjonen 1:4 var det liten forskjell i ledningsevne etter 1, 24 og 48 timers roterende agitering. Det rapporteres også om høy utløsning av jern ved lang agitering i lukkede flasker p.g.a. oksygenvinn. På grunnlag av resultatene anbefaler Daniels et al. (1989) 1 times agitering.

Metodikken for separering av vann og sediment-fasene kan trolig ha stor betydning for toksisiteten for enkelte organismer, og særlig de som tar opp partikkler fra vannfasen. Dette skyldes at mange giftige kjemikalier har sterk affinitet til partikler. Ved den "mildeste" formen for separering, ved sedimentering og dekantering, vil mye fint suspendert materiale fortsatt være tilstede i vannfasen og dermed være tilgjengelig for filtrerende organismer (som f. eks. vannlopper). Alden et al. (1988), som sammenlignet elutriat som var separert bare ved sedimentering og ved sedimentering og filtrering, fant at giftvirkningen på gressreker (Palaemonetes pugio) ble sterkt redusert ved filtrering. Resultatene indikerte at det meste av giftvirkningen var assosiert til den fineste partikkelfraksjonen.

Giftighetstester kan også utføres på porevann fra sedimenter. True og Heyward (1990) ristet vannholdig sediment i et døgn og separerte deretter interstitialvannet fra sedimentet ved sentrifugering. Denne prosedyren skiller seg ikke prinsipielt fra fremstilling av sediment-elutriat, men forholdet fast stoff/vann er høyere slik at vannprøvene bør bli mer konsentrert. Allikevel nevner Giesy og Hoke (1989) at elutriat ofte er giftigere enn porevann. Dette henger sannsynligvis sammen med måten porevannet blir tatt ut på.

Ved giftighetstester av elutriat eller porevann kan gifteffekten undersøkes i en konsentrasjonsserie av vannprøven slik at

konsentrasjon/respons-forløpet blir fastlagt og LC_{50} eller EC_{50} -verdier kan beregnes. Konsentrasjonsserien blir som regel laget ved å fortynne elutriatet med rent vann. En alternativ, men mer omstendelig fremgangsmåte er å fortynne selve sedimentprøven med rent referenssediment før elutriatet blir fremstilt. Giesy et al. (1990) sammenlignet disse to fremgangsmåtene og fant at de ikke alltid ga samme resultat. De mener at dette skyldes at organisk stoff i referansesedimentet kan binde giftstoffer slik at effekten reduseres.

Ekstrakt-eksponering

Biologiske tester av sediment-ekstrakter er mindre brukt enn hel-sediment og elutriattester for å måle toksisitet i sedimenter. Ekstrasjonsprosedyrene som benyttes er i prinsippet de samme som blir benyttet for kjemiske analyser av organiske forurensningskomponenter. Som ekstraksjonsmidler kan f. eks. aceton/hexan eller metanol/diklor-metan benyttes. Ekstraktene konsentreres og overføres til et lavtoksisk løsningsmiddel (f. eks. aceton, etanol eller DMSO), som kan doseres til det biologiske testsystemet.

De biologiske testene utføres med tilsetning av ekstrakt direkte til vannfasen, og vanlige vannfasetester kan dermed benyttes.

Tester av ekstrakter skiller seg fra hel-sediment og elutriattester ved at de ikke gir informasjon om biologisk tilgjengelighet. Allikevel kan de være et aktuelt supplement/alternativ til kjemisk karakterisering ved at de måler den samlede biologiske effekten av organiske forurensningskomponenter, hvor også ukjente kjemikalier er inkludert.

Ved fraksjonering av sedimentekstraktet er det mulig å separere sure komponenter fra baser og nøytrale komponenter som kan testes separat m.h.t. giftighet. Ongley et al. (1988) brukte denne fremgangsmåten for å karakterisere elvededimenter. Fraksjonerte ekstrakter av både vann, suspendert sediment og bunnsediment ble testet med Ames test og en nematode-test. Ekstraktene ble overført til DMSO som ble dosert, 1 ml/l, i nematodetesten. Dødelighet, vekst og utvikling av nematodene ble registrert og en kondisjonsfaktor beregnet fra de tre variablene. De mest toksiske fraksjonene var de sure fraksjonene av suspendert sediment. Av disse var 7 av 9 prøver toksiske. Det ble ikke funnet noen sammenheng mellom toksisitet og innhold av "priority pollutants". Man konkluderer med at de kjemiske "standardmenyene" ikke fanger opp alle stoffer av økologisk betydning.

Ved en undersøkelse av marine sedimenter av Schiewe et al. (1985) ble

organiske sedimentekstrakter testet med bakterier (Microtox). De organiske komponentene ble ekstrahert med metanol/diklormetan og overført til etanol. Resultatene viste samsvar mellom ekstraktens giftighet og innhold av aromatiske og klorerte hydrokarboner. Metoden blir anbefalt for rangering av sedimenter m.h.t. innhold av giftige organiske komponenter.

Den samme ekstraksjonsprosedyren ble brukt av True og Heyward (1990) for toksisitetstesting av marine sedimenter med Microtox. Tester ble også utført med interstitialvann fra de samme sedimentprøvene. Resultatene viste at interstitialvannet var mest giftig i sedimenter med grov kornstruktur mens de organiske ekstraktene var mest giftig i finkornet sediment. De fine sedimentene hadde også høyest innhold av olje og kobber. Resultatene tyder på at sedimentenes struktur har stor betydning for giftvirkningen av forurensninger i sedimenter. Adsorpsjon av giftstoffer til partikler reduserer gifteffekten på organismer som eksponeres til interstitialvann. Denne mekanismen er viktigst i fine sedimenter, hvor det samlede arealet av partikler er stort.

Kocan et al. (1985) undersøkte effekten av organiske sedimentekstrakt på cellekulturer av fisk. Marine sedimenter fra forurensede og uforurensede områder ble ekstrahert med metanol og diklormetan. Ekstraktet ble overført til DMSO for testing av cytotoksisitet og genotoksisitet på cellekulturer. Resultatene viste toksiske effekter av sedimentekstrakter fra forurensningsbelastede områder.

4.2. Prøvetaking

Problemene ved prøvetaking av sedimenter for biologiske tester er de samme som for kjemisk karakterisering. Ofte finner man store lokale variasjoner i forurensningsgrad som kan skyldes ujevnt sedimenteringsmønster eller resuspensjon av sedimenter. For kartlegging av forurensningsgrad i et område er det derfor nødvendig å ta flere prøver. For å redusere antallet analyser/tester kan man benytte blandprøver, men hvis formålet med undersøkelsen er å kartlegge forurensningsgraden er ikke bare gjennomsnittsverdier for kontaminering og gifteffekter men også spredningen av verdiene av interesse.

I tillegg til ujevn horisontal fordeling av forurensninger i sedimentene har man store vertikale gradienter. I uforstyrrede sedimenter vil vertikale konsentrasjonsprofiler av persistente forurensningskomponenter avspeile forurensningsbelastningens utvikling over tid. P.g.a. resuspensjon og bunndyrenes bearbeiding av sedimentene (bioturbasjon) skjer det imidlertid de fleste steder en stadig omfordeling av de øverste sedimentlagene.

I forbindelse med kartlegging av forurensningsgrad, biologiske effekter av forurensninger i sedimenter og sedimentenes betydning som sekundær kilde for forurensning er det det øverste sedimentlaget som er mest interessant. Forurensningskomponenter under den sone i sedimentene som blir utsatt for erosjon eller bioturbasjon vil som regel være skjermet fra det biologiske kretsløpet. På grunn av den ujevne vertikalfordelingen av forurensningskomponenter i sedimentene er det viktig å standardisere prøvetakingsmetode og sjikt hvis man ønsker å sammenligne forurensningssituasjonen i ulike områder. Ulike fremgangsmåter er rapportert i internasjonal litteratur. Chapman (1988) anbefaler at et 2 cm tykt lag "høvles" av fra en større intakt sedimentprøve.

4.3. Oppbevaring av prøver

Ved oppbevaring av prøvene før testing kan endringer i giftigheten skje dels ved nedbrytning av giftige stoffer og dels ved endrede bindings/likevektsforhold som påvirker den biologiske tilgjengeligheten. Nedbrytningen reduseres mest effektivt ved frysing, men frysing anbefales ikke p.g.a. de endringer i den fysiske strukturen og kjemiske bindingsforhold som frysing medfører (Chapman 1988). Dette vil ha konsekvenser ved biologiske tester av hele sediment og elutriat, men bør være av mindre betydning ved testing av sedimentekstrakter.

Malueg et al. (1986) undersøkte utlekkingen av kopper fra sedimenter til vannfasen ved ulike lagringsforhold. Frysing førte til at kopper ble bundet sterkere til sedimentfasen. Dette fjernet også toksisiteten i vannfasen. Frysing øket også utlekkingen av organisk karbon fra sedimentet til vannfasen. Utlekkingen av kopper fra sediment lagret ved 5°C øket med lagringstiden inntil 8 uker og minket igjen ved lengre lagring. Man konkluderer med at frysing ikke kan anbefales for sedimentprøver som skal testes for toksisitet.

En lignende undersøkelse av organiske miljøgifter er gjort av Schuytema et al. (1989). Man undersøkte gifteffekter på en amfipod (*Hyalella azteca*) av DDT og endrin som var satt til naturlige sedimenter som så ble oppbevart ved +4 og -22 °C. før testing. Frysing reduserte gifteffekten av DDT og i noen prøver også av endrin. Effekten av frysing på giftvirkningen av endrin var avhengig av sedimentenes innhold av organisk karbon.

Sedimentene bør oppbevares kaldt og testes kort tid etter prøvetaking (Malueg et al. 1986). Samme anbefaling gis av Chapman (1988), som også

refererer til en undersøkelse hvor 28 døgn er angitt som lengste anbefalte lagringstid ved 4°C. Williams et al. (1986) oppbevarte sedimenter anaerobt under nitrogenatmosfære i lukkede reagensglass ved 4 °C og fant ingen endring i giftigheten ved 30 døgns lagring.

Når biotestene utføres på ekstrakter av sedimenter bør oppbevaringsmåten før testing være av mindre betydning. Frysing kan da være å foretrekke, særlig ved langtidslagring.

5. EKSEMPLER PÅ ANVENDELSE AV BIOLOGISKE SEDIMENTTESTER

Ved en undersøkelse av marine sedimenter på østkysten av USA brukte Swartz et al. (1979) 5 ulike bløtbunnsorganismer; molluskene Protothaca staminea og Macoma inquinata, polychaeten Glycinde picta, amfipoden Paraphoxus epistomus samt en art av cumaceer (krepsdyr). Testorganismene ble samlet inn fra en ikke forurenset lokalitet. 20 eksemplarer av hver art ble overført til rent sediment på bunn av et akvarium. Etter aklimatisering ble et 15 cm tykk lag forurenset sediment lagt oppå det rene sedimentet. Over sedimentet var det kontinuerlig gjennomstrømming av rent sjøvann (oppholdstid 32 timer). Etter 10 dager ble antallet overlevende dyr bestemt.

Resultatene viste at det var stor forskjell i følsomhet mellom de ulike organismene. Molluskene var mindre følsomme enn krepsdyrene. Biotestene viste klare forskjeller i giftighet hos de ulike sedimentprøvene. Sedimenter fra områder med industriforurensning var mest giftige.

To arter av nematoder ble brukt som testorganismer av Tietjen og Lee (1984) for å karakterisere estuarie-sedimenter. Nematodene ble holdt i kulturer, og foret med bakterier. Sedimentene ble sterilisert før testene ved frysing/tining og gammabestråling. Nematoder ble satt til blandinger av sediment/vann (1:1 eller 1:10) i petri-skåler. Det ble også satt til bakterier og vekstmedium for bakterier. etter 14 dager ble antallet nematoder bestemt og veksthastigheten beregnet fra endringen i antall i løpet av inkuberingen.

Nematodenes vekst var signifikant lavere i sedimenter fra forurensete områder enn i et kontroll-sediment. En sammenlikning av biotestresultatene med analyser av metaller, PCB og PAH viste at kvikksølv, PCB og PAH bidro mest til giftvirkningen. Konsentrasjonsnivåene av disse forurensningskomponentene var PCB: 6-1560 ppb, PAH: 350-152000 ppb og Hg: 0.5-983 ppm i sedimentprøver hvor toksiske effekter ble påvist.

Biotester med bunnlevende fisk (Leiostomus xanthurus) ble brukt av Hargis et al. (1984) for å undersøke giftvirkningen av forurensede sedimenter. Forskjellige skader og fysiologiske effekter som sårdannelse, råte på finner og gjeller, redusert hematokrit og leverforandringer ble funnet ved eksponering til sediment som inneholdt 2500-3900 ppm PAH på tørrvektbasis.

Krepsdyret Palaemonetes pugio (grass shrimp) ble brukt som testorganisme ved sedimenttester av Alden et al. (1982). Testorganismene ble eksponert til tre forskjellige faser av sedimenter; vannfase, suspendert fase og sedimentert fase. De forskjellige fasene ble separert etter risting av sedimentprøven med vann (1:4) i 30 minutter. Etter en times sedimentering ble vannet over det sedimenterte materialet dekantert (suspendert fase) og en del av dette sentrifugert og filtrert (vannfase). Testorganismene ble eksponert til de ulike fasene og dødeligheten undersøkt i opp til 96 timer eller 10 døgn (sedimentert fase). Sedimentprøver fra et havneområde viste at gifteffekten var størst i den suspenderte fraksjonen. Årsaken er trolig at de toksiske forbindelsene er assosiert til små partikler, men fysisk stress p.g.a. partikkelinnholdet i vannet kan ha bidratt til dødeligheten av testorganismene.

Testmetoden med grassreken er senere blitt utviklet videre for å registrere også subletale effekter. Alden (1988) separerte sedimentfasen og vannfasen i sedimentprøver fra det samme området som ble undersøkt tidligere (Alden et al. 1982), og undersøkte effekten av begge fasene på rekenes respirasjon og osmoseregulering. Resultatene viste klare fysiologiske effekter av sedimentfasen i prøver fra det mest forurensningsbelastede området.

Flere forskjellige sedimentbiotester er blitt brukt til kartlegging av forurensingsgrad i marine sedimenter i Washington på østkysten av USA. Williams et al. 1986 sammenlignet bakterier (Microtox), østerslarver og amfipoder som testorganismer. Gifteffekten av 50 sedimentprøver fra mer eller mindre forurensede områder av kysten ble undersøkt. Som referanse ble sedimenter fra et antatt ikke forurenset område brukt. Med Microtox-testen ble det registrert gifteffekter i 29 av sedimentene. For østerslarver og amfipoder var antallet giftige sedimenter 16 respektive 17. For 19 av sedimentene (41%) var det samsvar mellom alle testene, d.v.s. alle eller ingen av dem viste gifteffekter. Ranking av sedimentene med hensyn til giftighet viste rimelig bra samsvar mellom de ulike testene og best mellom amfipode- og østerstestene. Individuell korrelasjon av gifteffekter målt med ulike organismer viste imidlertid stor spredning. Forklaringen kan være

selektiv sensitivitet for ulike komponenter, forskjeller i eksponeringsveier eller heterogen fordeling av forurensningskomponenter i sedimentene.

På grunnlag av resultatene konkluderer Williams et al. (1986) at det er en fordel å bruke et batteri av tester for karakterisering av sedimenter. Klassifiseringen av sedimentene ble gjort ved å summere giftighets-rankingen for hvert sediment.

Chapman (1987) undersøkte sedimenter fra samme område v.h.a. tester med oligochaeten Monopylephorus cuticulatus. Elutriat fra 40 av 97 sedimentprøver ga effekter på forsøksdyrenes respirasjon. Det rapporteres om godt samsvar mellom giftighet i sedimenter bestemt ved biotester og biologiske effekter in situ.

En mer omfattende sammenligning av sedimentbiotester, kjemisk karakterisering og biologiske feltstudier er utført i San Fransisco Bay (Chapman et al. 1987). Sedimentprøver ble tatt fra tre områder med forskjellig forurensningsbelastning. Samtidig ble det gjort undersøkelser av bunndyrfaunaen. Prøvene ble analysert på TOC, sulfider, metaller, spormetaller, aromater og klorerte hydrokarboner. Fire biotester ble benyttet (Rhepoxynius abronius, Mytilus edulis, Tigriopus californicus og Macoma balthica).

De kjemiske analysene viste signifikant høyere innhold av bly, kvikksølv og sølv i et av de tre undersøkte områdene. Det mest forurensningsbelastede området hadde også høyest konsentrasjoner av aromater og klorerte hydrokarboner. Et "kontamineringsindex" ble beregnet fra konsentrasjonene av 8 tungmetaller og fem grupper av organiske stoffer.

De ulike testorganismenes responser (letale og/eller subletale) ble sammenlignet med responsen i et uforurenset referansesediment. De fleste testene viste størst gifteffekt i prøver fra det mest forurensningsbelastede området.

Artsammensetning og artsriktighet i bunnfaunaen tydet på at det mest forurensningsbelastede området også var mest påvirket. Det observerte mønsteret kunne imidlertid være et resultat av organisk belastning eller fysisk sedimentstruktur.

Chapman et al. (1987) integrerer informasjonen fra kjemisk karakterisering, biologiske tester og bunnfaunaundersøkelser i "Sediment Quality Triad" (SQT) ved å plote avviket fra et referansesediment for de tre undersøkte forholdene ("Ratio to Reference", RTR) langs tre

akser (Se fig. 1). Diagrammet viser hvilke forurensningsindikatorer som gir størst utslag. Arealet av triangelen gir et mål på samlet avvik fra "natur-tilstanden" eller graden av påvirkning.

De tre komponentene i SQT gir tilsammen et betydelig bedre grunnlag for å bedømme forurensningssituasjonen i et sediment enn de enkelte komponentene alene.

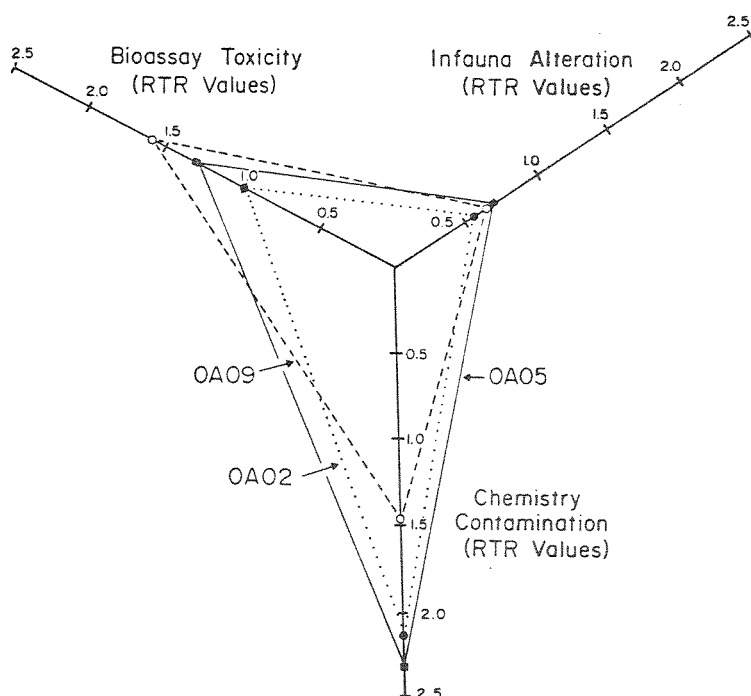


Fig. 1. Sedimentkvalitet bestemt etter "Sediment Quality Triad" for tre stasjoner i San Fransisco Bay. Avvik fra referanseverdier (RTR) for toksisitet målt med biotester, bunnfauna og kjemiske analyser av miljøgifter er avsatt etter tre akser. Trekantenes areal gir et mål på sedimentenes kvalitet. (Fra Chapman et al. 1987).

Et biotestopplegg for undersøkelse av sediment-toksisitet, beskrevet av Prater og Anderson (1977) er blitt brukt for karakterisering av sedimenter i flere vassdrag. En skisse av anlegget er vist i fig. 2. Et 5 cm tykt lag av sediment blir plassert på bunnen av et akvarium og vannet over sedimentet resirkuleres. Som testorganismer brukes en gravende døgnfluelarve, *Hexagenia limbata* og isopoden *Asellus communis* (gråsugge). Disse er i direkte kontakt med sedimentet. I tillegg blir

vannlopper (Daphnia magna) eksponert til vannfasen i et lite bur over sedimentet.

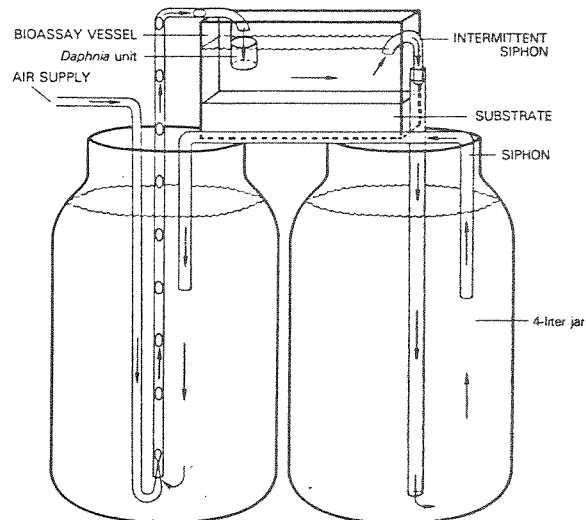


Fig. 2. Opplegg for sedimentbiotester utviklet av Prater og Anderson (1977).

Ved en undersøkelse i et vassdrag i Ohio brukte Prater og Anderson (1977) det beskrevne biotestanlegget og kjemisk karakterisering for å klassifisere sedimenter m.h.t. forurensningsgrad. For hver parameter ble det definert tre klasser; uforurensset, moderat forurensset og sterkt forurensset. For biotestene ble dødeligheter på <10%, 10-50% og >50% brukt som grunnlag for klassifiseringen. Biotestene ga klare utslag i form av øket dødelighet nedstrøms industri- og kloakkvannsutslipp. I moderat forurensede sedimenter var Daphnia magna mest følsom.

Testopplegget til Prater og Anderson (1977) ble brukt av Muleg et al. (1984 a,b) for karakterisering av sedimenter i forurensede vassdrag. Resultatene viste godt samsvar mellom biotest-resultater, metallinnhold i sedimentene og bunnfaunaens sammensetning. Undersøkelsene viste også at Daphnia magna var den mest følsomme av de benyttede testorganismene, selv om denne ikke var i direkte kontakt med sedimentet. Ved å teste de ulike artene hver for seg og tilsammen i anlegget ble det påvist at gifteeffekten på Daphnia i vannfasen økte når Hexagenia var tilstede i sedimentet. (Malueg et al. 1983). Dette skyldes at døgnfluelarvenes aktivitet i sedimentet økte konsentrasjonen av partikkelbundne forurensningskomponenter i vannfasen.

En evaluering av forskjellige marine sedimenttester med tanke på bruk i et nasjonalt overvåkingsprogram i USA er gjort av National Oceanic

and Atmospheric Administration. En undersøkelse av 200 sedimentprøver med ulike toksisitetstester og kjemiske analyser, samt analyser av muslinger og fisk fra de samme lokalitetene er utført (NOAA 1989).

Sedimenttestene omfattet undersøkelse av overlevelse og unnvikelse av amfipodene Rhepoxynius abronius og Ampelisca abdita eksponert til fast sediment, overlevelse og utvikling av muslinglarver (Mytilus edulis) eksponert til elutriat, overlevelse og eggproduksjon hos polychaeten Dinophilus gyrociliatus eksponert til porevann og en rekke subletale effekter inklusive genotoksiske effekter på sjøpinnsvin (Strongylocentrotus purpuratus) eksponert til elutriat.

De ulike testene ble evaluert med hensyn til følsomhet, presisjon og utsagnskraft. Samsvar med innhold av kjemiske forurensningskomponenter ble også undersøkt men ble ikke tillagt avgjørende betydning. Som mål på testenes utsagnskraft ble variasjonsvidden i respons på ulike sedimenter i forhold til testens presisjon brukt.

Alle testene hadde sterke og svake sider i forhold til evalueringskriteriene. Testen med blåskjell-larver var kanskje mest egnet p.g.a. høy følsomhet, presisjon og utsagnskraft. Overlevelse av R. abronius viste også høy følsomhet og utsagnskraft, men responsen var mer korrelert med sedimentologiske forhold enn med sedimentets innhold av forurensningskomponenter.

Man konkluderte med at siden ulike toksikologiske mekanismer kan opptre i organismenes respons på komplekse medier som sedimenter, er det nødvendig med et batteri av tester for grundige undersøkelser av sedimentkvalitet.

Av andre biologiske indikatorer som ble vurdert i NOAAs undersøkelse blir særlig induserbare avgiftningssystemer (cytochrome P-450, EROD, P-450E) hos fisk fanget i felt fremholdt som lovende parametre for kartlegging av forurensningsnivå.

Mye av utviklingen av sedimentbiotester for karakterisering av ferskvannssedimenter har foregått rundt de store innsjøene i Canada og USA. Her utgjør sedimentbundne forurensninger et stort problem i forbindelse med mudring og båttrafikk som fører til resuspensjon og mobilisering av miljøgifter fra sedimentene. For å kartlegge forurensningssituasjonen og identifisere områder hvor tiltak er påkrevd er det brukt en kombinasjon av mikrobielle og biokjemiske analyser samt biologiske tester av sediment- og vannprøver (Dutka et al. 1986, 1987). Analysene omfattet flere indikatorer på kloakkforurensning (E. coli, Legionella, Streptococcer, Clostridium perfringens, colifager samt

coprostanol og kolesterol). Toksisiteten i vann og sedimentelutriat ble undersøkt med Microtox og en annen bakterietest, ATP-tox, som registrerer effekter på veksten av mikroorganismer (Xu og Dutka 1987). Som testorganisme ble E. coli benyttet. I tillegg ble genotoksiske effekter undersøkt med SOS chromotest (Quillardet og Hofnung 1985).

For hver av testene/analysene ble det opprettet en poengskala for forurensningsgrad fra 1-5. Poengene ble summert for rangering av lokalitetene. Av de toksisitetstester som ble benyttet viste seg ATP-tox å være mer følsom enn Microtox. Av 40 sedimentprøver (elutriat) var 6 toksiske overfor Microtox og 18 overfor ATP-tox. For bare en av prøvene ble det påvist gifteffekter i begge testene. ATP-tox viste derimot god korrelasjon med SOS chromotest. Dutka et al. (1987) konkluderer at ingen av testene/analysene alene gir tilstrekkelig informasjon om forurensningssituasjonen og at et batteri av tester er nødvendig.

Forskjellige algetester er benyttet for undersøkelse av sedimenttoksisitet av Munawar og Munawar (1987). Korttidstester (4 timer) med naturlige planktonsamfunn, hvor fotosyntesen måles med ^{14}C -tracer er brukt til testing av sediment-elutriat. Ved å gjøre en størrelsesfraksjonering av planktonprøven før måling av ^{14}C -aktiviteten kan effekten på ulike fraksjoner av planktonet studeres. Toksiske effekter var som regel sterkest i den minste fraksjonen (nannoplankton). Det ble også gjort lignende tester med lengre eksponeringstid og med alger fra laboratoriekulturer. Et to-fase system ble brukt til å undersøke sedimentenes effekter på grønnalgen Chlorella vulgaris. Algene ble inkubert i vannfasen over et lag av sediment. Algenes fotosyntese ble målt som ^{14}C -opptak og resultatene sammenlignet med elutriat-tester. Undersøkelse av sedimenter fra havnen i Toronto viste ingen gifteffekter på dette testsystemet, men ved langtidseksponering ble det registrert en stimulering av fotosyntesen i to-fase testen som følge av utlekking av næringssalter fra sedimentet.

6. INNLEDENDE FORSØK MED BIOLOGISK TESTING AV SEDIMENTPRØVER

For å få erfaring med toksisitetstesting av sedimentprøver er det gjennomført tester av noen få sedimentprøver fra norske fjorder. Hensikten med disse testene har primært vært utprøving av teknikker og å få en indikasjon på testmetodenes følsomhet for ulike kategorier av forurensninger og evne til å rangere sedimenter m.h.t. forurensningsgrad.

6.1. Sedimenter

Det var ikke mulighet for å samle inn sedimentprøver spesielt for dette formålet. I stedet ble noen prøver som var tatt tidligere og oppbevart frosset, valgt ut for testing. Sedimentene var fra 4 lokaliteter; Ballangen (forurenset av metallholdig gruveavgang), Frierfjorden (forurenset av klororganiske forbindelser og kvikksølv) og Ranafjorden (forurenset av PAH).

Ballangen

Sedimentene ble tatt for hånd på lavvann innerst i fjærområdet i Ballangen. Det ble visuelt observert to forskjellige sedimenttyper (sort og rødt), og det ble tatt prøver fra hver av dem (I og II). Disse prøvene inneholdt følgende metallkonsentrasjoner (mg/kg):

	Cu	Pb	Zn	Cd	Fe
I:	1720	775	6870	12.1	104000
II:	1100	577	5460	20.1	114000

Sedimentene var sandige. Prøvene ble oppsluttet med salpetersyre slik at verdiene representerer ikke totalt metallinnhold.

Elutriat fra sedimentene inneholdt følgende metallkonsentrasjoner (to parallellprøver, µg/l):

	Cu	Pb	Zn	Cd	Fe
I:	1.4/1.0	80/60	280/335	0.025/0.023	<5/<5
II:	23.5/25.0	5.5/7.0	2750/2750	27.5/25.0	<5/<5

De store forskjellene i elutriatens metallinnhold har sammenheng med oksydasjonsforholdene i sedimentene. Prøve I var sortfarget (reducerende), mens prøve II var rødfarget (oksyderende).

Frierfjorden

Sedimentprøve ble tatt med trekantskrape på Frierflaket (20-30 m dyp). To parallellprøver ble tatt ut. Begge viste at 97% var finere enn sand og at kvikksølvinnholdet var hhv. 2.46 og 4.62 mg/kg. Det er ikke gjort analyse av klororganiske forbindelser. Prøver tatt fra Frierflaket i 1987 (25 m dyp) viste 2.6 mg/kg HCB og 24.4 mg/kg EPOC1 i sedimentene. Dette gir en indikasjon på mengde klororganiske

forbindelser i testsedimentene.

Elutriatet ble analysert for kvikksølv som viste ingen frigivelse (<2 ng/l). Vannmengdene var for små til å analysere på klororganiske forbindelser.

Ranafjorden

Det ble tatt en sedimentprøve like utenfor Gullsmedvika i Ranafjorden. Prøven er ikke analysert for PAH. Metallnivåene var moderate og kan neppe forårsake giftvirkninger. Tidligere analyser av PAH i sedimenter fra Gullsmedvika (1975-1976) har vist betydelige PAH-konsentrasjoner. Testprøven var 70% finere enn sand.

Ofotfjorden

En sedimentprøve fra Ofotfjorden ble tatt med som referanse i testene av sedimentekstrakter. Prøven var tatt på 451 m dyp. Sedimentet var brunfarget øverst, ellers fin grå leire. De øverste 33.5 cm av sedimentkjernen ble ekstrahert for toksisitetstester. Innholdet av metaller i sedimentprøver viser lav forurensningsgrad. Det er ikke foretatt analyser av organiske miljøgifter i denne prøven.

Innhold av metaller i sedimentprøve fra Ofotfjorden (mg/kg).

Prøve	Cu	Pb	Zn	Cd	Co	Ni	Cr
BSM15	33	60	144	0.06	22	27	46

6.2. Forbehandling av sedimentprøver

Testene ble utført dels på elutriat og dels på ekstrakt av sedimenter. Disse ble preparert på følgende måte:

Elutriat

500 ml vått sediment og 2 l 35% sjøvann ble tilsatt en rystekolbe og rystet i 30 minutter. Etter henstand i 1 time ble vannet dekantert. Metallanalyser og alge-tester ble foretatt etter filtrering av vannet.

Ekstrakt

Ekstraksjonsprosedyren er den samme som er brukt av Schiewe et al. 1985. Prosedyren omfatter:

1. Sentifugering av sedimentet - vannet dekanteres av
2. 100g sediment vaskes i metanol - sentrifugeres. Metanolen spares
3. Ekstrahering med 2:1 diklormetan/metanol i 250 ml lukket flaske.
- Ristes i 18 timer.
4. Sentrifugering - løsningsmiddelfasen spares.
5. Pkt 3 og 4 gjentas to ganger, siste gang med 6 timers risting.
6. Metanolen og diklormetan/metanolen blandes og vaskes med vann for å fjerne metanolen. Separeres i skilletrakt. Vannet kastes.
7. Ekstraktet tørkes over NaSO_4
8. Ekstraktet konsentreres til 25 ml
9. 100 μl av ekstraktet overføres til 3 ml aceton eller etanol
- 10 Aceton (etanol)-ekstraktet konsentreres til 2 ml i vakuum eller ved bobling med nitrogen, for å fjerne diklormetan

6.3. Testmetoder

Gifteeffektene av elutriat og ekstrakt ble undersøkt ved toksisitetstester med marine planktonalger (Skeletonema costatum) og et marint/brakkvanns krepsdyr (Nitocra spinipes).

Algetesten ble utført i henhold til ISO/DP 10253, med unntak for vekstmediet, som var 10% Z8 (Källqvist 1984) i naturlig sjøvann fra 40 m dyp i Ytre Oslofjord. Inokulumtettheten var 5 mill. celler/l. I testen måles på algenes veksthastighet over 3 døgn i en konsentrasjonsserie av prøven som skal testes. Testene av ekstrakt ble gjort med aceton som carrier. Forsøk med etanol ble også gjort, men det oppsto da problemer med vekst av bakterier. Høyeste tilsetning av aceton som ble brukt var 1 ml/l. Denne acetonkonsentrasjon ga ingen effekt på algenes veksthastighet.

Testen med Nitocra følger Dansk Standard (DS-F 88/225). Testene ble gjort i naturlig sjøvann fra 40 m i Ytre Oslofjord, fortynnet med destillert vann til saliniteten 15 g/l. Dødeligheten av krepsdyr over 96 timer ble undersøkt i en konsentrasjonsserie av prøvene. Testene av ekstrakt ble gjort med etanol som carrier. Høyeste tilsetning av etanol-ekstrakt var 9 ml/l.

6.4. Resultat

Resultatene av toksisitetstestene kan uttrykkes som EC_{50} og LC_{50} -verdier, d.v.s. de konsentrasjoner av prøvene som ga 50% reduksjon av algenes veksthastighet og 50% dødelighet av krepsdyrene. Disse verdiene er oppført i tabell 3.

Elutriatene av sedimenter fra Frierfjorden viste ingen gifteffekt på Nitocra eller alger. De høyeste konsentrasjonene som ble testet var 90% resp. 99%.

Elutriatene fra Ballangen var giftige for begge testorganismene. Effekten på algenes veksthastighet er vist i fig.3 og 4. Veksten ble hemmet over ca. 4% av prøve 1 og over 1% av prøve 2.

Effekten av sedimentelutriat fra Ballangen på dødeligheten av Nitocra etter 96 timers eksponeringstid er vist i figur 5 og 6. LC_{50} -verdiene var 67% i prøve 1 og 56% i prøve 2 etter 96 timer.

Ballangen sed. I

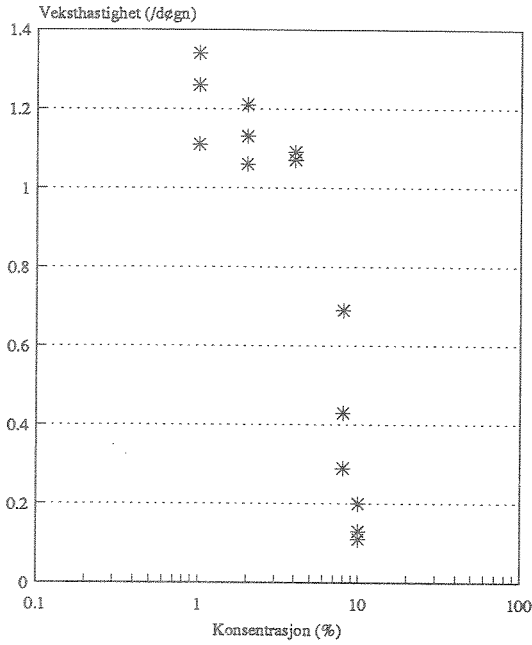


Fig. 3. Effekt av sedimenteluttriat fra Ballangen (prøve I) på veksthastigheten til Skeletonema.

Ballangen sed. II

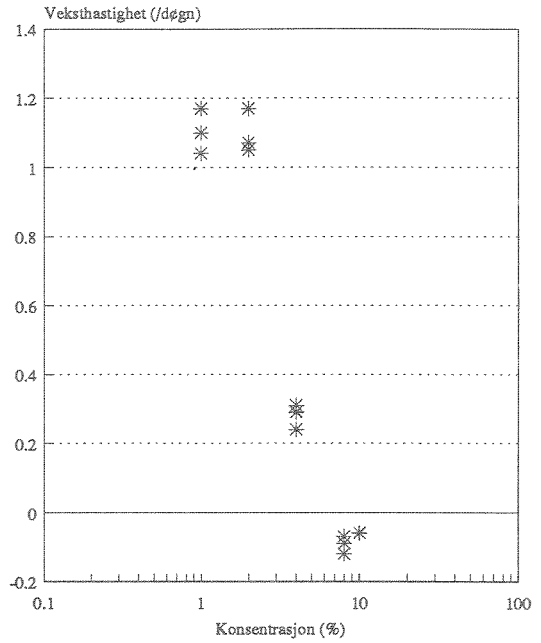


Fig. 4. Effekt av sedimenteluttriat fra Ballangen (prøve II) på veksthastigheten til Skeletonema.

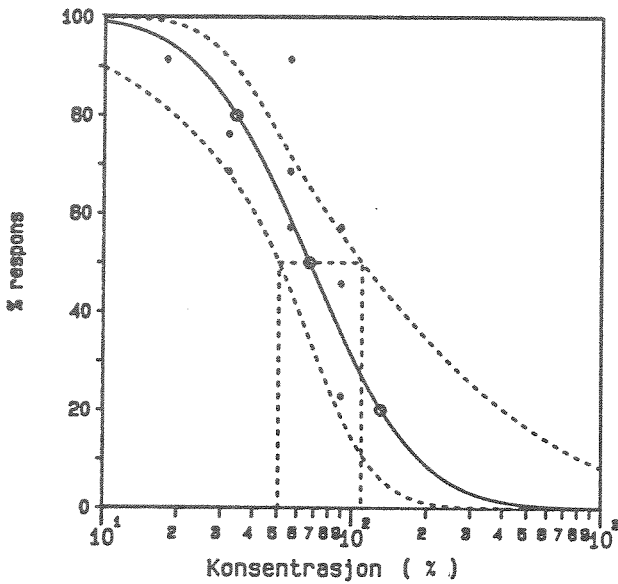


Fig. 5. Effekt av sedimenteluttriat fra Ballangen (prøve I) på dødeligheten av Nitocra spinipes.

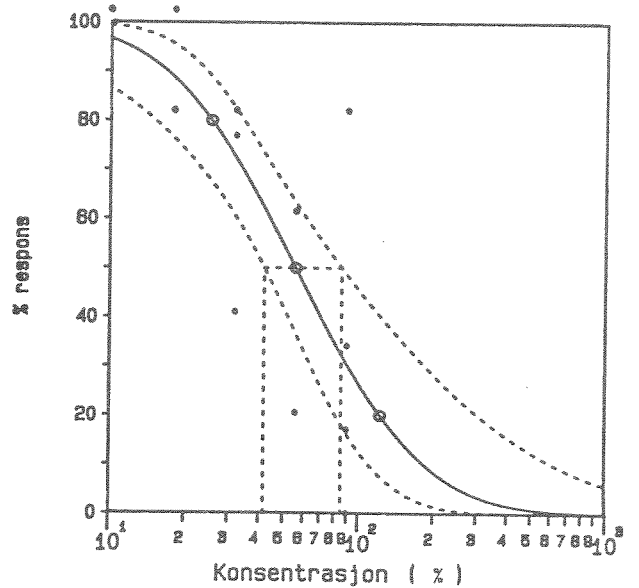


Fig. 6. Effekt av sedimenteluttriat fra Ballangen (prøve II) på dødeligheten av Nitocra spinipes.

Tabell 3. EC_{50} -verdier for alger (veksthastighet) og LC_{50} -verdier for Nitocra ved toksisitetstester av elutriat og ekstrakt av sedimenter.

Elutriat-tester

Sediment	EC_{50} alger (%)	LC_{50} Nitocra (%)
Frierfjorden A	i.t.	i.t.
Frierfjorden B	i.t.	i.t.
Ballangen I	5	67
Ballangen II	2.9	56

i.t. = ikke registrert effekt ved høyeste testede konsentrasjon (100% i algetesten, 90% i Nitocratesten)

Ekstrakter

Sediment	EC_{50} alger ml/l	LC_{50} Nitocra ml/l
Ranafjorden	0.4	>10
Frierfjorden A	0.15	8
Frierfjorden B	0.05	7.5
Ofofjorden	>1	>10

De organiske ekstraktene av sedimentprøvene fra Frierfjorden var giftige for begge testorganismene. Effekten på algenes veksthastighet er vist i figur 7 og 8. På grunn av det meget bratte responsforløpet er ikke responskurven beregnet fra probitverdiene og EC_{50} -verdiene er beregnet ved manuell tilpassing. Prøve B fra Frierfjorden var mest giftig for algene. Allerede ved tilsetning av 0.1 ml/l av ekstraktet var veksthastigheten sterkt redusert, og ved 0.2 ml/l var hemmingen total. I ekstraktet av prøve A var veksten normal ved 0.1 ml/l, men allerede ved 0.2 ml var hemmingen nesten fullstendig.

Ekstraktet fra Ranafjorden var noe mindre giftig for algene enn Frierfjordsedimentene (se fig 9). En svak veksthemming ble registrert ved konsentrasjonen 0.2 ml/l, og fullstendig inhibisjon ved 0.6 ml/l.

For ekstraktet fra Ofofjorden ble det ikke påvist gifteffekter ved noen av de testede konsentrasjonene (se fig. 10). Resultatene tyder i

steden på en svak stimulering av algenes veksthastighet ved tilsetning av sedimentekstraktet. Den høyeste konsentrasjonen som ble testet var 1 ml/l. Kontrollforsøk med ren acetone ved denne konsentrasjonen viste ingen hemming av algenes vekst.

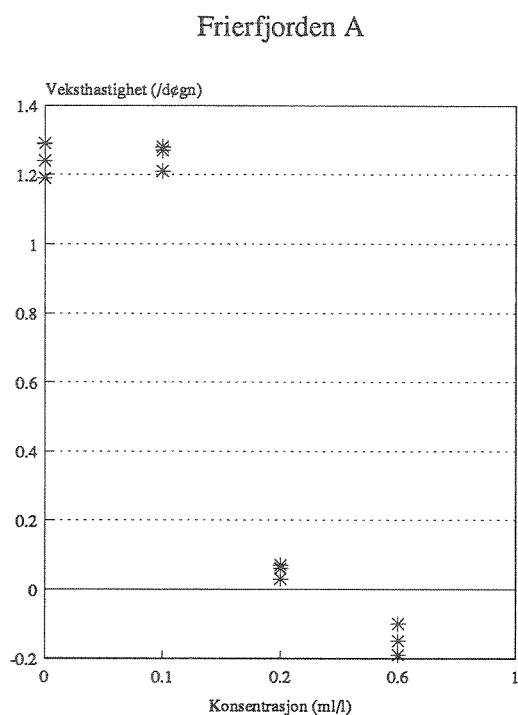


Fig. 7. Effekt av organisk ekstrakt fra Frierfjorden (prøve A) på veksthastigheten av Skeletonema.

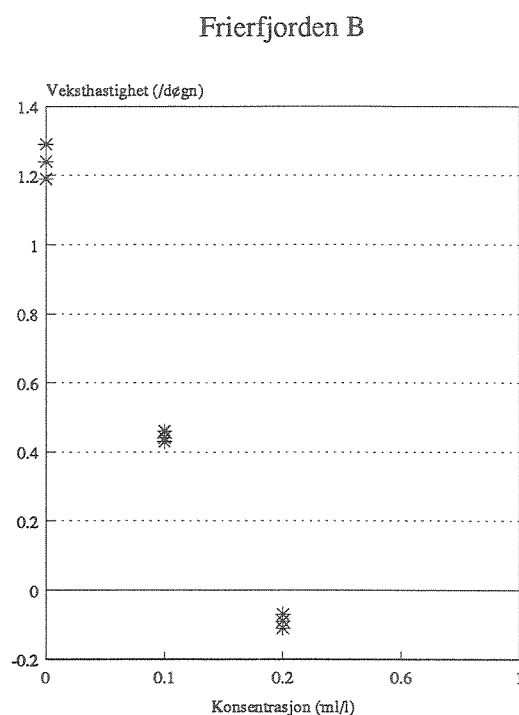


Fig. 8. Effekt av organisk ekstrakt fra Frierfjorden (prøve B) på veksthastigheten av Skeletonema.

Som ved elutriat-testene var Nitocra noe mindre følsom enn algen Skeletonema ved testene av ekstrakter. Gifteffekter ble imidlertid også påvist i ekstraktene av Frierfjordsediment (se fig. 11 og 12). LC_{50} -verdiene for begge prøvene var ganske like; 7.5-8 ml/l (etanolekstrakt).

Også i ekstraktet fra Ranafjorden ble det registrert dødelighet ved den høyeste testkonsentrasjonen (10 ml/l), men LC_{50} -verdien kan ikke bestemmes med sikkerhet.

Ranafjorden

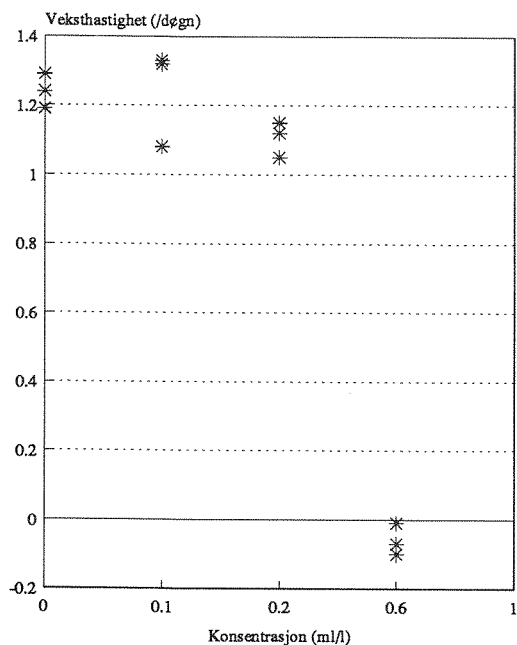


Fig. 9. Effekt av sediment-ekstrakt fra Ranafjorden på veksthastigheten av Skeletonema.

Ofotfjorden

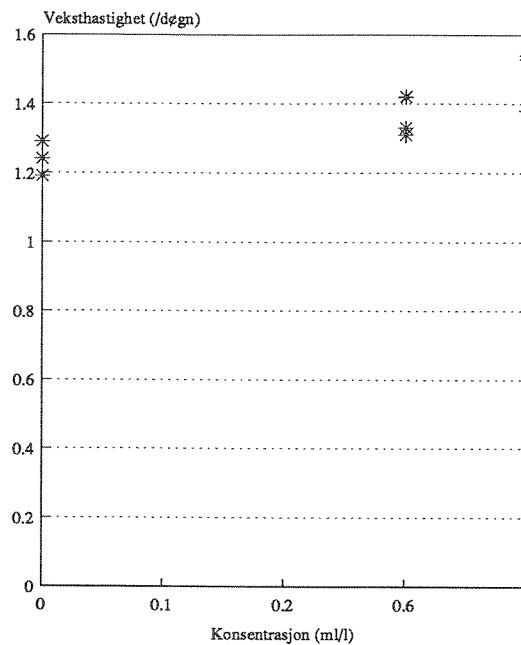


Fig. 10. Effekt av sediment-ekstrakt fra Ofotfjorden på veksthastigheten av Skeletonema.

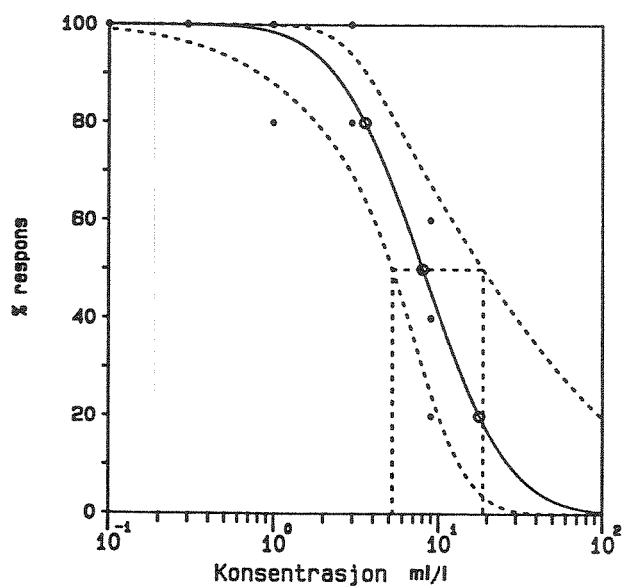


Fig. 11. Effekt av sediment-ekstrakt fra Frierfjorden (prøve A) på dødeligheten av Nitocra spinipes.

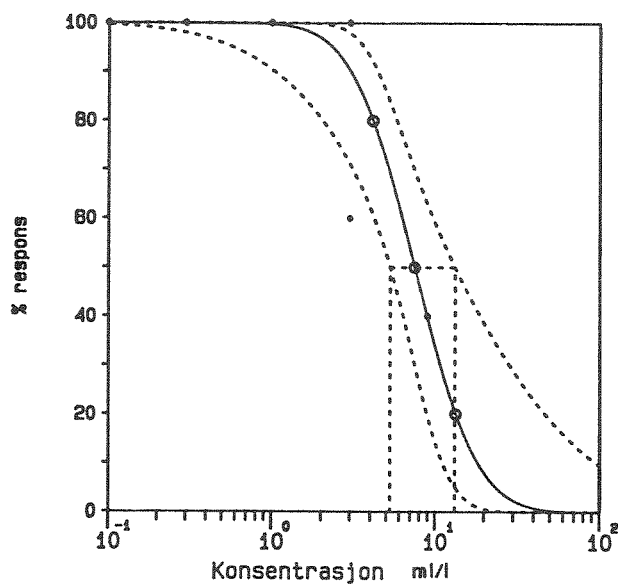


Fig. 12. Effekt av sediment-ekstrakt fra Frierfjorden (prøve B) på dødeligheten av Nitocra spinipes.

Resultatene viser at elutriat-testene kan gi utslag på metallforurensede sedimenter, men testene av sedimenter med antatt PAH og klororganisk forurensning ga ikke giftvirkning i elutriatene. Årsaken til dette er uklar. Ved andre undersøkelser som er referert tidligere i rapporten har man funnet gifteffekter ved testing av elutriat fra sedimenter forurenset med PAH og klororganiske mikroforurensninger. Bestemte konsentrasjonsnivåer av de enkelte komponentene som gir gifteffekter kan imidlertid ikke angis p.g.a. at de fleste forurensede sedimenter inneholder en rekke forskjellige organiske miljøgifter og tungmetaller. De sedimentprøver som er undersøkt her er heller ikke analysert for organiske miljøgifter, så graden av forurensning er ukjent. Det bør også understrekes at de prøvene som vi har testet er blitt oppbevart frosset før elutrieringen. Denne metoden har vist seg å kunne redusere tilgjengeligheten av miljøgifter og anbefales derfor ikke.

Ekstraktene av sedimenter som er antatt å inneholde organiske miljøgifter (PAH og klorerte hydrokarboner) var giftige, særlig overfor Skeletonema. I ekstraktet av et antatt uforurenset referansesediment (Ofotfjorden) ble det ikke funnet toksiske effekter.

Algetesten (Skeletonema) var mer følsom enn Nitocratesten for alle toksiske prøver. Begge testene skilte imidlertid likt mellom giftige og ikke giftige sedimentprøver.

Tester med ekstrakt og elutriat kan være en egnet metode for rask screening av sedimenter m.h.t. toksisitet. Metoden gir også indikasjoner om giftvirkningen er knyttet til metaller eller organiske miljøgifter.

7. KONKLUSJONER OG ANBEFALINGER

Gjennomgangen av den internasjonale litteraturen viser at klassifisering av sediment m.h.t. generell forurensningsstatus eller utforming av sedimentkvalitetskriterier må baseres på et sett av tester/analyser som kompletterer hverandre. Dette skyldes dels at forurensning, selv om begrepet i denne sammenheng begrenses til å omfatte miljøgifter, kan skyldes et stort antall ulike forurensningskomponenter med forskjellige egenskaper og effekter. Dessuten er antallet mulige eksponeringsformer og effektmekanismer for ulike organismer i økosystemet stort. Dette begrenser mulighetene for å utvikle meget enkle metoder for sedimentklassifisering.

Klassifisering av sedimenter ved hjelp av et sett av biologiske tester er allikevel et enkelt og billig alternativ i forhold til omfattende kjemisk karakterisering. Sedimentbiotester egner seg derfor for screening av sedimenter f. eks. i forbindelse med kartlegging av forurensningssituasjonen og for å velge ut sedimenter hvor en kjemisk karakterisering er nødvendig. Slike tester bør også ha stor anvendelse ved vurdering av miljøkonsekvenser knyttet til mudring og dumping.

Kravet til antall og type av tester som skal inngå i et testbatteri er avhengig av målsetning og ambisjonsnivå. Selv en enkelt test kan gi verdifull informasjon i en innledende screening-fase. Utsagnskraften øker imidlertid ved bruk av flere tester som supplerer hverandre m.h.t. organismetype og ekponeringssituasjon.

Erfaringsgrunnlaget fra resultatene av tester av norske fjordsedimenter som er beskrevet i denne rapport er ikke tilstrekkelig for å vurdere deres utsagnskraft ved klassifisering og kartlegging av sedimenter. Elutriat-testene ga utslag i metallforurensede sedimenter, men ikke i de som antas inneholde forhøyede konsentrasjoner av organiske miljøgifter. Siden de testede prøvene ikke er analysert på organiske miljøgifter og dessuten ble oppbevart på en måte som ikke anbefales for biologiske tester (frysing) er det imidlertid ikke grunnlag for noen klare konklusjoner om elutriat-testenes evne til å påvise forurensning av organiske miljøgifter i sedimenter i de konsentrasjoner som er aktuelle i norske fjorder.

Toksisitetstestene av organiske ekstrakter fra sedimenter viste klare forskjeller mellom antatt forurensede sedimenter (Frierfjorden og Ranafjorden) og et referensesediment (Ofotfjorden). Metoden tar imidlertid ikke hensyn til eventuelle forskjeller i biologisk tilgjengelighet.

Av de to organismer som ble brukt i testene var algen Skeletonema gjennomgående mer følsom enn krepsdyret Nitocra. Begge testene ga imidlertid utslag (giftrespons) på de samme sedimentene. Det kan tyde på at Nitocra-testen ikke tilfører ytterligere informasjon og at det derfor ikke er nødvendig å bruke begge disse testene. Dette bør imidlertid vurderes på grunnlag av et større materiale.

Litteraturgjennomgangen og erfaringene fra de innledende biologiske sedimenttestene tyder på at karakterisering av sedimenter med et sett av biologiske tester kan danne grunnlaget for en grov klassifisering av sedimenter m.h.t. forurensningsgrad. Fremgangsmåten kan være aktuell som et første trinn i en regional kartlegging av sedimentkvalitet eller undersøkelser av influensområde fra bestemte forurens-

ningskilder. På grunnlag av en biotest-basert klassifisering kan prioritering av mer inngående undersøknings og/eller tiltak skje. Det vil da være behov for å foreta kjemisk karakterisering av sedimentene for å identifisere de komponenter som er årsak til de biologiske effektene.

Utsagnskraften og følsomheten hos de biologiske testene og hvordan informasjonen fra dem kan brukes som grunnlag for klassifisering av sedimentkvalitet bør undersøkes på et større utvalg av sedimenter enn hva som er rapportert her. I det videre arbeidet bør også innarbeides en biologisk test med eksponering av f. eks. amfipoder til fast sediment.

I den videre utprøvingen av klassifikasjonssystemet anbefales innsamling av sedimenter fra lokaliteter med ulik forurensningsbelastning (treforedling, smelteverk, gruver, raffinier etc.). Testene foreslås omfatte:

- * Test med eksponering til fast sediment (organisme ikke fastlagt)
- * Elutriat-tester med Skeletonema costatum og Nitocra spinipes
- * Test av organisk ekstrakt med Skeletonema costatum

På grunnlag av testresultatene utarbeides kriterier for klassifisering av sedimenter i tre kategorier av forurensningsgrad eller giftighet; "lite", "middels" og "sterk" giftig. Ved at testen av organisk ekstrakt er tatt med vil det også være mulig å få indikasjoner om gifteffekter hovedsakelig skyldes organiske eller uorganiske stoffer.

Undersøkelsen kan senere utvides til å omfatte flere lokaliteter for å foreta en karakteristikk av sedimenter i norske fjorder.

8. REFERENSER

Alabaster, J.S. and Lloyd, R. (eds.) 1982: Water quality criteria for freshwater fish. 2nd. ed. Butterworths, London, 361 pp.

Alden, R.W. and Young Jr., R.Y. 1982: Open ocean disposal of materials dredged from a highly industrialized estuary: An evaluation of potential lethal effects. Arch. Environm. Contam. Toxicol. 11, 567-576.

Alden, R.W. and Butt, A. 1987: Statistical classification of the toxicity and polynuclear aromatic hydrocarbon contamination of sediments from a highly industrialized seaport. Environm. Toxicol. Chem. 6, 673-684.

Alden, R.W., Butt, A.J. and Young Jr, R.J. 1988: Toxicity testing of sublethal effects of dredged materials. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 17, 381-389.

Burton, G.A. 1989: Evaluation of seven sediment toxicity tests and their relationships to stream parameters. Toxicity Assessment, 4, 149-159.

Burton, A, Jr., Nimmo, D., Murphey, D. and Payne, F. 1987: Stream profile determinations using microbial activity assays and Ceriodaphnia. Environm. Toxicol. Chem. 6, 505-513.

Burton, G.A. Jr., Drotar, A., Lazorchak, J.M. and Bahls, L.L. 1987: Relationship of microbial activity and Ceriodaphnia responses to mining impacts on the Clark Fork River, Montana. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16, 523-530.

Chapman, P.M. 1987: Oligochaete respiration as a measure of sediment toxicity in Puget Sound, Washington. Hydrobiologia, 155, 249-258.

Chapman, P.M. 1988: Marine sediment toxicity tests. In: Lichtenberg, J.J., Winter, F.A., Weber, C.I. and Franklin, L. (eds.): Chemical and biological characterization of sludges, sediments, dredge spoils and drilling muds. ASTM STP 976, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 391-402.

Chapman, P.M. 1989: Current approaches to developing sediment quality criteria. Environm. Toxicol. Chem. 8, 589-599.

Chapman, P.M., Dexter, R.N. and Long, E.R. 1987: Synoptic measures of

sediment contamination, toxicity and infaunal community composition (the sediment quality triad) in San Francisco Bay. *Marine Ecol. Progr. Ser.* 37, 75-96.

Chapman, P.M. and Morgan, J.D. 1983: Sediment bioassay with oyster larvae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31, 438-444.

Clark, J.R. and Patric, J.M. Jr. 1987: Toxicity of sediment-incorporated drilling fluids. *Mar. Pollut. Bull.* 18, 600-603.

Daniels, S.A., Munawar, M. and Mayfield, C.I. 1989: An improved elutriation technique for the bioassessment of sediment contaminants. *Hydrobiologia* 188/189, 619-631.

Dutka, B.J., Walsh, K. and Kwan, K.K. 1986: Priority site selection for degraded areas based on microbial and toxicant screening tests. *Water Poll. Res. J. Canada*, 21, 2, 267-282.

Dutka, B.J., Jones, K, Xu, H., Kwan, K.K. and McInnis, R. 1987: Priority site selection for degraded areas in the aquatic environment. *Water Poll. Res. J. Canada* 22, 2, 326-339.

Giesy, J.P. and Hoke, R.A. 1989: Freshwater sediment bioassessment: Rationale for species selection and test design. *J. Great Lakes Res.* 15 (4), 539-569.

Giesy, J.P., Cornell, J., Graney, R., Graney, R.L and Henry, M.G. 1990: Benthic invertebrate bioassays with toxic sediment and pore water. *Environm. Toxicol. Chem.* 9, 233-248.

Hargis, W.J. Jr., Roberts, M.H. and Zwerner, D.E. 1984: Effect of contaminated sediments and sediment-exposed effluent water on an estuarine fish: Acute toxicity. *Marine Environm. Res.* 14, 337-354.

Kocan, R.M, Sabo, K.M. and Landolt, M.L. 1985: Cytotoxicity/Genotoxicity: The application of cell culture techniques to the measurement of marine sediment pollution. *Aquat. Toxicol.* 6, 165-177.

Källqvist, T. 1984: Biotester. I Vennerød, K. (red.): *Vassdragsundersøkelser - En metodebok i limnologi.* Universitetsforlaget, 252-267.

Malueg, K.W., Schuytema, G.S., Gakstatter, J.H. and Krawczyk, D.F. 1983: Effect of *Hexagenia* on *Daphnia* response in sediment toxicity tests. *Environm. Toxicol. Che.* 2, 73-82.

- Malueg, K.W., Schuytema, G.S., Gakstatter, J.H. and Krawczyk, D.F. 1984: Toxicity of sediments from three metal-contaminated areas. *Environm. Toxicol. Chem.* 3, 279-291.
- Malueg, K.W., Schuytema, G.S., Krawczyk, D.F. and Gakstatter, J.H. 1984: Laboratory sediment toxicity tests, sediment chemistry and distribution of benthic macroinvertebrates in sediments from the Keweenaw waterway, Michigan. *Environm. Toxicol. Chem.* 3, 233-242.
- Malueg, K.W., Schuytema, G.S. and Krawczyk, D.F. 1986: Effects of sample storage on a copper-spiked freshwater sediment. *Environm. Toxicol. Chem.* 5, 245-253.
- Munawar, M. and Munawar, I.F. 1987: Phytoplankton bioassays for evaluating toxicity of in situ sediment contaminants. *Hydrobiologia* 149, 87-105.
- NOAA 1989: An evaluation of candidate measures of biological effects for the national status and trends program. NOAA Technical Memorandum NOS OMA 45. National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle, Washington, 105 pp.
- Ongley, E.D., Birkholz, D.A., Carey, J.H. and Samoiloff, M.R. 1988: Is water a relevant sampling medium for toxic chemicals? An alternative environmental sensing strategy. *J. Environ. Qual.* 17,3, 391-401.
- Pavlou, S.P. 1987: The use of the equilibrium partitioning approach in determining safe levels of contaminants in marine sediments. In K.L. Dickson, A.W. Maki and W.A. Brungs (eds.) *Fate and Effects of Sediment Bound Chemicals in Aquatic Systems*. Pergamon Press, Toronto, Ontario, 388-412.
- Pesch, C.E. and Hoffman, G.L. 1983: Interlaboratory comparison of a 28-day toxicity test with the polychaete *Neanthes arenaceodentata*. In: Bishop, W.E., Cardwell, R.D and Heidolph, B.B. (eds.) *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Sixth Symposium*. ASTM STP 802. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 482-493.
- Prater, B.L. and Anderson, M.A. 1977: A 96-hour bioassay of Otter Creek, Ohio. *Journal WPCF*, 49, 2099-2106.
- Quillardet, P and Hofnung, M. 1985: The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxines. *Mutation Res.* 147, 65-78.
- Ross, P.E. and Henebry, M.S. 1989: Use of four microbial tests to

assess the ecotoxicological hazard of contaminated sediments. *Toxicity Assessment* 4, 1-21.

Shea, D. 1988: Developing national sediment quality criteria. *Env. Sci. Technol.* 22, 11, 1256-1261.

Schuytema, G.S., Nebeker, A.V., Griffis, W.L. and Miller, C.E. 1989: Effects of freezing on toxicity of sediments contaminated with DDT and endrin. *Environm. Toxicol. Chem.* 8, 883-891.

Schiewe, M.H., Hawk, E.G., Actor, D.I. and Krahn, M.M. 1985: Use of bacterial luminiscence assay to assess toxicity of contaminated marine sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 1244-1248.

Schwartz, R.C., DeBen, W.A. and Cole, F.A. 1979: A bioassay for the toxicity of sediment to marine macrobenthos. *Journal WPCF* 51,5, 944-950.

Tietjen, J.H. and Lee, J.J. 1984: The use of free-living nematodes as a bioassay for estuarine sediments. *Marine Environm. Res.* 11, 233-251.

True, C.J. and Heyward, A.A. 1990: Relationships between Microtox test results, extraction methods, and physical and chemical compositions of marine sediment samples. *Toxicity Assessment* 5, 29-45.

USEPA (1977) Water Quality Criteria, Federal Register Vol. 49, 4551-4554.

van de Guchte, C. and Maas-Diepeveen, J.L. 1987: Screening sediments for toxicity: a water-concentration related problem. Presented at the 14th. annual aquatic toxicity workshop, November 1-4, 1987, Toronto, Ontario, Canada.

Walsh, G.E. and Garnas, R.L. 1983: Determination of bioavailability of chemical fractions

Wiederholm, T., Wiederholm, A.-M. and Milbrink, G. 1987: Bulk-sediment bioassays with five species of fresh-water oligochaetes. *Water, Air and Soil Pollut.* 36, 131-154.

Williams, L.G., Chapman, P.M. and Ginn, T.C. 1986: A comparative evaluation of marine sediment toxicity using bacterial luminiscence, oyster embryo and amphipod sediment bioassays. *Marine Environm. Res.* 19, 225-249.

Xu, H. and Dutka, D.J. 1987: ATP-TOX System - A new, rapid, sensitive bacterial toxicity screening system based on the determination of ATP. Toxicity Assessment 2, 149-166.

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Postboks 69, Korsvoll
0808 Oslo 8

ISBN 82-577-1759-2