

Naturlig nedbrytning og biotilgjengelighet av
tinnorganiske forbindelser i marine sedimenter

2091
2005

s ft:

NIVA 

Bio  **forsk**



Naturlig nedbrytning og biotilgjengelighet av tinnorganiske forbindelser i marine sedimenter

TA-nummer: 2091/2005

ISBN-nummer: 82-577-4694-0

Oppdragsgiver: Statens forurensningstilsyn

Utførende institusjon: Norsk institutt for vannforskning

Naturlig nedbrytning og biotilgjengelighet av tinnorganiske forbindelser i marine sedimenter



Utførende institusjoner:

Norsk Institutt for Vannforskning NIVA

Bioforsk

Prosjektansvarlig: NIVA

NIVA-prosjektnr.: O-24195 og O-25148

NIVA-rapport:4996-2006

Naturlig nedbrytning og biotilgjengelighet av tinnorganiske forbindelser i marine sedimenter

Forord

Tinnorganiske forbindelser og særlig tributyltinn (TBT) benyttes som begroingshindrende middel på skip og er blant de giftigste stoffene som med hensikt er introdusert til det marine miljø. Høye konsentrasjoner av TBT er registrert i sediment i mange havner og i områder som trafikkeres av skip og mindre båter i norske kystområder. Innenfor arbeidet med opprydding av forurensede sedimenter har *Det nasjonale råd for forurensede sedimenter* påpekt at nedbrytning og tilgjengelighet av TBT i sediment representerer et kunnskapshull.

Denne rapporten beskriver resultater fra forsøk der en har sett på nedbrytningen av tinnorganiske forbindelser i sediment. Rapporten beskriver også i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment er tilgjengelig for sedimentlevende organismer og om biologiske effekter kan spores. Prosjektet belyser også i hvilken grad sedimentlevende organismer akkumulerer tinnorganiske forbindelser via næringsopptak. Oppdraget har vært delt i 2 faser. Begge faser er basert på tilbud fra NIVA datert 7. mai 2004, revidert 6. juni 2004. Oppdragets fase I er spesifisert i SFT kontrakt nr. 5004034 og fase II i SFT kontrakt nr. 50055020.

Rapporten er skrevet av følgende personer:

Biotilgjengelighet av tinnorganiske forbindelser: John Arthur Berge (NIVA)

Nedbrytning: Carl Einar Amundsen (Bioforsk), Trine Eggen (Bioforsk)

Biologiske effekter: Ketil Hylland (NIVA), Eivind Bøe (UiO)

Redaktør for rapporten: John Arthur Berge.

Saksbehandler hos SFT har vært Anne Kathrine Arnesen og fra 1. mai 2005 Kari Kjøningsen. I siste fase av arbeidet i 2006 overtok Harald Solberg saksbehandleransvaret

Analyse av tinnorganiske forbindelser i sediment er utført av Bioforsk Lab mens analysene av biologiske prøver er utført av NIVA.

Oslo, 18. mai 06



John Arthur Berge

Innhold:

1.	Sammendrag	6
2.	Summary	9
3.	Innledning.....	12
3.1	Bakgrunn.....	12
3.2	Nedbrytning	14
3.3	Reguleringer	14
3.4	Mål.....	15
4.	Metode	16
4.1	Innsamling og behandling av sediment	16
4.2	Analyse av tinnorganiske forbindelser	17
4.2.1	Sediment	17
4.2.2	Biota.....	17
4.3	Nedbrytningstester	17
4.3.1	Forsøksbetingelser	17
4.4	Biotilgjengelighetstester	18
4.4.1	Valg av testorganisme.....	18
4.4.2	Testsystem	19
4.5	Biologiske effekter.....	22
4.5.1	Børstemark (fase I)	22
4.5.2	Nettsnegl (fase II)	23
5.	Resultater og diskusjon	25
5.1	Sammensetning av forsøkssediment.....	25
5.1.1	Kornfordeling, nitrogen, fosfor og organisk karbon.....	25
5.1.2	Innhold av tinnorganiske forbindelser	26
5.2	Nedbrytning	27
5.2.1	Butyltinn-forbindelser.....	27
5.2.2	Fenyltinn-forbindelser	29
5.2.3	Vurdering av forsøksbetingelser.....	30
5.2.4	Diskusjon-nedbrytning	33
5.3	Biotilgjengelighet ved eksponering i sediment (Fase I)	34
5.3.1	Dødelighet.....	34
5.3.2	Butyltinnforbindelser.....	37
5.3.3	Fenyltinnforbindelser.....	39
5.3.4	Diskusjon – biotilgjengelighet fra sediment i fase I forsøk	41
5.4	Biotilgjengelighet ved eksponering fra fôr og sediment (Fase II).....	43
5.4.1	Dødelighet.....	43
5.4.2	Vektøkning av børstemark.....	45
5.4.3	Butyltinnforbindelser	46
5.4.4	Fenyltinnforbindelser.....	49
5.4.5	Diskusjon – biotilgjengelighet fra fôr og sediment	51
5.5	Biologiske effekter hos børstemark (fase I).....	53
5.5.1	Dødelighet.....	53
5.5.2	Nedgravning	53
5.5.3	Fødeinntak	54
5.5.4	Glutation reduktase.....	55

5.5.5	Diskusjon – effekter fase I.....	55
5.6	Biologiske effekter hos nettsnegl (fase II).....	55
5.6.1	Intersex	55
5.6.2	Cytotoksisitet	57
5.6.3	Diskusjon – effekter fase II.....	57
6.	Konklusjoner.....	58
6.1	Nedbrytning	58
6.2	Biotilgjengelighetstester	59
6.3	Biomarkører	60
7.	Referanser	61
8.	Vedlegg.....	65

1. Sammendrag

Tributyltinn (TBT), som i hovedsak benyttes som begroingshindrende middel på skip, er et miljøgiftproblem i mange marine områder. På grunn av høye konsentrasjoner av tinnorganiske forbindelser som opptrer i sediment i mange områder av norskekysten (særlig i havner) og de lave effektgrensene som er dokumentert, er det viktig å få avklart i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment utgjør et miljøproblem. *Det nasjonale råd for forurensede sedimenter* har påpekt at nedbrytning og tilgjengelighet av TBT i sediment representerer temaer der en i dag har for lite kunnskap til å kunne foreta en kostnadseffektiv og bærekraftig opprydding.

I denne rapporten beskrives resultater fra nedbrytningsforsøk der en har hatt som hovedmål å bestemme hvordan ulike miljøfaktorer påvirker nedbrytningen av TBT i sedimenter. Rapporten redegjør også for biotilgjengelighetstester som har hatt som mål å avklare i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment og før (føring med forurenset blåskjellinnmat) er tilgjengelig for sedimentlevende organismer som spises av fisk (dvs. børstemarken *Hediste (Nereis) diversicolor*). I rapporten redegjøres det også for utforskende undersøkelser som er gjennomført med tanke på å komme frem til metoder (endepunkt) som kan brukes til å vurdere giftighet av TBT-forurensede sedimenter. Disse utforskende undersøkelsene er gjennomført ved måling av noen utvalgte parametere (dødelighet, nedgraving, fødeinntak og glutatjon reduktase aktivitet) i børstemark. En har også undersøkt i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment fører til utvikling av hannlig kjønnskarakter (imposex) og effekter på cellenivå (membranstabilitet, mitokondriell aktivitet hos hemocytter) hos hunner av nettsnegl (*Hinia reticulata* = *Nassarius reticulatus*).

Til forsøkene ble det innsamlet sediment fra 4 områder: Jeløya (kontroll) i Oslofjorden, Vessøyeneset nær en småbåthavn i Grimstad, Bispevika i Oslo havn og utenfor et verft i Vikkilen ved Grimstad. Vi antar at sedimentet fra Vikkilen muligens også Vessøyeneset i hovedsak var forurenset med tinnorganiske forbindelser, mens sedimentet fra Bispevika har en mer komplisert forureningsprofil.

Nedbrytningsforsøkene ble gjennomført uten tilsetning av kjemikalier som kunne hemme eller begunstige de naturlige nedbrytningsprosessene som kan tenkes å finne sted i havnesedimenter. Temperatur og tilgang på oksygen ble imidlertid manipulert. Og man valgte å gjennomføre forsøkene ved 4 °C under aerobe og anaerobe forhold for alle sedimenter (bortsett fra kontroll) og i tillegg ved 15 °C under aerobe og anaerobe forhold for sediment fra Vikkilen. Konsentrasjonen av TBT ved starten av forsøkene i sedimentene fra Jeløya, Vessøyeneset, Bispevika og Vikkilen var henholdsvis <1-3, 70, 900 og 1170 µg/kg t.v.

Resultater av nedbrytningsforsøk

Resultater fra nedbrytningsforsøkene med sedimentene fra Vessøyeneset, Bispevika og Vikkilen viste ingen signifikant nedbrytning av organiske tinnforbindelser i noen av behandlingene i løpet av ett år. I enkelte av behandlingene for alle tre sedimentene er det en svak trend til at konsentrasjonen av TBT ble redusert gjennom forsøksperioden.

Pga den lave nedbrytningen var det ikke mulig å anslå en eksakt halveringstid for tinnorganiske forbindelser i de undersøkte sedimentene, men resultatene viser altså at halveringstiden er betydelig lengre enn ett år. Den lave nedbrytningen innebærer at de

konsentrasjoner av tinnorganiske forbindelser som i dag finnes i sedimenter i norske havner og fjorder, vil utgjøre en potensiell miljøtrussel i mange år fremover.

Forsøksoppsettet som er benyttet har lyktes i å skape forskjeller i redox-forhold mellom aerobe og anaerobe forsøksledd. Lavere redox-potensiale og høyere produksjon av metan i de anaerobe forsøksleddene bekrefter dette. Ulike redox-forhold har imidlertid ikke medført forskjeller i nedbrytning av tinnorganiske forbindelser.

Forskjeller i organisk innhold og næringsstoffer mellom de tre sedimentene har i dette forsøket ikke gitt målbare forskjeller på nedbrytningen. Produksjonen av metan var størst i sediment fra Vessøyneet og Bispevika dvs. de sedimentene med høyest innhold av organisk materiale og næringsstoffer.

Resultater av biotilgjengelighetstester

Etter 4 ukers eksponering hadde konsentrasjonen av TBT og nedbrytningsproduktene dibutyltinn (DBT) og monobutyltinn (MBT) økt betydelig i børstemark i sediment fra Vikkilen (Vikkilen) og Bispevika mens det var liten eller ingen økning i marken som hadde gått i kontrollsedimentet fra Jeløya og sedimentet fra Vessøyneet. Det var i utgangspunktet noe uventet at også dyrene som hadde gått på sedimentet fra Vessøyneet viste lite opptak. Sedimentet fra Vessøyneet inneholdt nemlig klart mer tinnorganiske forbindelser enn kontrollsedimentet, men likevel langt mindre enn sedimentet fra Vikkilen og Bispevika.

Det var gjennomgående en klar lineær sammenheng mellom oppnådd konsentrasjon av TBT, MBT og DBT (sistnevnte dog ikke signifikant) i børstemark og konsentrasjon i sedimentet dyrene var plassert på. Resultatene tyder på at opptaket av DBT og MBT i børstemark øker mer med sedimentkonsentrasjonen enn opptaket av TBT.

For alle de tre fenylforbindelsene antydes det at konsentrasjonen i børstemarken avtar med økende konsentrasjon i sedimentet. Dette var motsatt av det en observerte for butylforbindelsene og er ikke i tråd med det en skulle forvente. Resultatene er sannsynligvis en konsekvens av de relativt høye konsentrasjonene av TPhT som ble registrert i forsøksdyrene ved forsøkets begynnelse og omtales derfor ikke nærmere her

Resultatene fra analyse av TBT, DBT og MBT etter fôringsforsøket kunne deles i 3 grupper. Den første gruppen (gruppe 1) med de laveste konsentrasjoner bestod av børstemark tatt ut for analyse ved starten av forsøket og børstemark som hadde vært plassert på kontrollsedimentet fra Jeløya uten fôring eller foret med skjell med moderate konsentrasjoner av TBT, DBT og MBT (henholdsvis 101, 46 og 39 µg/kg t.v.). Børstemarken ser derfor ut til å kunne unngå oppbygging av forhøyede TBT konsentrasjoner så lenge de går på sediment med lave konsentrasjoner av TBT og det ikke er spesielt høye konsentrasjoner i deres mat. Siden fôring med skjell med moderate konsentrasjoner av tinnorganiske forbindelser ikke ga noen økning i konsentrasjonen i mark tyder resultatene på at denne organismen har en viss evne til å nedbryte/metabolisere TBT.

Den andre gruppen (med klart høyere konsentrasjoner enn gruppe 1) bestod av børstemark som enten var eksponert for sediment fra Vikkilen (TBT: 987 µg/kg t.v.) eller føret med skjell fra Vikkilen (TBT: 2348 µg/kg t.v.). Det var ingen signifikant forskjell i gjennomsnittskonsentrasjon i mark eksponert i sedimentet eller via føret. Disse resultatene tyder på at de to opptaksveiene i dette tilfelle betyr omtrent like mye.

Den siste gruppen (med den høyeste konsentrasjonen) bestod av børstemark som både hadde gått på forurenset sediment fra Vikkilen og samtidig var føret med skjell fra samme sted, dvs. ”dobbel eksponering”.

Også resultatene fra analyse av TPhT i føringsforsøket kunne i prinsippet deles i de samme tre grupper som det en så for butylforbindelsene. Forskjellen mellom konsentrasjonen i Gruppe 1 med de laveste konsentrasjoner og gruppe 3 med de høyeste konsentrasjoner var imidlertid relativt lav (ca 2,4x) i forhold til det som ble observert for TBT (ca 80x) og skyldes at konsentrasjonen av TBT i sediment og blåskjell fra Vikkilen var relativt mye høyere enn det som ble observert for TPhT og derfor ikke gir samme sterke eksponering. Konsentrasjonen av MPhT var meget lav i begge forsøksedimenter og i begge typer før og i tråd med dette var de observerte konsentrasjoner av MPhT i forsøksdyrene lave i alle prøver (<1 µg/kg v.v.)

Biotilgjengelighetstestene har vist at tinnorganiske forbindelser tas opp i børstemarken *Hediste diversicolor* som er et potensielt byttedyr for fisk som torsk. Det er i andre undersøkelser påvist tinnorganiske forbindelser i fisk. Forurensete sedimenter er derfor indirekte en potensiell kilde for forekomst av tinnorganiske forbindelser i fisk. Forhøyede nivåer av tinnorganiske forbindelser i fisk er en potensiell trussel både for fiskens helse og kan muligens også ha en viss betydning for spiselighet.

Resultater av effektstudiene

Hunner av nettsnegl (*Hinia reticulata*) som ble holdt på sediment fra Bispevika og Vikkilen utviklet hannlig kjønnskarakter (imposex) i løpet av en periode på 4 uker, mens det etter tilsvarende lang eksponering på kontrollsedimentet fra Jeløya i hovedsak ble observert upåvirkede snegler. Imposex er derfor et følsomt endepunkt for å identifisere potensielle biologiske effekter av TBT i sediment. Imposex er en respons som antas å være spesifikk for TBT. Havnesedimenter kan imidlertid inneholde ulike forurensningstyper og imposex vil i en slik situasjon ikke være noe godt endepunkt for å vurdere sedimentenes totale giftighet.

Fødeinntak hos fjæremark (*Arenicola marina*) synes å være påvirket av forurensning med organisk tinn. Nedgravning var imidlertid ikke et følsomt effektmål for påvirkning av organiske tinnforbindelser i sediment for fjæremark og *H. diversicolor*. Det var heller ingen åpenbare effekter av tinnorganiske stoffer i sediment på glutation reductase i *H. diversicolor*. Resultatene tyder på at denne biomarkøren målt i *H. diversicolor* ikke kan brukes som metode til å identifisere mulige effekter av organiske tinnforbindelser i sediment.

Det ble heller ikke observert klare forskjeller i membranstabilitet og mitokondriell aktivitet mellom celler fra nettsnegl holdt i de ulike sedimentene. Noen statistiske forskjeller ble likevel observert, men det er behov for mer kunnskap om prosessene før resultatene kan tolkes i forhold til påvirkning.

Både i forbindelse med biotilgjengelighetstestene og effektstudiene er dødeligheten av forsøksdyrene (*H. diversicolor*) registrert, men resultatene var ikke entydige. En totalvurdering tyder på at dødelighet av børstemark er lite påvirket ved høye konsentrasjoner av tinnorganiske forbindelser i sediment. Dødelighet er derfor neppe et godt endepunkt for å vurdere giftighet av sterkt TBT-forurensete sedimenter. Resultatene fra biotilgjengelighetstestene antyder imidlertid at det er konsentrasjonen av tinnorganiske forbindelser i dyrene som i første omgang er avgjørende for dødeligheten og at denne kan øke når marken har tilgang på sterkt forurenset før. Har marken tilgang på forurenset før kan det derfor tenkes en øket dødelighet selv om sedimentkonsentrasjonene ikke er spesielt høye.

2. Summary

The anti fouling agent tributyltin (TBT) is an environmental problem in many marine environments. Because of the high concentrations of organotins often observed in sediments along the Norwegian coast (especially in harbours) and the low threshold for triggering biological effects it is important to clarify to what extent organotins represent an environmental problem. The *Norwegian national counsel for contaminated sediments* has pointed out that degradation and bioavailability of TBT in sediments represents topics with insufficient knowledge to perform cost effective and sustainable treatment and clean-up of contaminated sediments.

This report presents results from experiments on degradation of organotins in three sediments with high (1100 µg/kg) to intermediate (70 µg/kg) concentrations of butyltin compounds. Degradation studies were performed under different redox environments at 4 and 15 °C during one year.

Bioavailability of organotins and potential biological effects (mortality, sediment processing, burial, glutathione reductase) in the polychaete *Hediste (Nereis) diversicolor* placed on four different sediments and fed with contaminated food items are also presented. Possible biological effects of organotins in sediment on the gastropod *Hinia reticulata* (= *Nassarius reticulatus*) was also investigated by recording the occurrence of imposex and cellular changes (membrane stability, mitochondrial activity).

The sediments for the experiments were collected at 4 sites: Jeløya (control), Vessøyneset near a harbour for pleasure crafts, Bispevika in the commercial harbour of Oslo and near a shipyard (Vikkilen) near Grimstad

Results from the degradation tests

Analysis of sediments 10 and 56/59 weeks (aerobic/anaerobic experiments) after the start of the experiments showed no significant degradation of organotin compounds during the experimental period. In some treatments, however, there seem to have been a small degradation of TBT. Due to the low degradation rate the half-life of organotin compounds could not be calculated, but are much longer than one year. The low degradation rate implies that organotin contaminated sediments will represent a potential threat to marine life for many years to come.

The experimental design that was used in the experiments created differences in the redox-conditions between experiments. Methane production and redox-potentials were highest in the anaerobic treatments. Neither increased temperature (4 to 15 °C) nor increased aerobic conditions have lead to increased degradation during the experimental period.

Differences in organic matter content, content of nutrients as well as silt and clay between the sediments, do not seem to have had any influence on the degradation of organotin compounds in this experimental setup.

Results from the bioavailability tests

The concentration of TBT and the degradation product dibutyltin (DBT) had increased significantly after 4 weeks of exposure in the polychaetes in the sediments from the area near the shipyard (Vikkilen) and from Bispevika in the commercial harbour of Oslo. There were however no or only a small increase in concentration in the polychaetes in the control sediment and the sediment from Vessøyneset.

There was a general clear linear relation between the achieved concentration of both TBT and MBT in the polychaetes and the concentration in the sediments. Regression indicates that the concentration of DBT and MBT increases more with increasing sediments concentrations than TBT.

The results indicate that organotins in sediment can be a source for TBT in fish that eats polychaetes that live in TBT contaminated sediments.

The feeding experiment show that the polychaet *Hediste diversicolor* can avoid build up of high concentrations of TBT when their food (mussels from Solbergstrand) contain 101 g/kg d.w. of TBT. This indicates break down/metabolise of TBT. Increased concentrations were however seen when the organism were feed with mussels that contain 2348 µg/kg d.w. with TBT (mussels from Vikkilen). The highest concentration in *Hediste* (355 µg/kg d.w.) were observed when the organisms were placed on contaminated sediment (TBT: 987 µg/kg d.w.) and at the same time fed with TBT contaminated food (2348 µg/kg d.w.)

The results show that organotins in sediment (and prey) are bioavailable to the polychaete *Hediste* which is a potential prey item for fish like cod. Other investigations show that organotins also are found in fish. Sediments contaminated with organotins are thus indirectly a potential source for organotins in fish. Increased level of organotins in fish is a potential threat for the well being of fish and possibly also for safe human consumption of the fish.

Biological effects

Imposex is known to be a sensitive endpoint for identifying biological effects of organotin. Females of *Hinia reticulata* developed advanced stages of imposex after 4 weeks of exposure to sediments from Bispevika and Vikkilen. No effects were seen in *Hinia* exposed in the control sediment.

The experiments indicate burial was not a reliable endpoint for the evaluation of toxicity of organotins in sediments with the range of concentrations used in this experiment. The experiments do however indicate that high tissue concentration of organotin in the polychaetes (*Hediste diversicolor*) provokes increased mortality.

Sediment processing by the polychaete *Arenicola marina* was however significantly affected (reduced sediment processing), most likely by the increased TBT concentration in the sediment and may be a potential endpoint for identifying biological effects in marine sediments. There were no clear effects of organotin on glutathione reductase in *H. diversicolor*. This indicates that this biomarker in this organism is not a good parameter to identify effects of organotins in sediments.

Clear differences of the treatments on membrane stability and mitochondrial activity were not seen in the gastropod *Hinia reticulata*. This emphasize the need to increase our understanding of the underlying processes of organotin effects.

3. Innledning

3.1 Bakgrunn

Bruken av tinnorganiske forbindelser viste sterk økning fra 1960-tallet og i hvert fall utover mot slutten av 1980-årene (Huggett et al. 1992 med referanser). Tributyltinn (TBT), som vesentlig benyttes som begroingshindrende middel på skip, er blant de giftigste stoffene som med hensikt er introdusert i omgivelsene, og et av de alvorligste miljøgiftproblemene i mange marine områder.

Utsiktede effekter av TBT ble først oppdaget på østers i Frankrike i 1970-årene (Alzieu et al. 1986 med referanser, Ruiz et al. 1996). Senere er det også funnet skader eller effekter på en rekke andre marine organismer. Effekter fra TBT på den meget følsomme purpursneglen (*Nucella lapillus*) er observert langs store deler av norskekysten (Berge et al. 1997, Følsvik et al. 1998b) og det var kun i Finnmark at en observert populasjoner av purpursnegl uten effekter (forekomst av imposex). I enkelte norske havneområder er det også påvist effekter på den langt mindre følsomme strandsneglen *Littorina litorea*. Effekter på ulike sneglearter er også påviste i en rekke kystområder rundt om i verden (Ellis & Pattisina 1990), blant annet i områder som Island (Svavarsson og Skarphédinsdóttir, 1995) og Færøyene (Følsvik et al. 1998a, b) og antas å være relatert til en hormonforstyrrende effekt av TBT (Bettin et al. 1996). Det er imidlertid tegn på at effekter på snegler er avtagende i enkelte nordlige farvann (Jörundsdóttir et al. 2005), sannsynligvis pga innførte tiltak mot bruk av TBT på småbåter.

Utover skader på muslinger og snegl kan tri- og dibutyltinn også gi en rekke andre effekter. Noen av disse er skade på plasmamembraner, reduksjon i antall lymfocytter, redusert fagocytose og hemming av immunforsvaret (Snoeij et al. 1987, O'Halloran et al. 1998 med referanser). Hos fisk er det vist at TBT kan hemme cytokrom P450 aktiviteten (Reader et al. 1996).

I Norske områder er det i tillegg til i sediment og skalldyr også funnet til dels høye konsentrasjoner av tinnorganiske forbindelser i fisk (Knutzen, 2002, Berge 2002) og sjøpattedyr (Berge et al. 2004). Nyere data viser at fisk (og taskekrabbe) kan inneholde tinnorganiske forbindelser som muligens kan ha betydning for spiselighet (Knutzen, 2002, Berge, 2002). Rapporterte analyseresultater fra torskelever viser konsentrasjoner av TBT i området 9,8-534 µg TBT/kg v.v. (middel: 97 µg TBT/kg v.v.) hvor den høyeste konsentrasjonen ble observert i Oslo havn og den laveste ved Fevik (Knutzen, 2002). Tilsvarende analyseresultater for TPhT i torskelever viser konsentrasjoner i området 47-1944 µg TPhT/kg v.v. (middel: 439 µg TPhT /kg v.v.) hvor den høyeste konsentrasjonen ble observert i indre Oslofjord og den laveste i Fredrikstad havn (Knutzen, 2002). For fisk ser det på grunnlag av de observerte konsentrasjoner ut som TPhT er et vel så stort problem som TBT. Forekomst av TBT og andre tinnorganiske forbindelser som TPhT i fisk og til dels i sjøpattedyr tyder også på at denne gruppe stoffer også transporteres inn i næringsnettet.

Tinnorganiske forbindelser og da spesielt tributyltinn (TBT) og nedbrytningsproduktene dibutyltinn (DBT) og monbutyltinn (MBT), har de siste årene fått mye oppmerksomhet i forbindelse med negative miljøeffekter i marine systemer. Forurensningsnivået i marine sedimenter er ofte i SFT klasse "meget sterkt forurenset". På grunn av forbindelsenes kjemiske og biologiske egenskaper med langsom nedbrytning i miljøet og relativt stort

potensial for mobilisering, utvasking og transport med kolloidalfraksjonen, stilles det store krav til tiltaksløsninger for sedimenter med høye konsentrasjoner av tinnorganiske forbindelser. I flere områder hvor det har vært foretatt miljømudring (Sandefjord, Vadsø) er det også etter mudringen påvist høye konsentrasjoner i mudringsområdene. På grunn av spredningspotensialet av de tinnorganiske forbindelsene stilles det også store krav til de disponeringsløsninger en velger for de mudrede massene, både i det marine og terrestriske miljøet. Tinnorganiske forbindelser finnes i høye konsentrasjoner i sediment i mange områder av norskekysten (særlig i havner) og med de lave effektgrensene som er dokumentert er det viktig å få avklart i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment utgjør et miljøproblem.

Likevektslikning for TBT viser at ved en pH på under ca. 6,25 (syrekonstanten pKa) foreligger TBT som et kation og over denne pH som en nøytral forbindelse (Weidenhaupt et al.1997). Bindingen både av TBT og andre tinnorganiske forbindelser er pH-avhengig (Weidenhaupt et al.1997; Arnold et al. 1998, Hoch, 2004; Hoch og Schwesig, 2004). Sterkest binding forekommer ved pH-verdier rundt 6, 25 (syrekonstanten). TBT har i likhet med PAH og PCB sterk affinitet for organisk materiale (Arnold et al. 1998, Hoch og Schwesig, 2004). Det er vist at TBT bindes reversibelt både til organisk materiale (Berg et al. 2001, Arnold et al. 1998) og mineraloverflater (Weidenhaupt et al.1997). Den klare sammenhengen mellom innholdet av organisk materiale og bindingsstyrke gjør at det er viktig å inkludere sedimenter med forskjellig innhold av TOC. I sedimenter ved lavt organisk materiale er fordelingskoeffisienter (K_d -verdier) rundt 200 ikke uvanlig for TBT (forurenset sediment fra Horten), mens for ulike rene leirmineraler ligger K_d rundt 25 – 125 og ved binding til humus så høyt som $\log K_d$ 4–5 (Eggen et al., 2003, Arnold et al., 1998; Weidenhaupt et al.1997; Hoch og Schwesig, 2004) .

I det marine miljø med pH rundt 8 vil TBT være relativt mobilt (jmf. pH-effekten) og med stor andel finpartikulært stoff vil det være stor fare for partikulær/kolloidal spredning og transport.

3.2 Nedbrytning

Halveringstiden for TBT i vann er variabel avhengig av miljøforholdene (pH, temperatur, turbiditet og lys) og antas å ligge i området dager til uker. Halveringstiden i sediment er betydelig lenger og kan variere mellom 1-19 år (Alzieu, 1998). Det er lite litteratur som belyser sammenhengen mellom de viktigste miljøfaktorene og nedbrytningsratene av TBT i "naturlig" forurenset sediment. Dataene som finnes er ofte fra forsøk der en har blandet inn forbindelsen i sedimentet (Watanabe et al., 1995) eller er estimerte verdier basert på data fra sedimentkjerne innsamlet i felt (Sarradin et al., 1995). Slike estimerte halveringstider varierer betydelig: 1,9-2,3 år (Sarradin et al., 1995), 1,85 år (De Mora et al., 1989), 0,9-5,2 år (Dowson et al., 1993b). Temperatur og redoksforhold kan påvirke nedbrytningen av tinnorganiske forbindelser. Fra relevante laboratoriestudier er halveringstiden for TBT i sedimenter under aerobe forhold ved 14°C estimert til 360 dager, mens det under anaerobe forhold ikke ble påvist signifikant reduksjon i løpet av forsøksperioden på 330 dager (Dowson et al., 1993a).

Langsom nedbrytning av TBT i miljøet og effekter av TBT på følsomme organismer ved svært lave konsentrasjoner (< 1 ng/l i følge Mathiessen og Gibbs, 1998) gjør at det er sannsynlig at negative miljøeffekter kan forekomme også etter et eventuelt totalforbud mot TBT i internasjonal skipsfart fra 2008. Bedre kunnskap om nedbrytningen av TBT er viktig for å kunne estimere de naturlige nedbrytningsratene i miljøet under ulike betingelser, i deponier og med tanke på å utvikle mer aktive biologiske rensemetoder.

3.3 Reguleringer

I Norge var det liten oppmerksomhet omkring TBT inntil midten av 1980-årene da det ble fokusert på mulige uheldige konsekvenser for norsk akvakultur av at TBT ble benyttet på mærer (se bl.a. Berge 1987). Forbud mot bruk i denne sammenheng kom i 1989. Omtrent samtidig ble det, med mindre unntak, forbudt å bruke TBT-holdig maling på båter under 25 m. FNs skipsfartsorganisasjon IMO (International Maritime Organisation) vedtok i 1998 en resolusjon med tanke på å fase ut TBT som begroingshindrende middel også på større skip og i oktober 2001 skrev medlemmene av IMO under på en konvensjon for utfasing av tinnorganiske forbindelser i bunnstoff på båter. Konvensjonen vil imidlertid være bindende først når 25 land som representerer minst 25 % av verdens tonnasje har ratifisert den. Første fase av utfasingsplanen startet 2003 og innebærer et forbud mot ny-påføring av TBT-holdig bunnstoff. Siste fase er planlagt å tre i kraft i 2008 og innebærer et forbud mot at TBT skal være en del av skipets begroingshindrende system. Selv om man i et 10-20 års perspektiv pga. de forvaltningsmessige tiltak som er satt i gang forhåpentligvis kan imøtese en løsning på problemet med tinnorganiske stoffer i det marine miljø, er det en del usikkerheter. Disse knytter seg særlig til: 1) betydningen av de lagre av TBT som en i dag har i sedimentene, 2) mulige uoppdagede effekter hos ømfintlige arter/samfunn, 3) tilførsler fra annen bruk enn som antibegroingsstoffer (eksempelvis via kommunalt avløpsvann, Fent 1996), 4) tidspunkt for når tilstrekkelig mange land har ratifisert IMOs konvensjon for utfasing av bruk av tinnorganiske forbindelser som begroingshindrende middel på skip.

3.4 Mål

Det nasjonale råd for forurensede sedimenter har påpekt at nedbrytning og tilgjengelighet av TBT i sediment representerer temaer der en i dag har for lite kunnskap til å kunne foreta en kostnadseffektiv og bærekraftig opprydding av forurensede sedimenter.

Forvaltning og metoder for behandling av forurensede sedimenter bestemmes i stor grad av forurensningsgrad, nedbrytning og opptak og eventuelle effekter av den aktuelle forbindelse i organismene i resipienten.

Denne rapporten beskriver resultater fra forsøk der en har undersøkt nedbrytningen av tinnorganiske forbindelser i sediment med ulike nivåer med TBT. Rapporten beskriver også i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment er tilgjengelig for sedimentlevende organismer og i hvilken grad *sedimentlevende organismer* akkumulerer tinnorganiske forbindelser via fødeopptak. Det er også foretatt forsøk av mer utforskende karakter for å avklare i hvilken grad biologiske effekter av tinnorganiske forbindelser kan spores i børstemark ved måling av noen utvalgte parametere (dødelighet, nedgraving, fødeinntak og glutation reduktase aktivitet). I fase II av prosjektet har en også undersøkt i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment fører til utvikling av hannlig kjønnskarakter (imposex) og effekter på cellenivå (membranstabilitet mitokondriell aktivitet) hos hunner av nettsnegl (*Hinia reticulata* (= *Nassarius reticulatus*)).

Delmål for nedbrytningsstudiene har vært:

- Bestemme halveringstider for TBT under varierende miljøforhold, temperatur og redoksforhold, i sedimenter
- Vurdere betydningen av sammensetningen av sedimenter med hensyn på organisk materiale og tekstur og TBT-nedbrytning.

Delmål for biotilgjengelighetstudiene har vært:

- Klargjøre i hvilken grad TBT og TPhT (begge med nedbrytningsprodukter) i sediment og biologisk materiale (blåskjellinnmat) er tilgjengelig for sedimentlevende organismer som spises av fisk (dvs. børstemarken *Hediste diversicolor*).

Delmål for biomarkørundersøkelsene

- Gjennomføre utforskende undersøkelser med børstemark og snegl med tanke på å komme frem til metoder (endepunkt) som kan brukes til vurdere giftighet av forurensede sedimenter

4. Metode

4.1 Innsamling og behandling av sediment

Det ble innsamlet sediment fra 4 områder (se Tabell 1). Sediment 1 fra Jeløya var ment som et kontrollsediment og er innsamlet fra tidevannssonen på lavvann. Fra denne lokaliteten ble det innsamlet sediment både i 2004 (fase I) og 2005 (fase II). De øvrige sedimentene som ble benyttet i fase II var innsamlet året før (fase I) og hadde stått lagret i lukkede spann ved ca 10-20 °C. Børstemarken som inngikk i biotilgjengelighetstestene var innsamlet på samme tidspunkt og lokalitet som sediment 1 (dvs Jeløya).

Sediment 2 er innsamlet nær en småbåthavn i Grimstad, mens sediment 3 er innsamlet i Bispevika i Oslo havn og representerer således en storbyhavn. Sediment 4 er innsamlet i Vikkilen ved Nymo Mek. Verksted i Grimstad (skipsverft) og representerer et område der en på forhånd visste at det var høye konsentrasjoner av TBT (Næs et al. 2000). Senere undersøkelser har også bekreftet at sedimentet i deler av Vikkilen inneholder ekstremt høye konsentrasjoner av TBT.

Tabell 2. Sediment benyttet i forsøkene

Sediment nr.	Lokalitet	Innsamlingsdato	Dyp (m)	N	E
1	Jeløya	14/09-2004, 20/09-2005	0-0,5	59° 27,96'	10° 38,06'
2	Vessøyneset	08/09-2004	7,4	58° 20,126'	08° 35,695'
3	Bispevika	28/06-2004	6,5	59° 54,321'	10° 45,421'
4	Vikkilen	08/09-2004	16,5	58° 21,493'	08° 36,907'

Sediment nr.	Beskrivelse av sedimentet
1	Sedimentet hadde en gråaktig farge, uten lukt av H ₂ S.
2	Gråsort, løst (dynnaktig), ingen lukt av H ₂ S
3	Oksisk brun overflate (2-3mm) deretter gråsvart ned til 1 cm, videre svart. Mørkere nedover i kjernen lukt og konsistens av olje.
4	Olivengrønn overflate, resten var gråsort og uten lukt. Levende irregulære sjøpinnsvin (muligens <i>Echinocardium</i>) og muslingen <i>Corbulla gibba</i> ble observert.

På lokalitet 2-4 ble sedimentene innsamlet med en Van Veen grabb. Grabben tar sediment fra de øverste 10 cm av sedimentet. Fra hver lokalitet ble det tatt ca 3-4 grabbskudd. På lokalitet 1 ble sedimentet innsamlet med spade i tidevannssonene.

Før forsøkene ble sedimentene fra hvert sted homogenisert separat i en sementblander. Sementblanderen ble vasket med sjøvann (ikke overflatevann) før og mellom hver homogenisering. Homogeniseringen av sediment ble foretatt i rekkefølge etter stigende forurensningsgrad (dvs. i rekkefølgen: Jeløya, Vessøyneset, Bispevika, Vikkilen). Etter homogenisering ble sedimentene lagret i bøtter i påvente av start av de ulike forsøk.

4.2 Analyse av tinnorganiske forbindelser

4.2.1 Sediment

Bestemmelse av tinnorganiske forbindelser i nedbrytningsforsøket ble utført på sediment som var tørket i opptil 3 døgn ved 35-40 °C.

En kjent mengde sediment behandles med ultralyd i surt miljø. Ekstraktet inndampes og derivatiseres. Ekstraktet injiseres deretter på GC/MS (massespekterdetektor koblet til en gasskromatograf). Hver forbindelse kvantifiseres mot en fire-punkts standardrekke. Kvalitativ og kvantitativ internstandard rapport genereres for hver prøve. Metoden kvantifiserer tinnorganiske forbindelsene som enkeltstoffer. Nedre grense for bestemmelse er 1 µg/kg for alle butyl- og fenyltinnkomponentene.

I forbindelse med alle analyseserier av sediment ble det analysert et ”kontrollsediment” med kjent sammensetning. Analysene av kontrollsedimentet viser at de fleste analyseserier gir forventede konsentrasjoner. I de tilfeller hvor konsentrasjonen i kontrollsedimentet avviker fra forventet verdi, ble analyseresultatene korrigert i forhold til dette avviket.

4.2.2 Biota

Prøvene tilsettes en indre standard og oppsluttes med alkoholisk lut. Etter pH-justering og direkte derivatisering ekstraheres de tinnorganiske forbindelsene med et organisk løsningsmiddel og prøvene renses på basisk aluminakolonner før de justeres til sluttvolum.. Prøvene analyseres med en masseselektiv detektor koblet til en gasskromatograf (GC/MSD). De ulike forbindelsene identifiseres ved hjelp retensjonstid og spesifikke ioner. Kvantifiseringen utføres med den indre standarden. Benyttet Instrumentering: Agilent 5973 Masseselektiv detektor og Agilent 6890 gasskromatograf.

4.3 Nedbrytningstester

4.3.1 Forsøksbetingelser

Nedbrytningsforsøk ble gjennomført med sedimenter fra Vessøyneset (sediment 2), Bispevika (sediment 3) og Vikkilen (sediment 4). Oversikt av forsøksbetingelser og hvilke sedimenter som inngikk er vist i **Tabell 3**. Sediment fra Vikkilen hadde høyest startkonsentrasjon av TBT og ble valgt som det sedimentet som ble brukt i alle forsøksbetingelser. Sedimenter fra Vessøyneset (sediment 2) og Bispevika (sediment 3) ble kun brukt i nedbrytningsforsøk ved 4°C.

Tabell 3. *Forsøksbetingelser for nedbrytningstestene.*

Forsøksledd	Temperatur	Redox-forhold	Sediment som inngikk i testen
1	4 °C	Aerob	2, 3, 4
2	4 °C	Anaerob	2, 3, 4
3	15 °C	Aerob	4
4	15 °C	Anaerob	4

Sedimentene ble tilsatt kunstig sjøvann og slurrien (tørrestoffinnhold på ca. 20 % TS) ble homogenisert ved mekanisk røring. Under kontinuerlig omrøring ble sedimentprøver pipetert

fra og ut i 40 ml prøveglass og deretter veid. Forsøket ble gjennomført med 3 paralleller. De anaerobe nedbrytningsforsøkene ble opprettet og gjennomført i N₂-atmosfære, mens de aerobe forsøkene ble gjennomført ved å aktivt lufte beholderne mellom prøvetakingene.

For hvert forsøksledd ble det laget to prøvesett hvor kontrollparametre som pH, ledningsevne, redokspotensialet og metan (i gassfasen) ble målt. Disse prøvene ble behandlet på samme måte som prøver i nedbrytningsforsøkene. Åtte andre prøver ble frosset som startprøver. For hver analyseserie ble tre startprøver tint og analysert sammen med prøvene som ble høstet ved ulike tidspunkter.

Prøver fra alle tre sedimentene ble høstet etter 5, 10, 30, 50 uker.

Den type nedbrytningsforsøk som er beskrevet over er utviklet og utprøvd gjennom tidligere prosjekter og er gjennomført bl.a. for å studere nedbrytningskinetikk av DDT i sedimenter (Eggen *et al.* 2003).

Tentative resultater fra nedbrytningstestene viste liten eller ingen nedbrytning og i enkelte tilfeller også økning i konsentrasjon. For å kontrollere resultatene ble det derfor i 2006 foretatt reanalyse av prøver innsamlet ved start og etter 10 og 50 uker. Disse resultatene presenteres i denne rapporten. Basert på tidligere analyseresultater som gav indikasjoner om svært lav nedbrytningshastighet, ble det bestemt at det ikke var nødvendig å analysere prøver fra uke 5 og 30.

Sedimentene ble også analysert for støtteparametere (TOC, tot-N, tot-P og kornfordeling).

4.4 Biotilgjengelighetstester

Målsetningen med testene (fase I) var å gi svar på i hvilken grad tinnorganiske forbindelser (TBT, DBT, MBT, TPhT, DPhT og MPhT) i sediment er biotilgjengelig for bunndyr som lever i sedimentet. Ut fra innholdet av tinnorganiske forbindelser i sedimentet og støtteparameterene forventet en at det også skulle være mulig å si noe om biotilgjengelighet av tinnorganiske forbindelser i ulike typer sediment.

I fase II av prosjektet ønsket en å kvantifisere betydningen av opptak i børstemark fra forurenset sediment i forhold til opptak via organisk materiale (fôr). Til forsøkene i fase II ble det benyttet forurenset sediment fra Vikkilen og kontrollsediment fra Jeløya. I forsøkene ble børstemarkene foret med blåskjellinnmat inneholdende mye tinnorganiske forbindelser og kontrollskjell med lite tinnorganiske forbindelser. De forurensete skjellene var innsamlet i Vikkilen og kontrollskjellene var tatt ved Solbergstrand

4.4.1 Valg av testorganisme

Børstemark er en av de mest vanlige dyregrupper i sediment og vil i områder med forurensete sedimenter kunne akkumulere tinnorganiske forbindelser. Børstemark spises av fisk. Dersom børstemarken inneholder tinnorganiske forbindelser vil dette kunne føre til at disse forbindelser også opptrer i fisk.

Børstemarken *Hediste (Nereis) diversicolor* (og andre nereis-arter) er vanlig forekommende i norske farvann og er benyttet for testing av biotilgjengelighet, bioakkumulering og

risikovurderinger av miljøgifter fra forurensede sedimenter (Hylland 1996) og annet partikulært materiale (Schaanning et al. 2002). Vi har av denne grunn valg å benytte *H. diversicolor* (senere omtalt som *Hediste*) som testorganisme i opptaksforsøkene. Dyrene til forsøkene ble innsamlet samtidig og på samme tidspunkt som sediment fra Jeløya (se **Tabell 2**).

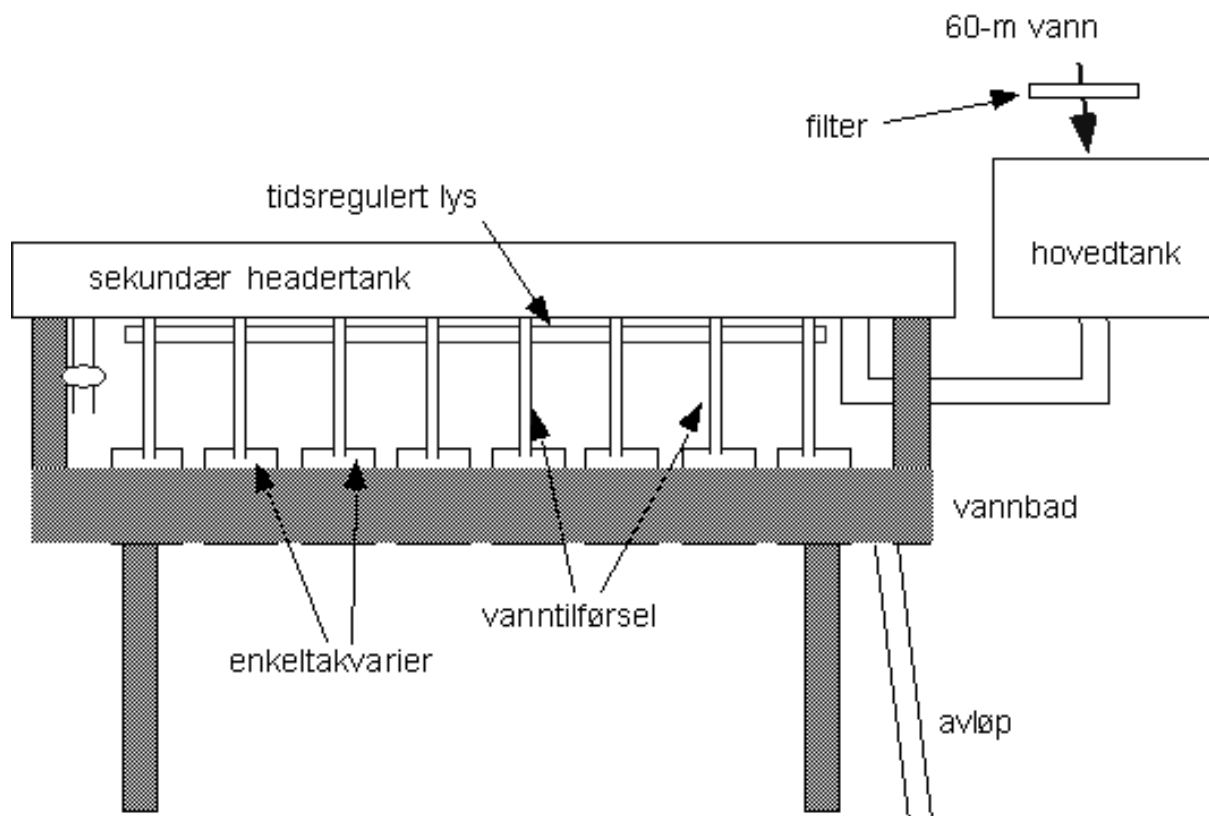
4.4.2 Testsystem

Fase I

Opptaksforsøkene i fase I ble gjennomført i 12 små akvarier (3 replikater for hver sedimenttype). En prinsippskisse av oppsettet ses i **Figur 1** og foto av forsøksoppsettet i **Figur 2**. Forsøkene ble utført ved NIVAs anlegg på Solbergstrand.

Børstemark ble samlet inn fra et område (Jeløya) der vi på forhånd visste at det var lite TBT i sedimentet. Ca 3 L sediment ble overført til hvert kar. I alt brukte vi 3 ulike typer havnesediment og kontrollsediment fra samme sted som børstemarken var innsamlet.

I hvert kar plasserte vi 21 børstemark. Konsentrasjonen av butyltinn (TBT, DBT, MBT) og fenyltinn (TPhT, DPhT og MPhT) i sedimentet ble analysert ved starten av forsøket. Ved starten av forsøket ble det også ofret ca 60 tilfeldig utvalgte børstemark for analyse av startkonsentrasjonen av butyltinn og fenyltinn. Etter en eksponering på 4 uker ble forsøkssedimentet vasket gjennom en sikt på 5 og 1 mm og gjenværende børstemark plukket ut fra hvert kar. Børstemarken ble deretter natten over plassert i 1 L begerglass med sjøvann for at de skulle tømme tarmen for eventuelle partikler. Etter at marken på denne måten hadde "gått seg rene" ble børstemark fra hvert kar plassert separat i brente prøveglass og lagret i påvente av analyse av TBT og TPhT med nedbrytningsprodukter.



Figur 1. Prinsippskisse av forsøksoppsett for testing av biotilgjengelighet og bioakkumulering av miljøgifter fra forurensede sedimenter.



Figur 2. Foto av forsøksoppsett som ble benyttet for testing av biotilgjengelighet og bioakkumulering av tinnorganiske forbindelser.

Fase II

Det samme testsystemet som i fase I ble benyttet. Antall forsøksakvarier var imidlertid økt til 18. I bunnen av 9 av akvariene var det plassert forurenset sediment fra Vikkilen (fra samme batch som i fase I) og de resterende 9 akvarier var det kontrollsediment fra Jeløya (innsamlet i 2005). I hvert akvarium ble det ved starten av forsøkene (23/09-05) plassert 20 børstemark (tilsvarende 8-10,1 g våtvekt pr akvarium, se vedleggstabell 4) innsamlet noen dager før fra Jeløya. Ved starten av forsøket ble det ofret 20 børstemark for analyse av startkonsentrasjonen av tinnorganiske forbindelser. Børstemarken utplassert på hver av de to typer sediment ble føret på 3 ulike måter: ingen føring, føring med forurenset før og føring med sterkt forurenset før. For hver kombinasjon av sediment/før ble det benyttet 3 akvarier (3 replikater) (se tabell **Tabell 4**). Som før for børstemarken ble det benyttet blåskjellinnmat fra skjell tatt fra tidevannssonen ved Solbergstrand (lite tinnorganiske forbindelser) og fra Vikkilen (mye tinnorganiske forbindelser). Skjellene fra Vikkilen innehold ca 20 ganger mer TBT enn skjellene fra Solbergstrand (se **Tabell 7** for analyseresultater). I løpet av forsøksperioden ble det totalt tilsatt fra 10,2 til 11,5 g med blåskjellinnmat til de akvarier som ble foret. Føring ble foretatt daglig (ca 1,1-0.4 g/dag pr akvarium) unntatt i helgene (se vedleggstabell 5 for en oversikt over mengde før som ble benyttet i hvert enkelt akvarium). Forsøkene ble avsluttet etter 4 uker (21/10-05). Ved avslutningen av forsøkene ble sedimentet siktet gjennom en 1 mm sikt. Børstemark som ble holdt tilbake på sikten ble telt, veid og plassert i et begerglass med rent sjøvann natten over slik at de skulle få gått seg rene (tømt tarmen) før de ble froset ned for senere analyse.

Tabell 4. Oversikt over de enkelte forsøksakvarier med angivelse av sedimenttype og fôringsregime. I siste kolonne er det også gitt kode for de 6 ulike typer behandlinger som inngår i forsøket.

Akvarie nr.	Sedimenttype	Fôring med skjell fra	Sediment/fôr kode
1	Vikkilen	Ingen fôring	V0
2	Jeløya	Ingen fôring	J0
3	Vikkilen	Solbergstrand	VS
4	Jeløya	Solbergstrand	JS
5	Vikkilen	Vikkilen	VV
6	Vikkilen	Ingen fôring	V0
7	Jeløya	Vikkilen	JV
8	Vikkilen	Solbergstrand	VS
9	Jeløya	Ingen fôring	J0
10	Vikkilen	Vikkilen	VV
11	Jeløya	Solbergstrand	JS
12	Jeløya	Vikkilen	JV
13	Vikkilen	Ingen fôring	V0
14	Jeløya	Ingen fôring	J0
15	Jeløya	Solbergstrand	JS
16	Vikkilen	Solbergstrand	VS
17	Jeløya	Vikkilen	JV
18	Vikkilen	Vikkilen	VV

Tabell 5. Konsentrasjonen av tinnorganiske forbindelser i innmat av blåskjell tatt fra Vikkilen og Solbergstrand. Skjellene er brukt til fôring av børstemark i fase II, TTS%=tørstoffinnholdet i skjellinnmaten.

Stasjon	TTS/%	MBT µg/kg v.v	DBT µg/kg v.v	TBT µg/kg v.v.	MPhT µg/kg v.v	DPhT µg /kg v.v	TPhT µg/kg v.v
Vikkilen	13,2	97	190	310	<1	<1	5,1
Solbergstrand	15,8	6,1	7,3	16	<1	<1	1

Stasjon	MBT µg/kg t.v	DBT µg/kg t.v	TBT µg/kg t.v.	MPhT µg/kg t.v	DPhT µg /kg t.v	TPhT µg/kg t.v
Vikkilen	734	1439	2348 ¹⁾	<7,58	<7,58	38,64
Solbergstrand	38	46	101 ²⁾	<6,33	<6,33	6,33

¹⁾Tilsvarende SFTs tilstandsklasse IV

²⁾Tilsvarende SFTs tilstandsklasse II (NB:Grensen mellom klasse I og II er 100 µg/kg t.v.)

4.5 Biologiske effekter

4.5.1 Børstemark (fase I)

Sediment ble homogenisert som beskrevet i kapittel 4.1. Fire separate akvarier (et for hver sedimenttype) ble benyttet. I hvert akvarium ble det tilsatt 15 børstemark (*Hediste diversicolor*) og 15 fjæremark (*Arenicola marina*). Det ble ikke benyttet replikate akvarier. Følgende effekter ble observert:

- Nedgraving (antall børstemark som ved egen hjelp hadde gravd seg ned i sedimentet) etter tilsetning ble notert etter 1, 2 og 4 timer.

-
- Fødeinntak hos fjæremark ble kvantifisert ved gradering av mengde sediment deponert på sediment-overflaten (“casting rate”). Dette ble målt etter 1, 2, 3 og 4 uker. Hele *H. diversicolor* ble frosset individuelt i flytende nitrogen.
 - Tre prøver med 5 mark i hver ble homogenisert på is og opparbeidet til cytosol som beskrevet i Schaanning et al. (1996). Protein og glutation reduktase ble kvantifisert i cytosol som beskrevet i Hylland et al. (2004b), men med analyse-parametere optimalisert for *Hediste*.

4.5.2 Nettsnegl (fase II)

For å teste eventuelle effekter av tinnorganiske forbindelser i sedimentet ble det gjennomført et eksponeringsforsøk med nettsnegl (*Hinia reticulata*).

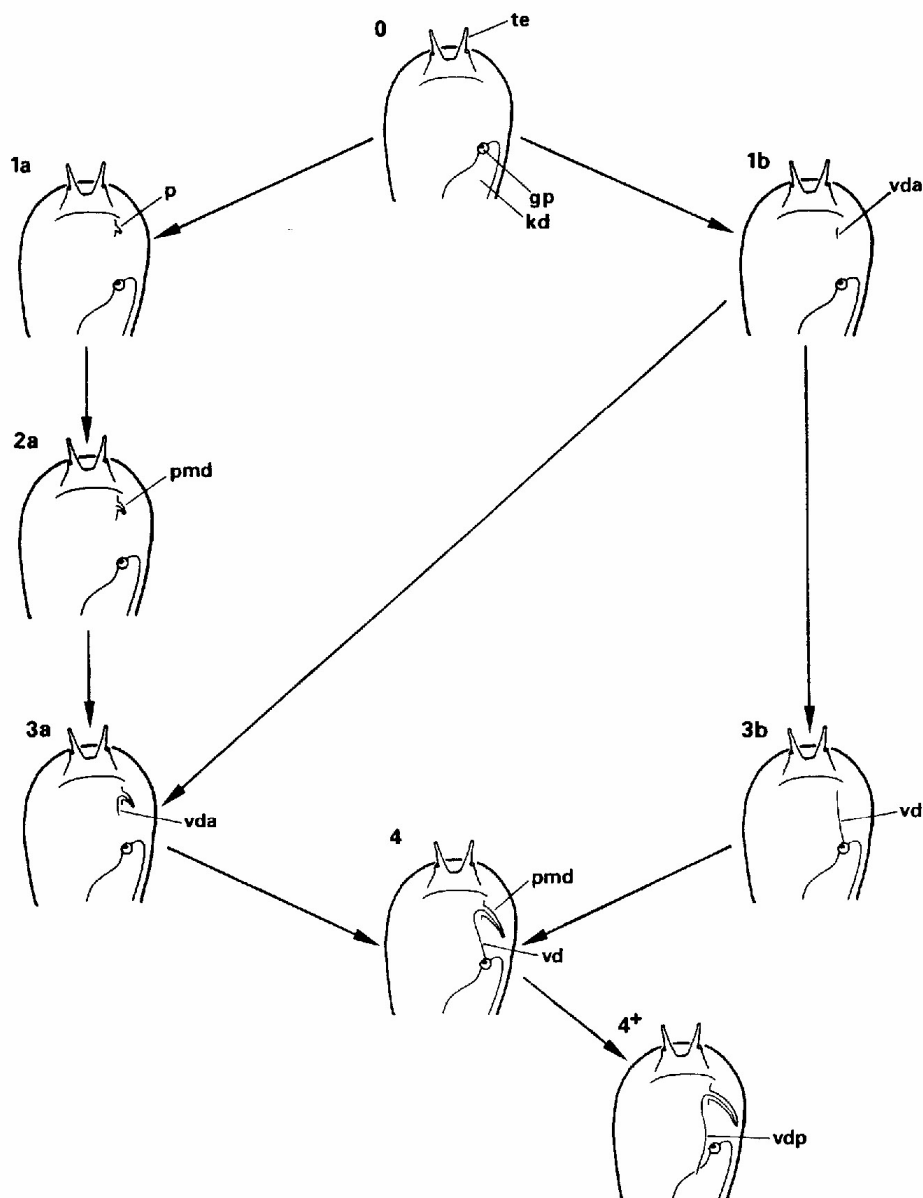
Nettsnegl (*Hinia reticulata*) ble eksponert i 28 dager for forurenset sediment fra Bispevika og Vikkilen, samt kontroll-sediment fra Jeløya. Førte nettsnegl ble eksponert i hvert av tre replikate akvarier for hvert sediment (4-5 cm i bunnen av hvert akvarium). Det ble benyttet glass-akvarier og kontinuerlig gjennomstrømmende vann fra 60 m dyp utenfor Solbergstrand.

Følgende effekter ble observert:

Cytotoksisitet hos hemocytter.

Ved avslutning av forsøket ble sneglene silt fra sedimentet. Skall-lengden ble målt med skyvelær og hver snegl knekt opp med en bordtvinge. Det ble tatt en prøve av hemolymfe fra foten med en sprøyte forbehandlet med PBS (fosfat-bufret salt-løsning). Hemolymfen ble fortynnet opp til 800 μ L med PBS og sådd ut i fire replikate brønner i 96-brønners celledyrkingsplater. Etter 24 timers inkubering så cellene kunne feste seg til bunnen av platene ble det gjennomført en cytotoxicitets test. Mediet i brønnene ble forsiktig fjernet og 100 μ L av en blanding bestående av CFDA-AM, Alamar Blue og PBS ble tilsatt hver brønn. Brettene ble satt i mørket på ristebord i 30 minutter før avlesning. Plateleseren ble satt til eksitasjon og emisjons bølgelengder på 485-530 (CFDA-AM) og 530-590 (Alamar Blue) ble avlest. Etter at platene var lest ble gjennomsnittet av blanke brønner beregnet, og trukket fra øvrige data. CFDA-AM gir et mål på mitokondrieaktivitet og Alamar Blue et mål for membranstabilitet.

Imposex. Etter prøvetaking for hemolymfe ble snegl rengjort med Q-tip, kappen klippet opp og stadier av intersex klassifisert i henhold til Stroben et al. (1992b). Klassifiseringen av de ulike intersex stadier baserer seg på i hvilken grad hunnsnegler får utviklet en penis og sædleder (vas deferens) (se **Figur 3**). Ut fra registreringene av de ulike imposex stadier i en gruppe snegler kan en beregne en index (Vas Deferens Sequence Index, VDSI) som er det samme som det gjennomsnittlige imposexstadium (i det en ser bort fra a og b). $VDSI = \text{summen av alle imposex stadier i populasjonen/antall individer i populasjonen}$. VDSI blir da et mål for graden av påvirkning (imposex) i en populasjon.



Figur 3. Utviklingen av de forskjellige stadier av imposex hos *Hinia reticulata*. gp, genital papilla; kd, capsule gland; p, penis without duct; pmd, penis with duct; te, tentacle; vd, vas deferens; vda, vas deferens section; vdp, vas deferens passes vaginal opening to run into capsule gland (from Stroben, 1994).

- Stadie 0: Normal hunn
- Stadie 1a: Hunn med liten penis
- Stadie 1b: Hunn med del av vas deferens, men ingen penis
- Stadie 2a: Hunn med liten penis og kanal på penis
- Stadie 3a: Hunn med liten penis og kort vas deferens (sædleder)
- Stadie 3b: Hunn uten penis, men med lang vas deferens som går helt frem til genital papillen
- Stadie 4: Hunn med fullt utviklet penis og med vas deferens som går frem til genital papillen
- Stadie 4+: Hunn med fullt utviklet penis og med vas deferens som går forbi genital papillen og frem til capsul gland

5. Resultater og diskusjon

5.1 Sammensetning av forsøkssediment

5.1.1 Kornfordeling, nitrogen, fosfor og organisk karbon

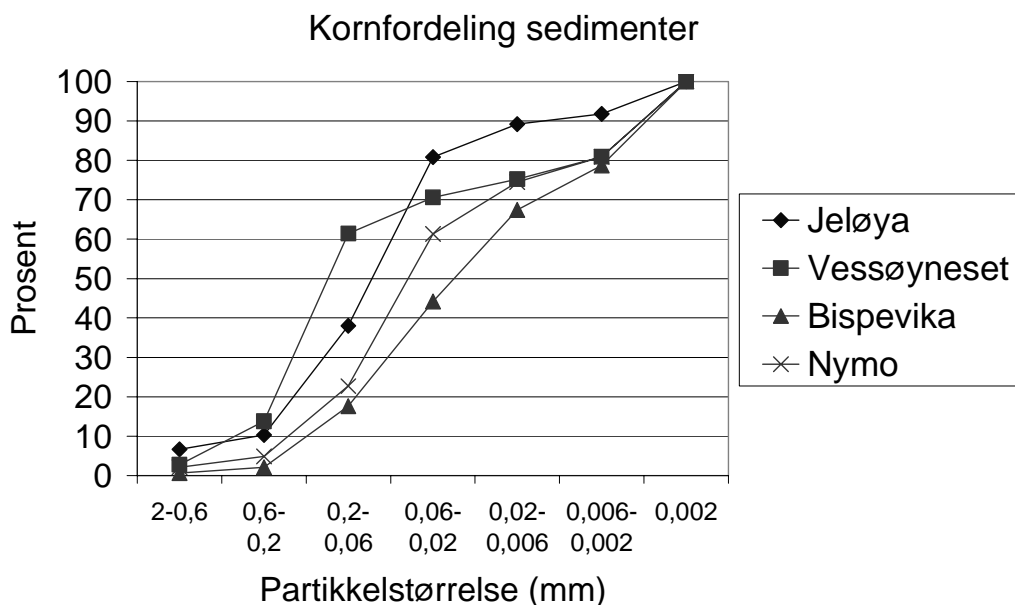
Det er relativt god spredning i sammensetningen av de forurensede sedimentene som er samlet inn. Innholdet av organisk karbon varierer fra 2 prosent i sedimentet fra Vikkilen til 8 prosent i sedimentet fra Vessøyneset (**Tabell 6**). Innholdet av leire i disse sedimentene er omtrent det samme (**Tabell 7**), men innholdet av silt er langt lavere i sedimentet fra Vessøyneset (19,5 prosent) i forhold til i sedimentene fra Bispevika og Vikkilen (hhv. 61,1 og 58,2 prosent). Fosfor- innholdet er omtrent likt i sedimentene, mens innholdet av nitrogen varierer mer. Kontrollsedimentet fra Jeløya inneholder mindre organisk materiale, leire og nitrogen enn de andre sedimentene.

Tabell 6. Resultater fra analyse av hjelpeparametere i sediment. Alle konsentrasjoner er oppgitt på tørrvekts basis.

Sediment nr.	Område	Tørrstoff (%)	TOC (%)	Total nitrogen (mg/kg)	Total fosfor (mg/kg)
1	Jeløya	70,6	1,2	<500	708
2	Vessøyneset	25,4	8,0	4400	804
3	Bispevika	48,4	4,8	2100	1090
4	Vikkilen	47,9	2,0	1200	753

Tabell 7. Resultater fra analyse av partikkelstørrelse i sedimentet benyttet i forsøkene. Fordelingen av de ulike størrelses fraksjoner (mm) er oppgitt i prosent.

Område	Sand			Silt			Leire <0,002
	2-0,6	0,6-0,2	0,2-0,06	0,06-0,02	0,02-0,006	0,006-0,002	
Jeløya	6,7	3,6	27,7	42,8	8,4	2,6	8,2
Vessøyneset	2,8	11	47,6	9,2	4,6	5,7	19,1
Bispevika	0,6	1,5	15,5	26,6	23,2	11,3	21,3
Vikkilen	2,1	2,8	17,8	38,6	13,2	6,4	19,1



Figur 4. Kornfordelingskurver for sedimenter som benyttes i akkumuleringsstudier og nedbrytningsforsøk.

5.1.2 Innhold av tinnorganiske forbindelser

Samlet utgjorde de 4 sedimentene en akseptabel gradient mht. TBT. Sediment nr. 4 inneholder mer enn ca 250 ganger mer TBT enn kontrollsedimentet fra Jeløya. Sedimentene dekker klasse I-V i henhold til SFTs klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystvann (Molvær et al. 1997) (Tabell 8). Spredningen i TBT innhold i sedimentene var i utgangspunktet gunstig i forhold til å se på hvordan konsentrasjonen påvirker akkumulering i organismer. Konsentrasjonen av TPhT var også høyest i sedimentet fra Vikkilen. Den relative konsentrasjonsforskjellen mellom sedimentet fra Vikkilen og Jeløya var imidlertid mindre for TPhT enn for TBT (Tabell 8).

Tabell 8. Konsentrasjoner av butyltinn- og fenylytinnforbindelser i forsøkssedimentene. Observerte konsentrasjoner av tributyltinn er klassifisert i henhold til SFTs klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystvann (Molvær et al. 1997).

A

Sediment nr.	Innsamlings område/fase	% TS	Monobutyltin (µg/kg t.v.)	Dibutyltin (µg/kg t.v.)	Tributyltin (µg/kg t.v.)	Klasse*
1	Jeløya/I	71,1	5	6	4	II
1 ¹⁾	Jeløya/II	74,3	3	2	1	I
2	Vessøyneset/I+II	25,4	25	41	70	IV
3	Bispevika/I+II	48,4	47	255	677	V
4 ¹⁾	Vikkilen/I+II	47,9	94	225	987	V

B

Sediment nr.	Innsamlings område/fase	Monofenylytin (µg/kg t.v.)	Difenylytin (µg/kg t.v.)	Trifenylytin (µg/kg t.v.)
1	Jeløya/I	1	<1	3
1 ¹⁾	Jeløya/II	1	1	<1
2	Vessøyneset/I+II	7	1	2
3	Bispevika/I+II	3	1	11
4	Vikkilen/I+II	47	10	23

¹⁾ Sediment 4 som ble benyttet i biotilgjengelighetstesten i fase II var fra samme batch som benyttet i fase I. Sedimentet ble lagret i lukket spann ved samme temperatur som i bløtbunnshallen på MFS (ca 5-15 °C). Sediment 1 som ble benyttet i biotilgjengelighetstesten i fase II ble innsamlet i felt rett før eksperimentene startet.

5.2 Nedbrytning

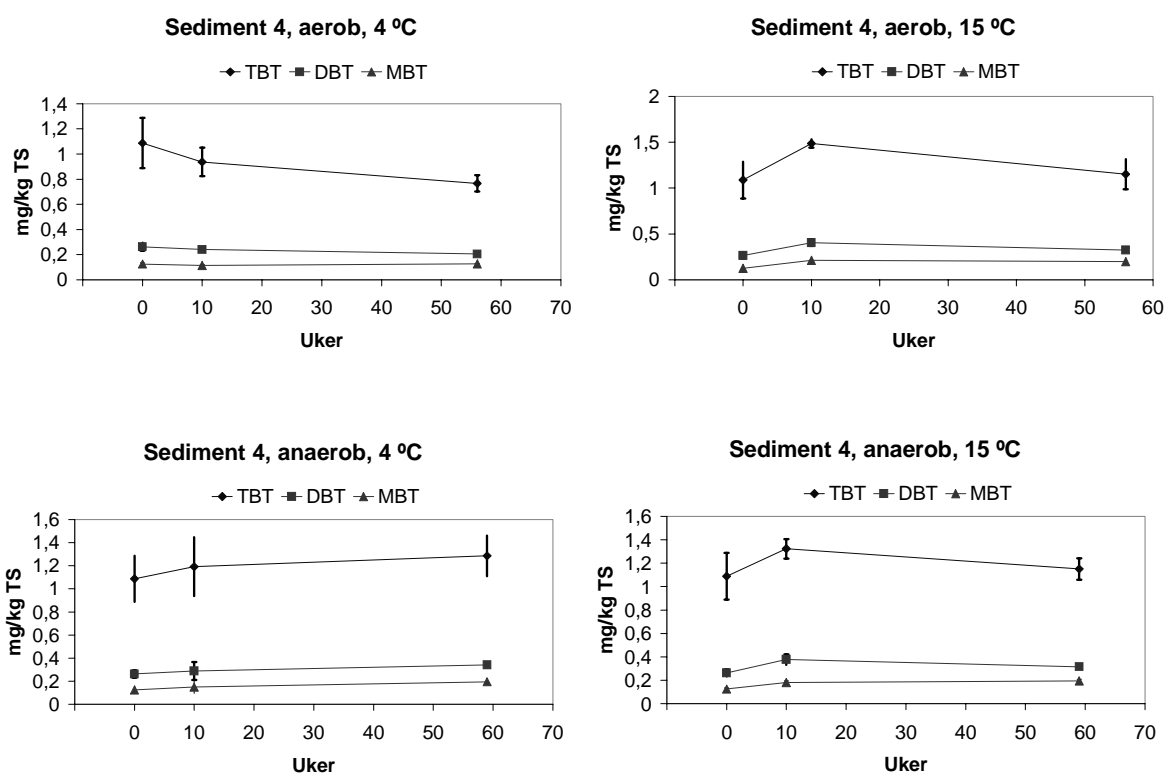
5.2.1 Butyltinn-forbindelser

Nedbrytningsresultatene for sediment fra Vikkilen (sediment 4) er vist i Figur 5 og resultatene for sediment fra Vessøyneset (sediment 2) og Bispevika (sediment 3) i Figur 6. Innholdet av TBT i sediment fra Vikkilen og Bispevika var ved start i størrelsesorden 1000 µg/kg TS, mens startkonsentrasjonen i sediment 2 (Vessøyneset) var 70 µg/kg TS (tabell 8).

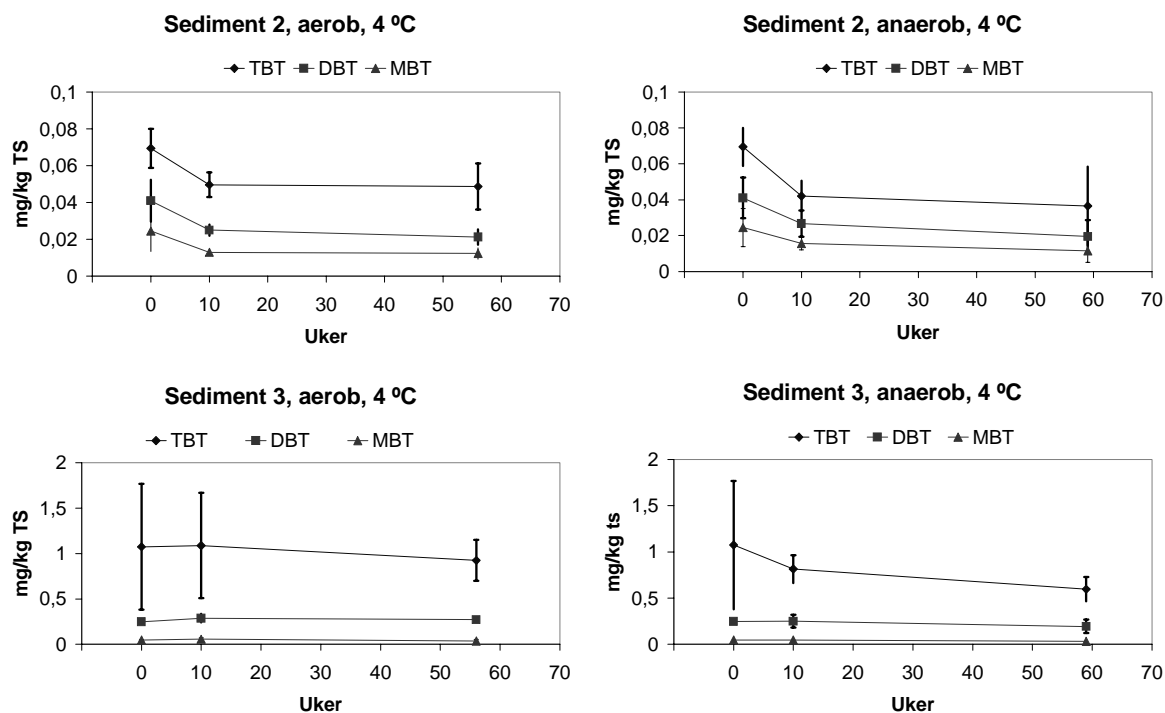
I den aerobe behandlingen av sediment 4 fra Vikkilen ved 4 °C reduseres TBT med tiden (figur 5). Reduksjonen er imidlertid ikke signifikant (Wilcoxon/Kruskal-Wallis, ikke-parameterisk test). I de andre behandlingene av sediment 4 (Vikkilen) finnes ingen tilsvarende trend for TBT (figur 5). I alle behandlingene av sediment 4 observeres ingen konsentrasjonsendringer av nedbrytningsproduktene DBT og MBT med tiden dvs. ingen signifikant endring i konsentrasjonene for disse forbindelsene ble funnet.

Det var stor spredning i TBT-verdien i analysedataene fra Bispevika (sediment 3) og ingen nedgang kan observeres i disse resultatene (figur 6). Det var langt mindre variasjon i verdiene for nedbrytningsproduktene dibutyl (DBT)- og monobutyltinn (MBT) men heller ikke her var det noen signifikant endring i sedimentkonsentrasjonen over tid. Nedbrytning av TBT vil kunne føre til en økning av DBT og MBT dersom disse ikke brytes videre ned. En reduksjon i konsentrasjonene av DBT og MBT kan imidlertid forventes dersom nedbrytningsraten for disse er større enn nedbrytningsraten for TBT. I våre forsøk ser slike forhold ut til ha hatt liten betydning.

Startkonsentrasjonen i sediment fra Vessøyneset (sediment 2) lå rundt 70 µg/kg TS. Rent eksperimentelt er det enklere analytisk å påvise en nedgang i lavere konsentrasjonsnivåer enn samme nedgang i sediment med høyere konsentrasjon. Det kan kanskje være årsaken til at det i dette sedimentet kan antydes en nedgang i sedimentkonsentrasjonen. Nedgangen antydes for alle tre butyltinnforbindelsene og for både aerobe og anaerobe forsøksbetingelser (figur 6 øverst). Nedgangen i konsentrasjonsnivåer er imidlertid ikke signifikant på grunn av relativt stor spredning på parallellene.



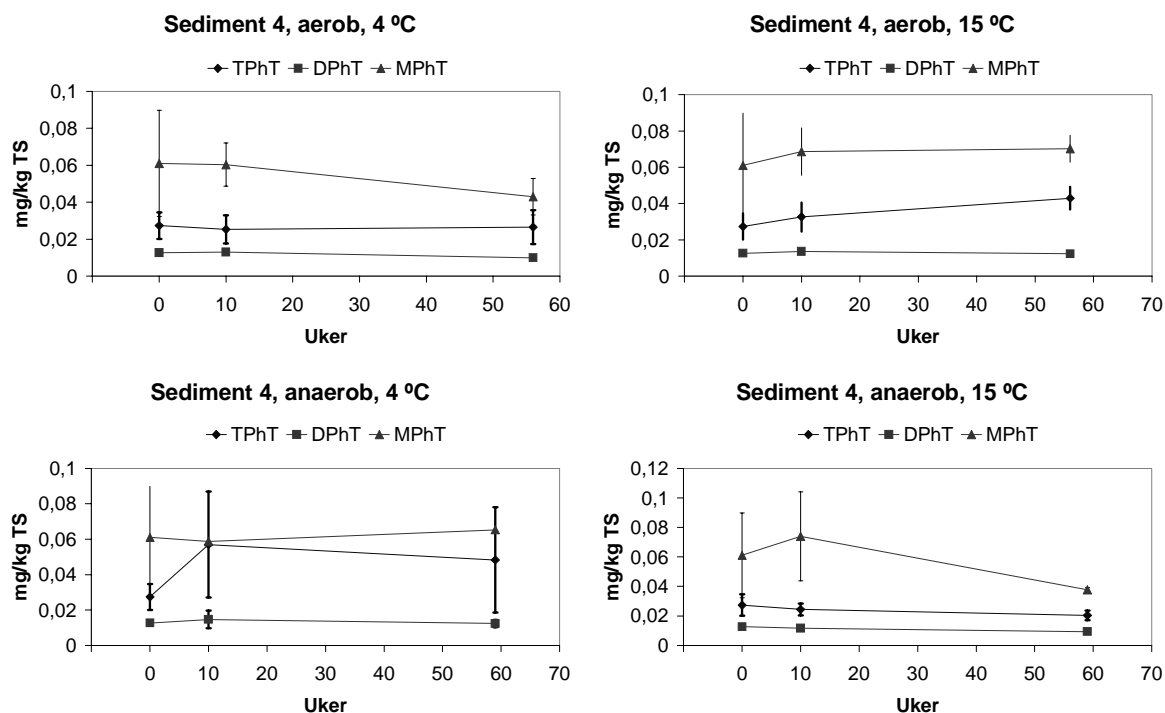
Figur 5. Konsentrasjoner av butyltinn-forbindelser (TBT, DBT og MBT) i sediment 4 (Vikkilen) ved tidspunkt 0 (start), 10 og 56/59 uker etter start av nedbrytningsforsøk. I figuren er ± 1 standardavvik angitt.



Figur 6. Konsentrasjoner butyltinn-forbindelser i sediment fra Vessøyneset (sediment 2) og Bispevika (sediment 3) ved start (0 uker), etter 10 uker og 56/59 uker. I figuren er ± 1 standardavvik angitt.

5.2.2 Fenyiltinn-forbindelser

Basert på analyseresultatene av sediment 4 er det ingenting som tyder på at det har skjedd noen nedbrytning av PhT-forbindelser i forsøksperioden (Figur 7). I den aerobe behandlingen ved 4 °C og i den anaerobe behandlingen ved 15 °C er det en trend at monofenyl-tinn konsentrasjonen reduseres med tiden (ikke signifikant). I de andre behandlingene er det ingen trend til reduksjon i konsentrasjoner over tid for TPhT, DPhT eller MPhT.

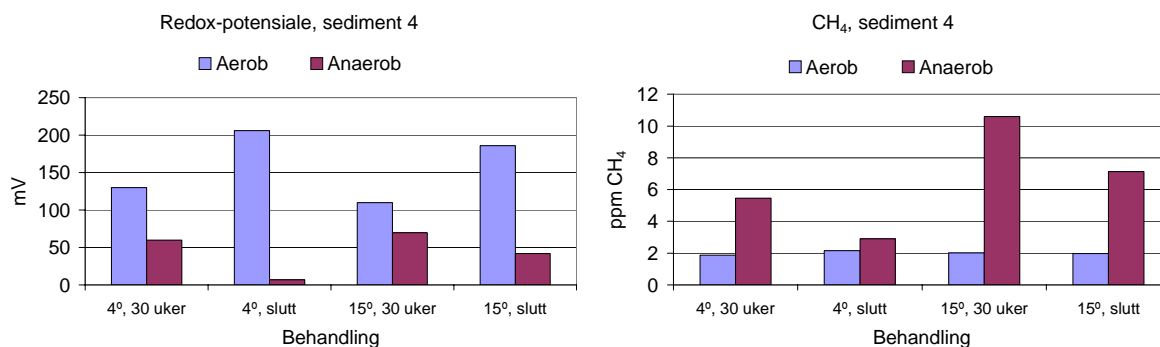


Figur 7. Konsentrasjoner av fenyltinn-forbindelser (TPhT, DPhT og MPhT) i sediment fra Vikkilen (sediment 4) ved tidspunkt 0 (start), 10 og 56/59 uker etter start av nedbrytningsforsøk.

Konsentrasjonene av fenyltinn-forbindelser i sediment 2 og 3 er for lave til at det er mulig å bruke resultatene til å si noe om nedbrytning av forbindelsene i sedimentene.

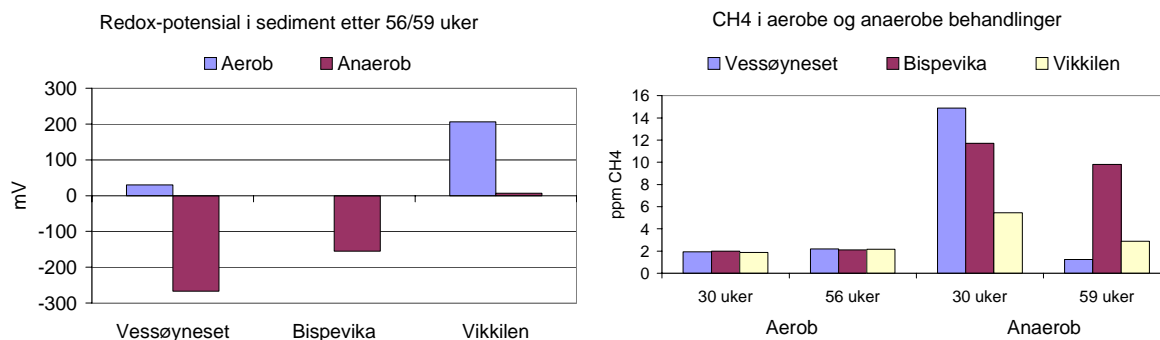
5.2.3 Vurdering av forsøksbetingelser

Målinger av pH, redox-potensiale, samt målinger av metan (CH₄) ble utført i eget sett med prøver. For sediment fra Vikkilen (2 % TOC) viste redokspotensialet (målt i mV) at forsøksbetingelsene i aerobe og anaerobe prøver var som forventet; høyere redox-potensiale i aerobe (100-200 mV) enn i anaerobe (0-50 mV) (figur 8). Metankonsentrasjonen i gassfasen ble bestemt i prøvene, rundt 2 ppm i aerobe prøver og fra i overkant av 2 ppm til over 10 ppm i anaerobe prøver. Samme trend er målt for de andre sedimentene.



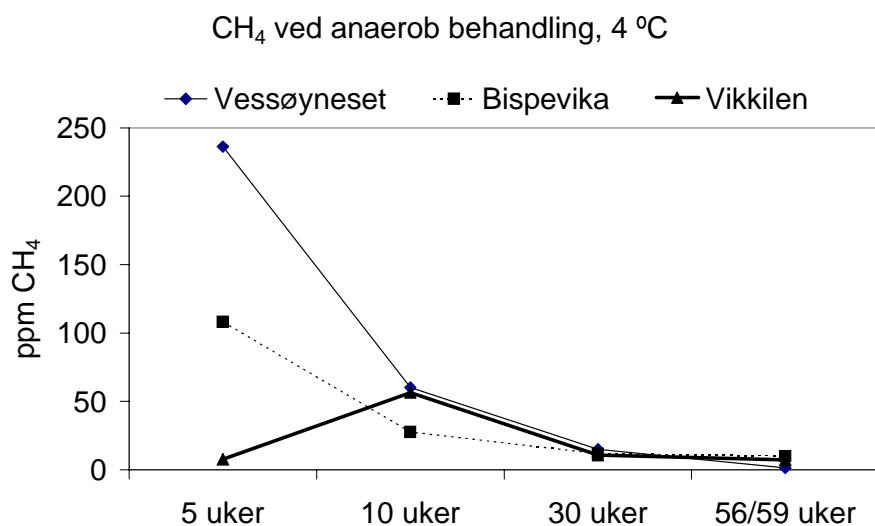
Figur 8. Redox-potensiale (venstre) og innhold av CH₄ (høyre) i ulike forsøksledd for sediment 4 (Vikkilen).

Sediment med høyere organisk innhold, Vessøyneset 8 % TOC, og Bispevika (4,8 % TOC), hadde lavere redoksverdier (figur 9), helt ned til – 250 mV for sediment fra Vessøyneset og ca – 150 mV for sediment fra Bispevika.



Figur 9. Redox-potensiale (venstre) etter 56/59 uker i aerobe og anaerobe behandlinger ved 4 °C for sedimenter fra Vessøyneset, Bispevika og Vikkilen. CH₄-produksjon (høyre) i aerobe og anaerobe behandlinger etter 30 og 56/59 uker (4 °C).

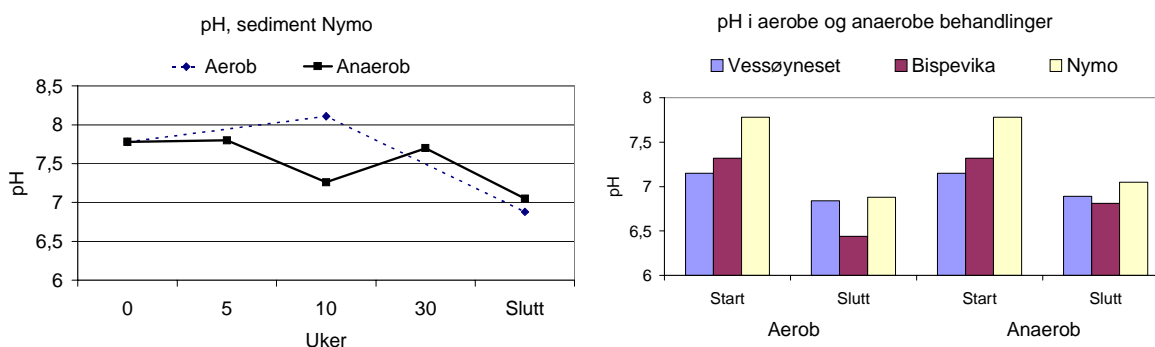
Metangasskonsentrasjonen var tilsvarende høyere for sediment med høyere organisk innhold (figur 10). Som vist i figuren er metankonsentrasjonen høyest ved start og synker i løpet av forsøksperioden for prøvene fra Vessøyneset og Bispevika. Innholdet av total nitrogen er også høyere i sediment 2 (4000 mg/kg) og 3 (2100 mg/kg) enn i sediment 4 (1200 mg/kg). Innholdet av organisk materiale og næringsstoffer har betydning for biologisk aktivitet i sedimentene.



Figur 10. CH₄-konsentrasjoner ved ulike tidspunkter ved anaerob behandling (4 °C) av sedimenter fra Vessøyneset, Bispevika og Vikkilen.

Det er en generell trend at pH i sediment/slurry reduseres i løpet av forsøket og endringen synes å være den samme i aerobe og anaerobe forsøk (**Figur 11**).

Sammenlignes pH ved start og slutt for de tre sedimentene (**Figur 11**, høyre) sees at det i alle sedimentene har skjedd en reduksjon i pH gjennom forsøket. Reduksjonen i pH er noenlunde lik for alle sedimentene.



Figur 11. pH i sedimenter ved ulike behandlinger og etter ulik tid.

Det er ingen systematiske forskjeller i pH på 4 °C og 15 °C behandlingene.

Kontrollmålingene viser at de valgte forsøksbetingelsene (for aerobe prøver ukentlig risting og åpen beholder med kullfilter som tillater konstant diffusjon av oksygen inn i beholderen, og konstant lukket beholder for anaerobe prøver) har medført forskjeller bl.a. med vesentlig lavere redox-potensiale og høyere CH₄-konsentrasjoner i de anaerobe forsøksleddene enn i de aerobe.

Det hadde imidlertid vært ønskelig at den aerobe behandlingen hadde vært mer aerob for å øke forskjellene på behandlingene. Mulighetene for å få startet en nedbrytning av BT- og TF-

forbindelser hadde da trolig vært større. I de aller fleste marine sedimenter vil det imidlertid sjelden oppstå aerobe forhold. Tilgangen på oksygen til sedimentene i forsøket som er gjennomført her er trolig større enn de vil være naturlig. Redox-forholdene som er etablert i de aerobe behandlingene vil derfor representere de mest aerobe forholdene som vil kunne oppstå i felt og er således representative for ”aerobe” forhold i felt.

5.2.4 Diskusjon-nedbrytning

Tidligere undersøkelser av nedbrytning av butyltinn-forbindelser har vist at halveringstiden for disse forbindelsene kan være fra 1 til 5 år (De Mora *et al.*, 1989; Dowson *et al.*, 1993a; Sarradin *et al.*, 1995). Resultatene fra nedbrytningsforsøkene som er gjennomført her viser at halveringstiden i norske havnesedimenter er betydelig lenger enn 1 år og stemmer således godt med tidligere undersøkelser.

Det er som nevnt vist at pH og saltholdighet har betydning for binding av BT-forbindelser til sedimenter (Burton *et al.* 2004; Weidenhaupt *et al.* 1997). Adsorpsjon av TBT er vanligvis størst ved pH 6-7 både som følge av at det meste TBT foreligger som et kation i dette pH-intervallet og fordi mineraloverflatene ofte består av dissosierte funksjonelle grupper som gir en økt negativ ladning. pH i marine sedimenter ligger normalt i området 7-7,5 og avviker sjelden fra dette. Binding av TBT til sedimenter vil på denne bakgrunn være relativt god, men ikke optimal (den er som nevnt bedre ved pH 6,3).

I nedbrytningsforsøkene som er gjennomført i dette prosjektet ble pH både i aerobe og anaerobe forsøk redusert med ca. 0,5 pH-enheter fra ca. 7,5 til 7,0. I hvilken grad reduksjon i pH har betydning for bindingen av BT-forbindelser i disse sedimentene og dermed for nedbrytningen av tinnorganiske forbindelser er imidlertid ikke klart. Den relativt stabile pH som finnes i naturlige sedimenter og som også er observert i nedbrytningsforsøket (pH 7,0-7,5) tilsier at variasjon i pH ikke har stor betydning for binding og nedbrytning av TBT i naturlige sedimenter.

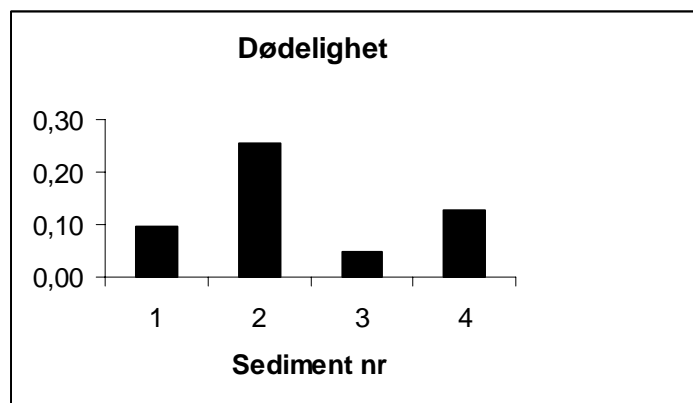
Bindingen av TBT til sedimenter i pH i området 7,0-7,5 avtar med økende salinitet. I sedimenter i brakkvannsområder eller i sedimenter som periodevis blir påvirket av ferskvann, vil bindingen av TBT være sterkere enn i områder som har en konstant høy salinitet. I nedbrytningsforsøkene som er gjennomført her har imidlertid ionestyrken vært konstant slik at denne ikke har hatt betydning for nedbrytningsgraden av TBT.

På bakgrunn av kontroll-målingene som er utført i forsøket kan vi konkludere med at de ønskede forsøksbetingelsene stort sett ble oppnådd. Det viktigste her var å få til forskjeller på aerobe og anaerobe forhold fordi dette tidligere er vist å gi utslag på nedbrytning av BT-forbindelser. Tidligere forsøk har vist at nedbrytningen under aerobe forhold går raskere enn under anaerobe forhold (Dowson *et al.* 1993b). Resultatene fra nedbrytningsforsøkene som er gjennomført i dette prosjektet viser at dette ikke er tilfelle for de sedimentene som er undersøkt og under de forsøksbetingelser som er oppnådd (se kapittel 5.2.3).

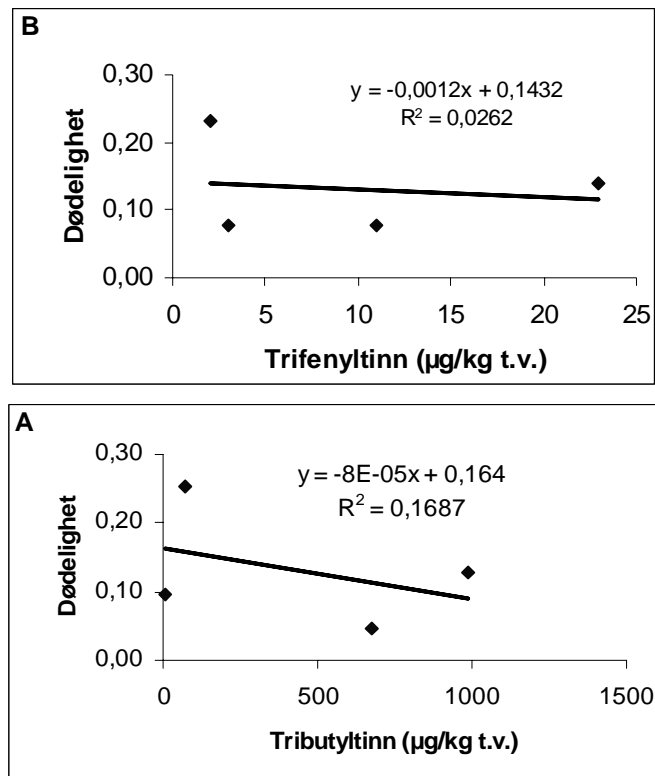
5.3 Biotilgjengelighet ved eksponering i sediment (Fase I)

5.3.1 Dødelighet

En viss dødelighet ble observert i løpet av de 4 ukene forsøkene varte. Den største dødeligheten ble observert i sediment nr 2 fra Vessøyneset og den laveste dødeligheten i sediment fra Bispevika (*Figur 12*). Det ble verken for TBT eller TPhT registrert noen øket dødelighet av *Hediste* med økende konsentrasjon i sedimentet (**Figur 13**).

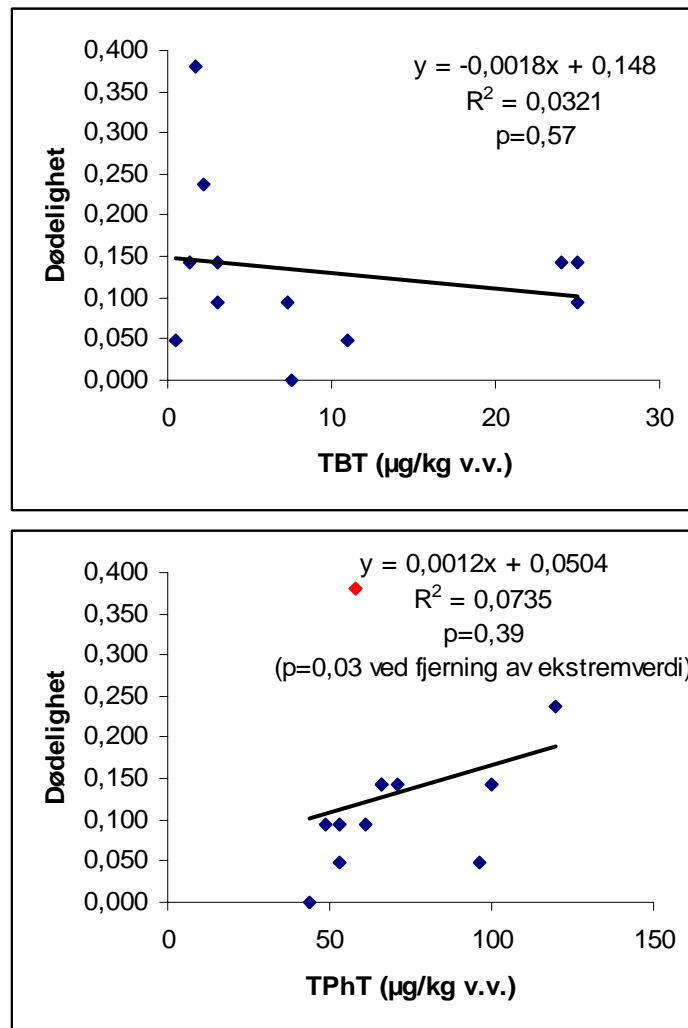


Figur 12. Dødelighet av *Hediste* etter 4 ukers eksponering i sediment fra 1: Jeløya, 2: Vessøyneset, 3: Bispevika og 4: Vikkilen (Nymo). . $Dødelighet = (\text{Antall dyr tilsatt} - \text{antall dyr observert}) / \text{antall dyr tilsatt}$.



Figur 13. Gjennomsnittlig dødelighet av *Hediste* som funksjon av konsentrasjonen av tributyltinn og trifenylytinn i sediment. $Dødelighet = (\text{Antall dyr tilsatt} - \text{antall dyr observert}) / \text{antall dyr tilsatt}$.

Vi har også plottet dødeligheten i hvert enkelt akvarium som funksjon av konsentrasjonen av henholdsvis tributyltinn og trifenylytinn i gjenlevende mark (**Figur 14**). Det var ingen signifikant sammenheng mellom dødelighet og konsentrasjonen av TBT i dyrene. Heller ikke for TPhT var det noen slik sammenheng dersom man benytter alle data (**Figur 14**). Fjerner man derimot en ekstremverdi blir imidlertid sammenhengen mellom dødelighet og konsentrasjon av TPhT signifikant ($p > 0.05$).



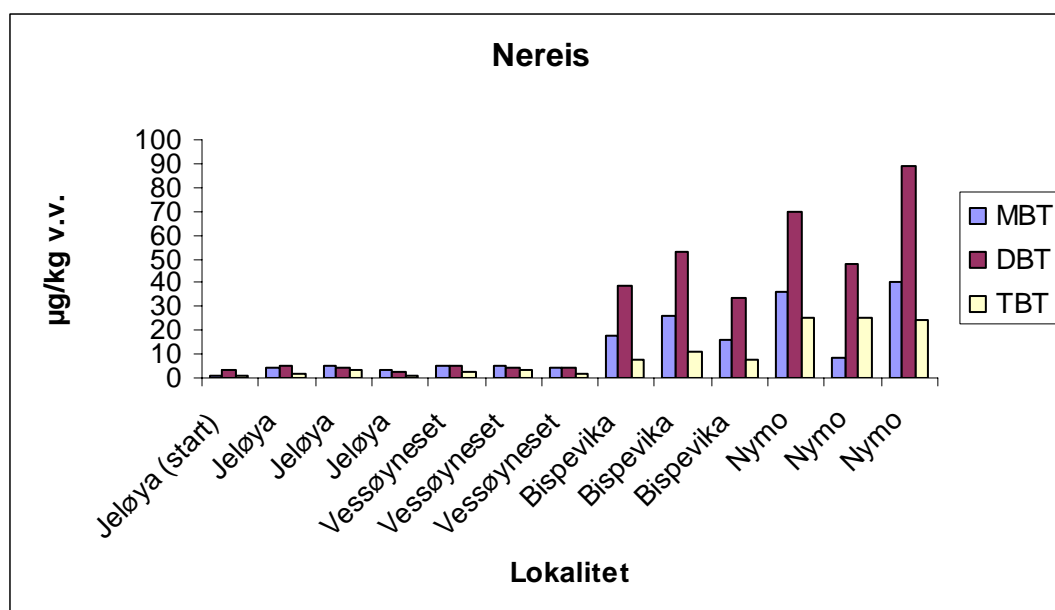
Figur 14. Dødelighet av Hediste i hvert akvarium som funksjon av observerte konsentrasjoner av tributyltinn (øverst) og trifenyltinn (nederst) i dyrene ved avslutning av forsøket. I nederste figur er p beregnet før og etter fjerning av en ekstremverdi for dødelighet merket med rødt. $Dødelighet = (\text{Antall dyr tilsatt} - \text{antall dyr observert}) / \text{antall dyr tilsatt}$.

5.3.2 Butyltinnforbindelser

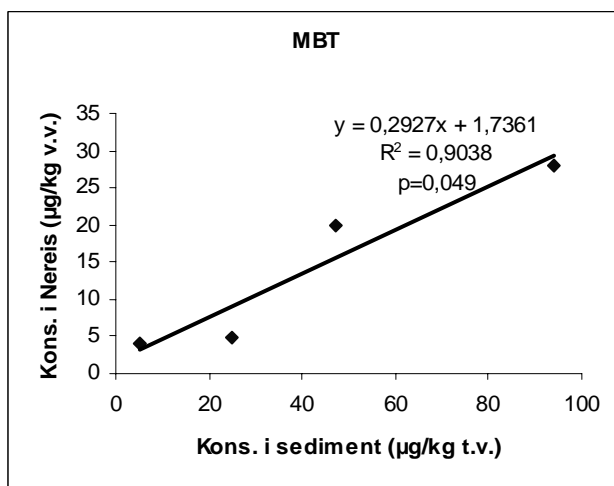
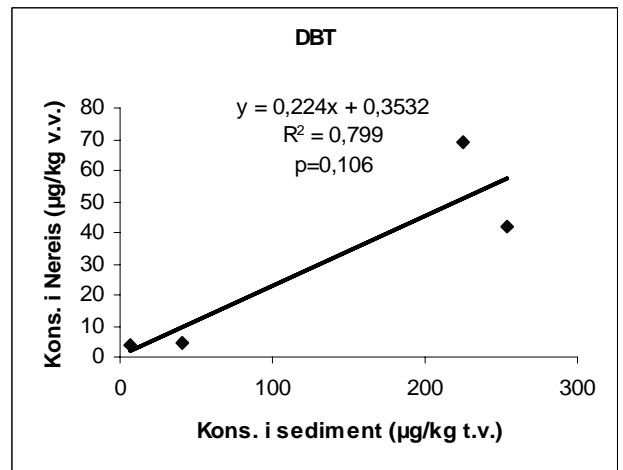
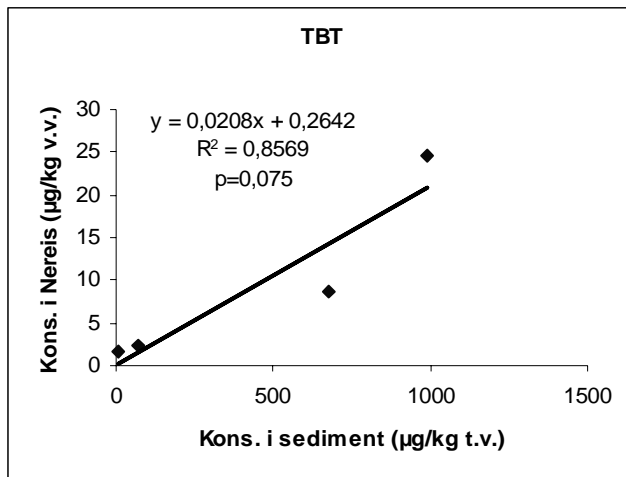
Etter 4 ukers eksponering hadde konsentrasjonen av TBT og nedbrytningsproduktene DBT og MBT økt betydelig i børstemark plassert i sediment fra Vikkilen og Bispevika, mens det var liten eller ingen økning i børstemark som hadde gått i kontrollsedimentet og i sedimentet fra Vessøyneiset (**Figur 15**).

For både TBT, DBT og MBT antydes det at konsentrasjonen i børstemarken øker med konsentrasjonen i sedimentet (**Figur 16**). Det var en signifikant lineær korrelasjon mellom oppnådd konsentrasjon av TBT (konfidensnivå på 90 %) og MBT (konfidensnivå på 95 %) i børstemarken og konsentrasjonen av disse forbindelsene i sedimentet dyrene var plassert på (**Figur 16**). Regresjonsanalysen antyder også at oppnådd konsentrasjon av MBT og DBT i børstemark øker mer med sedimentkonsentrasjonene enn konsentrasjonen av TBT.

Også for DBT ble den høyeste konsentrasjonen observert i børstemark som var plassert i sediment med den høyeste konsentrasjon, men for denne forbindelsen ble det ikke observert noen signifikant sammenheng (konfidensnivå på 90 %) mellom konsentrasjon i sediment og konsentrasjon i børstemark (**Figur 16**).



Figur 15. Konsentrasjonen av TBT med nedbrytningsproduktene DBT og MBT i *Hediste diversicolor* etter 4 ukers eksponering i sediment fra Jeløya, Vessøyneiset og Vikkilen. For hver sedimenttype er det vist resultater fra tre replikate forsøksakvarier. Utgangskonsentrasjonen (start) i børstemarken som ble innsamlet ved starten av forsøkene på Jeløya er også vist.



Figur 16. Midlere konsentrasjon av butylforbindelser (TBT, DBT og MBT) i *Hediste diversicolor* som funksjon av konsentrasjonen av de samme forbindelser i sediment.

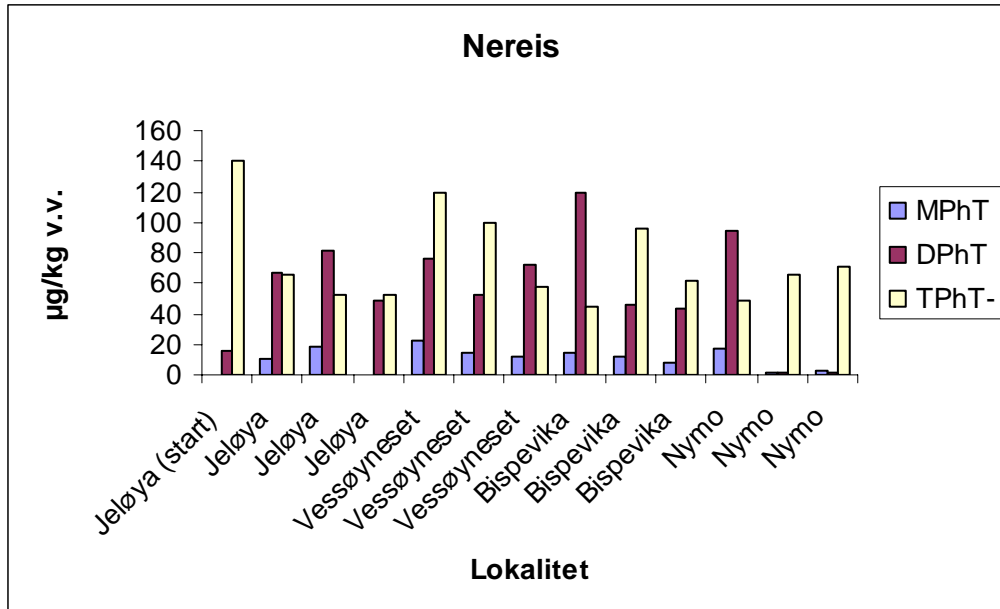
Forholdet mellom konsentrasjonen i børstemark og i sedimentet ses i **Tabell 9**. For alle butylforbindelsene ble det høyeste forholdstallet observert i prøvene fra Jeløya hvor konsentrasjonen var 3,5-6,7 ganger høyere enn i sedimentet. Det var en tendens til avtagende forholdstall med økende grad av butylering.

Tabell 9. Forholdet mellom konsentrasjoner i børstemark (µg/kg t.v.) og i sediment (µg/kg t.v.). Gjennomsnitt og standardavvik (i parentes) er angitt.

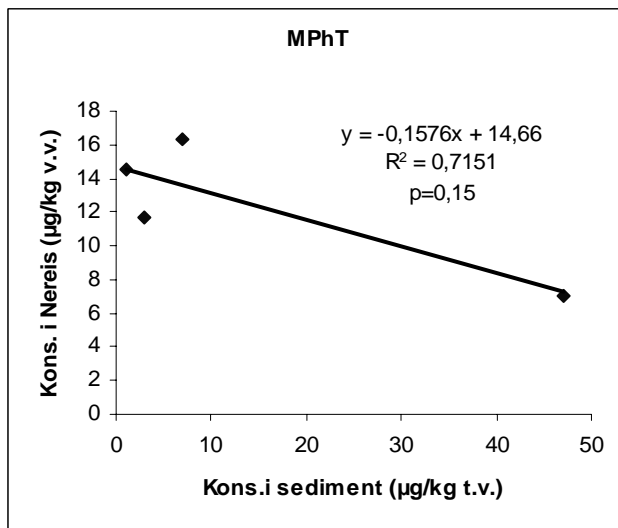
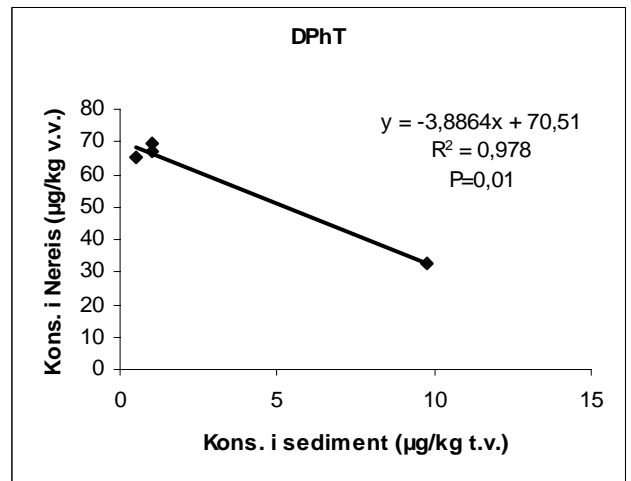
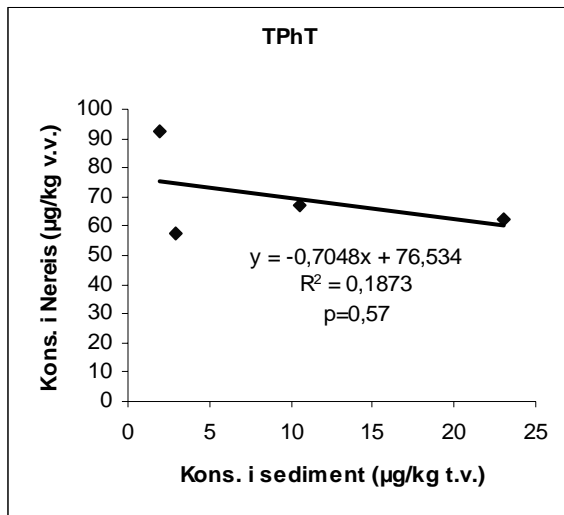
Område	Faktor TBT (S.D.)	Faktor DBT (S.D.)	Faktor MBT (S.D.)
Jeløya	3,5 (3,2)	5,4 (1,5)	6,7 (2,7)
Vessøyneset	0,23 (0,05)	0,8 (0,1)	1,4 (0,1)
Bispevika	0,1 (0,02)	1,2 (0,2)	3,1 (0,6)
Vikkilen	0,2 (0,2)	2,2 (0,4)	2,1 (1,2)

5.3.3 Fenyltinnforbindelser

Allerede ved starten av forsøkene ble det registrert relativt høye konsentrasjoner av trifenyltinn i forsøksdyrene (**Figur 17**). Etter 4 ukers eksponering hadde konsentrasjonen av trifenyltinn gått noe ned i børstemark plassert på alle de fire forsøkssedimentene (**Figur 17**).



Figur 17. Konsentrasjonen av TPhT med nedbrytningsproduktene DPhT og MPhT i *Hediste diversicolor* etter 4 ukers eksponering i sediment fra Jeløya, Vessøyneset og Vikkilen. For hver sedimenttype er det vist resultater fra tre replikate forsøksakvarier. Utgangskonsentrasjonen i børstemark innsamlet ved Jeløya ved starten av forsøkene er også vist.



Figur 18. Midlere konsentrasjon av fenylytforbindelser (av TPhT, DPhT og MPhT) i *Hediste diversicolor* som funksjon av konsentrasjonen av de samme forbindelser i sediment.

Forholdet mellom konsentrasjonen av trifenylyforbindelser i børstemarken og i sedimentet ses **Tabell 10**. Konsentrasjonen i børstemarken varierte ikke systematisk i forhold til konsentrasjonen i sedimentet. Dette førte til at konsentrasjonen i sedimentet i betydelig grad ble bestemmende for biomasse/sediment forholdet. De største forholdstall ble observert for TPhT fra Vessøyneset, og DPhT og MPhT fra Jeløya. Forholdet mellom konsentrasjonen i børstemark og sedimentet var i hovedsak langt høyere for fenylyforbindelsene enn for butylforbindelsene.

Tabell 10. Gjennomsnittlig forhold mellom konsentrasjonen av fenylyforbindelser i børstemark (µg/kg t.v.) og i sediment (µg/kg t.v.).

Område	Faktor TPhT (S.D.)	Faktor DPhT (S.D.)	Faktor MPhT (S.D.)
Jeløya	154 (12)	1077* (398)	123 (66)
Vessøyneset	327 (100)	480 (102)	16,6 (4,8)
Bispevika	43 (15)	512 (344)	28,2 (9,2)
Vikkilen	19,6 (3,2)	25,3* (42,4)	1,1 (1,5)

5.3.4 Diskusjon – biotilgjengelighet fra sediment i fase I forsøk

Tributyltinn

Børstemarken som her er benyttet ligger i hovedsak nedgravd i sedimentet og er i nær kontakt med porevannet med hele kroppsoverflaten. Den kan også forlate sitt enkle gangsystem for å hente næringsobjekter fra sedimentoverflaten. I forsøkene antas at det for børstemarken har vært lite å hente av næringsobjekter på selve sedimentoverflaten og at de tinnorganiske forbindelsene som er observert i analysene har sin opprinnelse i porevannet eller via næringsobjekter, som marken har hatt tilgang til i sitt gangsystem. I kapittel 5.4 (dvs fase II a biotilgjengelighetsforsøkene) vil en utdype betydningen av opptak av organotinn fra sedimentet i forhold til betydningen organotinn i organisk materiale som tilføres på overflaten av sedimentet.

Forsøkene i fase I hadde en varighet av 4 uker og en kan ikke utelukke at vevskonsentrasjonene kunne ha økt ytterligere ved en lengre eksponering. Den observerte dødeligheten i forsøket ser imidlertid ikke ut til å være relatert til konsentrasjonen av TBT i sedimentet (**Figur 13**) eller observert konsentrasjon av TBT i marken som overlevde til avslutning av forsøket (**Figur 14**). Vi vet imidlertid ikke i hvilken grad konsentrasjonsnivået observert i marken som overlevde gjenspeiler konsentrasjonen i de som virkelig døde.

Forsøk med blåskjell har vist at skjell som transplanteres til et nytt område med høyere TBT belastning oppnår vevskonsentrasjoner av TBT tilsvarende de en observerer i villskjell fra samme lokalitet på under 2 uker (Følsvik et al. 2002). Etter eksponeringen med sedimentet fra Vikkilen ble det i børstemark observert midlere vevskonsentrasjoner av TBT på 25ng/g v.v. Dette er klart lavere TBT-konsentrasjoner enn observert i blåskjell fra et lite påvirket område som Solbergstrand i Drøbaksundet (77 ng/g v.v.). Konsentrasjonen av TBT observert i børstemark er dermed i en slik sammenheng relativt lav. DBT-konsentrasjonen observert i børstemarken (69 ng/g v.v.) eksponert for sediment fra Vikkilen var imidlertid høyere enn det som er registrert i blåskjell fra Drøbaksundet (ca 10 ng/g v.v.) til tross for at konsentrasjonen i sedimentet av DBT var lavere enn for TBT (**Tabell 8**). Forholdet mellom konsentrasjon i mark og sediment (**Tabell 9**) kan si noe om tilgjengeligheten av de ulike forbindelser i sedimentene (et høyt forhold indikerer høy tilgjengelighet). Ut fra **Tabell 9** kan det ses at de tre butyltinn-forbindelsene i sedimentet fra Jeløya er relativt sett mer tilgjengelig for opptak i børstemark i forhold til de øvrige sedimenter.

Resultatene viser at konsentrasjonen av TBT og MBT i en sedimentlevende organisme som *Hediste* øker med økende konsentrasjon i sedimentet (**Figur 16**). Fisk som ernærer seg av en sedimentlevende organisme som *Hediste* vil derfor få i seg en mengde TBT og MBT som står i direkte forhold til konsentrasjonen i sedimentet. Sannsynligvis vil også konsentrasjonen av DBT øke tilsvarende.

Ål er en fisk som under sitt opphold i kystområder og estuarier er nær knyttet til bunnen og de organismene som lever der. Fra et område i England er det da også registrert en sammenheng mellom konsentrasjonen av TBT i sediment og i lever av ål (Harino et al. 2002).

Forsøkene som er gjennomført viser at opptak av TBT, MBT og sannsynligvis også DBT i børstemark øker med konsentrasjonen i sedimentet. Sedimentet kan derfor være en kilde for TBT observert i fisk som spiser slike organismer.

Trifenyltinn

Den høye konsentrasjonen av TPhT som ble registrert i forsøksdyrene ved forsøkets begynnelse er problematisk. De to mest sannsynlige forklaringer er:

1. Dyrene inneholder høye nivåer av TPhT ved starten av forsøkene fordi de av en eller annen grunn (eksempelvis TPhT fra gammelt trykkimpregnert materiale) er blitt påvirket i sitt naturlige miljø på Jeløy
2. Dyrene inneholder høye nivået av TPhT fordi de er blitt kontaminert i perioden mellom innsamling på Jeløya og starten av forsøkene.

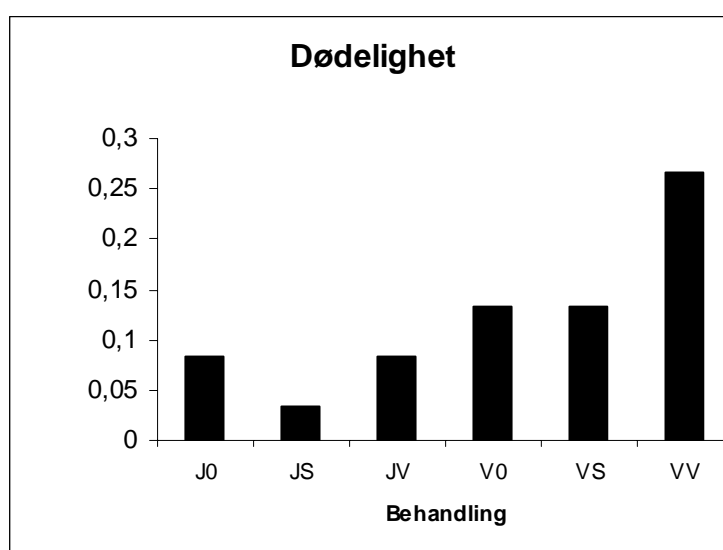
Vi vet at børstemarken som i forsøkene ble plassert på sediment fra Jeløya har gått i sediment med en TPhT konsentrasjon på 3 µg/kg i løpet av forsøket og muligens høyere før innsamling på Jeløya. Vi vet også at sedimentet fra Bispevika og Vikkilen inneholdt klart høyere konsentrasjoner av TPhT enn sedimentet fra Jeløya og Vesøyneset (**Tabell 8B**). Til tross for dette var konsentrasjonen av TPhT i børstemark som hadde gått på sediment fra Bispevika og Vikkilen ikke høyere enn de som hadde gått på sediment fra Jeløya og Vesøyneset. For alle de tre fenylforbindelsene antydes det altså at konsentrasjonen i børstemarken avtar med økende konsentrasjon i sedimentet (**Figur 18**). Dette er motsatt av det en observerte for butylforbindelsene (**Figur 16**) og er ikke i tråd med det en skulle forvente.

Den observerte dødeligheten i forsøket ser heller ikke for TPhT til å være relatert til konsentrasjonen i sedimentet (**Figur 13** nederst) eller konsentrasjoner av TPhT i marken (**Figur 14** nederst). Fjerner en imidlertid en ekstremverdi (dødelighet =0.38) oppnås likevel en signifikant ($p < 0.05$) sammenheng mellom dødelighet og konsentrasjon av TPhT i marken.

5.4 Biotilgjengelighet ved eksponering fra fôr og sediment (Fase II)

5.4.1 Dødelighet

Noe dødelighet ble også observert i fôringsforsøkene. Det var generelt lavere dødelighet for børstemark som hadde gått på kontrollsedimentet fra Jeløya i forhold til de som hadde gått på sediment fra Vikkilen (**Figur 19**). Den høyeste dødeligheten ble observert i børstemark som hadde gått på forurenset sediment fra Vikkilen og samtidig ble foret med blåskjellinnmat med høyt innhold av tinnorganiske forbindelser (VV), mens den lavest dødeligheten ble observert i dyr plassert på kontrollsedimentet fra Jeløya og fôret med blåskjell med lavt innhold av tinnorganiske forbindelser (JS) (**Figur 19**).



Figur 19. Dødelighet av Hediste i løpet av fôringsforsøkene (fase II). Sediment/førkode:

JO=Jeløys sediment, ingen fôring

JS=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Solbergstrand

JV=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Vikkilen

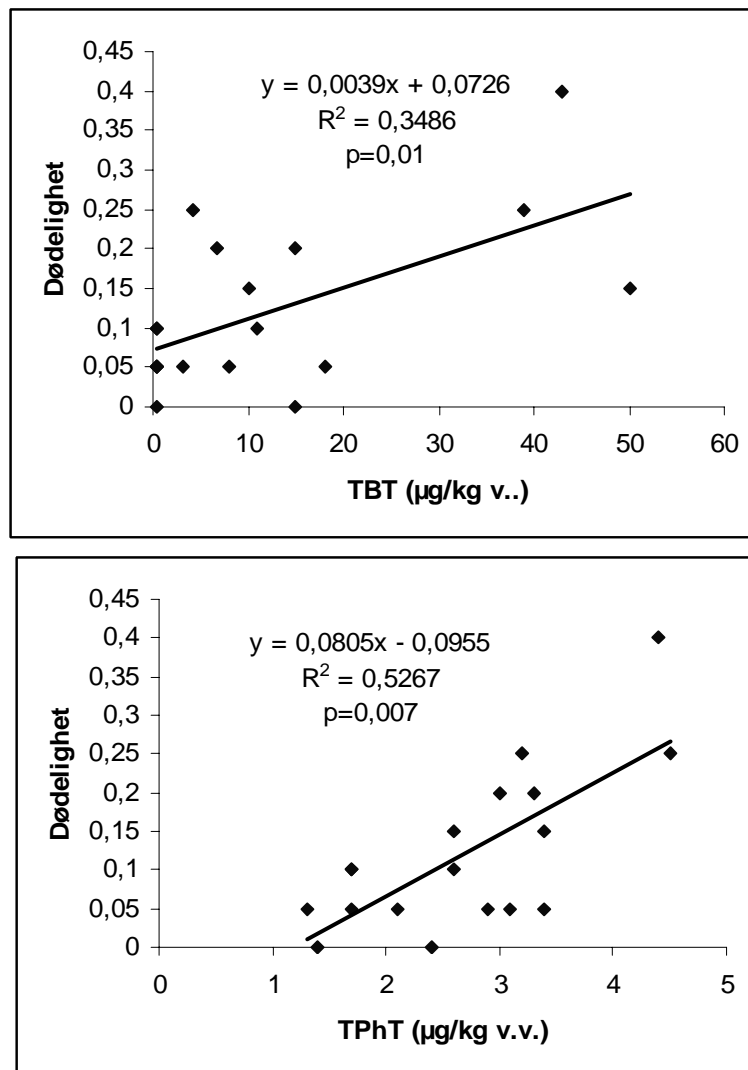
VO=Sediment fra Vikkilen, ingen fôring

VS=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Solbergstrand

VV=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Vikkilen

Det var en klar tendens til at dødeligheten økte med konsentrasjonen av tinnorganiske forbindelser i marken (**Figur 20**). Tendensen syntes å være sterkere for TPhT enn for TBT. For begge forbindelsene var sammenhengen mellom konsentrasjonen i marken og dødelighet signifikant ($p < 0.05$). Sammenhengen mellom dødelighet og konsentrasjon i marken avviker på flere punkter fra det som ble observert i fase I (se **Figur 14**). For TBT kan dette muligens forklares ved at oppnådde konsentrasjon i marken i fase I muligens ikke var tilstrekkelig til at sammenhengen ble manifestert. For dataene vist i **Figur 20** (øverst) ser vi nemlig at det i stor grad er dødeligheten ved konsentrasjoner over ca 35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ v.v. som er styrende for at relasjonen mellom dødelighet og konsentrasjon er signifikant. For TPhT ble det i begge forsøk (i alle fall dersom en fjerner en ekstremverdi for dødelighet i fase I forsøkene) observert en sammenheng mellom dødelighet og oppnådd konsentrasjon i marken (se **Figur 14** og **Figur 20**). Konsentrasjonsnivået av TPhT som ble observert var imidlertid klart forskjellig i de to forsøkene (henholdsvis 44-120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ v.v. i fase I og 1,3-4,5 i fase II). Det

høyere nivået som ble observert i fase I skyldes at startkonsentrasjonen av TPhT i marken var vesentlig høyere enn i fase II.

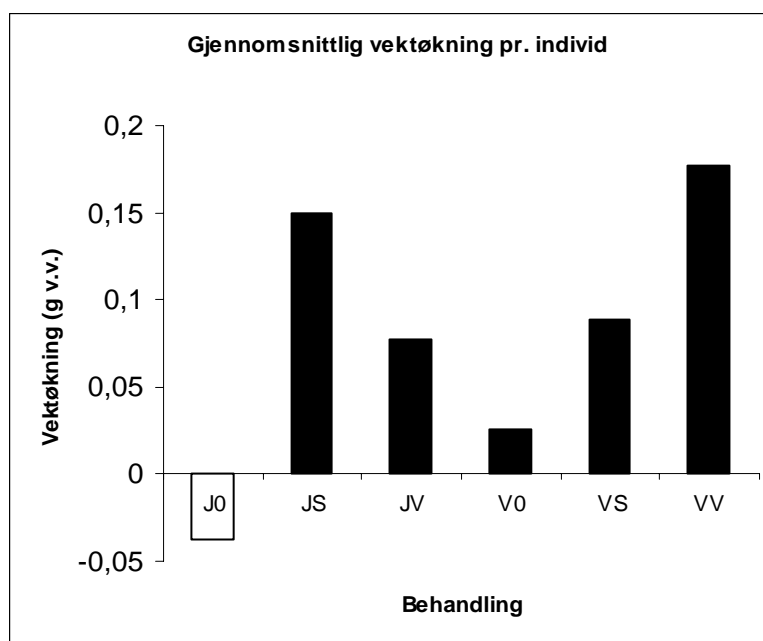


Figur 20. Dødelighet av Hediste i hvert akvarium som funksjon av konsentrasjonen av tributyltinn (TBT) og trifenylyltinn (TPhT) observert i gjennlevende Hediste.

5.4.2 Vektøkning av børstemark

Skjellene ble foret med biter av blåskjell som ble plassert oppå sedimentet i hvert akvarium. Ved inspeksjon av akvariene dagen etter ble det ikke observert rester av blåskjell fra forrige fôring. Dette viser at børstemarken har fjernet skjellmateriale og antagelig spist det meste.

Den gjennomsnittlige vektøkningen av forsøksdyrene ses i (**Figur 21**). Tallene er beheftet med relativt stor usikkerhet fordi dødelighet også kan påvirke resultatet (død av store dyr gir en tilsynelatende redusert vektøkning og død av små dyr gir et større tall for vektøkning). Vi vil her nøye oss med å påpeke at det gjennomgående var en større vektøkning i børstemark som ble føret enn de som ikke ble foret (**Figur 21**). For en av behandlingene (JO) ble det observert en vektreduksjon. For børstemarken som ble foret var vektøkningen (tørrvektsbasis) i gjennomsnittet 21,7 % av den tilførte mengde med fôr (tørrvektsbasis).



Figur 21. Gjennomsnittlig vektøkning pr individ av *Hediste* i løpet av fôringsforsøkene (fase II). Sediment/fôrkode:

JO=Jeløys sediment, ingen fôring

JS=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Solbergstrand

JV=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Vikkilen

VO=Sediment fra Vikkilen, ingen fôring

VS=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Solbergstrand

VV=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Vikkilen

5.4.3 Butyltinnforbindelser

Resultatene fra analyse av TBT, DBT og MBT etter fôringsforsøket kunne deles i 3 grupper (se **Figur 22** og **Figur 23**). Disse gruppene er:

Gruppe 1: Start, J0, JS

Gruppe 2: JV, V0, VS

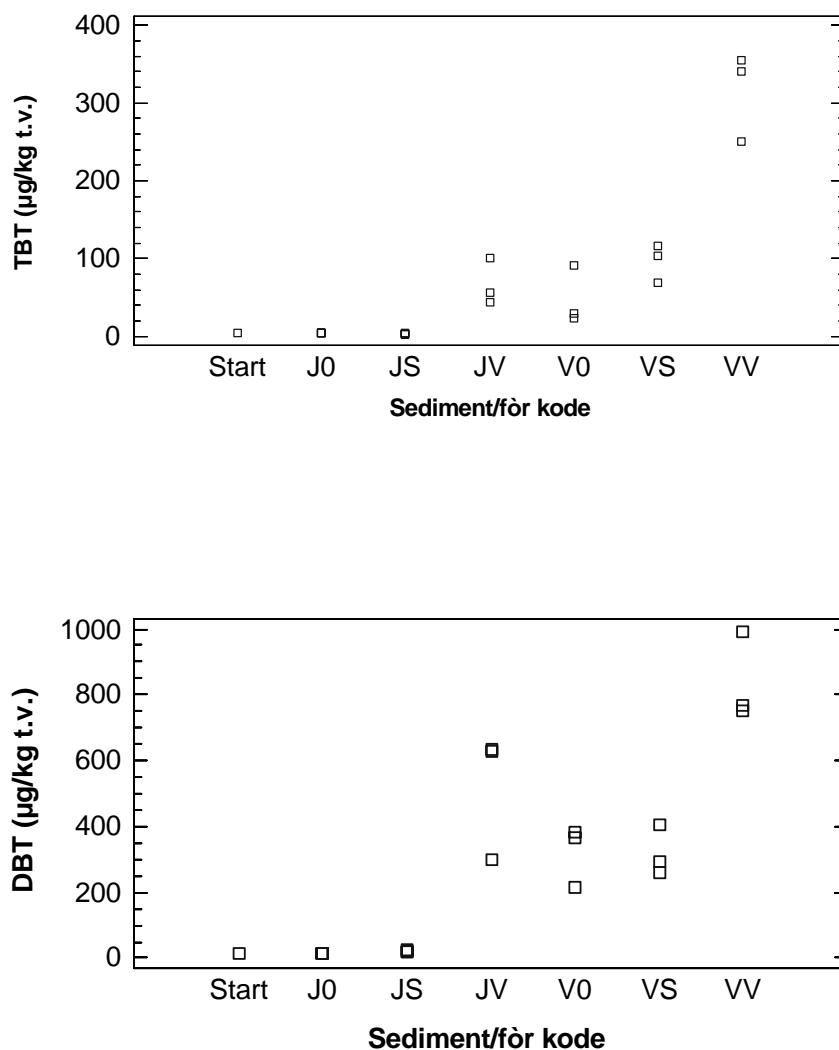
Gruppe 3: VV

Den første gruppen med de laveste konsentrasjoner bestod av børstemark ofret for analyse ved starten av forsøket og marken som hadde vært plassert på kontrollsedimentet fra Jeløya uten fôring (J0) eller foret med skjell fra Solbergstrand (JS). Skjellene fra Solbergstrand inneholdt betydelig høyere konsentrasjoner av TBT, DBT og MBT (henholdsvis 101, 46 og 39 g/kg t.v. Tabell 5) enn det som var i børstemarken i utgangspunktet. Til tross for dette inneholdt de to gruppene JO og JS omtrent like mye butyltinnforbindelser ved slutten av forsøket.

Børstemarken ser derfor ut til å kunne unngå oppbygging av forhøyede TBT konsentrasjoner så lenge de går på sediment med lave konsentrasjoner av TBT og det ikke er spesielt høye konsentrasjoner i deres mat.

Den andre gruppen (JV, V0, VS) inneholder klart høyere konsentrasjoner enn gruppe 1 og bestod av grupper av børstemark som inneholder bokstaven V i enkelt form i sediment/fôr koden, dvs. mark som enten var eksponert for sediment fra Vikkilen eller skjell fra Vikkilen (dvs: JV, V0 og VS). Mellom disse tre gruppene var det ingen signifikant forskjell i gjennomsnittskonsentrasjon. Disse resultatene tyder på at sedimentkonsentrasjonen betyr omtrent like mye som konsentrasjonen i markens føde.

Den siste gruppen med den høyeste konsentrasjonen bestod av børstemark som både hadde gått på forurenset sediment fra Vikkilen og samtidig var fôret med skjell fra samme sted, dvs. "dobbel eksponering" (VV). Dersom opptak av fra forurenset sediment og fra forurenset fôr skulle ha en ren additiv effekt på konsentrasjonen i børstemarken skulle en forvente at summen av konsentrasjonen i V0 (48 µg/kg t.v.) og konsentrasjonen i JV (67 µg/kg t.v.) skulle bli omtrent det samme som i VV (315 µg/kg t.v.). Dette er ikke tilfelle for TBT ($JV+V0 < VV$), men det stemmer ganske godt for DBT og til dels også for MBT (se **Figur 23**) Dette tyder på at de to forurensningskildene har en gjensidig forsterkende effekt (synergi) på konsentrasjonen av TBT i børstemarken, mens det for DBT og MBT har en additiv effekt når de opptrer sammen.



Figur 22. Konsentrasjonen av TBT og DBT i børstemarken *Hediste diversicolor* fra fôringsforsøket.

JO=Jeløys sediment, ingen fôring

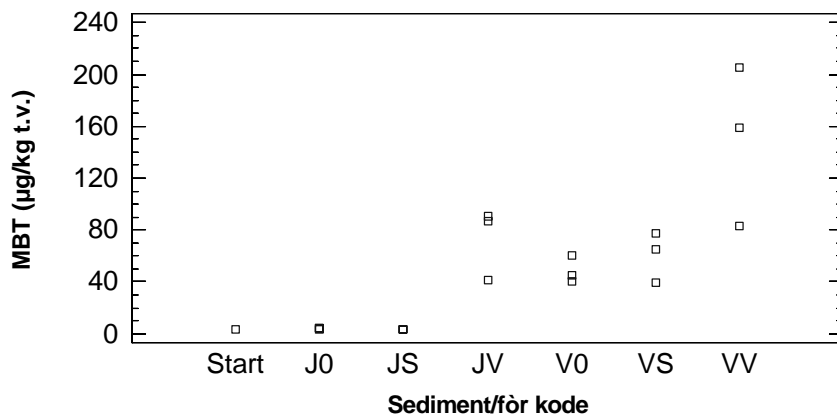
JS=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Solbergstrand

JV=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Vikkilen

VO=Sediment fra Vikkilen, ingen fôring

VS=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Solbergstrand

VV=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Vikkilen



Figur 23. Konsentrasjonen av MBT i børstemarken *Hediste diversicolor* fra fôringsforsøket.

JO=Jeløys sediment, ingen fôring

JS=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Solbergstrand

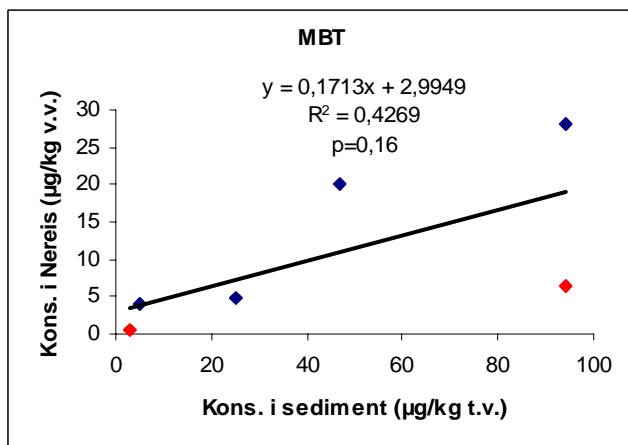
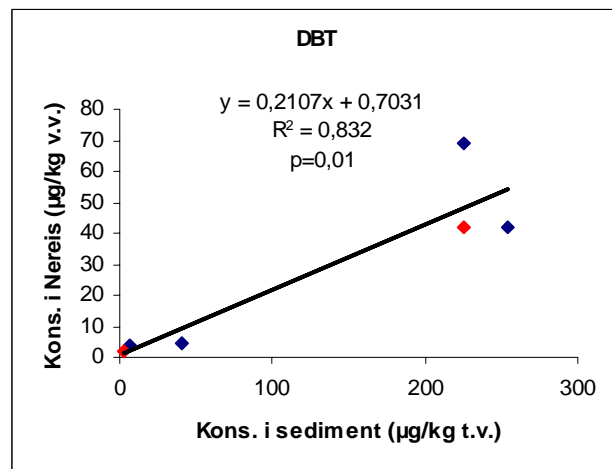
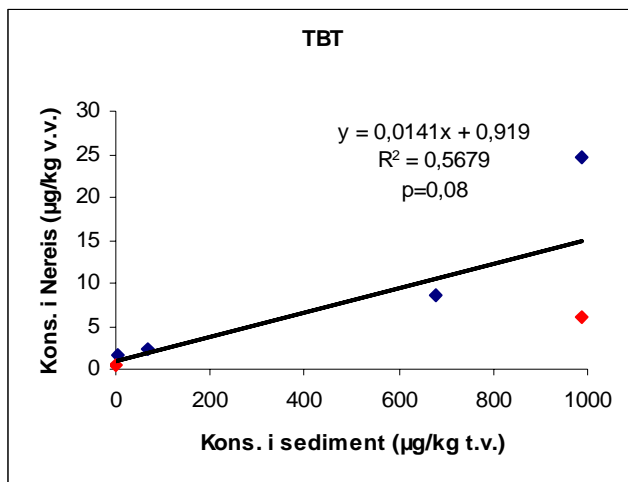
JV=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Vikkilen

VO=Sediment fra Vikkilen, ingen fôring

VS=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Solbergstrand

VV=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Vikkilen

I fase II ble det for to av behandlingne (JO, VO) gjennomført opptaksforsøk uten fôring, dvs, på samme måte som under fase I. Resultatene fra fase II av opptaksforsøkene uten fôring (JO, VO) kan derfor sammenstilles med resultatene fra fase I. Vi har gjort dette i Figur 24. Ved sammenligning av Figur 16 med Figur 24 ser vi at tendensen til at konsentrasjonen i marken øker med konsentrasjonen i sedimentet bibeholdes, men sammenhengen styrkes for DBT, forblir omtrent den samme for TBT og svekkes for MBT i forhold til det vi observerte ved bare å bruke dataene fra fase I (Figur 16).



Figur 24. Midlere konsentrasjon av butylforbindelser (TBT, DBT og MBT) i *Hediste diversicolor* som funksjon av konsentrasjonen av de samme forbindelser i sediment fra fase I (blå symboler) og fase II (rød symboler).

5.4.4 Fenyltinnforbindelser

Også resultatene fra analyse av TPhT (**Figur 25**) kunne i prinsippet deles i de samme tre grupper som det en så for butylforbindelsene, dvs:

Gruppe1: Start, J0, JS

Gruppe 2: JV, V0, VS

Gruppe 3: VV

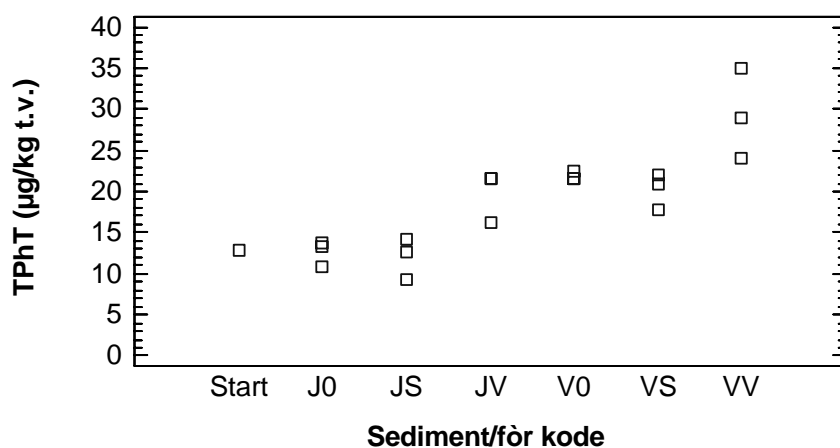
Forskjellen mellom konsentrasjonen i Gruppe 1 med de laveste konsentrasjoner og gruppe 3 med de høyeste konsentrasjoner var imidlertid relativt lav (ca 2,4x) i forhold til det som ble observert for TBT (ca 80x) og skyldes at konsentrasjonen av TBT i sediment og blåskjell fra Vikkilen var relativt mye høyere enn det som ble observert for TPhT (**Tabell 8**, **Tabell 5**) og derfor ikke gir samme ”forurensningstrykk”.

Skjellene fra Solbergstrand inneholdt noe lavere konsentrasjoner av TPhT (6,3 µg/kg t.v. Tabell 5) enn det som var i børstemarken i utgangspunktet (12,8 µg/kg t.v.). Dette resulterte imidlertid ikke i noen klar "uttynningseffekt". I så tilfelle burde en ved slutten av forsøket ha sett en redusert konsentrasjon i forhold til startkonsentrasjonen i børstemark fra gruppen JS.

Den andre gruppen (JV, V0, VS) inneholder noe høyere konsentrasjoner enn gruppe 1. Mellom disse tre gruppene var det ingen signifikant forskjell i gjennomsnittskonsentrasjon. Resultatene tyder på at sedimentkonsentrasjonen (sediment fra Vikkilen) betyr omtrent like mye som konsentrasjonen i markens føde (skjell fra Vikkilen).

Den siste gruppen med den høyeste konsentrasjonen bestod av børstemark som både hadde gått på sediment fra Vikkilen og samtidig var føret med skjell fra samme sted, dvs "dobbel eksponering" (VV). Resultatene tyder på at de to forurensningskildene (for, sediment fra Vikkilen) knapt nok har noen additiv effekt.

Konsentrasjonen av MPhT var meget lav i begge forsøkssedimenter og i begge typer fôr og i tråd med dette var de observerte konsentrasjoner av MPhT i forsøksdyrene lave i alle prøver (<1 µg/kg v.v. Konsentrasjonen av DPhT i forsøksdyrene kunne ikke bestemmes pga. interferens i kromatogrammet (se vedleggstabell 5).



Figur 25. Konsentrasjonen av TPhT i børstemarken *Hediste diversicolor* fra fôringsforsøket.

JO=Jeløys sediment, ingen fôring

JS=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Solbergstrand

JV=Jeløya sediment, fôring med skjell fra Vikkilen

VO=Sediment fra Vikkilen, ingen fôring

VS=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Solbergstrand

VV=Sediment fra Vikkilen, fôring med skjell fra Vikkilen

Ut fra vektøkningen for de enkelte forsøksgrupper kan en beregne en hypotetisk konsentrasjon i børstemarken dersom en regner at hele vektøkningen skyldes konsum av blåskjell og at all TBT i de konsumerte materialet blir i børstemarken. (Tabell 11). Tallene i Tabell 11 er imidlertid underestimert fordi det ikke er et 1:1 forhold mellom vektøkning og konsum. Sannsynligvis er forholdt nærmere 1:4 fordi vektøkningen av marken tilsvarer

omtrent 1/4 av tilsatt mengde før dersom en ekskluderer akvarier med negativ vektøkning. I den andre retning trekker det imidlertid at det i markens tarm neppe er 100 % effektivitet for opptak av TBT. Beregninger som er gjort på basis av observerte nivåer i behandlingen JV (der føret er hovedkilden for TBT), og at det er et forhold på ca 1:4 mellom biomasseøkning og tilført mengde mat tyder på at i størrelsesorden 1 % av det som passerer dyrets tarm kan spores i vevet.

Tabell 11. Hypotetiske (A) og analyserte (B) konsentrasjoner ($\mu\text{g}/\text{kg t.v.}$) av tinnorganiske forbindelser i børstemarken. Konsentrasjonene er beregnet på basis av konsentrasjonen i føret (blåskjell) og at den vektøkningen en observerte i løpet av forsøket skyldes konsum av skjell.

A: Hypotetiske/beregnete konsentrasjoner

Sediment/før kode	TBT	DBT	MBT	TPhT
J0	0	0	0	0
JS	121	55	46	8
JV	3044	1865	952	50
V0	0	0	0	0
VS	155	71	59	10
VV	2849	1746	892	47

B: Analyserte konsentrasjoner

Sediment/før kode	TBT	DBT	MBT	TPhT
J0	4	13	4	13
JS	3	21	3	12
JV	67	521	73	20
V0	48	321	48	22
VS	96	319	61	20
VV	315	839	149	29

5.4.5 Diskusjon – biotilgjengelighet fra før og sediment

Resultatene tyder på at både forurenset sediment og forurenset før gir opptak av tinnorganiske forbindelser.

Tinnorganiske forbindelser kan tas opp i organismer, enten med føden eller direkte fra vannet/sedimentet, eksempelvis via gjellene eller andre kroppsoverflater. Det er antatt at filtrerende organismer tar opp størstedelen fra vannet (porevannet). De forsøk som vi har gjennomført viser at for *Hediste* så kan begge opptaksveier være viktige. Vi forutsetter imidlertid da at dyr som ikke ble føret først og fremst tok opp TBT via vannet/porevannet, men vi kan likevel ikke utelukke at det også var noe organisk materiale i sedimentet som marken kunne spise også i behandlinger uten tilførsel av før (blåskjell).

I det marine miljø blir TBT med tiden nedbrutt, men i varierende grad, til mindre giftige nedbrytningsprodukter. Nedbrytningen skjer enten ved fysiske-kemiske eller biologiske prosesser. Flere dyregrupper kan nedbryte/metabolisere TBT, men det er artsmessige forskjeller. Våre resultater tyder på at *Hediste* har en viss evne til å nedbryte/metabolisere

TBT. Dette fordi fôring med skjell fra Solbergstrand som tross alt inneholdt en del TBT ikke ga noen konsentrasjonsøkning uten annen eksponering. Resultatene tyder imidlertid også på at nedbrytningen/metaboliseringen har et øvre tak som ble overskredet ved den høyeste belastningen (VV).

Selv i områder der en har lite tinnorganiske forbindelser i sediment, men av en eller annen grunn har tilførsler av byttedyr som inneholder TBT (eksempelvis fra pelagialen) kan dette gi opphav til TBT kontaminering i børstemark, men konsentrasjonen må altså være over en viss verdi. Konsentrasjonen som var i blåskjellene fra Solbergstrand (16 µg/kg v.v.) var tydeligvis ikke tilstrekkelig, mens konsentrasjonen i skjell fra Vikkilen (310 µg/kg v.v.) var over denne grense.

Konsentrasjonsmålingene er gjort etter at dyrene har ”gått seg rene” natten over i rent vann. Dette betyr at de kan ha mistet noe TBT i form av uttynning av løst TBT som måtte befinne seg i vann i tarmen og andre væskefylte volumer (kroppsvæske). Slik uttynning kan i utgangspunktet forekomme via diffusjon eller mer aktive mekanismer.

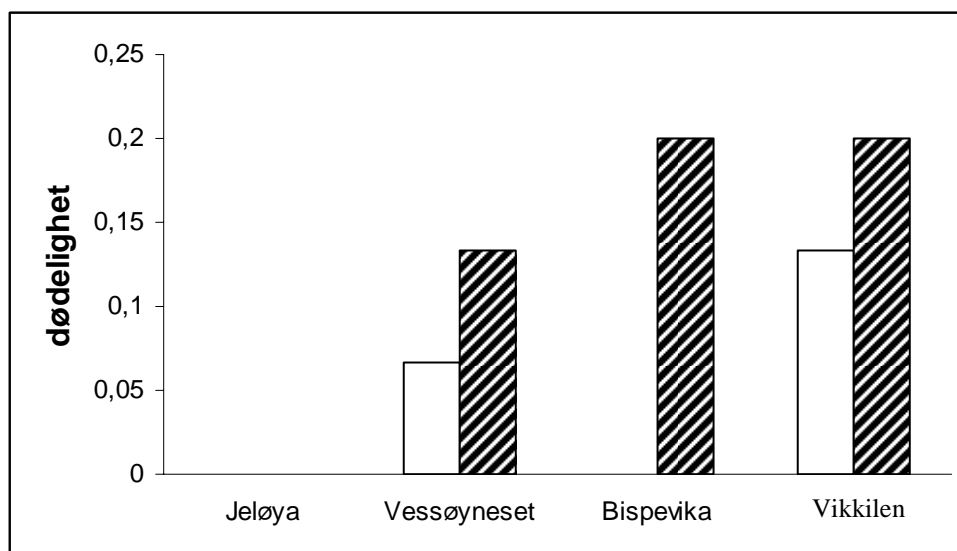
Nede i sedimentet er dyrene eksponert for porevannskonsentrasjonen av de enkelte tinnorganiske forbindelser. For TBT har Hamer og Karius, 2005 oppgitt en Kd-verdi (forholdet mellom konsentrasjon i sediment og porevann ved likevekt) på 2042 L/Kg for havnesedimenter fra Bremerhaven. Andre undersøkelser tyder imidlertid på at Kd varierer meget, blant annet avhengig av pH og andre fysisk kjemiske forhold i sediment, men at majoriteten ligger i nærheten av 10^3 . I SFTs veileder for risikovurdering av forurensede sedimenter (Breedeveld et al. 2005) oppgis imidlertid en Kd verdi på 36 L/kg for sediment med 2 % TOC. Vi har brukt Kd-verdien fra Bremerhaven og i SFTs risikoveileder som to antatte ytterpunkter, samt konsentrasjonen i forsøkssedimentet (**Tabell 8**), til å beregne antatte porevannskonsentrasjoner i forsøksakvariene. For TBT i akvarier med sediment fra Jeløya og Vikkilen gir dette porevannskonsentrasjoner i størrelsesorden 0,0005 og 0,5 µg/L dersom Kd fra Bremerhaven benyttes og 0,03 og 27 µg/L dersom Kd fra SFTs veileder benyttes. I begge tilfeller, og særlig hvis en legger den høyeste Kd verdien til grunn, er dette porevannskonsentrasjoner som er klart lavere enn det som ble observert i børstemarken som hadde blitt eksponert for TBT i forsøkene (4,2 – 50 µg/kg v.v.). Dette viser at konsentrasjonen som er observert i børstemarken skyldes biokonsentrering/bioakkumulering snarere enn ren diffusjon gjennom cellemembraner.

Vi har vist at tinnorganiske forbindelser som TBT tas opp av børstemarken *Hediste* som er et potensielt byttedyr for fisk som torsk. Det er tidligere både i Norge (Berge, 2001) og i andre land (de Brito et al. 2002) påvist tinnorganiske forbindelser i fisk. Forurensede sedimenter er derfor indirekte en potensiell kilde for forekomst av tinnorganiske forbindelser i fisk. Forhøyede nivåer av tinnorganiske forbindelser i fisk er en potensiell trussel både for fiskens helse og kan dessuten også ha betydning for spiselighet (Knutzen, 2002).

5.5 Biologiske effekter hos børstemark (fase I)

5.5.1 Dødelighet

Det var ingen dødelighet i kontroll-sedimentet, men de tre andre sedimentene med ulik grad av tinnorganisk forurensning (**Tabell 8**) ga dødelighet hos de to artene børstemark (**Figur 26**). Sedimentene fra Vessøyneset og Vikkilen forårsaket dødelighet hos begge artene, mens den høyeste dødeligheten (3 individer av 15) ble funnet for *Hediste* i sedimentene fra Bispevika og Vikkilen. Dødeligheten som ble observert i effektforsøkene kunne alene tyde på at dødeligheten økte med sedimentkonsentrasjonen (**Figur 26**). En slik økning kunne imidlertid ikke observeres i biotilgjengelighetsforsøkene hvor laveste dødelighet ble observert i sedimentet fra Bispevika (*Figur 12*).



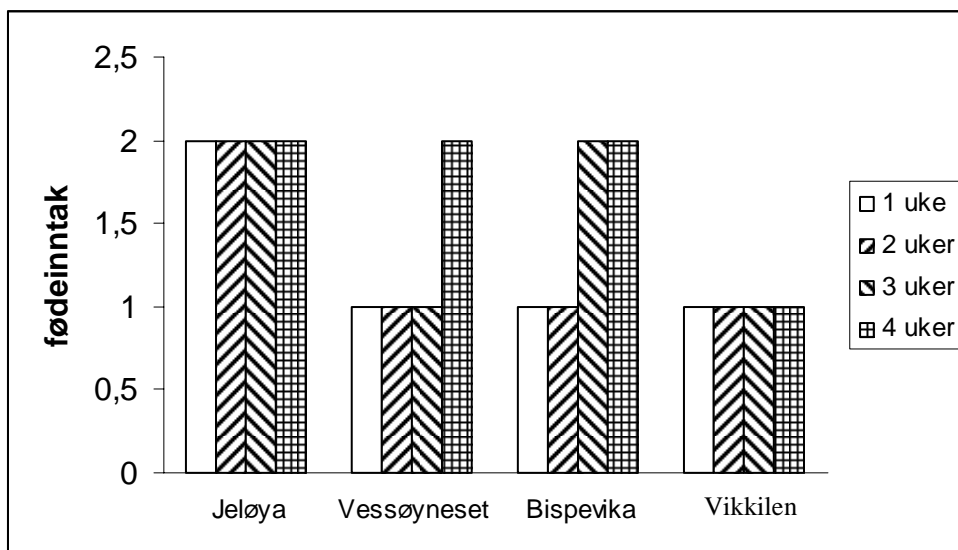
Figur 26. Dødelighet hos *Arenicola* (åpne bokser) og *Hediste* (skravert) etter 4 ukers eksponering for sediment fra de angitte områdene.

5.5.2 Nedgravning

Alle individer av begge arter hadde gravd seg ned innen en time var gått. I løpet av observasjonsperioden (4 timer) var et individ av *Hediste* synlig i et akvarium ved ett tidspunkt (etter 2 timer i sediment 1 – kontroll-sedimentet), men ellers forble de nedgravd. Nedgravning synes derfor ikke å være et følsomt endepunkt for disse to artene når det gjelder organiske tinnforbindelser i sediment.

5.5.3 Fødeinntak

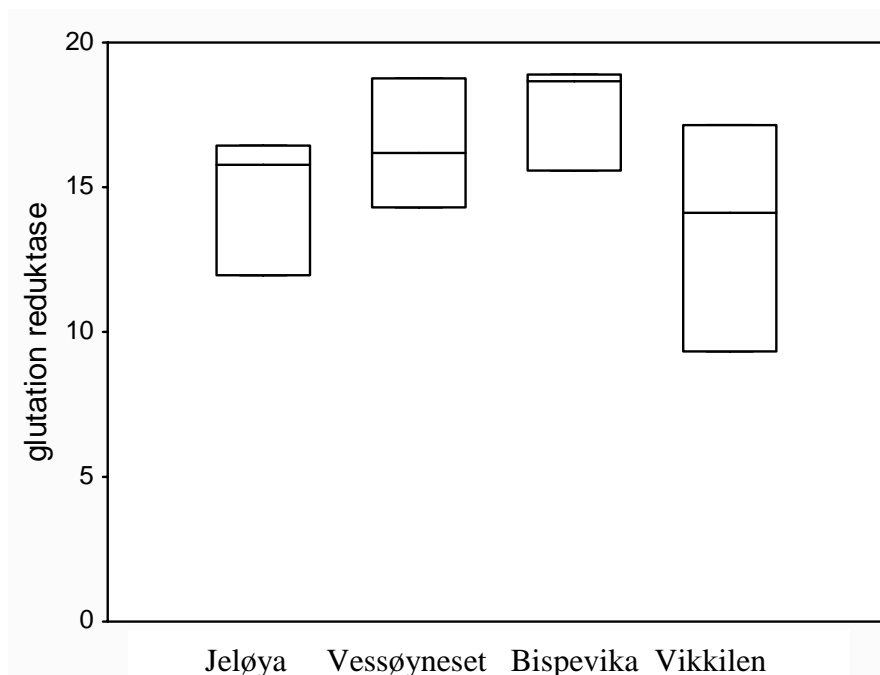
Det var effekter av alle de tre forurensede sedimentene på fødeinntak hos fjæremark (**Figur 27**). Det ser imidlertid ut som om det kan være en tilvenning til sediment fra Vessøyneset og Bispevika etter noen uker. Ved høye nivåer av særlig TBT forblir fødeinntaket lavere (Vikkilen/Nymo). Det er viktig å huske på at dette er studie uten replikasjon (bare et akvarium for hvert sediment) og at det derfor ikke er mulig å teste eventuelle forskjeller statistisk. I undersøkelsene i Tromsø havn var det imidlertid også sammenheng mellom TBT-nivå og fødeinntak (Hylland et al., 2004a).



Figur 27. Fødeinntak ("casting rate") hos fjæremark på fire ulike tidspunkt. Fjæremark ble holdt i sediment fra de angitte områdene. "Casting rate" måles ved gradering av den mengde sediment som fjæremarken deponerer på sediment-overflaten.

5.5.4 Glutation reduktase

Tinnorganiske forbindelser vil påvirke et bredt spekter av biologiske prosesser og vil blant annet forventes å binde til sulfhydryl-grupper på peptider i cellene. En slik påvirkning vil kunne redusere konsentrasjoner av glutatation og derved påvirke glutatation reduktase i cellene. Det var ingen åpenbare forskjeller i glutatation reduktase i homogenat av *Hediste* (hele dyret ble homogenisert) holdt i sediment fra de fire ulike områdene (**Figur 28**).



Figur 28. Glutation reduktase i tre blandprøver av *Hediste* holdt i fire uker i sediment fra de angitte områdene. Figuren viser median og kvartiler.

5.5.5 Diskusjon – effekter fase I

Selv i sediment med relativt lave konsentrasjoner av tinnorganiske stoffer var det tilsynelatende effekter på både dødelighet hos *Hediste* og fødeinntak hos fjæremark. Det er imidlertid viktig å være klar over at det også kan være andre miljøgifter i sedimentet som ikke ble målt og at vanninnholdet var ulikt i de fire sedimentene. I tilknytning til undersøkelser av effekter i sediment i Tromsø havn ble det også gjennomført effekt-studier av fjæremark. Resultatene fra det arbeidet tydet på at cytotoxisitet hos sirkulerende celler hos fjæremark kunne være et egnet endepunkt for effekter av miljøgifter, deriblant tinnorganiske forbindelser. Det ble imidlertid bare gjennomført analyser av tinnorganiske forbindelser i et fåtall sediment i den undersøkelsen.

5.6 Biologiske effekter hos nettsnegl (fase II)

5.6.1 Intersex

Snegl og andre bløtdyr har vist seg å være de mest følsomme marine organismene for eksponering til slike tinnorganiske forbindelser. Mekanismen synes å være hemming av en aromatase som normalt vil omdanne androgener (testosteron) til østrogener (østradiol), noe

som fører til en morfologisk maskulinisering av noen arter av snegl (Bettin et al. 1996). Det er beskrevet noen mulige arter som kan benyttes til å teste slike effekter. Nettsnegl er en slik art, som har en følsomhet opp mot den som purpursnegl (*Nucella lapillus*) har for tinnorganiske forbindelser (Stroben et al. 1992a)

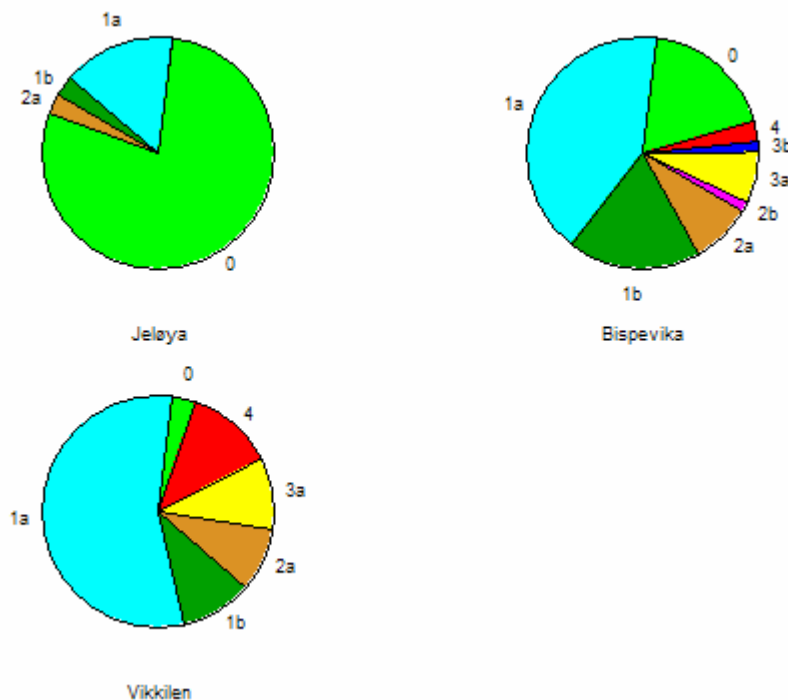
Det var åpenbare forskjeller i imposex-frekvens mellom snegl som hadde blitt holdt på sediment med TBT og kontroll-sedimentet (Figur 29).

Mens de fleste sneglene som hadde blitt holdt i kontroll-sedimentet var i stadie 0 (ingen påvirkning), var flertallet hunn-snegl som var holdt i sediment fra Bispevika og Vikkilen påvirket (stadie 1-4) og kunne også vises som en endring i VDSI (Tabell 12).

Tabell 12. Oppsummering av VDSI for nettsnegl holdt på sediment fra de tre områdene; VDSI er oppgitt som gjennomsnitt og median med min-maks.

Behandling	Antall snegl undersøkt	VDSI
Snegl holdt på sediment fra Jeløya	70	0.24; 0 (0-2)
Snegl holdt på sediment fra Bispevika	70	1.17; 1 (0-4)
Snegl holdt på sediment fra Vikkilen	90	1.62; 1 (0-4)

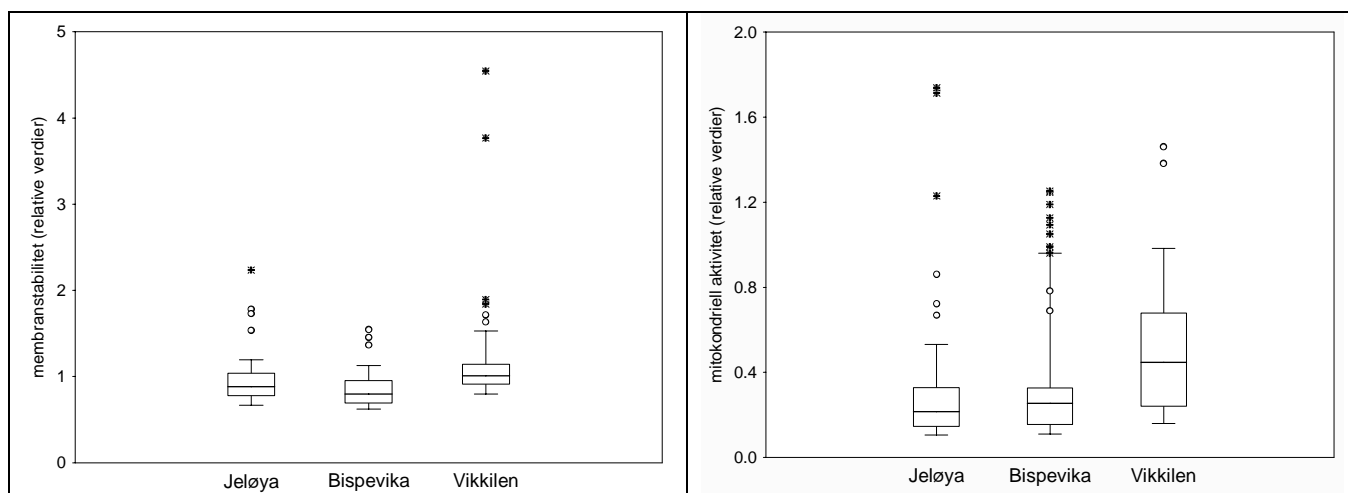
Testen kunne også skille mellom de to forurensede sedimentet idet det var flere hunn-snegl som hadde blitt holdt i sediment fra Vikkilen (mest forurenset) som hadde utviklet stadie 4 og færre som var upåvirket (stadie 0). Dette stemmer bra overens med tidligere observasjoner for denne arten og viser at dette er en følsom test for økologisk relevante effekter av organiske tinn-forbindelser.



Figur 29. Andel hunnsnegl med ulike stadier av imposex. Stadiene er forklart i Figur 3.

5.6.2 Cytotoksisitet

Det var ikke så klare forskjeller i membranstabilitet og mitokondriell aktivitet mellom celler fra snegl holdt i de ulike sedimentene (**Figur 30**), men forskjellene var klart statistisk signifikante ($p < 0.001$ i Kruskal-Wallis). For membranstabilitet var alle tre stasjonene forskjellige ($p < 0.05$), mens for mitokondriell aktivitet var hemocytter fra snegl holdt i sediment fra Vikkilen signifikant høyere enn for snegl holdt i de to andre sedimentene ($p < 0.05$). De observerte responsene gikk i motsatt retning av de som ville være forventet – det ville være forventet at begge markørene var lavere i eksponerte celler enn i celler fra snegl holdt under normale betingelser. Det er ikke klart hva årsaken er til dette. Den åpenbart økte verdien av mitokondriell aktivitet målt i celler fra snegl holdt i sediment fra Vikkilen sammenlignet med andre snegl kan være et resultat av endret energiomsetning (som er et kjent angrepspunkt for tinnorganiske forbindelser) og at noen prosesser er justert opp som respons på hemming av andre.



Figur 30. Viabilitet av hemocytter fra nettsnegl målt som membranstabilitet (venstre) og mitokondriell aktivitet (høyre); figuren viser median, kvartiler (25 og 75%), 10/90 persentiler og avvikende verdier (vist som punkter).

5.6.3 Diskusjon – effekter fase II

Det var klare effekter av begge de forurensede sedimentene på imposex (VDSI) hos nettsnegl. Det mest forurensede sedimentet forårsaket den største effekten på VDSI, men også sediment fra Bispevika forårsaket klare effekter på snegl eksponert i fire uker.

Det var også klare forskjeller mellom gruppene med hensyn til membranstabilitet og mitokondriell aktivitet hos hemocytter fra snegl holdt i de ulike sedimentene, men det er behov for mer kunnskap om prosessene før resultatene kan tolkes i forhold til påvirkning.

6. Konklusjoner

6.1 Nedbrytning

- Nedbrytningsforsøkene ble gjennomført uten tilsetning av kjemikalier som kunne hemme eller begunstige de naturlige nedbrytningsprosessene som kan tenkes å finne sted i havnesedimenter.
- Analyseresultatene fra nedbrytningsforsøkene viser at det i all hovedsak ikke skjer noen nedbrytning av tinnorganiske forbindelser (*TBT*, *DBT*, *MBT*, *TPhT*, *DPhT*, *MPhT*) i de havnesedimentene som er undersøkt etter en forsøksperiode på litt over ett år (56/59 uker). Under normale miljøforhold lik de forholdene det er testet på her, er halveringstiden for tinnorganiske forbindelser langt over ett år. For bestemmelse av halveringstider for tinnorganiske forbindelser under reelle miljøbetingelser er det behov for forsøksperioder på flere år.
- Resultatene fra forsøkene viser ingen signifikante forskjeller i nedbrytning av tinnorganiske forbindelser mellom aerobe og anaerobe forhold.
- Kontrollmålinger av forsøksbeholderne for de ulike behandlingene viser at redox-potensialet er betydelig lavere i de anaerobe beholderne og metankonsentrasjonene høyere. De aerobe forsøksbeholderne er vurdert å være representative for sedimenter hvor det er relativt god tilgang på oksygen. Forsøksoppsettet var dermed vellykket med hensyn på å skape aerobe og anaerobe forsøksbetingelser som er relevante for naturlig nedbrytning *in situ*.
- En økning av temperaturen fra 4 °C til 15 °C har i disse forsøkene ikke ført til økt nedbrytning av tinnorganiske forbindelser. Dette indikerer at temperatur innenfor den tidshorisont og det temperaturintervallet som er undersøkt her, ikke har synlig betydning for nedbrytningen av tinnorganiske forbindelser i sediment. Resultatene gir med andre ord ikke holdepunkter for at høyere temperaturer i grunne havneområder (sommerstid) vil øke nedbrytningen av tinnorganiske forbindelser.
- Forsøkene ble utført med ”naturlig” forurenset sediment og ”aldring” av forurensningen som antas å ha funnet sted i resipienten gjør at igjenværende tinnorganiske forbindelser trolig er mindre tilgjengelig for nedbrytning enn om en sammenligner nedbrytningsforsøk med kunstig tilsatt forbindelser.
- Den lave nedbrytningen innebærer at de konsentrasjoner av tinnorganiske forbindelser som i dag finnes i sedimenter i norske havner og fjorder, vil utgjøre en potensiell miljøtrussel i mange år fremover.

6.2 Biotilgjengelighetstester

Fase I

- For både TBT, DBT og MBT antydes det at konsentrasjonen i børstemarken (*Hediste diversicolor*) øker med konsentrasjonen i sedimentet. TBT-forurenset sediment kan derfor være en kilde for TBT i fisk som spiser slike organismer og muligens føre til forhøyede nivåer og eventuelle skadelige effekter.
- Konsentrasjon av DBT og MBT i *Hediste* øker mer med sedimentkonsentrasjonene enn konsentrasjonen av TBT. DBT og MBT var dermed ved samme sedimentkonsentrasjon mer tilgjengelig for børstemark enn TBT
- Allerede ved starten av forsøkene i fase I ble det registrert relativt høye konsentrasjoner av trifenyttinn i forsøksdyrene. Dette forhold er problematisk å forklare, men kan skyldes påvirkning i sitt naturlige miljø eller kontaminering mellom prøveinnsamling og oppstart av forsøkene.
- For alle de tre fenylforbindelsene antydes det at konsentrasjonen i børstemarken avtar med økende konsentrasjon i sedimentet. Dette er motsatt av det en observerte for butylforbindelsene og er ikke i tråd med det en skulle forvente.
- Det var generelt ingen øket dødelighet av børstemark (*Hediste diversicolor*) i sedimenter med høye konsentrasjoner av TBT og TPhT.
- Det var ingen signifikant sammenheng mellom dødelighet og konsentrasjonen av TBT i dyrene. Heller ikke for TPhT var det noen slik sammenheng. Fjerner man derimot en ekstremverdi ble imidlertid sammenhengen mellom dødelighet og konsentrasjon av TPhT signifikant.

Fase II

- Tinnorganiske forbindelser kan tas opp i organismer, enten med føden eller direkte fra porevannet/sedimentet. Forsøkene viser at for *Hediste* så kan begge opptaksveier være viktige.
- Børstemarken *Hediste* unngår oppbygging av forhøyede TBT konsentrasjoner så lenge de går på sediment med lave konsentrasjoner av TBT og det ikke er spesielt høye konsentrasjoner i deres mat. En førkonsentrasjon av TBT på 16 µg/kg v.v. var alene ikke tilstrekkelig til å gi synlig opptak, mens en før konsentrasjon på 310 µg/kg v.v. ga et klart opptak.
- Resultater tyder på at *Hediste* kan nedbryte/metabolisere TBT.
- Selv i områder der en har lite tinnorganiske forbindelser i sediment, men av en eller annen grunn har tilførsler av byttedyr som inneholder TBT kan dette gi opphav til TBT kontaminering i børstemark.
- Selv ved høye konsentrasjoner av TBT i sediment ble det ikke observert øket dødelighet hos *Hediste*. Dødeligheten økte imidlertid ved føring med forurenset før og det var en signifikant sammenheng mellom dødelighet og observerte konsentrasjoner av TBT og TPhT i marken
- Det var gjennomgående en større vektøkning i børstemark som ble føret enn de som ikke ble føret.
- For børstemarken som ble føret var vektøkningen (tørrvektsbasis) i gjennomsnittet 21,7 % av den tilførte mengde med før (tørrvektsbasis).

6.3 Biomarkører

Fase I

- Nedgravning var ikke et følsomt endepunkt for børstemarkene (*Arenicola marina*) og *Hediste diversicolor* til identifisering av effekter av organiske tinnforbindelser i sediment.
- Fødeinntak hos fjæremark (*Arenicola marina*) ble klart påvirket av forurensning med organisk tinn og kan derfor være et anvendelig endepunkt. Det var imidlertid tegn til en tilvenning i noen av sedimentene etter 3-4 uker.
- Det var ingen åpenbare effekter av tinnorganiske stoffer i sediment på glutation reduktase i *Hediste diversicolor*. Resultatene tyder på at denne biomarkøren målt i børstemarken *Hediste diversicolor* ikke er noen anvendbar metode til å identifisere effekter av organiske tinnforbindelser i sediment.
- Både i forbindelse med biotilgjengelighetstestene og effektstudiene er dødeligheten av forsøksdyrene (*H. diversicolor*) registrert, men resultatene var ikke entydige.
- En totalvurdering av dødeligheten observert i biotilgjengelighets- og biomarkørforsøkene tyder i hovedsak på at dødelighet av børstemark som lever i sediment ikke øker ved de konsentrasjoner som vi har benyttet. Dødelighet er derfor ikke et godt endepunkt for å vurdere giftighet av sedimenter forurenset med tinnorganiske forbindelser
- Resultatene fra biotilgjengelighetstestene antyder imidlertid at det er konsentrasjonen i dyrene som i første omgang er avgjørende for dødeligheten og at denne kan øke når marken har tilgang på sterkt forurenset fôr. Har marken tilgang på slikt fôr kan det derfor tenkes en øket dødelighet selv om sedimentkonsentrasjonene ikke er spesielt høye.

Fase II

- Hunner av nettsnegl (*Hinia reticulata*) holdt på sediment fra Bispevika og Vikkilen utviklet hannlig kjønnskarakter (imposex) i løpet av en periode på 4 uker. Det mest forurensete sedimentet forårsaket den største effekten. Imposex er derfor et meget følsomt endepunkt for å identifisere potensielle biologiske effekter av TBT i sediment.
- Det var ikke klare forskjeller i membranstabilitet og mitokondrie aktivitet mellom celler fra snegl holdt i de ulike sedimentene. Noen statistiske forskjeller ble likevel observert, men det er behov for mer kunnskap om prosessene før resultatene kan tolkes i forhold til påvirkning.

7. Referanser

- Alzieu, C., J. Sanjuan, J.P. Deltriel and M. Borel, 1998. Tin Contamination in Arcachon Bay: Effects on Oyster Shell Anomalies. *Marine pollution bulletin*. 17:494-498.
- Arnold, C.G., Ciani, A., Müller, S.R., Amirbahman, A. og Schwarzenbach, R.P. 1998. Association of triorganotin compounds with dissolved humic acids. *Environ. Sci. Technol.* 32, 2976-2083.
- Berg, M., Arnold, C.G., Müller, S.R., Mühlemann, J. og Schwarzenbach, R.P. 2001. Sorption and desorption of organotin compounds in sediment-pore water systems. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3151-3157.
- Berge, J.A. 1987. Tinnorganiske forbindelser. Et miljøproblem og en mulig trussel mot norsk akvakultur. *Norsk Fiskeoppdrett* nr. 3, 12. årgang., s. 45-46.
- Berge, J.A., Brevik, E.M., Bjørge, A., Følsvik, N, Gabrielsen, G.W. and Wolkers, H. (2004). Organotins in marine mammals and seabirds from Norwegian territory, *J. Environ. Monit.* 6. 108-112..
- Berge, J. A., Berglind, L., Brevik, E. M., Følsvik, N., Green, N., Knutzen, J., Konieczny, R. & Walday, M., 1997. Levels and environmental effects of TBT in marine organisms and sediments from the Norwegian coast. A summary report. Norwegian State Pollution Monitoring Program Report no. 693/97, TA-no. 1437/1997.
- Berge, J.A., 2002. Resipientundersøkelse i Trondheimsfjorden 2001. Miljøgifter i fisk. Niva-rapport nr. 4611, 53s
- Bettin, C., Oehlemann, J. and Stroben, E., 1996. TBT-induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. *Helgoänder Meeresunters.* 50, 299-317.
- Breedveld, G., Bakke, T., Eek, E., Helland, A., Källqvist, T., Oen, A., 2005. Veileder i risikovurdering av forurenset sediment. TA-2085/2005, 44s.
- De Mora, S.J., King, N.G., Miller, M.C. 1989. Tributyltin and total tin in marine-sediments – profiles and the apparent rate of TBT degradation, *Environ. Technol. Letter*, 10:901-908.
- De Brito, A.P.X., Ueno, D., Takahashi, S., Tanabe, S., 2002. Organochlorine and butyltin residues in walley Pollock (*Theragra chalogramma*) from Bering Sea, Gulf of Alaska and Japan Sea. *Chemosphere*, 46, 401-411.
- Dowson, P.H., Bubb, J.M., Williams, T.P., Lester, J.N. 1993a. Degradation of Tributyltin in freshwater and estuarine marina sediments. *Wat. Sci. Tech.*, 28(8-9):133-137.
- Dowson, P.H., Bubb, J.M., Lester, J.N. 1993b. Depositional profiles and relationships between organotin compounds in fresh-water and estuarine sediment cores, *Environ. Monit. Assess.* 28:145-160.

Eggen, T., Stuanes, A., Munitz, I., Amundsen, C.E., Sverdrup, L. 2003. TBT i forurensede sedimenter. Potensiell utlekking fra deponier og toksiske virkninger overfor jordlevende organismer. Jordforsk-rapport 68/03. Bioforsk, 1432 Ås.

Ellis, D.V. og Pattisina, A., 1990. Widespread Neogastropod imposex: A biological indicator of global TBT contamination. *Mar. Pollut. Bull.*, 21, 248-253.

Fent, K., 1996. Organotin compounds in municipal wastewater and sewage sludge: contamination, fate in treatment process and ecotoxicological consequences. *Sci. Total Environ.*, 185, 151-159.

Følsvik, N., Brevik, E.M., Berge, J.A. and Dam, M., 1998a. Organotin and Imposex in the Littoral Zone in the Faroe Island. *Frø?skaparrit* 46, 67-80.

Følsvik, N., Berge, J.A., Brevik, E-M., and Walday, M., 1998b. Quantification of organotin compounds and determination of imposex in populations of dogwhelks (*Nucella lapillus*) from Norway. *Chemosphere*, 38, 681-691.

Følsvik, N., Brevik, E.M. and Berge, J.A., 2002. Organotin compounds in a Norwegian fjord. A comparison of concentration levels in semipermeable membrane devices (SPMDs), blue mussels (*Mytilus edulis*) and water samples. *J. Environ. Monit.*, 4, 280-283.

Hamer, K. og Karius, V., 2005. Tributyltin release from harbour sediments – Modelling the influence of sedimentation, gird irrigation and diffusion using data from Bremerhaven. *Mar. Pollut. Bull.*, 50, 980-992.

Harino, H., O'Hara, S.C.M., Burt, G.R., Pope, N.D., Chesman, B.S. og Langston, W.J. 2002. Butyltin and phenyltin compounds in eels (*Anguilla anguilla*). *J. mar. Biol. Ass.U.K.*, 82, 893-901.

Hoch, M., 2004. Assessment of salinity variations in TBT adsorption onto kaolinite and montmorillonite at different pH levels. *Water, Air, and soil Pollution*, 152, 349-362.

Hoch, M. og Schwesig, D., 2004. Parameters controlling the partitioning of tributyltin (TBT) in aquatic systems. *Applied Geochemistry*, 19, 323-334.

Huggett, R.J., Unger, M. A., Seligman, P.F. and A.O. Valkirs, 1992. The marine biocide tributyltin. Assessing and managing the environmental risks, *Environ. Sci. Technol.*, 26 (2), 232-237.

Hylland, K., 1996. Bioakkumulering av miljøgifter fra marine sediment – etablering av et test system. NIVA-rapport nr. 4495, 26s.

Hylland, K., Ruus, A., Källqvist, T., Tollefsen, K.-E., Hartnik, T., Bøe, E., Hansen, H., Olsson, K., Evenset, A. 2004a. Opprydding av forurensede sedimenter i Tromsø havn. Biologiske effekter (delprosjekt 2). SFT-rapport, TA-2035/2004, 54 s.

<http://www.sft.no/publikasjoner/vann/2035/ta2035.pdf>.

Hylland, K., Aspholm, O.Ø., Knutsen, J.A., Ruus, A. 2004b. Biomarker responses in fish

from Frierfjord and Eidanger. NIVA Rapport SNO 4857-2004, 43 p.

Jörundsdóttir, K., Svavarsson, J., Leung, K.M.Y., 2005. Imposex levels in the dogwhelk *Nucella lapillus* (L.) – continuing improvement at high latitudes. Mar. Pollut. Bull., 51, 744-749.

Knutzen, J. 2002. Orienterende observasjoner av tinnorganiske forbindelser i fisk og krabbe – relasjoner til spiselighet. NIVA-rapport 4495, 26s.

Mercier, A., Pelletier, E. and Hamel, J.-F., 1994. Metabolism and subtle toxic effects of butyltin compounds in starfish. Aquat. Toxicol., 28, 259-273.

Matthiessen, P og Gibbs, P.E., 1998. Critical appraisal of the evidence of tributyltin-mediated endocrine disruption in molluscs. Environ Toxicol Chem, 17, 37-43.

Molvær, J., Knutzen, J., Magnusson, J., Rygg, B, Skei, J. Sørensen, J. 1997. Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann. Veiledning. Rapport fra SFT, TA-147/1997, 36s

Næs, K., Knutzen, J., Håvardstun, J., Kroglund, T., Lie, M.C., Knutsen, J.A., Wiborg, M.L. 2000. Miljøgiftundersøkelse i havner på Agder 1997-1998. PAH, PCB, tungmetaller og TBT i sedimenter og organismer. Statlig program for forurensningsovervåking 799/00. TA-nr. 1728/2000, NIVA-rapport nr.4232, 139s

O'Halloran, K., J.T Ahokas and P.F.A. Wright, 1998. Response of fish immune cells to in vitro organotin exposure. Aquatic toxicology, 40:141-156.

Reader, S., R.S. Louise, E. Pelletier and F. Denizeau, 1996. Accumulation and biotransformation of tri-n-butyltin by isolated rainbow trout hepatocytes. Environmental toxicology and chemistry. 14:2049-2052.

Ruiz, J.M., G. Bachelet, P. Caumette and O.F.X. Donard, 1996. Three decades of tributyltin in the coastal environment with emphasis on the Arcachon bay, France. Environmental pollution 93:195-203.

Schaanning, M., Hylland, K., Lichtenthaler, R., Rygg, B. 1996. Biodegradation of Anco Green and Novaplus drilling muds on cuttings deposited in benthic chambers. NIVA-report 3475, 77 p.

Schaanning, M., Ruus, A., Bakke, T., Hylland, K., Olsgaard, F. 2002. Bioavailability of metals in weight materials for drilling muds. NIVA rapport nr. 4597, 36s.

Sarradin, P.-M., Lapaquellerie, Y., Astruc, A., Latouche, C., Astruc, M. 1995. Long term behaviour and degradation kinetics of tributyltin in a marina sediment. The Science of the Total Environment. 170:59-70.

Snoeijs, N.J., A.H. Penninks and W. Seinen, 1987. Biological activity of organotin compounds- an overview. Environmental research. 44:335-353.

Svavarsson, J. and H. Skarphédinsdóttir, 1995. Imposex in the dogwhelk *Nucella lapillus* (L.) in Iceland. Sarsia. 80, 35-40.

Watanabe, N., Sakai, S-I., Takatsuki, H. 1995. Release and degradation half lives of tributyltin in sediment. *Chemosphere*, 31(3):2809-2816.

Weidenhaupt, A., Arnold, C., Müller, S.R., Haderlein, S.B. og Schwarzenbach, R.P. 1997. Sorption of organotin biocides to mineral surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 31, 2603-2609.

8. Vedlegg

Vedleggstabell 1. Resultater fra analyse av børstemark bruk i biotilgjengelighetstestene (Fase 1). Alle konsentrasjoner er oppgitt i $\mu\text{g}/\text{kg}$ v.v. Stedsnavnet for lokaliteten der sedimentet til testene er innsamlet er vist.

Prøve nr	Sediment type	Dato	% tørrstoff	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
0	Jeløya (start av forsøk)	23/09-04	12,9	1,1	3,4	<1	<1	16	140
1a	Jeløya	21/10-04	14,4	4	4,7	1,3	11	67	66
1b	Jeløya	21/10-04	10,6	5,2	4,4	3	18	81	53
1c	Jeløya	21/10-04	12,4	3	2,9	<1	i	48	53
2a	Vessøyneset	21/10-04	14,3	5,3	4,8	2,2	22	76	120
2b	Vessøyneset	21/10-04	14,6	4,8	4,2	3	15	53	100
2c	Vessøyneset	21/10-04	13,2	4,5	4	1,7	12	72	58
3a	Bispevika	21/10-04	13,2	18	39	7,6	15	120	44
3b	Bispevika	21/10-04	14,8	26	53	11	12	46	96
3c	Bispevika	21/10-04	13,6	16	34	7,3	8	43	61
4a	Vikkilen	21/10-04	12,8	36	70	25	17	95	49
4b	Vikkilen	21/10-04	12,5	8,2	48	25	1,7	1,1	66
4c	Vikkilen	21/10-04	16,1	40	89	24	2,3	1,2	71

Vedleggstabell 2. Analyseresultater fra nedbrytning av tinnorganiske forbindelser i **sediment 2 (Vessøyneset)** under aerobe og anaerobe forhold ved 4 °C.

Enhet: mg/kg tørrstoff

Aerob/ anaerob	Temp	Tid	Parallell	MBT	DBT	MPhT	TBT	DPhT	TPhT
		Start	1	0,032	0,049	0,007	0,077	0,001	0,002
		Start	2	0,017	0,033	0,006	0,062	0,001	0,002
Ae	4	10	1	0,011	0,028	0,037	0,057	-	-
Ae	4	10	2	0,014	0,025	0,007	0,048	0,001	0,002
Ae	4	10	3	0,014	0,022	0,024	0,044	0,001	0,001
Ae	4	50	1	0,015	0,02	0,006	0,04	0,001	0,001
Ae	4	50	2	0,013	0,026	0,01	0,063	0,002	0,003
Ae	4	50	3	0,009	0,018	0,004	0,043	0,001	0,002
An	4	10	1	0,019	0,035	0,005	0,041	0,001	0,001
An	4	10	2	0,012	0,021	0,003	0,034	0,001	0,001
An	4	10	3	0,016	0,024	0,005	0,051	<0,001	0,002
An	4	50	1	0,058	0,157	0,017	0,147	0,003	0,008
An	4	50	2	0,016	0,026	0,016	0,052	0,006	0,024
An	4	50	3	0,007	0,013	0,002	0,021	<0,001	0,001

TBT Tributyltinn

DBT Dibutyltinn

MBT Monobutyltinn

TPhT Trifenyltinn

DPhT Difenylytinn

MPhT Monophenylytinn

Vedleggstabell 3. Resultater fra nedbrytning av tinnorganiske forbindelser i **sediment 3 (Bispevika)** under aerobe og anaerobe forhold ved 4 °C.

Enhet: mg/kg tørrstoff

Aerob/ anaerob	Temp	Tid	Parallell	MBT	DBT	MPhT	TBT	DPhT	TPhT
		Start	1	0,043	0,24	0,003	0,756	0,001	0,003
		Start	2	0,054	0,27	0,003	1,871	0,001	0,018
		Start	3	0,044	0,23	0,004	0,597	0,001	0,002
Ae	4	10	1	0,047	0,24	0,011	0,682	0,004	0,043
Ae	4	10	2	0,047	0,29	0,004	0,831	0,001	0,006
Ae	4	10	3	0,075	0,34	0,004	1,753	0,001	0,003
Ae	4	50	1	0,038	0,28	0,004	1,124	0,002	0,005
Ae	4	50	2	0,018	0,25	0,002	0,972	0,001	0,001
Ae	4	50	3	0,051	0,28	0,003	0,678	0,001	0,001
An	4	10	1	0,055	0,27	0,098	0,805	0,002	0,002
An	4	10	2	0,016	0,17	0,003	0,667	0,001	0,001
An	4	10	3	0,064	0,31	0,005	0,969	0,002	0,002
An	4	50	1	0,044	0,24	0,002	0,616	0,001	0,003
An	4	50	2	0,041	0,23	0,003	0,716	0,001	0,001
An	4	50	3	0,011	0,11	0,003	0,455	0,001	0,002

TBT Tributyltinn

DBT Dibutyltinn

MBT Monobutyltinn

TPhT Trifenyltinn

DPhT Difenylytinn

MPhT Monophenylytinn

Vedleggstabell 4: Resultater fra nedbrytning av tinnorganiske forbindelser i **sediment 4 (Vikkilen)** under aerobe og anaerobe forhold ved 4 °C og 15 °C.

Enhet: mg/kg TS

Aerob/ anaerob	Temp	Tid	Parallell	MBT	DBT	MPhT	TBT	DPhT	TPhT
		Start	5	0,115	0,244	0,041	1,316	0,013	0,019
		Start	6	0,124	0,299	0,094	0,999	0,014	0,032
		Start	7	0,135	0,245	0,048	0,947	0,011	0,031
Ae	4	10	1	0,11	0,242	0,047	0,849	0,012	0,022
Ae	4	10	2	0,121	0,247	0,069	1,064	0,014	0,034
Ae	4	10	3	0,11	0,231	0,065	0,899	0,013	0,02
Ae	4	50	1	0,128	0,209	0,036	0,812	0,01	0,02
Ae	4	50	2	0,125	0,199	0,05	0,721	0,01	0,033
Ae	15	10	1	0,243	0,446	0,07	1,527	0,014	0,032
Ae	15	10	2	0,19	0,378	0,055	1,437	0,013	0,025
Ae	15	10	3	0,203	0,389	0,081	1,495	0,014	0,041
Ae	15	50	1	0,206	0,337	0,062	1,337	0,014	0,038
Ae	15	50	2	0,221	0,321	0,073	1,095	0,011	0,041
Ae	15	50	3	0,168	0,309	0,076	1,023	0,012	0,05
An	4	10	1	0,199	0,353	0,077	1,468	0,014	0,035
An	4	10	2	0,16	0,311	0,045	1,139	0,01	0,045
An	4	10	3	0,09	0,202	0,054	0,967	0,02	0,091
An	4	50	1	0,187	0,323	0,065	1,254	0,014	0,082
An	4	50	2	0,214	0,358	0,061	1,473	0,013	0,037
An	4	50	3	0,186	0,342	0,07	1,127	0,01	0,026
An	15	10	1	0,17	0,339	0,07	1,323	0,012	0,022
An	15	10	2	0,195	0,364	0,046	1,407	0,01	0,029
An	15	10	3	0,177	0,427	0,106	1,24	0,013	0,022
An	15	50	1	0,203	0,334	0,039	1,213	0,01	0,024
An	15	50	2	0,201	0,319	0,038	1,191	0,01	0,018
An	15	50	3	0,178	0,295	0,036	1,045	0,008	0,019

TBT Tributyltinn

DBT Dibutyltinn

MBT Monobutyltinn

TPhT Trifenyltinn

DPhT Difenylytinn

MPhT Monophenylytinn

Vedleggstabell 4. Oversikt over antall børstemark, *Hediste (Nereis) diversicolor*, i hvert av forsøksakvariene ved start og slutt av akkumuleringsforsøkene (Fase II). Sedimnet type, fôringsregime og vekt (våtvekt) av børstemarken i hvert akvarieer også vist. Fôring: C=ingen fôring, S=fôring med skjell fra Solbergstrand, V=fôring med skjell fra Vikkilen.

Akvarie nr.	Sediment-type	Fôring	Antall Hediste ved start	Vekt Tilsatt (g)	Antall Hediste ved Slutt	Vekt slutt (g)	Vektøkning pr individ (g)
1	Vikkilen	C	20	6,5	18	7,05	0,067
2	Jeløya	C	20	9,9	19	8,73	-0,036
3	Vikkilen	S	20	6,4	19	10,9	0,254
4	Jeløya	S	20	7,9	19	11	0,184
5	Vikkilen	V	20	8,2	12	7,88	0,247
6	Vikkilen	C	20	7,9	15	6,16	0,016
7	Jeløya	V	20	8	16	5,9	-0,031
8	Vikkilen	S	20	9,7	16	9,63	0,117
9	Jeløya	C	20	8,9	18	6,78	-0,068
10	Vikkilen	V	20	7,9	15	8,84	0,194
11	Jeløya	S	20	8,5	20	10,8	0,115
12	Jeløya	V	21	8,2	21	10,47	0,108
13	Vikkilen	C	20	8,5	19	8	-0,004
14	Jeløya	C	20	9,1	18	8,07	-0,007
15	Jeløya	S	20	7,9	19	10,38	0,151
16	Vikkilen	S	20	8,5	17	5,46	-0,104
17	Jeløya	V	20	7,3	19	9,88	0,155
18	Vikkilen	V	20	10,1	17	10,09	0,089

Vedleggstabell 5. Konsentrasjonen av tinnorganiske forbindelser i børstemark, *Hediste (Nereis) diversicolor*, etter 4 ukers eksponering på sediment fra Jeløya og Vikkilen. I løpet av eksponering har skjellene foret på ulik måte. Fôring: C=ingen fôring, S=fôring med skjell fra Solbergstrand, V=fôring med skjell fra Vikkilen. TTS=tørrstoffinnhold i de analyserte skjell, i=konsentrasjonen kan ikke beregnes pga interferens i kromatogrammet.

A:Analyseresultater oppgitt på våtvektsbasis ($\mu\text{g}/\text{kg v.v.}$)

Akvarie nr	Sediment type	Fôring	TTS (MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
			%	$(\mu\text{g}/\text{kg v.v.})$					
1	Vikkilen	C	12,1	7,3	46	11	<1	i	2,6
2	Jeløya	C	12	<1	1,7	<1	<1	i	1,3
3	Vikkilen	S	15,5	12	63	18	<1	i	3,4
4	Jeløya	S	13,5	<1	2,6	<1	<1	i	1,7
5	Vikkilen	V	12,6	20	95	43	<1	i	4,4
6	Vikkilen	C	14,3	6,4	31	4,2	<1	i	3,2
7	Jeløya	V	15,3	6,4	46	6,7	<1	i	3,3
8	Vikkilen	S	14,4	5,7	37	15	<1	i	3
9	Jeløya	C	12,4	<1	1,4	<1	<1	i	1,7
10	Vikkilen	V	15,6	13	120	39	<1	i	4,5
11	Jeløya	S	15,2	<1	3,6	<1	<1	i	1,4
12	Jeløya	V	14,9	13	94	15	<1	i	2,4
13	Vikkilen	C	13,4	5,4	49	3,2	<1	i	2,9
14	Jeløya	C	12,8	<1	1,8	<1	<1	i	1,7
15	Jeløya	S	14,7	<1	3,1	<1	<1	i	2,1
16	Vikkilen	S	14,6	9,5	43	10	<1	i	2,6
17	Jeløya	V	14,4	13	91	8,1	<1	i	3,1
18	Vikkilen	V	14,1	29	140	50	<1	i	3,4
Start av forsøk			13,3	<1	1,7	<1	<1	i	1,7

Vedleggstabell 5 (fortsettelse)

B: Analyseresultater oppgitt på tørrvektsbasis ($\mu\text{g}/\text{kg}$ t.v.). **Merk:** For konsentrasjonsverdier som lå under deteksjonsgrensen (se tabell A) har en ved beregning av konsentrasjonen på tørrvektsbasis benyttet halve deteksjonsgrensen

Akvarie nr	Sediment type	Fôring	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
			(μg/kg t.v.)					
1	Vikkilen	C	60,33	380,17	90,91	4,13	I	21,49
2	Jeløya	C	4,17	14,17	4,17	4,17	I	10,83
3	Vikkilen	S	77,42	406,45	116,13	3,23	I	21,94
4	Jeløya	S	3,70	19,26	3,70	3,70	I	12,59
5	Vikkilen	V	158,73	753,97	341,27	3,97	I	34,92
6	Vikkilen	C	44,76	216,78	29,37	3,50	I	22,38
7	Jeløya	V	41,83	300,65	43,79	3,27	I	21,57
8	Vikkilen	S	39,58	256,94	104,17	3,47	I	20,83
9	Jeløya	C	4,03	11,29	4,03	4,03	I	13,71
10	Vikkilen	V	83,33	769,23	250,00	3,21	I	28,85
11	Jeløya	S	3,29	23,68	3,29	3,29	I	9,21
12	Jeløya	V	87,25	630,87	100,67	3,36	I	16,11
13	Vikkilen	C	40,30	365,67	23,88	3,73	I	21,64
14	Jeløya	C	3,91	14,06	3,91	3,91	I	13,28
15	Jeløya	S	3,40	21,09	3,40	3,40	I	14,29
16	Vikkilen	S	65,07	294,52	68,49	3,42	I	17,81
17	Jeløya	V	90,28	631,94	56,25	3,47	I	21,53
18	Vikkilen	V	205,67	992,91	354,61	3,55	I	24,11
Start av forsøk			3,76	12,78	3,76	3,76	I	12,78

Vedleggstabell 6. Oversikt over mengde blåskjellinnmat (g) tilsatt hvert akvarium i løpet av forsøksperioden

Akvarie nr./dato	1, 2, 6, 9, 13, 14	3	4	5	7	8	10	11	12	15	16	17	18
26.sep	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
27.sep	0	1	1,1	1	1	0,9	1	0,9	1,1	1,1		1,1	1,1
28.sep	0	0,9	1,1	1	1,1	1	1	1	1,1	0,9	0,9	1,1	1
29.sep	0	0,5	0,5	0,5	0,4	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5
30.sep	0	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5
03.okt	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,6	0,4	0,5	0,4	0,6	0,4	0,6
04.okt	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5
05.okt	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
06.okt	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6
07.okt	0	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5
10.okt	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5
11.okt	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
12.okt	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6
13.okt	0	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
14.okt	0	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5
17.okt	0	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6
18.okt	0	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6
19.okt		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
20.okt	0	0,5	0,6	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5
Totalt (g)	0	11,1	11,5	11,5	11,1	11,4	11,5	11,3	11,5	11,2	10,2	11,3	11,1

**Statens forurensningstilsyn (SFT)**

Postboks 8100 Dep, 0032 Oslo

Besøksradresse: Strømsveien 96

Telefon: 22 57 34 00

Telefaks: 22 67 67 06

E-post: postmottak@sft.no

Internett: www.sft.no

Utførende institusjon Norsk institutt for vannforskning	Kontaktperson SFT Anne Kathrine Arnesen/ Kari Kjønigsen	ISBN-nummer 82-577-4694-0
--	---	------------------------------

	Avdeling i SFT Miljøoppfølgingsavdelingen	TA-nummer 2091/2005
--	--	------------------------

Oppdragstakers prosjektansvarlig John Arthur Berge	År 2006	Sidetall 72	SFTs kontraktnummer 5004 034 og 5005020
---	------------	----------------	--

Utgiver Norsk institutt for vannforskning NIVA-rapport 4996/2006	Prosjektet er finansiert av Statens forurensningstilsyn
--	--

Forfattere John Arthur Berge, Carl Einar Amundsen (Bioforsk), Trine Eggen (Bioforsk), Ketil Hylland (NIVA), Eivind Bøe (UiO)

Tittel Naturlig nedbrytning og biotilgjengelighet av tinnorganiske forbindelser i marine sedimenter. Degradation and bioavailability of organotin compounds in marine sediments

Sammendrag <p>Det nasjonale råd for forurensede sediment har påpekt at nedbrytning og tilgjengelighet av TBT i sediment representerer temaer der en i dag har for lite kunnskap til å kunne foreta en kostnadseffektiv og bærekraftig opprydding av forurensede sedimenter. Denne rapporten beskriver resultater fra forsøk der en har sett på nedbrytningen av tinnorganiske forbindelser i et sediment med høye nivåer med TBT og i hvilken grad tinnorganiske forbindelser i sediment er tilgjengelig for børstemark og om biologiske effekter kan spores. Det ble ikke påvist nedbrytning av butyl- og fenyltinnforbindelser i løpet av en forsøksperiode på ca 1 år. Det var gjennomgående en sammenheng mellom oppnådd konsentrasjon av TBT og MBT i børstemarken og konsentrasjonen av disse forbindelser i sedimentet dyrene var plassert på. Sediment kan derfor være en kilde for TBT i fisk som spiser slike organismer. Føringforsøkene viste at børstemarken <i>Hediste diversicolor</i> kan ta opp TBT både fra sediment og via fôr og at begge opptaksveier kan være viktige. <i>Hediste</i> unngår imidlertid oppbygging av forhøyede TBT-konsentrasjoner så lenge de går på sediment med lave konsentrasjoner av TBT og det ikke er spesielt høye konsentrasjoner i deres mat. Resultater antyder at <i>Hediste</i> kan nedbryte/metabolisere TBT. Fødeinntak hos fjæremark ble klart påvirket av forurensning med organisk tinn. Det var imidlertid ingen åpenbare effekter av tinnorganiske stoffer i sediment på glutation reduktase i <i>H. diversicolor</i>. Resultatene tyder på at denne biomarkøren målt i <i>H. diversicolor</i> ikke kan brukes som metode til å identifisere effekter av organiske tinnforbindelser i sediment. Det var heller ikke klare forskjeller i membranstabilitet og mitokondriell aktivitet mellom celler fra nettsnegl holdt i de ulike sedimentene, men for disse preatere trengs det mer kunnskap om prosessene før resultatene kan tolkes i forhold til påvirkning. Imposex hos nettsnegl (<i>Hinia reticulata</i>) viste seg imidlertid som et følsomt endepunkt for å identifisere potensielle biologiske effekter av TBT i sediment.</p>

4 emneord Tributyltinn Fenyltinn Nedbrytning Biotilgjengelighet	4 subject words Tributyltin Phenyltin Degradation Bioavailability
---	---

Statens forurensningstilsyn (SFT) ble opprettet i 1974 som et direktorat under Miljøverndepartementet.

SFT skal bidra til å skape en bærekraftig utvikling. Vi arbeider for at forurensning, skadelige produkter og avfall ikke skal føre til helseskade, gå ut over trivsel eller skade naturens evne til produksjon og selvfornyelse.



**Norsk institutt for
vannforskning**

Gateadresse: Brekkeveien 19
Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00
Telefaks: 22 18 52 00
Internett: www.niva.no



Bioforsk

Saghellinga
Fredrik A. Dahlsvei 20
1432 Ås

Telefon: 64 94 70 00
Telefaks: 64 94 70 10
Internett: www.bioforsk.no
E-post: post@bioforsk.no



Statens forurensningstilsyn

Postboks 8100 Dep, 0032 Oslo
Besøksadresse: Strømsveien 96

Telefon: 22 57 34 00
Telefaks: 22 67 67 06
E-post: postmottak@sft.no
Internett: www.sft.no

Bestilling: <http://www.sft.no/skjema.html>