



# Deltametrins toxiska effekter för *Chironomus riparius* – en jämförande studie mellan kontaminerat sediment och vatten

Examensarbete 20 p.

av

Mikael Hedlund

Institutionen för miljöanalys, SLU  
Box 7050, 750 07 Uppsala

Handledare: Nina Åkerblom, Willem Goedkoop

---

2002

Rapport 2002:5

---

Deltametrins toxiska effekter för *Chironomus riparius*  
– en jämförande studie mellan kontaminerat sediment  
och vatten

Examensarbete 20 p.

av

Mikael Hedlund

ISSN 1403-977X

<b>SAMMANFATTNING .....</b>	<b>6</b>
<b>1 INLEDNING.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1 BAKGRUND.....</b>	<b>7</b>
<b>1.2 SYFTE .....</b>	<b>8</b>
<b>2. MATERIAL OCH METODER.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 TESTSUBSTANSEN OCH PILOTSTUDIE.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 EXPERIMENTFÖRBEREDELSE.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3 TESTORGANISMEN .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4 TESTUTFÖRANDE .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5 KEMISKA ANALYSER.....</b>	<b>12</b>
<b>2.6 STATISTISKA METODER.....</b>	<b>12</b>
<b>3. RESULTAT .....</b>	<b>12</b>
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>14</b>
<b>5 ERKÄNNANDE .....</b>	<b>18</b>
<b>6 REFERENSER.....</b>	<b>19</b>
<b>BILAGOR.....</b>	<b>21</b>
<b>BILAGA 1. STANDARDLÖSNINGAR.....</b>	<b>21</b>
<b>BILAGA 2. NÄRINGSÄMNEN .....</b>	<b>22</b>
<b>BILAGA 3. VITAMINSTAMLÖSNING.....</b>	<b>22</b>
<b>BILAGA 4. KEMISK ANALYS AV M7-MEDIET.....</b>	<b>22</b>

## Sammanfattning

Under de senaste decennierna har förekomsten av bekämpningsmedel konstaterats i vattenprover ifrån många av de svenska vattendragen. Detta har lett till en ökad oro för de negativa effekter dessa bekämpningsmedel kan ha på den akvatiska miljön. De främsta källorna till denna spridning är industrin och jordbruket och inom jordbruket är det främst bekämpningsmedel för att reglera skadeorganismer på den växande grödan som används. Dessa bekämpningsmedel kan ha en benägenhet att anrikas i vattendragens sediment och därigenom utöva toxiska effekter på de organismer som lever i eller på sedimentytan.

De tidigare undersökningar och toxicitetstester har oftast utförts på pelagiska organismer, som hinnkräfta (*Daphnia magna*) eller en algart. Dessa organismer har exponerats för bekämpningsmedlet i konterminerat vatten utan att eventuell bindning till sediment har beaktats. I det förslag till toxicitetstest av bekämpningsmedel och kemikalier som framlagts av OECD tas hänsyn till bentiska (sedimentlevande) organismer som fjädermyggan *Chironomus riparius*. Dessa två guidelines nr. 218 och 219, avser att testa ett bekämpningsmedel toxiska effekter, dels då bekämpningsmedlet tillförs i sedimentfasen, dels i vattenfasen. I denna studie testades den syntetiska pyretriolen deltametrin toxiska effekter enligt de två ovannämnda guidelines och jämförelse gjordes med de bestämda MPC- och NC-värden för deltametrin.

Resultaten visade på stora skillnader i dödlighet mellan det bestämda MPC-värdet för deltametrin i sediment respektive vatten. I försök med kontaminerat sediment kläcktes adulta fjädermyggor i den behandlingen som motsvarade  $MPC_{\text{sediment}}$  medan det i kontaminerat vatten inte kläcktes några adulta i behandlingen som motsvarade  $MPC_{\text{vatten}}$ . Utvecklingshastigheten skiljde sig inte mellan de två försöken men den högsta utvecklingshastigheten fanns i försöket med kontaminerat vatten. Det var stor skillnad mellan de värden (0,145 pg/l respektive 0,63 ng/kg) som bestämdes utifrån försökens olika  $LC_{50}$ -värden och det modulerade MPC-värdet i litteraturen.

Deltametrin verkar vara mer toxiskt för *Chironomus riparius* i vattenfas än då det är bundet till sedimentet. Detta kan dels bero på en ökad exponering av bekämpningsmedlet i kontaminerat vatten jämfört med kontaminerat sediment, dels på larvernas känslighet under det första larvstadiet. Detta gör att valet av guideline beror på substansens egenskaper, akut eller kronisk exponering m m. De kritiska koncentrationerna som ger ett mer relevant LOEC och NOEC bör därmed utredas mer noggrant och ingående. MPC-värdena som bestämts för flera substanser och bekämpningsmedel är endast en uppskattning då det saknas toxikologiska data för att ge mer relevanta och exakta värden. Därmed kan det konstateras att mer arbete behövs för att undersöka deltametrins toxiska effekter för bentiska organismer och utifrån dessa beräkna realistiska MPC- och NC-värden.

## 1 INLEDNING

### 1.1 Bakgrund

Bekämpningsmedelsanvändningen inom jordbruket har ökat efter andra världskriget, vilket beror bl a på behovet av säkrare och större skördar för en växande befolkning. Den årliga användningen av bekämpningsmedel uppgår i Västeuropa till ca 350 000 ton aktiv substans (a.s.), varav Sverige förbrukar mindre än 1% (Kemikalieinspektionen, 2001c). Jordbruket är den näst största användaren av bekämpningsmedel (pesticider) i Sverige, efter industrin, och använde 4,6 miljoner hektardoser (antal doser den försålda mängden motsvarar) år 1999 (SCB, 2000). Användningen av bekämpningsmedel kan leda till att akvatiska system kontamineras och därmed ge oönskade ekologiska effekter.

Spridningen av bekämpningsmedel till akvatiska ekosystem kan ske avsiktligt genom direkt applicering i vattnet eller oavsiktligt genom avdunstning/avdrift, ytavrinning och utlakning från den besprutade ytan. De viktigaste faktorerna för att transport från den besprutade åkern ska ske är bekämpningsmedlets inneboende egenskaper såsom vattenlöslighet, ångtryck och fördelningskoefficienten oktanol/vatten ( $K_{ow}$ ). Vidare har även klimat (temperatur och nederbörd), markens egenskaper (textur och organisk halt), landskapet (topografi) och brukningsmetoder stor inverkan på transporten av bekämpningsmedel till akvatiska miljöer (Kreuger, 2001). Förekomster av bekämpningsmedel har konstaterats i yt- och grundvatten, främst i södra Sverige (Bilén, 2001). En tioårig studie i Vemmenhögsån, Skåne, har dock visat att halterna där har sjunkit, troligtvis som en följd av förbättrad utbildning samt informationskampanjer till lantbrukarna. Detta har lett till en bättre hantering, mer effektiv spridning av bekämpningsmedel samt mindre spill och utläckage till den omgivande miljön (Kreuger, 2001).

Sedimenten i sjöar, vattendrag och hav fungerar som en uppsamlings- och förvaringsplats för många av de ämnen och substanser som sprids ut i vår miljö, avsiktligt eller oavsiktligt. Bindningen till sedimentpartiklarna är beroende bl a på pH, redoxförhållanden,

substansens  $K_{ow}$  och sedimentets sammansättning (Leppänen, 1995). Från sedimentet kan ämnet/substansen frigöras, antingen då de yttre förhållandena och/eller substansen förändras. Då detta sker utsätts bottenlevande (bentiska) organismer för en kronisk exponering och en transport inom näringskedjan till högre organismer kan ske (Davies m fl, 1999).

För att bestämma en kemikalies miljöfarlighet används PNEC (Predicted No-Effect Concentration), d v s den koncentration hos en substans som inte ger någon toxisk effekt i miljön. Detta PNEC beräknas från akut toxicitetstester med fisk, vattenloppan *Daphnia magna*, alg och ibland *Chironomus* sp. Det lägsta  $LC_{50}$ - (Lethal Concentration), LOEC- (Lowest Observed Effect Concentration) - eller NOEC-värdet (No Observed Effect Concentration) används tillsammans med en säkerhetsfaktor för att beräkna PNEC. Vanligtvis används säkerhetsfaktorn 10, 100 eller 1 000 med vilken något av ovanstående värde divideras. Vid farhågor att en potentiell risk finns för toxiska effekter, antingen för någon eller några arter eller för miljön som helhet, kan tester med ytterligare arter samt kroniska tester utföras (Girling m fl, 2000).

Ett alternativt sätt att mäta kemikaliers toxicitet har arbetats fram inom projektet Setting Integrated Environmental Quality Standards (Crommentuijn m fl, 2000). Crommentuijn m fl (2000) har utarbetat maximum permissible concentrations (MPC), d v s maximalt tolererbara koncentrationer, och negligible concentrations (NC), d v s försumbara koncentrationer, för ca 150 organiska substanser och bekämpningsmedel, vilket ingår i ramverket för Dutch National Environmental Policy Plan. Dessa MPC- och NC-värden har tagits fram med hjälp av data från olika arters känslighet för substansen (om de finns tillgängliga), substansens fördelningskoefficient (jord/vatten och sediment/vatten), ekotoxikologiska data, m m. MPC är den koncentration av en substans som inte ger toxisk effekt för 95% av organismerna i ett ekosystem. NC är en procent av och innebär att substansen inte ger någon skadlig effekt i kombination med andra substanser i samma ekosystem. För vatten är MPC härlett från antingen från minst fyra NOEC eller från ett

fåtal akuta eller kroniska toxicitetstester. För jord och sediment där endast ett fåtal ekotoxikologiska tester är utförda, är MPC och NC beräknade med hjälp av EqP-metoden (equilibrium partitioning method), som utförts enligt internationella riktlinjer, exempelvis OECD guidelines (Crommentuijn m fl, 2000). Ett av de större problemen med MPC- och NC-värdena är att många ligger under detektionsgränsen för bekämpningsmedel med nuvarande metoder och analysutrustning. I Sverige saknas det analysmetoder för mellan 30-50% av de i Sverige använda bekämpningsmedlen (Hessel m fl, 1997).

Flera myndigheter och organisationer, bl a EC (Environment Canada), US-EPA (United States Environmental Protection Agency) och OECD (Organization for Economic Cooperation and Development), har länge arbetat med att utforma standardiserade toxicitetstester för sediment. Därmed blir det lättare att jämföra resultaten mellan olika laboratorier. De flesta standardiserade har utförts på pelagiska organismer, vanligtvis på *Daphnia magna*. Detta kan ge missvisande resultat för många organiska föroreningar med låg eller dålig vattenlöslighet, eftersom de gärna binder till sedimentpartiklar. Hög koncentration av kemikalier i sedimentet kan bl a medför att toxiciteten ökar för bentiska arter (Harkey m fl, 1994). Tidigare försök med lindan och dikloranalin har visat att *Chironomus riparius* har ett lägre NOEC än andra vattenlevande arter som planktonalger (*Chlamydomonas reinhardi*) och protozoer (*Tetrahymena pyriformis*) (Girling m fl, 2000). Därmed bör kemikaliers toxicitet testas genom att använda bentiska organismer (Conrad m fl 1999; Naylor m fl, 1995) och de flesta testerna använder fjädermyggor av arterna *Chironomus riparius* eller *Chironomus tentans*. En viss standardisering sker för att resultat från testerna ska kunna jämföras mellan de olika laboratorier. (EC, 1997; EPA, 1996)

I standardiserade tester med bentiska organismer används ett artificiellt sediment som vanligtvis består av sand, lera och en organisk fraktion (torv eller dylikt). Standardiseringen med artificiellt sediment minimerar variationerna i testresultat som orsakas av variationen i naturliga sediment. Nackdelarna med ett naturligt sediment är flera. Hantering och insamling av ett naturligt

sediment innebär i viss mån en förändring av sammansättningen, då det sällas för att avlägsna fauna och flora som kan störa experimentet. Detta innebär att sedimentet har förändrats i sin struktur och sammansättning, vilket kan ge felaktiga testresultat (Naylor m fl, 1995; Still m fl, 2000). De försök som har utförts med artificiella sediment pekar dock på likartade resultat som försök utförda med naturliga sediment (Fleming m fl 1999; Streloke 1995; Suedel m fl, 1994; Wästlund, 1999). Flera arbeten har utförts för att få ett artificiellt sediment med likartade egenskaper som det naturliga sediment som används, men ett av problemen är att specificera vad ett naturligt sediment är, då det varierar från plats till plats. Det viktigaste är dock att få ett artificiellt sediment som liknar det naturliga i fråga om organisk halt, organiskt material, partikelstorlek m m, vilket ger likartade resultat med avseende på bindningsförhållanden och toxicitet (Fleming m fl, 1998; Kemble m fl, 1999; Lacey m fl, 1999). Fördelarna med att använda ett artificiellt sediment före är bland annat frånvaron av ämnen och kemiska föreningar som kan påverka resultatet. Vidare är artificiella sediment fria från organismer som kan konsumera eller konkurrera med testorganismen. Även sammansättning av ett artificiellt sediment kan vara likartad med avseende på t ex partikelstorlek, organisk halt och pH mellan olika försök (Suedel m fl, 1994).

## 1.2 Syfte

I detta arbete jämförs deltametrins toxiska effekterna för *Chironomus riparius* i kontaminerat sediment och kontaminerat vatten. Utförandet av försöken följer de två förslag till OECD guidelines där testsubstansen tillsätts i sedimentet (OECD, 2001a) eller i vattnet (OECD, 2001b). I OECD:s guidelines beskrivs endast kortfattat exponeringsvägarna, men de saknar tydliga kriterier för vilken test som skall användas till vilka ämnen. Med utgångspunkt av deltametrinets MPC-värde i sediment- och vattenfas (Crommentuijn m fl, 2000), undersöks hur toxiskt substansen deltametrin är för *Chironomus riparius* vid tillsatts i sedimentfas respektive vattenfas. Vidare undersöks om LC-, NOEC- och LOEC-värdena varierar mellan de båda testerna och om det är skillnad i dödlighet för *Chironomus*

*riparius* mellan de olika MPC-värdena (vattenfas och sedimentfas) som finns angivna. Dessutom undersöks om MPC-värdet för deltametrin tillräckligt lågt för att inte vara toxiskt för *Chironomus riparius*.

## 2. MATERIAL OCH METODER

De två experimenten följer förslagen för testning av kemikalier enligt OECD guideline 218 och 219 (OECD a-b, 2000). Dessa guidelines är utformade för att testa pesticider och industrikemikalier under en längre tidsperiod och testorganismer är sedimentlevande larver av fjädermyggan *Chironomus* sp. Skillnaden mellan guideline 218 och 219 är att testsubstanten i den förstnämnda tillsätts till sedimentet och i den sistnämnda till vattenfasen.

### 2.1 Testsubstanten och pilotstudie

Den syntetiska pyretroiden deltametrin, IUPAC-namn (S)- -cyano-3-fenoxi-bensyl-(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimetylcyklopropankarboxyla ( $C_{22}H_{19}Br_2NO_2$ ), användes som testsubstant. Deltametrin är hydrofob ( $\log K_{ow} = 5,4$ ) och har låg flyktighet med ett ångtryck på 0,002 mPa (Kemikalieinspektionen, 2001a). Deltametrin är verksamt mot insekter antingen genom direktkontakt eller via mag-tarmkanalen. Dess toxiska effekt är att via Na-kanalerna påverka insektens nervsystem. Detta innebär bland annat att insektens motorik påverkas, samt att hela nervsystemet överbelastas då frisläppande av signalsubstanser påverkas (Ecobichon, 1996). Deltametrin används mot skadeinsekter inom jordbruk, trädgårdsodling och på prydnadsväxter utomhus. Risk för bioackumulering finns på deltametrins  $\log K_{ow}$  men deltametrin omvandlas under gynnsamma förhållanden snabbt till mindre skadliga produkter. I Sverige finns det fem godkända preparat med deltametrin som verksamt substans (Kemikalieinspektionen, 2001a).

Testkoncentrationerna valdes efter att en pilotstudie med deltametrin tillsatt i vattenfasen, där 15 larver/koncentration från första larvstadiet av *Chironomus riparius* exponerades under 72 timmar. Efter pilotstudiens avslutande sållades sediment och vatten genom en sil med maskstorlek 0,25  $\mu m$ . Denna

sediment/vattenblandning genomsöktes efter eventuella larver. Inga döda eller levande larver hittades i någon av de tre koncentrationerna 300 pg/l (MPC), 600 pg/l (2xMPC) och 1 200 pg/l (4xMPC). Med utgångspunkt från detta, bestämdes testkoncentrationerna för guideline 219 (försök med kontaminerat vatten) till 300 pg/l (MPC), 150 pg/l (1/2xMPC), 24 pg/l (1/12,5xMPC), 12 pg/l (1/25xMPC) och 6 pg/l (1/50xMPC). För guideline 218 (försök med kontaminerat sediment) användes testkoncentrationer 1,3  $\mu g/kg$  (MPC), 2,6  $\mu g/kg$  (2xMPC), 32,5  $\mu g/kg$  (25xMPC), 65  $\mu g/kg$  (50xMPC), 130  $\mu g/kg$  (100xMPC) och 260  $\mu g/kg$  (200xMPC). Detta gjordes för att kunna diskutera de tidigare nämnda MPC-värden som finns för deltametrin och eventuella avvikelser från dessa MPC-värden. OECDs guidelines har som villkor att koncentrationerna får endast öka med en faktor två, om  $EC_x$  ska beräknas. Detta frångås i denna studie för att kunna jämföra MPC mellan de två testerna.

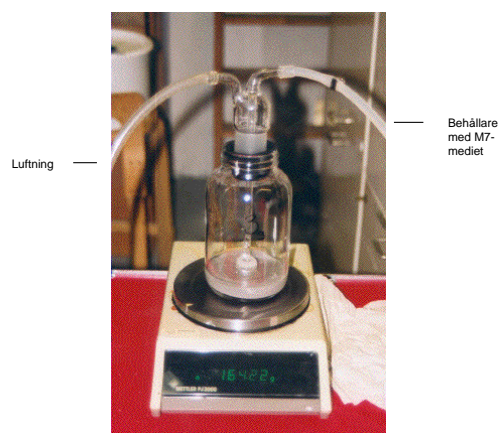
### 2.2 Experimentförberedelser

Beredningen av det artificiella sedimentet skedde enligt OECD guidelines 218 och 219, bilaga 3. Sedimentet bestod av 5% torv, 20% kaolinlera och 75% sand samt 0,1%  $CaCO_3$ , uttryckt i torrsvikt. Torven (Orginal Solmull, Hasselfors Garden) torkades i 40°C tills konstant vikt erhöles. Därefter kördes den torkade torven i en matberedare för att finfördelas och sedan siktades torven genom såll för att få rätt kornstorlek ( $< 150 \mu m$ ). 150 g av torven blötlades i avjonat vatten under två dagar och stabiliserades till pH 6,0 med hjälp av 3 g  $CaCO_3$  (Merck pro analysi). Den blötlagda torven blandades med 600 g kaolin (MERCK) och 2 250 g sand (MERCK, tvättad, kornstorlek 150-300  $\mu m$ ) som siktats för att få önskad kornstorlek (60%  $< 200 \mu m$  och 40%  $> 200 \mu m$ ). Efter blandning bestämdes pH till 6,5 med hjälp av pH-indikatorpapper (Merck Universalindikator). Sedimentblandningen fick sedan stå i 7 dagar i rinnande, avjonat vatten. Därefter togs sedimentprov för att bestämma sedimentets vattenhalt (105°C, 12 timmar). Vattenhalten i försöket med kontaminerat sediment, innan de 10 g sand som användes för att fördela deltametrin, bestämdes till 30%. I försöket med kontaminerat vatten bestämdes vattenhalten till 34%. Den organiska halten i

sedimentet bestämdes genom glödning (550°C, 140 minuter) till  $4,8 \pm 0,2\%$  i försök med kontaminerat sediment (tre prov) respektive 4,1% i försök med kontaminerat vatten (ett prov) av torrvikten. De färdiga sedimenten användes till testerna och de vägdes upp i förhållande till sin vattenhalt. I försök med kontaminerat sediment användes 128,6 g vått sediment och i försök med kontaminerat vatten 151,5 g vått sediment per testflaska. Detta gav då ett sedimentlager som var cirka 1,5 cm tjockt i varje testflaska.

M7 är ett artificiellt medium som innehåller näringsämnen, spårämnen och vitaminer (OECD, 2001 a-b). M7-medium bereddades genom att blanda bestämda volymer av olika standardlösningarna, till en total volym av fyra liter, se bilaga 1. 1,5 liter av stock II samt bestämda volymer av näringslösningar blandades med avjonat vatten, se bilaga 2. Totalt bereddades 4 liter stock II och 30 liter M7-mediumet. M7-mediumet luftades innan användning och vitaminstocken tillsattes, i de volymer som anges i bilaga 3, strax innan M7-mediet fylldes på i försöksflaskorna.

Testflaskorna av glas (volym 1 000 ml, bottenarea 70 cm<sup>2</sup>) fylldes med 400- 420 ml M7-medium, vilket gav en vattenpelare på ca 6 cm. Förhållandet mellan sediment och vatten är därmed 1:4, vilket uppfyller kraven enligt guidelines. Påfyllningen skedde med hjälp av en 10-liters vattenbehållare med kran i botten, placerad högre än testflaskan. Till denna behållare, via plastslang, kopplades överdelen av en gastvättflaska (DURAN D1, SCHOTT 34/35) för att kunna fylla flaskorna utan att sedimentytan stördes. Ytterligare en fördel med denna påfyllnadsteknik var att arbetet inte krävde ständig passning och att händerna var fria för att iordningställa föregående flaska eller förbereda nästa. Med en slangklämma reglerades flödet av M7-mediet. För att få önskad volym, ställdes flaskorna på en våg, då 1 ml M7 väger 1 g (figur 1). Flaskorna acklimatiserades i ett konstantrum (20 ± 1°C, 16 tim ljus och 8 tim mörker) och luftades med ca en luftbubbla/sekund under 10 dagar (kontaminerat sediment) respektive 28 dagar (kontaminerat vatten) genom pasteurpipetter ca två cm ovanför sedimentet. Syrgashalten



Figur 1. Påfyllning av M7-medium i en av testflaskorna med hjälp av en gastvättflaska.

mättes i varje flaska vid försökens start och låg för de båda försöken inom 84-98% mätnad.

I försök med kontaminerat sediment blandades deltametrin löst i aceton med 10 g torr sand i testflaskorna. Acetonet tillåts att evaporera under 24 timmar och därefter tillsattes vått sediment, motsvarande 90 g torrt sediment. Detta innebär att totalt används 100 g torrt sediment/flaska. Den torra sanden och det våta sedimentet blandades noggrant för att få en jämn fördelning i hela sedimentet av pesticiden. I två flaskor bestämdes koncentrationen av testsubstansen i vatten- respektive sedimentfas. Dessa prover togs i samband med att försöket startade i koncentrationerna 200xMPC och 50xMPC. I försök med kontaminerat vatten tillsattes deltametrin, löst i aceton, till vattenfasen (M7-medium) istället för till sedimentet. Deltametrin tillsattes till vattenfasen 24 timmar efter det att larverna hade tillsatts. Vidare fanns även en kontrollgrupp där endast motsvarande mängd aceton tillsattes, för att kontrollera om aceton kan ge toxiska effekter för *Chironomus riparius*.

### 2.3 Testorganismen

Larverna av *Chironomus riparius* togs från laboratoriet hos Institutionen för Miljöanalys, SLU Uppsala. *Chironomus riparius* är en fjädermygga som livnär sig på organiskt material som finns på sedimentytan eller i ytsedimentet. Födovallet beror på vad som finns tillgängligt, men födan kan upp till 50%



bestå av bakterier (Berg, 1995). Torv är en stor källa till intaget av bakteriellt kol (47% i oligotrof miljö) men även alger, detritus, makrofyter, vedartat material samt invertebrater står på menyn. I sedimentet bygger larverna en tub av partiklar och saliv. Larven lever genom alla fyra larvstadier i

denna tub vilket innebär att larven äter vad som finns i dess omedelbara omgivning (Berg, 1995). Den partikelstorlek på födan som föredras av *Chironomus riparius*, varierar mellan 1 till 25 µm (Ristola, 1999).

Tabell 1. Koncentrationer av deltametrin i sediment (µg/kg t s) och vatten (pg/l), samt MPC-värde enligt Crommentuijn m fl,(2000),och antal replikat/koncentration för försök utförda enligt Guideline 218 och 219 (OECD a-b, 2001).

Guideline 218			Guideline 219		
Koncentration (µg/ kg)	xMPC	n	Koncentration (pg/l)	xMPC	n
0	kontroll	4	0	kontroll	2x4*
1,3	1	4	6	1/50	4
2,6	2	4	12	1/25	4
32,5	25	4	24	1/12,	4
				5	
65	50	4	150	1/2	4
130	100	4	300	1	4
260	200	3			

\* Två kontroller, varav en med acetone.

## 2.4 Testutförande

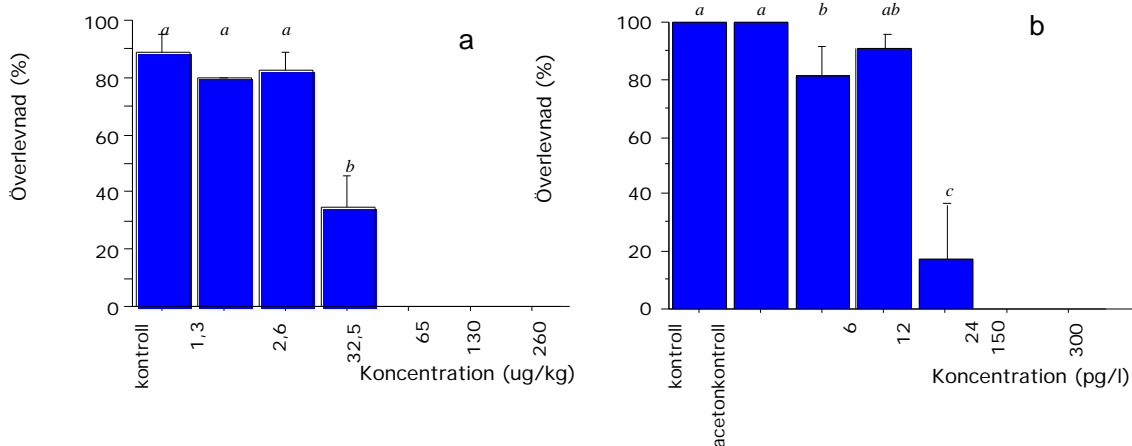
MPC för deltametrin är enligt Crommentuijn m fl (2000) 1,3 µg/kg t s (sedimentfas) och 0,0003 µg/l vatten (vattenfas). Testkoncentrationerna och antal replikat för de båda försöken ges i tabell 1.

Efter tio dagar respektive 28 dagars stabilisering i konstantrum (19-21°C) tillsattes 20 nykläckta larver från det första larvstadiet till varje flaska i försöksupställningarna. Luftningen stoppades under 24 timmar för att underlätta för larverna att söka sig till sedimentytan.

Larverna matades varannan dag med torr, finmalen TetraPhyll® som lades på vattenytan. Under de första 10 dagarna tillsattes föda motsvarande 0,25 mg TetraPhyll® per larv och dag till varje flaska, och därefter 0,5 mg TetraPhyll® per larv och dag. Försöken löpte över 28 dagar. LC<sub>x</sub>, LOEC/NOEC, dödlighet, utvecklingshastighet samt kläckningsfrekvens är testets mätvariabler. Enligt EC (1997) förväntas de första adulta fjädermyggorna

kläckas dag 12 och därför kontrollerades flaskorna dagligen från dag 12. De adulta fjädermyggorna könsbestämde för att se om kläckningen är könsspecifik. Vid försökens avslutande genomsköptes varje testflaska för att finna eventuella larver som inte utvecklats till adulta fjädermyggor. Genomsökningen skedde på samma sätt som i pilotstudien.

Det ovan beskrivna förfarandesättet avviker från OECD:s guideline (OECD a-b, 2000) enligt följande. Inget prov togs för att bestämma testkoncentrationen av deltametrin från försöket med kontaminerat vatten, då tillsatta mängden deltametrin gav en koncentration som låg under det av laboratoriet fastställda detektionsgräns för analysmetod och utrustning. Inget prov togs på M7-mediumets hårdhet och ammoniumkvävehalt innan testet start, utan endast efter att testet hade avslutats. Endast ett sedimentprov togs för att bestämma den organiska halten från försöket med kontaminerat vatten, men det togs tre prover från försöket med kontaminerat sediment. Den organiska halten var högre än vad guidelinen stipulerar (1,5–2,5%). Dessutom frångicks faktorn 2 mellan koncentrationerna.



Figur 2 a-b. Överlevnad i olika koncentrationer för *Chironomus riparius*, försök där deltametrin tillsatts till sediment (a,) och försök där deltametrin tillsatts till vatten (b.). Staplarna visar medelvärden  $\pm$  standardavvikelse. a, b och c representerar signifikanta skillnader mellan behandlingarna i varje försök.

## 2.5 Kemiska analyser

Vattenanalyser av M7-medium för att bestämma alkalinitet, ammonium-kvävehalt, hårdhet och konduktivitet, utfördes av kemiska laboratoriet vid Geo-Kemiska sektionen, Institutionen för Miljöanalys. Analys av deltametrinkoncentrationen i försöket med kontaminerat sediment, utfördes av laboratoriet Sektionen för Organisk Miljökemi, Institutionen för Miljöanalys.

Deltametrinkoncentrationen bestämdes genom att kontaminerat sediment extraherades med aceton/diklormetan, 1:1 (volym), med Soxtec Avanti extraktionssystem. Sedimentextraktet renades med hydrofob gelfiltrering (SEC) och slutbestämningen sker med kapillärkolonn med EC-, NP- och MS-detektorer (SLU/MA, 2001).

## 2.6 Statistiska metoder

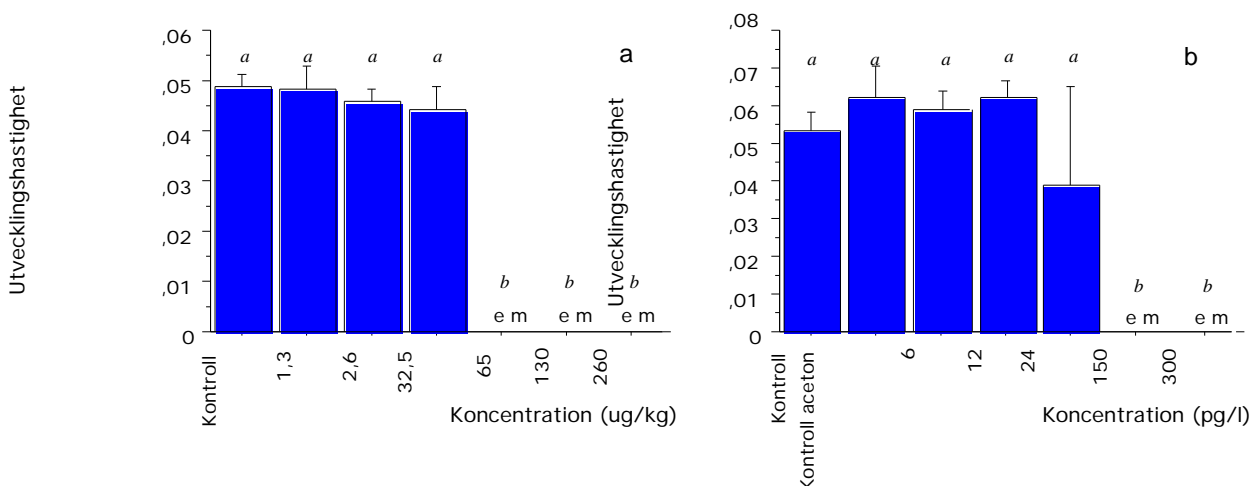
Alla data har arcsin-transformerats, enligt formeln,  $X_{arc} = \arcsin(\sqrt{X})$ , innan statistisk analys har genomförts. För utvecklingshastighet och kläckningsfrekvensen har ANOVA ( $\alpha=0,05$ ) används. För parvisa jämförelser har Bonferroni/Dunn post-hoc test använts. Probitanalys har utförts enligt Abbotts formel (Abbott, 1925),

$$\frac{X - Y}{X} \times 100 = \text{korrigerat värde } Y,$$

där X är procent kläckta i kontrollgruppen, Y är procent kläckta i en av behandlingarna och  $X - Y$  är procent döda av behandlingen. Därefter omvandlas de korrigerade värdena till probitvärden (normalfördelade) och resultaten visas i de båda försöken som  $LC_{50}$ .

## 3. RESULTAT

Överlevnaden bland larverna ökade inte oväntat med minskande deltametrinkoncentration. Då inga överlevande larver hittades efter det att försöken avslutades är kläckningsfrekvens lika med överlevnad i detta arbete. I försöket med kontaminerat sediment var överlevnaden i kontrollgruppen  $88,8 \pm 6,3\%$  (figur 2 a-b). Koncentrationer där larverna utvecklades till adulta fjädermyggor var 1,3  $\mu\text{g/kg}$  (MPC), 2,6  $\mu\text{g/kg}$  (2xMPC) och 32,5  $\mu\text{g/kg}$  (25xMPC). I de övriga tre behandlingarna 65  $\mu\text{g/kg}$ , 130  $\mu\text{g/kg}$  och 260  $\mu\text{g/kg}$  kläcktes inga larver. Behandlingen som motsvarade MPC-värdet hade en överlevnad på 80,0% i samtliga replikat och överlevnaden i 2xMPC var  $82,5 \pm 6,5\%$ . Det var ingen skillnad i överlevnad (Bonferroni/Dunn,  $p > 0,05$ ) mellan MPC-behandlingen, 2xMPC-behandlingen och kontrollgruppen ( $p > 0,05$ ). Signifikanta skillnader i överlevnad fanns mellan 32,5  $\mu\text{g/kg}$  och de övriga behandlingarna ( $p < 0,0001$ ). Dessutom minskade överlevnaden i förhållande till kontrollgruppen



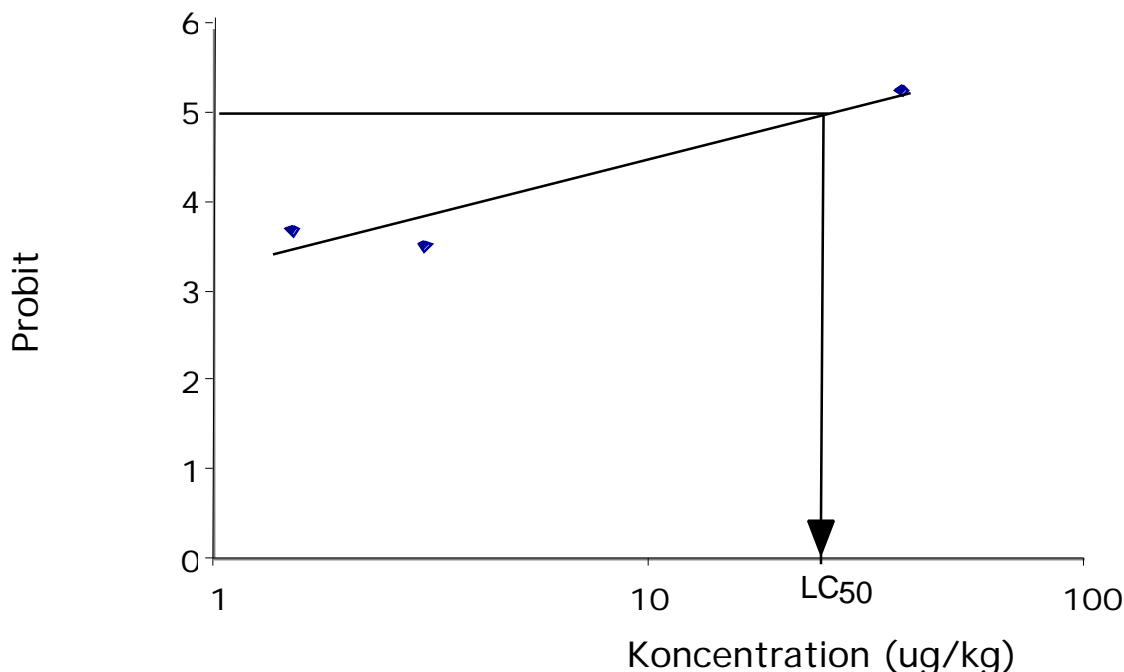
Figur 3a-b. Utvecklingshastigheten, dag<sup>-1</sup>, i försök med kontaminerat sediment (a,) och med kontaminerat vatten (b,). Staplarna visar medelvärden ± standardavvikelse. a och b representerar signifikanta skillnader mellan behandlingarna i varje försök. e m är ej mätbara resultat.

vid deltametrinkoncentrationen 32,5 µg/kg och överlevnaden var endast 35,0 ± 10,8% i denna grupp.

I försök med kontaminerat vatten utvecklades larverna till adulta fjädermyggor i behandlingarna där koncentrationerna var 24 pg/l (MPC/12,5), 12 pg/l (MPC/25) och 6 pg/l (MPC/50). Överlevnaden var lägre (17,5 ± 19,4%, 91,2 ± 4,8% respektive 81,2 ± 10,3%) i dessa behandlingar än i kontrollgrupperna där överlevnaden var 100%. I de övriga två behandlingarna 150 pg/l och 300 pg/l kläcktes inga larver. Signifikanta skillnader (Bonferroni/Dunn,  $p < 0,0001$ ) uppvisades mellan behandlingarna 6 pg/l ( $p = 0,0013$ ), 24 pg/l (Bonferroni/Dunn,  $p < 0,0001$ ) och de två kontrollgrupperna. Dessutom var överlevnaden i behandlingen med 24 pg/l lägre än i de två övriga behandlingarna ( $p < 0,0001$ ). Däremot var det ingen skillnad i överlevnaden mellan 12 pg/l och 6 pg/l och heller ingen skillnad mellan de två kontrollgrupperna. Samtliga larver överlevde i två kontrollgrupperna (en kontroll med aceton och en utan aceton). Överlevnaden i behandlingen med 300 pg/l, vilket motsvarar MPC, var 0%. Överlevnaden var lägre i kontrollgruppen med kontaminerat sediment, 88,8 ± 6,3%, än i kontaminerat vatten utan aceton, 100%, (Bonferroni/Dunn,  $p < 0,0001$ ).

Utvecklingshastigheten, dag<sup>-1</sup>, bland behandlingarna i de båda försöken minskade med ökande deltametrinkoncentration. Den lägsta utvecklingshastigheten, 0,039 ± 0,026 dag<sup>-1</sup>, fanns i behandlingen med 24 pg/l och den högsta utvecklingshastigheten, 0,062 ± 0,004 dag<sup>-1</sup>, uppmättes vid 12 pg/l. En av koncentrationerna i försöket med kontaminerat vatten avviker dock, nämligen 24 pg/l, där både överlevnaden och utvecklingshastigheten är den lägsta av alla undersökta koncentrationerna där adulta larver utvecklades. I behandlingen 24 pg/l var det mycket stor variation (± 0,026) beroende på att adulta fjädermyggor endast kläcktes i tre av fyra replikat i denna behandling. Det var ingen skillnad ( $p > 0,05$  ANOVA,  $F_{3,12}=0,537$ ) i utvecklingshastighet mellan kontrollen och de tre behandlingarna där adulta larver utvecklades i försök med kontaminerat sediment (figur 3 a-b).

Det var ingen skillnad i utvecklingshastighet mellan någon av behandlingarna upp till 24 pg/l och kontrollgrupperna i försöket med kontaminerat vatten ( $p > 0,05$  ANOVA,  $F_{4,15}=1,646$ ). Den högsta utvecklingshastigheten fanns i acetonkontrollerna i försök med kontaminerat vatten, 0,062 ± 0,008 dag<sup>-1</sup>. Skillnaden i utvecklingshastigheten mellan alla



Figur 4.  $LC_{50}$  beräknad enligt Abbott, i försök med kontaminerat sediment enligt guideline 218. Data för beräkning av  $LC_{50}$  är korrigerade för den faktiskt återfunna deltametrinkoncentrationen från de högsta koncentrationen.  $R^2 = 0,9098$ ,  $y = 0,5406\ln(x) + 3,3199$

behandlingarna, förutom 24  $\mu\text{g/l}$ , var liten i försöket med kontaminerat vatten, där inga skillnader ( $p > 0,05$  ANOVA,  $F_{1,6}=3,453$ ) uppvisades mellan kontrollgrupperna i de två försöken.

Deltametrinkoncentrationen i det kontaminerade sedimentet i behandlingen 260  $\mu\text{g/kg}$  var vid starten av försöket var 300  $\mu\text{g/kg}$  torrt sediment. Detta ger en utvinningsgrad på 115% (uppmätt mängd/tillsatt mängd). Koncentrationen av deltametrin var ej detekterbart i vattenfasen då detektionsgränsen är 0,03  $\mu\text{g/l}$ .

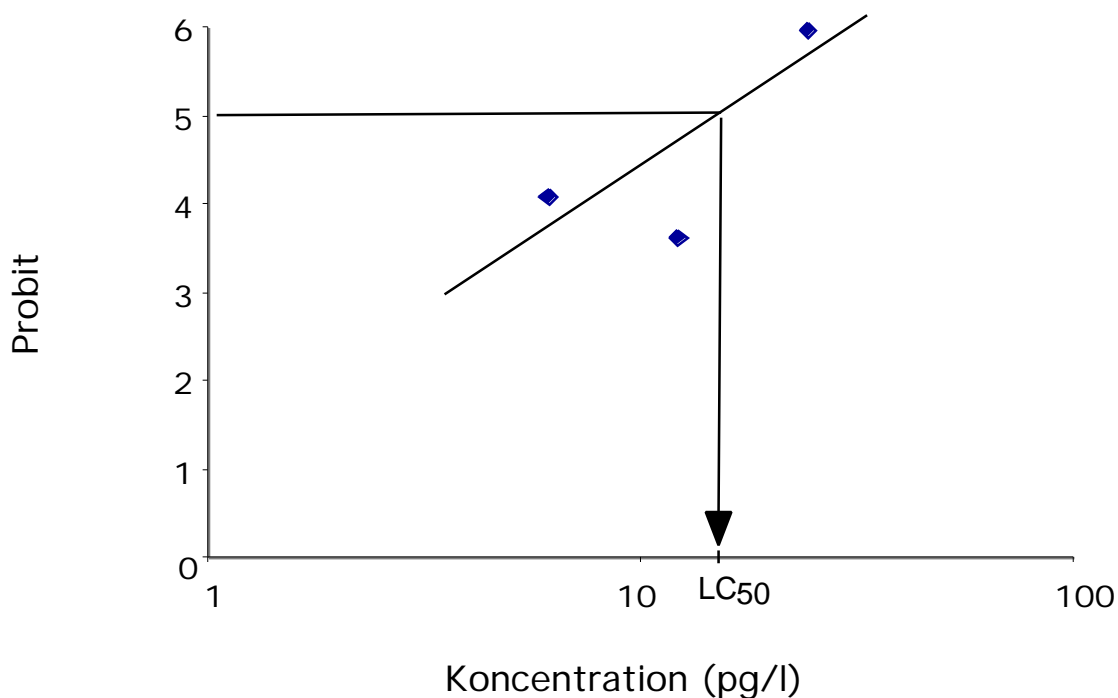
$LC_{50 \text{ sediment (28 d)}}$  beräknat på den uppmätta koncentrationen av deltametrin i försök med kontaminerat sediment, var 25,8  $\mu\text{g/kg}$  torrt sediment, (figur 4). Även LOEC- och NOEC-värdena utgår från denna omräkning av koncentrationerna. Koncentrationerna från försök med kontaminerat vatten har inte omfattats av denna omräkning, då ingen analys utfördes av deltametrinkoncentrationen i detta försök. I försöket med kontaminerat vatten, beräknades  $LC_{50 \text{ vatten (28 d)}}$  till 14,5  $\text{pg/l}$  vatten,

(figur 5).  $LOEC_{\text{sediment (28 d)}}$  bestämdes till 18,7  $\mu\text{g/kg}$  torrt sediment och  $LOEC_{\text{vatten (28 d)}}$  till 24  $\text{pg/l}$ .  $NOEC_{\text{sediment (28 d)}}$  bestämdes till 1,5  $\mu\text{g/kg}$  torrt sediment och  $NOEC_{\text{vatten (28 d)}}$  till 12  $\text{pg/l}$  vatten.

Kriterierna för validitet av testen uppfylldes, då överlevnaden i kontrollgrupperna översteg 70%, syrgashalten var mellan 6,7–8,4  $\text{mg O}_2/\text{l H}_2\text{O}$ , pH varierade mellan 6,0–7,8 och temperaturen höll sig inom intervallet 19–21°C.

#### 4. DISKUSSION

Resultaten från denna studie tyder på att MPC-värdena för deltametrin enligt Crommentuijn m fl (2000) är för höga. MPC beräknas av utifrån det lägsta  $L(E)C_{50}$ , för den känsligaste organismen, som för deltametrin var *Daphnia magna*. Detta  $L(E)C_{50 \text{ vatten}}$  på 0,03  $\mu\text{g/l}$  dividerades med en säkerhetsfaktor 100, vilket ger  $MPC_{\text{vatten}}$  300  $\text{pg/l}$ . För att beräkna  $MPC_{\text{sediment}}$ , används formeln  $MPC_{\text{sediment}} = MPC_{\text{vatten}} \times K_{p\text{jord}}$ .  $K_{p\text{jord}}$  ( $1/\text{kg}$ ) är fördelningskoefficienten för en standardjord



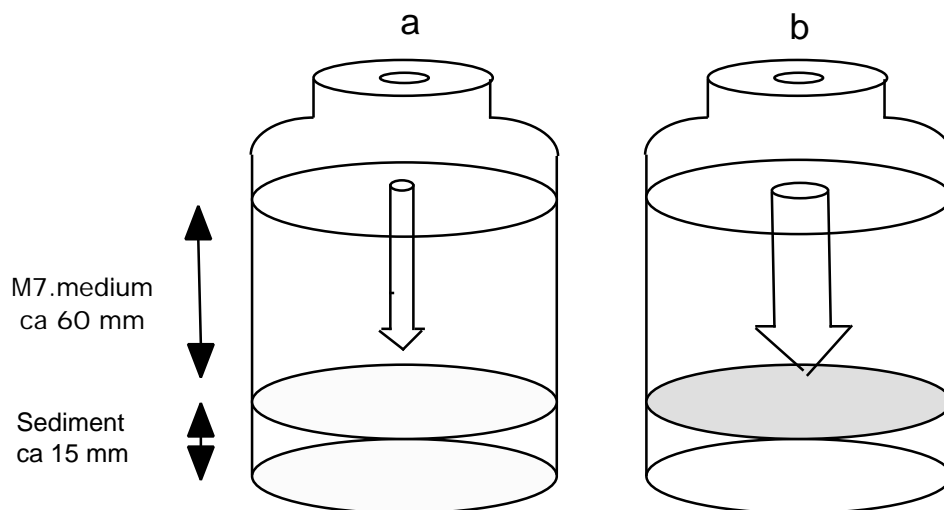
Figur 5.  $LC_{50}$  beräknad enligt Abbott, i försök med kontaminerat vatten enligt guideline 219.  $R^2 = 0,5714$ ,  $y = 1,3561\ln(x) + 1,2101$

som innehåller 10 % organiskt material och 25% lera och är 4 359 l/kg för deltametrin (Crommentuijn m fl, 2000).  $LC_{50}$  i min studie med kontaminerat vatten var 14,5 pg/l, vilket ger ett  $MPC_{\text{vatten}}$  på 0,145 pg/l och ett  $MPC_{\text{sediment}}$  på 0,63 ng/kg. Används däremot det  $LC_{50}$  som bestämts till 25,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  från försöket med kontaminerat sediment erhålls ett MPC för deltametrin i sediment på 260 ng/kg. Detta värde är en femtedel lägre än det som anges av Crommentuijn m fl (2000) men mer än 400 gånger högre än  $MPC_{\text{sediment}}$  som beräknats från kontaminerat vatten. Detta visar på en stor skillnad mellan MPC-värdet för sediment, beroende på vilket  $LC_{50}$  som används. I de båda fallen ovan är dock de av mig beräknade  $MPC_{\text{sediment}}$  betydligt lägre än det som anges av Crommentuijn m fl (2000). Vid användandet av MPC-värden för sediment bör därmed stor vikt läggas på att betona från vilket försök de resultat som används för att beräkna  $MPC_{\text{sediment}}$  kommer.

I försöket med kontaminerat vatten dog alla larverna vid 300 pg/l, den koncentration som enligt Crommentuijn m fl (2000) är  $MPC_{\text{vatten}}$ .

Detta resultat stämmer överens med Davies m fl, (1999) som visade att upptaget av ett ämne är linjärt beroende på koncentrationen av ämnet i vattnet och att fjädermygglarver har ett större intag av ämnet då vattnet är kontaminerat än om sedimentet är kontaminerat.

Överlevnaden i kontrollerna var lägre i försöket med kontaminerat sediment ( $88,8 \pm 6,3\%$ ) än i det med kontaminerat vatten (100%). Den högre överlevnaden i försöket med kontaminerat vatten kan vara en följd av att flaskorna stod med M7-medium en längre tidsperiod innan larverna tillsattes. I försöket med kontaminerat sediment var jämnviktsperioden innan larverna tillsattes 10 dagar, medan det i försöket med kontaminerat vatten var 28 dagar. Denna längre tidsperiod berodde på svårigheter att få ett stort antal äggsnören från fjädermyggekulturen och därmed få tillräckligt många larver för att kunna starta försöket med kontaminerat vatten. Den längre tidsperioden kan ha bidragit till en ökad etablering av sedimentmikrober på och i sedimentet och därmed skapa bättre



Figur 6. Skillnaden mellan fördelning av deltametrin i sediment, beroende på i vilken fas pesticiden har tillsatts, i kontaminerat sediment (a) och i kontaminerat vatten (b). Pilarna visar påverkan av kontaminerade matpartiklar i de olika försöken.

levnadsvillkor för testorganismen (Still m fl, 2000). Vidare stabiliserades flera parametrar såsom pH och redoxpotentialen i sedimentet. Detta ger möjlighet till en ökande nedbrytning av organiskt material som är en fundamental process i ekologiska system. Enligt Verrhiest m fl (2002) bör en period för jämvikt och stabilisering av artificiella sediment vara minst 10 dagar, vilket var fallet i mina försök.

Med ökande deltametrinkoncentration minskade larvernas överlevnad i de båda försöken. I en studie av Fleming m fl (1998) gav permetrin minskad överlevnad med ökande koncentrationer i artificiellt sediment. Dock användes i Flemings studie mycket höga koncentrationer av permetrin för att någon mer ingående jämförelse ska kunna göras. Även Conrad m fl (1999) fann högre överlevnad i kontaminerat sediment än i kontaminerat vatten, samt en minskad populationstäthet av fjädermygglarver i en naturlig damm. Utifrån  $LC_{50}$  sediment (10 d) från Conrads studie bestäms MPC till 21,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , betydligt mer än det MPC på 0,87  $\mu\text{g}/\text{kg}$  som anges enligt Crommentuijn m fl (2000). Att permetrin, och troligtvis också deltametrin, har en hög akut toxisk effekt på fjädermygglarver, ligger i bekämpningsmedlets inneboende egenskaper. Den ska snabbt slå ut oönskade organismer för att därefter snabbt brytas ner. Därför ger ett test där bekämpningsmedlet tillförs till vatten (e g

guideline 219) en indikation på dess akut toxiska effekter liknande den som sker vid eventuell besprutning inom t ex jordbruket. Sedimenttestet å andra sidan är tänkt för att bestämma pesticidens kroniska effekter som en pesticid kan ge då den är persistent och har ackumulerats i sedimentet (Conrad m fl, 1999). Val av guideline beror då på vilken av effekterna det är som ska undersökas men guidelinen saknar tydliga kriterier för vilken av de två som ska användas för olika substanser. Skillnaden i deltametrinets biotillgänglighet mellan de två försöken är främst beroende på metoden vid tillsatts av bekämpningsmedlet. I försök med kontaminerat sediment binder deltametrin till humusämnen medan det i försök med kontaminerat vatten binder till de samtidigt tillförda matpartiklarna. Larverna äter av matpartiklarna och får därmed en högre exponering av bekämpningsmedlet än i försöket med kontaminerat sediment.

Biotillgängligheten av en testsubstans är beroende på substansens bindning till sedimentet, sedimentets organiska halt, partikelstorlek, pH m m (Davies m fl, 1999). Dessutom är biotillgängligheten, förutom substansens koncentration, beroende av vattnets syrgashalt och temperatur, samt habitat och födan för organismen (Harkey m fl, 1994). Den högre toxiciteten hos deltametrin i försöket med kontaminerat vatten, kan bero på

att larverna utsattes för en högre dos då deltametrin inte i någon större mån är vattenlösligt utan binder till organiska partiklar i det översta sedimentskiktet (torv). Detta leder sannolikt till en ökad porvattenkoncentrationen i ytsedimentet och en anrikning av deltametrin (figur 6a) vilket leder till en högre exponering för larverna än i försöket med kontaminerat sediment där testsubstansen är homogent fördelat i sedimentet (figur 6b). I upplägget med kontaminerat vatten får larverna sannolikt ett ökat intag och den toxiska effekten kan vara större under de första dagarna innan jämvikt har uppnåtts. I upplägget med kontaminerat sediment får larverna troligtvis en lägre exponering då testsubstansen är mer homogent fördelad i sedimentet och starkt bundet till torvpartiklarna (10 dagars jämnviktsperiod). Organiska substansers starka bindningen till humusämnen har påvisats i tidigare arbeten av bl a Kukkonen (1996).

Resultaten visar att deltametrin är mer toxiskt då det tillförs till vatten än till sediment, trots att testkoncentrationerna var mycket högre i försöket med kontaminerat sediment. Detta kan bero på att koncentrationen i porvatten ökar då larverna exponeras av kontaminerat vatten jämfört med om sedimentet är kontaminerat (Conrad m fl, 1999). Jämvikten mellan koncentrationen av bekämpningsmedlet i ovanliggande vatten, porvatten och sediment uppnås efter en tid, men innan detta har skett är koncentrationen högre i de två vattenfaserna än i sedimentet (Wästlund, 1999). I försöket med kontaminerat sediment har jämvikt uppnåtts i och med att larverna har tillförts till försöksflaskorna efter 10 dagar sedan M7-mediumet fyllts på vilket gör att jämvikt troligtvis har uppnåtts. I försöket med kontaminerat vatten har inte jämvikt uppnåtts då larverna tillsattes dagen efter deltametrin-tillsatsen. I en studie med permetrin fann Conrad m fl (1999) att permetrin binder till partiklar suspenderade i vattnet, till vattenväxter och till det översta sedimentskiktet. Detta beror bl a på permetrins  $\log K_{ow}$ - värde på 6,5 (Kemikalieinspektionen, 2001b), vilket medför relativt stark bindning till sedimentet. Resultat från Conrad's arbete kan endast jämföras i viss mån med mina resultat, då Conrad's försök utfördes under kortare tidsperiod (24 timmar-10 dagar).  $LC_{50}$  sediment (10 d) är för permetrin 2,1 mg/kg sediment och  $LC_{50}$  vatten (96 h) 2,89 µg/l vatten (Conrad m

fl, 1999). Det finns ett positivt samband mellan  $\log K_{ow}$ -värdet och kroppsbelastningen av en substans hos vattenlevande organismer, med ett optimum vid  $\log K_{ow}$  6 (Reynoldson, 1987). Deltametrin och permetrin avviker från detta optimum med 0,6 respektive 0,5 vilket innebär att deltametrin troligen har samma biotillgängligt som permetrin.

Den högre organiska halten (4,1 respektive 4,8%) i sedimenten än vad guidelinen rekommenderar (1,5–2,5%) (OECD, 2001 a-b) har sannolikt inte påverkat resultaten i mina försök. Det finns ingen koppling mellan organisk kolhalt och mätvariablerna tillväxt och överlevnad, men däremot verkar partikelstorleken i sedimentet ha betydelse för larvernas tillväxt (Lacey m fl, 1999). Vidare speglar inte den organiska kolhalten sedimentets näringsinnehåll utan förhållandet kol/kväve är viktigare. Detta p g a att en låg kol/kväve-kvot (C/N) innebär ett högre näringsinnehåll och vice versa (Ristola m fl, 1999). Wästlund (1999) har i sitt arbete beräknat C/N-kvoter för artificiellt sediment och TetraPhyll® till 49 respektive 5,7. Torv har ett lågt näringsvärde och är en sämre kolkälla än andra på marknaden förekommande substrat som t ex -cellulosa (Lacey m fl, 1999). I tidigare försök har visat sig att olika substrat ger skilda kläckningsfrekvenser. T ex erhålls en högre kläckningsfrekvens i sediment som innehåller torv än i sediment med motsvarande mängd -cellulosa (Fleming m fl, 1998). *Chironomus riparius* har dock en hög kläckningsfrekvens i de flesta typer av sediment. Larverna överlever i många olika substrat, om den organiska kolhalten i substratet överstiger 0,91% (Fleming m fl, 1998). Tillsatsen av TetraPhyll som föda för larverna i mina försök är dock mycket viktig. I ett artificiellt sediment är denna mattillsats den huvudsakliga födan för larverna och av stor betydelse för larvernas överlevnad, tillväxt och kläckning (Ristola m fl, 1999).

Larvernas utveckling var i viss mån könsspecifik. I försöken observerades att hanarna utvecklades en till två dagar snabbare än honorna, vilket är naturligt då hanarna generellt är mindre (EC, 1997). Ingen skillnad fanns i antalet utvecklade adulta fjädermyggor. Könsfördelningen var jämn mellan hannar (53% ) och honor (47%) i de båda försöken (Bonferroni/Dunn,  $p > 0,05$ ).

I mina försök har jag bestämt LOEC/NOEC för vatten respektive sediment utifrån de undersökta koncentrationerna och är i mina försök endast relevanta för att åskådliggöra hur viktig faktorn mellan koncentrationerna är. LOEC- och NOEC-värden kan i vissa fall ge högre värden än  $LC_{50}$ . I försöket med kontaminerat sediment är LOEC (18,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) mycket nära det från mina resultat beräknade  $LC_{50 \text{ sediment (28 d)}}$  på 25,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . I försöket med kontaminerat vatten är LOEC (24  $\text{pg}/\text{l}$ ) högre än det från mina resultat beräknade  $LC_{50 \text{ vatten (28 d)}}$  på 14,5  $\text{pg}/\text{l}$ . Även  $NOEC_{\text{vatten (28 d)}}$  (12  $\text{pg}/\text{l}$ ), ligger nära det från mina resultat beräknade  $LC_{50}$  för kontaminerat vatten. Detta är en följd av att faktorn två mellan koncentrationerna inte tillämpades fullt ut. Med endast tre värden i en probitanalys i varje försök ger det en regressionslinje som inte är exakt utan en grovt anpassad linje. Vid planeringen av ett experiment är det viktigt att detta problem beaktas och att antalet koncentrationer utökas för att täcka in de kritiska koncentrationerna.

Utvinningsgraden av deltametrin i försök med kontaminerat sediment var 115%, (uppmätt mängd/tillsatt mängd) har observerats i tidigare arbeten med permetrin och phenanthrene (Fleming m fl, 1998; Landrum m fl, 1992). I sediment är nedbrytningen av deltametrin under 30 dygn näst intill obefintlig (Kemikalieinspektionen, 2001a) och den angivna halveringstiden på 11-72 dagar avser syrerik miljö och/eller grovkorniga jordar med låg halt organiskt material. Den uppmätta mängden deltametrin är troligtvis även den tillsatta mängden i försöket med kontaminerat sediment.

Med de resultat som detta arbete gav kan det konstateras att ytterligare undersökningar behövs. Deltametrin verkar vara mer toxiskt för *Chironomus riparius* i vattenfas än då det är bundet till sedimentet. Detta kan dels bero på en ökad exponering för substansen, dels på larvernans känslighet under det första larvstadiet. Detta gör att valet av guideline beror på substansens egenskaper, akut eller kronisk exponering m m. Det största problemet i mitt arbete var att finna de kritiska koncentrationerna i de två försöken. Fler koncentrationer i varje försök hade varit önskvärt för att få mer relevanta  $LC_{50}$ -, LOEC- och NOEC-värden för deltametrin. De kritiska koncentrationerna som ger ett mer relevant LOEC och NOEC bör därmed utredas mer noggrant och ingående. MPC-värderna som Crommentuijn m fl (2000) har beräknats för flera ämnen och pesticider, är endast en uppskattning då det saknas toxikologiska data för att ge mer relevanta och exakta värden. De värden för MPC som detta arbete gav, är en påminnelse om att listan behöver revideras och mer data behövs för att erhålla de "rätta" kritiska värdena.

## 5 ERKÄNNANDE

Jag vill rikta ett stort tack till personalen på Institutionen för Miljöanalys för ett trevligt och positivt bemötande. Ett speciellt tack till handledarna Willem Goedkoop och Nina Åkerblom för god handledning, konstruktiv kritik och ett stort tålamod under arbetets gång.



## 6 REFERENSER

- Abbott W.S.** 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:265-267.
- Berg M. B.** 1995. Larval food and feeding behaviour. Kapitel 7:136-168. *The Chironomidae. Biology and ecology of non-biting midges.* Chapman & Hall. Redaktörer: Armitage P.D., Cranston P.S., Pinder L.C.V. 1995.
- Bilén.** 2001. Bekämpningsmedelsrester i yt- och grundvatten i Vänerens avrinningsområde – förekomster och möjliga effekter på natur och människor. Examensarbete, Institutionen för Miljöanalys. Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU Uppsala. Rapport 2001:19.
- Conrad A.U, Fleming R.J, Crane M.** 1999. Laboratory and field response of *Chironomus riparius* to a pyrethroid insecticide. *Water Research* 33:1603-1610
- Crommentuijn T, Kalf D.F, Polder M.D, Posthumus R, van de Plassche E.J.** 1997. Maximum permissible concentrations and negligible concentrations for pesticides. RIVM report no. 601 501 002.
- Crommentuijn T, Sijm D, de Bruijn J, van Leeuwen K, van de Plassche E.** 2000. Maximum permissible and negligible concentrations for some organic substances and pesticides. *Journal of Environmental Management* 58:297-312.
- Davies N.A, Edwards P.A, Lawrence M.A.M, Simkiss K, Taylor M.G.** 1999. Biocide testing using particles with controlled surface properties (artificial sediments). *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:2337-2342.
- EC (Environment Canada).** 1997. Biological test method: Test for survival and growth in sediment using the larvae of freshwater midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*). EPS 1/RM/32
- Ecobichon D.J.** 1996. Toxic effects of pesticides. Kapitel 22:667-668. Casarett & Doull's toxicology, the basic science of poisons. Redaktör: Klaassen C. D., McGraw-Hill., femte upplagan.
- EPA.** 1996. Ecological effects test vägledning: OPPTS 850. 1790. Chironomid sediment toxicity test.
- Fleming R.J, Holmes D, Nixon S.J.** 1998. Toxicity of permethrin to *Chironomus riparius* in artificial and natural sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17:1332-1337.
- Girling A.E, Pascoe D, Janssen C.R, Peither A, Wenzel A, Schäfer H, Neumeir B, Mitchell G.C, Taylor E.J, Maund S.J, Lay J.P, Crossland N.O, Stephenson R.R, Persoone G.** 2000. Development of methods for evaluating toxicity to freshwater ecosystem. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 45:148-176.
- Harkey G.A, Landrum P.F, Klaine S.J.** 1994. Comparison of whole-sediment, elutriate and pore-water exposure for use in assessing sediment-associated organic contaminants in bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13:1315-1329.
- Hessel K, Kreuger J, Ulén B.** 1997. Kartläggning av bekämpningsmedelsrester i yt-, grund- och regnvatten i Sverige 1985-1995. *Ekohydrologi* 42.
- Kemble N.E, Dwyer F.J, Ingersoll C.G, Dawson T.M, Norberg-King T.J.** 1999. Tolerance of freshwater test organism to formulated sediments for use as control materials in whole-sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:222-230.
- Kemikalieinspektionen.,** September 2001a. Ämnesblad deltametrin. KEMI informerar. 1997. Ämnesblad deltametrin. <http://www.kemi.se/-bkmregoff/amnesblad.cfm>
- Kemikalieinspektionen.,** September 2001b. Ämnesblad permetrin. KEMI informerar. 1997. Ämnesblad permetrin. <http://www.kemi.se/-bkmregoff/amnesblad.cfm>
- Kemikalieinspektionen.,** September 2001c. Bekämpningsmedel 2000. <http://www.kemi.se/publikationer/pdf/stat-00.pdf>
- Kreuger J.,** 2001. Bekämpningsmedel i vattenkunnslägen. Kungl. Skogs- och Lantbruksakademiens Tidsskrift. 140, nr 40.
- Kukkonen J, Landrum P.F.** 1996. Distribution of organic carbon and organic xenobiotics among different particle-size fractions in sediments. *Chemosphere* 32:1063-1076.
- Lacey R, Watzin M.C, McIntosh A.W.** 1999. Sediment organic matter content as a confounding factor in toxicity tests with *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:231-236.
- Landrum P.F, Eadie B.J, Faust W.R.** 1992. Variation in the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons to the amphipod *Diporeia* (spp.) with sediment aging. *Environmental Toxicology and Chemistry* 11:1197-1208.
- Leppänen M.** 1995. The role of feeding behavior in bioaccumulation of organic chemicals in benthic organisms. *Ann. Zool. Fennici* 32:247-255.
- Naylor C, Rodrigues C.** 1995. Development of a test method for *Chironomus riparius* using a formulated sediment. *Chemosphere* 31:3291-3303.
- OECD guidelines for testing of chemicals.** 2001(a). Proposal for new guideline 218. Sediment-water chironomid toxicity test using spiked sediment.
- OECD guidelines for testing of chemicals.** 2001 (b). Proposal for new guideline 219. Sediment-water chironomid toxicity test using spiked water.

- Reynoldson T.B.** 1987. Interactions between sediment contaminants and benthic organisms. *Hydrobiologia* 149:53-66
- Ristola T, Pellinen J, Ruokolainen M, Kostamo A, Kukkonen J.V.K.** 1999. Effect of sediment type, feeding level, and larval density on growth and development of a midge (*Chironomus riparius*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:756-764
- SCB,** 2000. Bekämpningsmedel i jordbruket 1999. Beräknade antal doser. Statistiska meddelanden MI 31 SM 0001, 13 sidor. Stockholm.
- SLU., Institutionen för Miljöanalys, Sektionen för Organisk Miljökemi.** 2001. Metodbeskrivning: Bestämning av opolära och semipolära pesticider i sediment och jord. Nr. OMK 54:1 (opublicerad)
- Streloke M, Köpp H.** 1995. Long-term toxicity test with *Chironomus riparius*: Development and validation of a new test system. *Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik*. Volym 1995, häfte 315.
- Still I, Rabke S, Candler J.** 2000. Development of a standardized reference sediment to improve the usefulness of marine benthic toxicity testing as a regulatory tool. *Environ Toxicol* 15:406-416.
- Suedel B.C, Rodger J.H.Jr.** 1994. Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine testing. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13:1163-1175.
- Verrhiest G.J, Cortes S, Clément B, Montuelle B.** 2002. Chemical and bacterial changes during laboratory conditioning of formulated and natural sediments. *Chemosphere* 46:961-974
- Wästlund D.** 1999. The role of sediment characteristics and food regimen in a toxicity test with *Chironomus riparius*. Examensarbete, Institutionen för Miljöanalys. Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU Uppsala, Rapport 1999:3.

## Bilagor

### Bilaga 1. Standardlösningar

Tabell 1. Standardlösningar av spårämnen för M7-medium. (OECD Guideline 218 och 219)

Stock I	Mängd (mg) av stock I, blandat med avjonat vatten till en volym av 1 liter	ml av stock I, blandat med avjonat vatten till en volym av 1 liter	Slutgiltig koncentration i testlösning (mg/l)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	57190	0,25	0,715
MnCl <sub>2</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	7210	0,25	0,090
LiCl	6120	0,25	0,077
RbCl	1420	0,25	0,018
SrCl <sub>2</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	3040	0,25	0,038
NaBr	320	0,25	0,004
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> , 2 H <sub>2</sub> O	1260	0,25	0,016
CuCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O	335	0,25	0,004
ZnCl <sub>2</sub>	260	1,0	0,013
CoCl <sub>2</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	200	1,0	0,010
KI	65	1,0	0,0033
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	43,8	1,0	0,0022
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	11,5	1,0	0,00058
Na <sub>2</sub> EDTA, 2 H <sub>2</sub> O	5000	2,5	0,625
FeSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	1991	2,5	0,249

## Bilaga 2. Näringsämnen

Tabell 1. Näringsämnen för M7-medium. (OECD Guideline 218 och 219)

Näringsämne	Mängd (mg) av näringsämnen , blandat med avjonat vatten till en volym av 1 liter	Volym av näringsämne för att bereda M7. (ml/l)	Slutgiltig koncentration i testlösning (mg/l)
CaCl <sub>2</sub> , 2 H <sub>2</sub> O	293800	1,0	293,8
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	246600	0,5	123,3
KCl	58000	0,1	5,8
NaHCO <sub>3</sub>	64800	1,0	64,8
NaSiO <sub>3</sub> , 9 H <sub>2</sub> O	50000	0,2	10,0
NaNO <sub>3</sub>	2740	0,1	0,274
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1430	0,1	0,143
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1840	0,1	0,184

## Bilaga 3. Vitaminstamlösning

Tabell 1. Vitaminstock för att bereda M7-medium

Vitamin	Mängd (mg) av vitamin , blandat med avjonat vatten till en volym av 1 liter	Volym av vitaminlösning för att bereda M7. (ml/l)	Slutgiltig koncentration i testlösning (mg/l)
Thiamine hydrochloride	750	0,1	0,075
Cyanocobalamin (B12)	10	0,1	0,0010
Biotine	7,5	0,1	0,00075

## Bilaga 4. Kemisk analys av M7-mediet

Tabell 1. Kemisk analys av M7-medium efter försökens avslutande med standardavvikelser (SD).

Testparameter	Försök med kontaminerat sediment	Försök med kontaminerat vatten
Alkalinitet (mg/l)	0,51 (0,023)	0,73 (0,39)
Ammonium-kväve (µg/l)	30,50 (6,44)	98,88 (101,73)
Hårdhet (mg/l)	84,06 (0,77)	151,78 (14,28)
Konduktivitet (mS/m)	68,51 (2,28)	96,46 (1,41)
pH	6,88 (0,20)	7,64 (0,09)
Syrgashalt (mg O <sub>2</sub> /l H <sub>2</sub> O)	8,06 (0,29)	8,14 (0,52)