



FORBEDRING AF VIDENSGRUNDLAGET FOR MILJØ- RISIKOVURDERING FOR ANVENDELSE OG UDLEDNING AF OFFSHORE-KEMIKALIER I ARKTISKE HAVOMRÅDER

Teknisk rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 134

2019



AARHUS
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

[Tom side]

FORBEDRING AF VIDENSGRUNDLAGET FOR MILJØ- RISIKOVURDERING FOR ANVENDELSE OG UDLEDNING AF OFFSHORE-KEMIKALIER I ARKTISKE HAVOMRÅDER

Teknisk rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 134

2019

Kim Gustavson¹
Mette Dalgaard Agersted¹
Eva Friis Møller¹
Nora Badawi²
Jens Aamand²

¹ Aarhus Universitet, Institut for Bioscience

² De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland (GEUS)



AARHUS
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Datablad

Serietitel og nummer:	Teknisk rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 134
Titel:	Forbedring af vidensgrundlaget for miljørisikovurdering for anvendelse og udledning af offshore-kemikalier i arktiske havområder
Forfattere:	Kim Gustavson ¹ , Mette Dalgaard Agersted ¹ , Eva Friis Møller ¹ , Nora Badawi ² & Jens Aamand ²
Institutioner:	¹ Aarhus Universitet, Institut for Bioscience & ² De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland (GEUS)
Udgiver:	Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi ©
URL:	http://dce.au.dk
Udgivelsesår:	Januar 2019
Redaktion afsluttet:	December 2018
Faglig kommentering:	Susse Wegeberg
Kvalitetssikring, DCE:	Vibeke Vestergaard Nielsen
Sproglig kvalitetssikring:	Charlotte Hviid
Finansiel støtte:	Projektet er støttet med midler fra DANCEA/Miljøstyrelsen i Danmark og Miljøstyrelsen for Råstofområdet i Grønland (EAMRA).
Bedes citeret:	Gustavson, K., Agersted, M.D., Møller, E.F., Badawi, N. & Aamand, J. 2019. Forbedring af vidensgrundlaget for miljørisikovurdering for anvendelse og udledning af offshore-kemikalier i arktiske havområder. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 38 s. - Teknisk rapport nr. 134. http://dce2.au.dk/pub/TR134.pdf
	Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse
Sammenfatning:	I forbindelse med efterforskning og udvinding af olie og gas anvendes en lang række kemikalier som ved udledning kan belaste havmiljøet. Projektets mål er at udbygge vidensgrundlaget i forhold til miljørisikovurdering af kemikalier i forhold til anvendelse og udledning i arktiske havområder. Målgruppen for projektet er miljømyndigheder, arbejdsgrupper under OSPAR og Arktisk Råd. I projektet er bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet af udvalgte modelstoffer undersøgt ved arktiske forhold og på arktiske organismer. I rapport er angivet resultater og anbefalinger. Målgruppen for projektet er miljømyndigheder, arbejdsgrupper under OSPAR og Arktisk Råd
Emneord:	Miljørisikovurdering, Offshore-kemikalier, Arktiske havområder, Datagrundlag
Layout:	Grafisk Værksted, AU Silkeborg
Foto forside:	Kim Gustavson
ISBN:	978-87-7156-376-4
ISSN (elektronisk):	2244-999X
Sideantal:	38
Internetversion:	Rapporten er tilgængelig i elektronisk format (pdf) som http://dce2.au.dk/pub/TR134.pdf

Indhold

Resume	5
1. Baggrund og formål for projektet	8
2. Projektets aktiviteter	11
2.1 Fase 1	11
2.2 Fase 2	11
2.3 Fase 3	12
3. Udvalgelse af modelstoffer	13
4. Bionedbrydelighed af modelstoffer	14
4.1 Materialer og metoder	14
4.2 Resultater	16
4.3 Diskussion	20
4.4 Opsamling	24
5. Bioakkumulering af modelstoffer i <i>Calanus hyperboreus</i> - en højarktiske model- organisme	25
5.1 Baggrund	25
5.2 Materialer og metoder	26
5.3 Resultater	26
5.4 Diskussion	28
5.5 Opsamling	29
6. Toksicitet af modelstoffer på <i>Calanus hyperboreus</i> og <i>Calanus finmarchicus</i>	30
6.1 Baggrund	30
6.2 Materialer og metoder	31
6.3 Resultater	32
6.4 Diskussion	33
6.5 Opsamling	33
7. Sammenfatning og anbefalinger	34
8. Referencer	36

[Tom side]

Resume

Øgede efterforsknings- og udvindingsaktiviteter af olie og gas i arktiske områder vil øge udledningen af kemikalier i arktiske havområder. Kemikalier, der anvendes ved efterforsknings- og udvindingsaktiviteter af olie og gas, har mange forskellige formål: Smøring, beskyttelse mod korrosion, cementering af brønde, til at fjerne belægninger i rørene, til at adskille vand og olie osv. Størsteparten af kemikalier bruges i forbindelse med efterforskningsboringer efter olie og gas. Resten bruges i forbindelse med produktionen de steder, hvor der er fundet olie eller gas. I 2009 blev der i alt i den danske del af Nord-søen brugt ca. 74.000 tons offshore-kemikalier. Af disse blev der i 2009 udledt ca. 30.000 tons til havet.

Miljøet og biologien i arktiske havområder er unikke og bl.a. kendetegnet ved lave temperaturer i overfladevandet året rundt, store sæsonmæssige variationer i solindstrålingen, stor udbredelse af havis og et dyre- og planteliv tilpasset et koldt klima og store sæsonvariationer. Kendetegnende for de arktiske organismer er bl.a. langsom metabolisme, vækst og udvikling, et højt indhold af lipid og korte fødekæder. På baggrund af dette anses de arktiske økosystemer generelt for at være særligt sårbart overfor påvirkninger. Der foreligger i dag kun en begrænset viden om nedbrydning, bioakkumulation og toksicitet af kemikalier og olieforbindelser i arktiske økosystemer.

OSPAR-konventionens område omfatter Atlanterhavet og det Arktiske hav fra Gibraltar i syd til Nordpolen, herunder havområdet øst for Grønland. OSPAR-konventionen anvendes i vejledende retningslinjer for råstofaktiviteter også i havområdet vest for Grønland. Under OSPAR-konventionen er der indført fælles regler til beskyttelse af havmiljøet, herunder at alle kemikalier, der anvendes i forbindelse med efterforskning og udvinding af olie og gas, skal registreres inden de tages i brug og vurderes efter hvor stor risiko de udgør for miljøet. I OSPAR-vurderingssystemet indgår, at de mest skadelige kemikalier skal forsøges udskiftet med mindre skadelige.

Myndighederne i de arktiske områder vil i forbindelse med miljøtilladelse af olie og gas efterforsknings- og udvindingsaktiviteter løbende blive konfronteret med problemstillinger omkring miljørisikovurdering af anvendelse og udledning af offshore kemikalier til havmiljøet, herunder hvordan de enkelte kemikalier bør klassificeres i forhold til det arktiske miljø, og om datagrundlaget fra typisk anvendte OECD/ISO standardtest er tilstrækkeligt dækkende og beskyttende for arktiske organismer og økosystemer.

Projektets mål er at udbygge vidensgrundlaget i forhold til miljørisikovurdering af kemikalier i forhold til arktiske havområder, herunder at belyse om der i forhold til OSPAR-vurderingssystemet er behov for supplerende undersøgelser og data om nedbrydning, bioakkumulering og toksicitet af kemikalier ved arktiske forhold og med arktiske organismer.

Projektets overordnede formål er at forbedre vidensgrundlaget i forhold til miljøvurdering og regulering af olie- og gasefterforsknings- og udvindingsaktiviteter i arktiske havområder. Målgruppen for projektet er miljømyndigheder, arbejdsgrupper under OSPAR og Arktisk Råd.

I projektet er bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet af udvalgte modelstoffer undersøgt ved arktiske forhold og på arktiske organismer. I projektet har indgået undersøgelser og eksperimenter udført ved Arktisk station (Københavns Universitet, Disko, Grønland) i 2015, 2016 og 2017, samt undersøgelser og analyser gennemført på GEUS og DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi.

Bionedbrydeligheden af modelstoffer er i projektet dels undersøgt i naturligt havvand fra Disko og Østgrønland jævnfør retningslinjer i OECD guideline 309 - *Simulering af aerob mineralisering af teststoffer under naturlige forhold i overfladevand*, dels i medie med aktivt slam jævnfør retningslinjer i henhold til OECD guideline 301 - *Bestemmelse af let bionedbrydelighed af stoffer med aktivt slam*, som er den typiske standard, der bruges til bestemmelse af bionedbrydelighed.

Der er generelt set usikkerheder forbundet med test af let nedbrydelighed udført ved f.eks. OECD guideline 301. Det er bl.a. fordi slam fra forskellige renselanlæg kan have forskellige nedbrydningspotentialer, samt at de nedbrydningsrater og aktuel bionedbrydelighed, der fremkommer, ikke er sammenlignelige med dem, der forekommer i miljøet. Det anbefales derfor, at der altid udføres simuleringstests med havvand (f.eks. OECD guideline 309) i forbindelse med godkendelse af offshore-kemikalier.

Indholdet af næringsstoffer, herunder indholdet af N og P, er lavt i mange arktiske havområder, og der forekommer årstidsvariationer. Der mangler viden om, hvordan næringsstofbegrænsning kan påvirke nedbrydningen af kemikalier og olieforbindelser specielt i kolde isfyldte arktiske områder. Desuden kan en lav eller fuldstændig mangel på mineralisering også betyde en ufuldstændig omdannelse af teststoffet til et eller flere nedbrydningsprodukter, som kan have andre toksikologiske egenskaber end det oprindeligt tilsatte stof, hvilket øger vigtigheden af at teste under miljøaktuelle forhold som med guideline 309. For at styrke datagrundlaget for miljørisikovurdering i højarktiske havområder anbefales det, at næringsstoffernes betydning for bionedbrydeligheden af kemikalier og oliestoffer ved højarktiske forhold belyses i supplerende studier.

Den højarktiske vandloppe *Calanus hyperboreus* blev i projektet valgt som modelorganisme til at studere bioakkumulering og toksicitet af modelstofferne. *Calanus hyperboreus* er en nøgleorganisme i de højarktiske økosystemer, hvor den er et meget vigtigt fødegrundlag for havfugle, pelagiske fisk og hvaler. *Calanus hyperboreus* har et højt indhold af lipider og repræsenterer det generelt høje indhold af lipid man finder i højarktiske organismer. Lipid sammensætningen hos højarktiske organismer adskiller sig markant fra sammensætning hos tempererede og tropiske organismer.

Studier af bioakkumulering og toksicitet af modelstoffer er gennemført ved Arktisk station på Disko i Vestgrønland i 2016 og 2017. Resultater oparbejdet i projektet indikerer, at bioakkumuleringen af kemikalier kan være markant større i den højarktiske vandloppe *Calanus hyperboreus* end hvad data fra oktanol/vandfordelingskoefficienten og test på dafnier har vist. På denne baggrund anbefales det, at grundlaget for miljørisikovurderingen i højarktiske havområder styrkes med studier, hvor bioakkumulering af kemikalier og oliestoffer undersøges i højarktiske organismer. I forhold til vurdering af bioakkumulering på grundlag af oktanol/vandfordelingskoefficienten hhv. data fra test med tempererede og tropiske organismer mangler der studier, der belyser betydningen af lipidsammensætningen og bioakkumulering i højarktiske organismer.

Resultater af dette projekt indikerer, at akut toksicitet hos de arktiske vandlopper *Calanus hyperboreus* eller *Calanus finmarchicus* ikke er større end hvad, der er fundet i standard laboratorietest med f.eks. *Daphnia*. Kemikalier ophobet i lipiddepoter kan dels føre til en intern belastning af de voksne individer primært i vintermånederne, hvor lipiddepoter mobiliseres, og dels kan kemikalier akkumuleret i lipider overføres til æg og larver.

I et review om effekter af oliespild i arktiske havområder af Camus et al. 2014 angives det, at datasættet for sub-lethale effekter på arktiske arter, herunder vandlopper og fisk, i dag er utilstrækkeligt. Der mangler data til at vurdere om toksicitetsdata for tempererede organismer er repræsentative for polare arter og økosystemer (Camus et al. 2015). Grundet de store fysiologiske forskelle er der stor usikkerhed om, hvorvidt toksicitetsdata for tempererede organismer er repræsentative for arktiske arter i forbindelse med risikovurdering af kemikalie- og olie forurening i arktiske økosystemer.

I forbindelse med miljørisikovurdering af kemikalier og olieforbindelser i arktiske marine økosystemer anbefales det, at der sættes øget fokus på sub-lethale effekter på arktiske vandlopper og fiskelarver samt på at gennemføre studier der undersøger toksiske effekter på vandloppelarver af kemikalier ophobet og overført til æg fra moderpopulationen.

Grundet størrelse er *Calanus hyperboreus* en relativ let art at håndtere og lave analyser på. Grundet dette samt sin store betydning i de arktiske økosystemer, anbefales det, at *Calanus hyperboreus* anvendes som testorganisme, når vidensgrundlaget skal styrkes i forhold til bioakkumulering og toksicitet på arktiske organismer.

Følgegruppe til projektet var:

Mikala Klint og Mikael Malinovsky (Miljøstyrelsen i Danmark)
Najaaraq Demant-Poort og Rasmus Kolind (Miljøstyrelsen for Råstofområdet i Grønland, EAMRA)
Susse Wegeberg (Institut for Bioscience, Aarhus Universitet).

Tak til laborant Anna Marine Plejdrup (Aarhus Universitet) for det store arbejde med håndtering og oparbejdning af de mange prøver på Arktisk Station og Aarhus Universitet Campus Roskilde. Tak til personalet på Arktisk Station for stor hjælp, samt tak til København Universitet for adgangen til laboratorie- og skibsfaciliteter ved Arktisk Station.

1. Baggrund og formål for projektet

Øgede efterforsknings- og udvindingsaktiviteter af olie og gas i arktiske områder vil øge brugen og udledning af offshore kemikalier i boremudder og procesvand til de arktiske havområder. Kemikalier, der anvendes ved efterforsknings- og udvindingsaktiviteter af olie og gas, har mange forskellige formål: Smøring, beskyttelse mod korrosion, cementering af brønde, til at fjerne belægninger i rørene, til at adskille vand og olie osv. Størsteparten af kemikalierne bruges i forbindelse med efterforskningsboringer efter olie og gas.

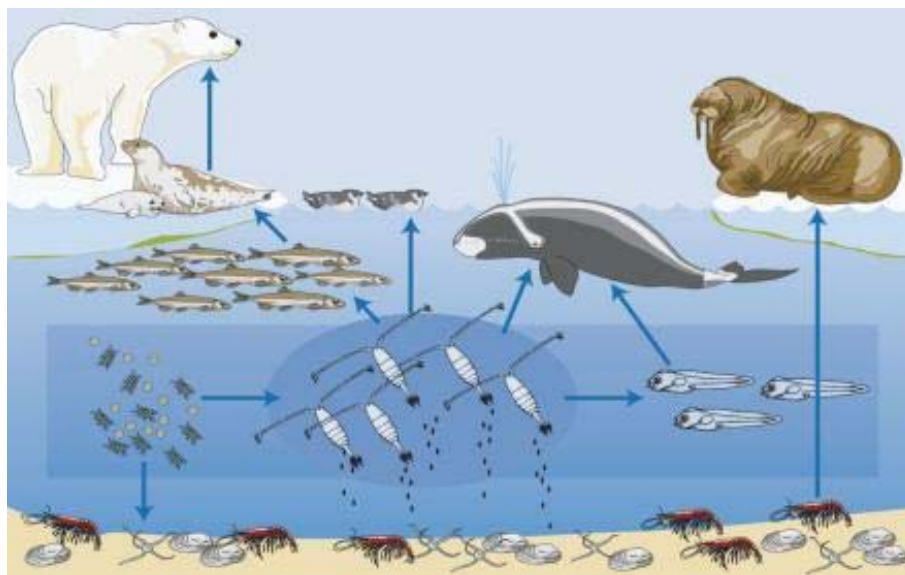
Miljøet og biologien i arktiske havområder er unikke og bl.a. kendetegnet ved lave temperaturer i overfladevandet året rundt, store sæsonmæssige variationer i solindstrålingen, stor udbredelse af havis og et dyre- og planteliv tilpasset et koldt klima samt store sæsonvariationer. Kendetegnende for de arktiske organismer er bl.a. langsom metabolisme, vækst og udvikling, et højt indhold af lipid og korte fødekæder. På baggrund af dette anses de arktiske økosystemer generelt for at være særligt sårbare overfor påvirkninger. Der foreligger i dag kun en begrænset viden om nedbrydning, bioakkumulation og toksicitet af kemikalier og olieforbindelser i arktiske økosystemer.

OSPAR-konventionens område omfatter Atlanterhavet og det Arktiske hav fra Gibraltar i syd til Nordpolen, herunder havområdet øst for Grønland. OSPAR-konventionen anvendes i vejledende retningslinjer for råstofaktiviteter også i havområdet vest for Grønland. Under OSPAR-konventionen er der indført fælles regler til beskyttelse af havmiljøet, herunder at alle kemikalier der anvendes i forbindelse med efterforskning og udvinding af olie og gas skal registreres inden de tages i brug og vurderes efter hvor stor risiko, de udgør for miljøet. I OSPAR-vurderingssystemet indgår, at de mest skadelige kemikalier skal forsøges udskiftet med mindre skadelige.

Miljøriskovurderingen af offshore-kemikalier i OSPAR er i dag baseret på data fra OECD/ISO standardtest og et pre-screeningssystem (OSPAR Recommendation 2017/1). I OSPAR-pre-screeningssystemet vurderes de enkelte kemikaliers egenskaber i forhold til bioakkumulering, bionedbrydelighed og toksicitet. Målet i OSPAR-pre-screeningen er at identificere stoffer/kemikalier, som kan udgøre en miljörisiko, herunder identificere stoffer/kemikalier, der skal substitueres med mere miljøvenlige alternativer og/eller udfases, eller reguleres på anden vis.

Det nuværende OSPAR-klassifikationssystem er udviklet i forbindelse med offshore-aktiviteter i Nordsøen. Grundlaget i klassifikationen af offshore kemikalier i OSPAR er baseret på data fra standardlaboratorietest, hvor bio-nedbrydeligheden undersøges ved optimale forhold for nedbrydning - typisk ved høj temperatur (15-20 °C), og ved høje koncentrationer af næringssalte og bakterier. Toksiciteten af kemikalier undersøges typisk i test med tempererede eller tropiske arter over en periode på 1-4 dage. Sådanne toksicitetstest udføres typisk med mikroalger, dafnier og vandlopper (fx *Daphnia magna* og *Acartia tonsa*) og fisk (f.eks. pighvar, zebrafisk). Bioakkumulerbarhed af kemikalier undersøges på tempererede og tropiske organismer eller i simple udrystningstest, hvor kemikaliet fordelt mellem vand og oktanol bestemmes.

Figur 1. Arktiske økosystemer er kendetegnet af korte fødekæder. Organismer har et unik højt indhold og sammensætning af lipider som tilpasning til de lave temperaturer og store sæsonmæssige variation i tilgængeligheden af føde.



Ud over relevansen af OECD/ISO standardtest i forhold til det arktiske miljø er det et åbent spørgsmål om 1) kriterierne for bionedbrydelighed i OSPAR-vurderingssystemet er tilstrækkelig for beskyttelse af det arktiske havmiljø, hvor det er kendt at nedbrydningen af kemikalier formodentlig er langsom på grund af de generelt lave temperaturer og lave indhold af næringssalte 2) kriterierne for bioakkumulerbarhed er tilstrækkelig i forhold til beskyttelse af arktiske organismer, som i forhold til tempererede arter, har et unik og meget højt indhold af lipid og 3) kriterierne for toksicitet er tilstrækkelig beskyttende for arktiske organismer, som bl.a. er kendetegnet af langsom vækst og langsom udvikling?

Målgruppen for projektet er miljømyndigheder, arbejdsgrupper under OSPAR og Arktisk Råd. Myndighederne i arktiske områder vil i forbindelse med miljøtilladelse af olie og gas efterforsknings- og udvindingsaktiviteter løbende blive konfronteret med problemstillinger omkring miljørisikovurdering af anvendelse og udledning af offshore kemikalier til havmiljøet, herunder hvordan de enkelte kemikalier bør klassificeres i forhold til det arktiske miljø og om datagrundlaget fra typisk anvendte OECD/ISO standardtest er tilstrækkeligt dækkende og beskyttende for arktiske organismer og økosystemer.

Projektets mål er at udbygge vidensgrundlaget i forhold til miljørisikovurdering af kemikalier i forhold til arktiske havområder, herunder at belyse om der i forhold til OSPAR-vurderingssystemet er behov for supplerende undersøgelser og data om nedbrydning, bioakkumulering og toksicitet af kemikalier ved arktiske forhold og med arktiske organismer.

I projektet er bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet af 4 udvalgte modelstoffer undersøgt under arktiske forhold og med arktiske organismer. I projektet har indgået undersøgelser og eksperimenter ved Arktisk station (Disko, Grønland) i 2015 og 2016, samt undersøgelser og analyser gennemført på GEUS og DCE.

OSPAR-vurderingssystemet er i Norge og Danmark udmøntet i et system, hvor kemikalier alt efter deres bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet tildeles en farvekode (Tabel 1). Der anvendes fire farvekoder: grøn, gul, rød og sort. Kun de kemikalier som er klassificeret som "grønne" (PLONOR- Pose Little or No Risk to the Environment) eller "gule" kan forventes godkendt uden videre tiltag. "Sorte" kemikalier er siden starten af 2000 mere eller mindre udfaset.

Tabel 1. Tabellen angiver det norske klassifikationssystem (som stort set er identisk med det danske), hvor kemikalier ud fra stoffets iboende egenskaber i forhold til bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og akut toksicitet (akut giftighed) placeres i farvekategorier (grøn, gul, rød eller sort).

Klassifikation	Farvekategori
<ul style="list-style-type: none"> Vand Kemikaliet er på en af følgende stofflister: OSPAR PLONOR list, REACH Annex IV og/eller REACH Annex V 	Grøn
<ul style="list-style-type: none"> Andre kemikalier 	Gul
<p>2 af 3 kriterier:</p> <ul style="list-style-type: none"> Bionedbrydelighed <60 %, log Pow \geq 3, EC50 eller LC50 \leq 10 mg/l Uorganisk stof med en toksicitet (EC50 eller LC50) \leq 1 mg/l Bionedbrydelighed <20 % 	Rød
<ul style="list-style-type: none"> Kemikaliet er på en af følgende stofflister: OSPAR List of Chemicals for Priority Action (LCPA), OSPAR List of Substances of Possible Concern (LSPC), REACH Annex XIV or XVII Bionedbrydelighed <20 % og log Pow \geq 5 Bionedbrydelighed <20 % og toksicitet (EC50 eller LC50) \leq 10 mg/l 	Sort

OSPAR har besluttet at både sorte og røde kemikalier skal være udfaset inden 2016, og at disse kun kan anvendes i enkelte tilfælde, hvor det kan dokumenteres at samlet miljörisiko reduceres. Norge har i forhold til OSPAR-vurderings-systemet indført supplerende krav til de så kaldte "gule" offshore-kemikalier om undersøgelser til belysning af nedbrydningsprodukters miljøfarlighed. De norske vejledninger indeholder skærpede krav til testningen og klassifikationen af de såkaldte "gule" kemikalier. DCE har i "Forslag til strategi for miljøvurdering og bortskaffelse af boremudder og borekemikalier i forbindelse med olie- og gasaktiviteter i grønlandske farvande" (DCE 2013) anbefalet, at Grønland ligeledes implementerer de norske krav. Norge kræver for "gule" kemikalier en detaljeret vurdering af nedbrydning og nedbrydningsprodukters miljøfarlighed og mærkning i hhv. Y1, Y2, eller Y3 (se Boks 1).

Boks 1. Underinddeling af gule kemikalier i Norge

Y1: The chemical is expected to biodegrade completely.

Y2: The chemical is expected to biodegrade to products which are not environmentally hazardous.
State likely biodegradation endpoint with documented properties

Y3: The chemical is expected to biodegrade to products which may be environmentally hazardous.

In case of insufficient knowledge of the breakdown products, these will need to be categorized as potentially environmental hazardous based on the precaution principal.

Environmentally hazardous is defined by PBT (Persistent, bio-accumulative and toxic substances), CMR (substance which are carcinogenic, mutagenic or toxic to reproduction), vPvB (very persistent and very bio-accumulative substance).

2. Projektets aktiviteter

Projektet har være opdelt i 3 faser:

2.1 Fase 1

- Udarbejdelse af testdesign af studier.
- Udtræk af informationer fra Arbejdstilsynets databasen (Probas) for offshore kemikalier.
- Identifikation/udvælgelse af modelstoffer
- Pilot studie på Arktisk Station/Disko i 2015.
- Følgegruppemøde herunder præsentation af resultater fra Fase 1.
- Evaluering af Pilotstudie 2015.

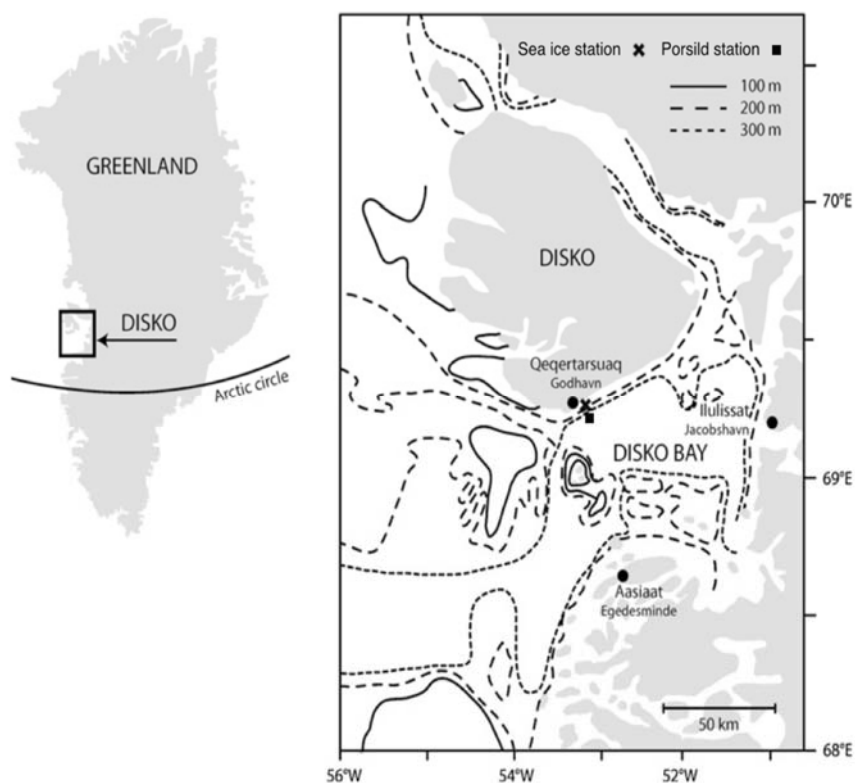
Figur 2. Prøvetagning fra havisen ved Arktisk Station/Disko ved pilotstudie april-maj 2015.



2.2 Fase 2

- Identifikation/udvælgelse af modelstoffer ud fra data fra Arbejdstilsynets database (Probas) for offshore kemikalier.
- Felt- og laboratoriearbejde på/ved Arktisk Station/Disko 2016.
- Indhentning og transport af vand til nedbrydningsstudier på GEUS.
- Indsamling af højarktiske vandlopper (*Calanus hyperboreus*) til bioakkumuleringsstudier og toksicitetsstudier på Arktisk station/Disko 2016.
- Gennemførelse af nedbrydningsstudier ved GEUS 2016 og 2017.
- Gennemførelse af bioakkumulerings- og toksicitetsstudier med *C. hyperboreus* på Arktisk Station/Disko 2016.
- Kemiske og biologiske analyser.

Figur 3. Arktisk Station hvor prøvetagning og studier er gennemført i 2015 og 2016.



2.3 Fase 3

- Fortolkning af resultater.
- Deltagelse i OIC OSPAR-møde marts 2017.
- Følgegruppemøde maj 2017.
- Udkast til rapport.
- Følgegruppemøde primo 2018.
- Endelig rapportering af projektet og plan for formidling af projektets resultater primo 2018.

3. Udvælgelse af modelstoffer

Ved søgningen i Probas databasen blev der fundet 1024 stoffer/kemikalier, der var registreret til at blive anvendt i offshore olie- og gasaktiviteter.

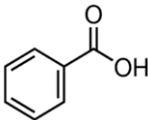
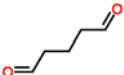
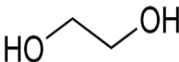
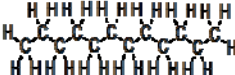
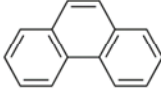
Ved udvælgelse af modelstoffer til projektet blev følgende udvælgelseskriterier anvendt:

- Stoffet/kemikaliet skulle være registreret i Probas under offshore-kemikalier
- Stoffet/kemikalier som indgår i mange produkter i Probas databasen prioriteredes højt.
- Stoffet/kemikalier skulle repræsentere forskellige PBT egenskaber jævnfør REACH-kriterierne. PBT er forkortelse for Persistens (langsomt nedbrydelige), Bioakkumulation (ophobning i levende væv), og Toksicitet (giftighed).
- Stoffet/kemikaliet skulle kunne købes ¹⁴C-mærket.
- Der skal foreligge oplysninger fra standardtest om stoffernes bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet.

Baseret på ovennævnte kriterier og diskussion på følgegruppemøde blev der valgt 4-5 modelstoffer. De valgte modelstoffer repræsenterede stoffer/kemikalier, der anvendes i mange produkter, samt stoffer med forskellige egenskaber i forhold til bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet. Fysisk og kemiske egenskaber af de udvalgte modelstoffer er angivet i Tabel 2.

Benzosyre og glutaraldehyd er biocider, der ofte anvendes i betydelige mængder i offshore aktiviteter. Modelstoffet ethylenglycol er registreret i Probas databasen, som indgår i mere end 140 produkter, der anvendes i offshore-aktiviteter. Dodecan og phenanthren er modelstoffer for petroleum og oliedestillater, som hyppigt anvendes ved efterforskningsaktiviteter. Dodecan og phenanthren er desuden modelstoffer for olieforbindelser fra undergrunden, som udledes med procesvand og produktionsvand ved efterforskningsaktiviteter og ved udvinding af olie og gas. Dodecan er en lineær hydrokarboner, mens phenanthren er en aromatisk hydrokarbon.

Tabel 2. Fysiske og kemiske egenskaber af modelstoffer.

	Benzosyre (BEN)	Glutaraldehyd	Ethylenglycol (ETY)	Dodecan (DOD)	Phenanthren (PHE)
CAS nr.	532-32-1	111-30-8	107-21-1	112-40-3	85-01-8
Densitet	-	1,11 g/ml	1,11 g/ml	0,75 g/ml	1,065 g/ml
Struktur					
Solvent ¹	MilliQ vand	MilliQ vand	MilliQ vand	Acetone	Acetone

¹solvent: Stofferne var opløst i pågældende solvent ved tilsætning til vandprøverne i forsøget.

4. Bionedbrydelighed af modelstoffer

4.1 Materialer og metoder

Den biologiske nedbrydelighed af modelstoffer blev undersøgt ved at måle mineraliseringen af ¹⁴C-mærkede modelstoffer jævnfør retningslinjer i hhv. OECD guideline 301 - *Bestemmelse af let bionedbrydelighed af stoffer med aktivt slam* og OECD guideline 309 - *Simulering af aerob mineralisering af teststoffer under naturlige forhold i overfladevand* (OECD 1992; OECD 2004). OECD guideline angiver forskellige metoder til undersøgelse af nedbrydning af stoffer, herunder brug af ¹⁴C-mærkede stoffer, hvor stoffers ultimative bionedbrydelighed bestemmes. Mineralisering af ¹⁴C-mærkede modelstoffer benzosyre (BEN), ethylenglycol (ETY), dodecan (DOD), og phenanthren (PHE) blev undersøgt i en periode over ca. 60 dage.

Mineraliseringen af modelstofferne i havvand blev i første omgang bestemt med vand fra Diskobugten og Nordsøen (OECD, 2004), men da pH steg i havvandet under forsøget, blev det besluttet at lave yderligere forsøg med nyt vand fra Nordsøen og Østgrønland (se nedenfor). Mineralisering af modelstoffer i aktivt slam blev undersøgt jævnfør retningslinjer i OECD guideline 301.

Mineralisering blev undersøgt ved miljørealistiske temperaturer. Mineraliseringen med vand fra Diskobugten og Østgrønland blev undersøgt ved 4°C. Test med vand fra Nordsøen blev gennemført ved hhv. 4°C og 10°C. Mineraliseringen med aktivt slam blev gennemført ved 20°C.

Det anbefales i OECD guideline 309, at mineraliseringen undersøges ved lave koncentrationer i koncentrationsområdet 1,0 til 100 µg/l, for at sikre, at nedbrydningskinetikken reflekterer den forventede kinetik i miljøet, og eventuel hæmning af bakterier undgås. I testen kan også medtages en højere koncentration for nemmere at kunne identificere nedbrydningsprodukter ved kemiske analyse. Mineraliseringen af stofferne blev undersøgt ved to koncentrationer – en lav 25 µg/l samt en høj på 250 µg/l. Forsøgs oversigt er angivet i Tabel 3. Den høje koncentration blev medtaget for at undersøge, om teststoffet kan hæmme mineraliseringen.

Mineralmedie inokuleret med biologisk aktivt spildevandsslam blev fremstillet jævnfør retningslinjer i OECD guideline 301. Tilførslen af slam sikrer, at der er optimale mikrobielle forhold for nedbrydning/mineralisering af teststoffer både med hensyn til næringsstoffer, temperatur og antal af bakterier.

Tabel 3. Forsøgsoversigt for Østgrønland, Nordsøen og Slam i henhold til prøvetagningsdybde, forsøgstemperatur, testede koncentrationer af de fire stoffer, samt prøvevolumen. Alle forsøg blev lavet i triplikater

Lokalitet	Dybde 1 (m)	Dybde 2 (m)	Temperatur (°C)	Startkonc. (µg/l)	Prøvevolumen (ml) (mL)
Østgrønland	-	60 ¹	4 ¹	25/250	100
Disko ⁴	20 ⁴	70 ⁴	4	25/250	100
Nordsø	20 ⁴	>40 ¹	10 ^{1,3}	25/250	100
Slam	*2	*2	20	25/250	100

¹ Kun lavet dobbeltbestemmelse.

² Det biologisk aktive slam blev udtaget ca. 0,5 m under overfladen i den aerobe beluftningstank fra Lynetten renseanlæg.

³ Med vand fra Nordsøen blev der for dodecan og ethylenglycol desuden udført forsøg ved 4°C.

⁴ Data for forsøgene findes i bilag 1

Alle mineraliseringsforsøg blev udført med en blanding af ^{14}C -mærket og umærket analytisk rent stof. Den umærkede fraktion af stof blev brugt til at justere koncentrationen af stoffet i prøverne. Koncentrationerne 25 og 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ blev anvendt for alle fire stoffer. Der blev tilsat en mængde af ^{14}C -mærket stof svarende til ca. 15.000 DPM (Disintegrationer Per Minute) per flaske i alle forsøg.

For hvert stof og koncentration indgik desuden abiotiske kontroller, hvor eventuel fordampning og kemisk nedbrydning kan bestemmes. Den biotiske nedbrydning blev i disse kontroller inaktiveret ved tilsætning af 650 μl 10% natriumazid (NaN_3). For at teste solvents (acetones) mulige indflydelse på nedbrydningen blev effekten af 25 μl ren acetone undersøgt i acetonekontroller.

Mineraliseringen blev undersøgt over en periode på ≥ 60 dage jævnt før retningslinjer i OECD guideline 301 og 309.

Test blev udført i 250 ml red cap flasker med PTFE låg og 100 ml prøve, hvilket gav et forhold mellem headspace og prøvolumen på 1:2,5, hvilket overholder minimumskravet for det anbefalede på 1:2 angivet i OECD (2014). Mineraliseringen blev bestemt ved den direkte metode, hvor $^{14}\text{CO}_2$ opsamledes i basefælder bestående af glasreagensrør med 2 ml 1M NaOH placeret i red cap flaskerne, der efterfølgende blev lukket med gastætte låg.

OECD 309 anbefaler at basefælderne placeres i separate flasker, der høstes ved hver prøvetagning. Af ressourcemæssige årsager blev dette i første omgang fraveget. I stedet udskiftedes NaOH-opløsningen jævnlige under forsøgsperioden, og opfanget $^{14}\text{CO}_2$ blev bestemt ved væskescintillationstælling. Det viste sig imidlertid, at der blev opfanget mindre $^{14}\text{CO}_2$ end forventet, hvilket skyldes havvands ringe bufferkapacitet, og at pH derfor steg under forsøget.

På baggrund heraf blev der udført yderligere forsøg med havvand fra Nordsøen og Østgrønland, hvor basefælderne placeredes i separate flasker som anbefalet i OECD guideline 309 (OECD, 2014). 100 ml havvand blev afmålt og overført til prøveflaskerne og herefter tilsat 25 μl stamopløsning, hvilket gav slutkoncentrationer på henholdsvis 25 og 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ stof. Forsøget med vand fra Nordsøen og Østgrønland blev udført ved henholdsvis 4°C og 10 °C.

Resultaterne fra de første forsøg findes i bilag 1. I disse observeredes mindre mineralisering end forventet, hvilket skyldes stigningen i pH i havvandet. Resultaterne er alligevel medtaget, da de understøtter de nye resultater. For eksempel sås ingen mineralisering af phenanthren - hverken i de første eller efterfølgende forsøg med vand fra Nordsøen

Slammet blev udtaget på Lynetten renseanlæg fra den aerobe beluftningstank og overført til flasker. Efter at den faste fase af slammet var bundfældet, dekanteredes supernatanten over i en ny flaske, der blev brugt som inokulum i forsøgene. 10 ml inokulum blev tilsat 90 ml mineralmedie, fremstillet som beskrevet i OECD guideline 301 (OECD 1992). Derefter tilsattes teststofferne i koncentrationer på henholdsvis 25 og 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ som beskrevet ovenfor. Da slammet er tilstrækkeligt bufferet blev disse mineraliseringsforsøg bestemt med basefælder, hvor basen løbende udskiftedes. Slamforsøget blev udført ved 20 °C.

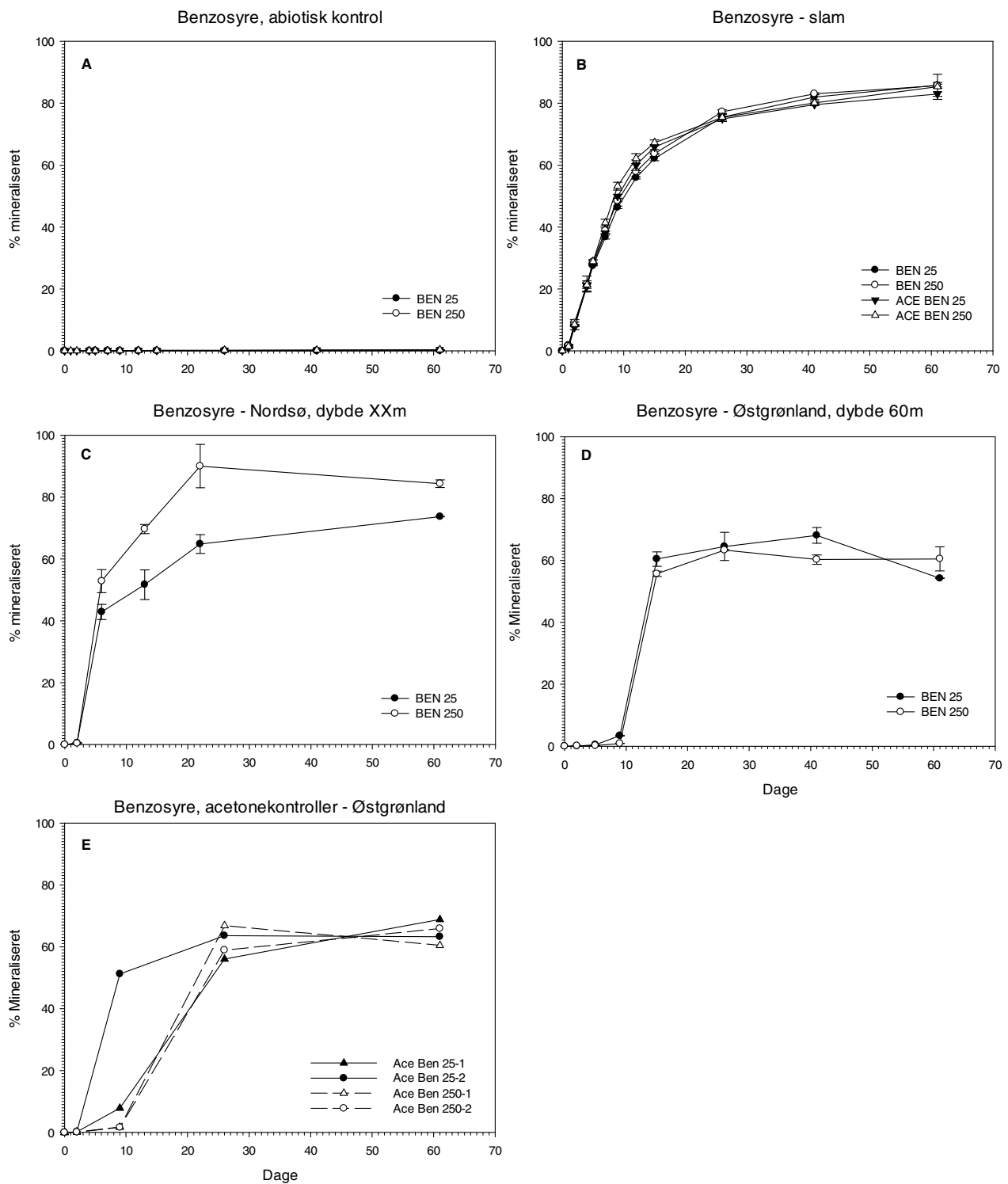
4.2 Resultater

Benzosyre: Den hurtigste mineralisering af benzosyre observeredes i prøverne fra Nordsøen, hvor 43 og 54% af den tilsatte benzosyre var mineraliseret indenfor 6 dage ved henholdsvis 25 og 250 µg/l benzosyre (Figur 4c). Til sammenligning var kun 35-41% mineraliseret indenfor samme tidspunkt i slamprøverne, hurtigst ved den høje koncentration (Figur 4b). I Nordsøen var der også forskel på hvor meget der blev mineraliseret ved de to koncentrationer. Ved 250 µg/l var 84% af den tilsatte benzosyre mineraliseret efter 60 dage, mens det tilsvarende tal ved 25 µg var 74% (Figur 4c, Tabel 4). I slamprøverne var der derimod ingen forskel på mineraliseringen uanset benzosyrekoncentrationen (Figur 4b, Tabel 4). Det skal dog bemærkes, at den absolutte mængde mineraliseret stof målt i µg/l, er ca. 10 gange større ved den høje end ved den lave koncentration, hvilket afspejler, at der er 10 gange forskel i koncentrationerne (Figur 8). Dette indikerer, at den samme andel af stoffet nedbrydes per tidsenhed inden for ovennævnte koncentrationsinterval. I modsætning til Nordsø og slamprøverne var der i prøverne fra Østgrønland en lagfase på 10 dage med ingen eller kun lille mineralisering og ved forsøgets afslutning efter 60 dage var kun 54-61% benzosyre mineraliseret (Figur 4d, Tabel 5). Lagfasen er her beregnet ud fra den anvendte guideline 301 (OECD 1992), som er tiden indtil 10% mineralisering er opnået. En sådan lagfase kan skyldes, at der er færre bakterier, der kan nedbryde benzosyre ved Østgrønland, og at disse skal opformeres før man ser tydelig mineralisering. Der sås ingen mineralisering af benzosyre i de abiotiske kontrolprøver, hvilket indikerer, at der ikke sker nogen kemisk mineralisering eller fordampning af benzosyre (Figur 4a).

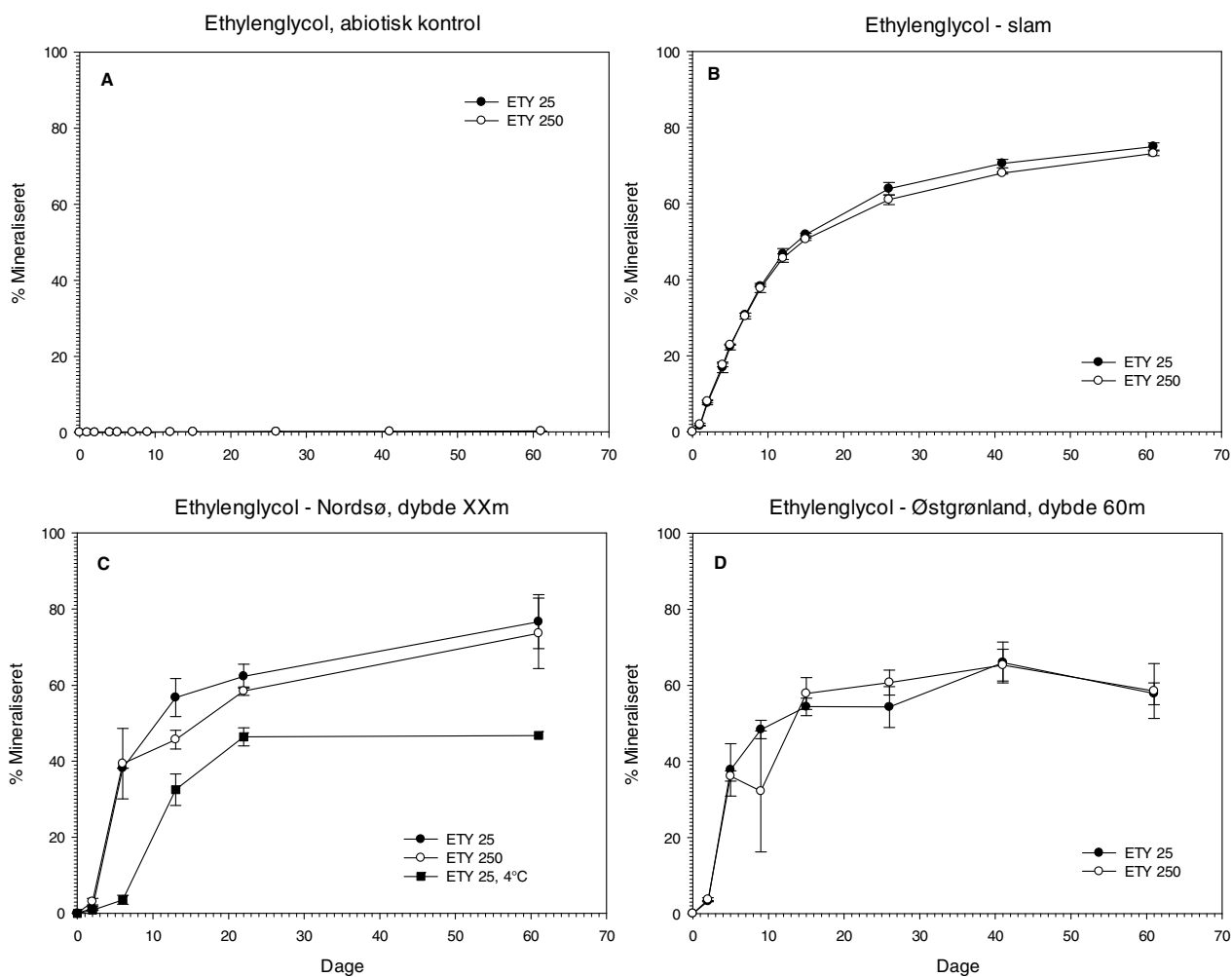
Da dodecan og phenanthren ikke er opløseligt i vand blev de tilsat opløst i acetone. Derfor blev det undersøgt om tilsætning af acetone kunne hæmme mineraliseringen. Resultater fra acetonekontroller viste ingen hæmning, da mineraliseringen efter 61 dage faktisk var en anelse højere i kontroller tilsat acetone (Figur 4e og Tabel 4).

Ethylenglycol: Tilsvarende benzosyre sås den hurtigste mineralisering af ethylenglycol i prøverne fra Nordsøen, hvor 38-39% var mineraliseret indenfor 6 dage uanset koncentrationen (Figur 5c). Stoffet blev dog mineraliseret med tilnærmelsesvis samme hastighed i prøverne fra Østgrønland, hvor 36-38% var mineraliseret indenfor samme tidsrum og igen uden nævneværdige forskelle mellem de to koncentrationer. Ved forsøgets afslutning var der dog mindre mineraliseret (58-59%) sammenlignet med Nordsøen (74-77%; Tabel 4). Mineraliseringen forløb langsomt i slamprøverne, hvor kun 27% var mineraliseret indenfor 6 dage. Ved forsøgets afslutning var mineraliseringsgraden imidlertid den samme som i Nordsøprøverne (Tabel 4).

Tilsvarende viste de indledende undersøgelser med vand fra Nordsøen og Diskobugten samme mineralisering uanset koncentrationen og hvorfra prøverne var taget (bilag 1 Figur 2B). Kun i prøverne fra 70 m dybde i Diskobugten, tilsat 250 µg/l ethylenglycol var mineraliseringen mindre. Der sås heller ikke mineralisering til ¹⁴CO₂ eller fordampning af ethylenglycol i de abiotiske kontrolprøver, hvilket viser, at der ikke sker nogen kemisk mineralisering eller fordampning af ethylenglycol i testflaskerne (Figur 5a).



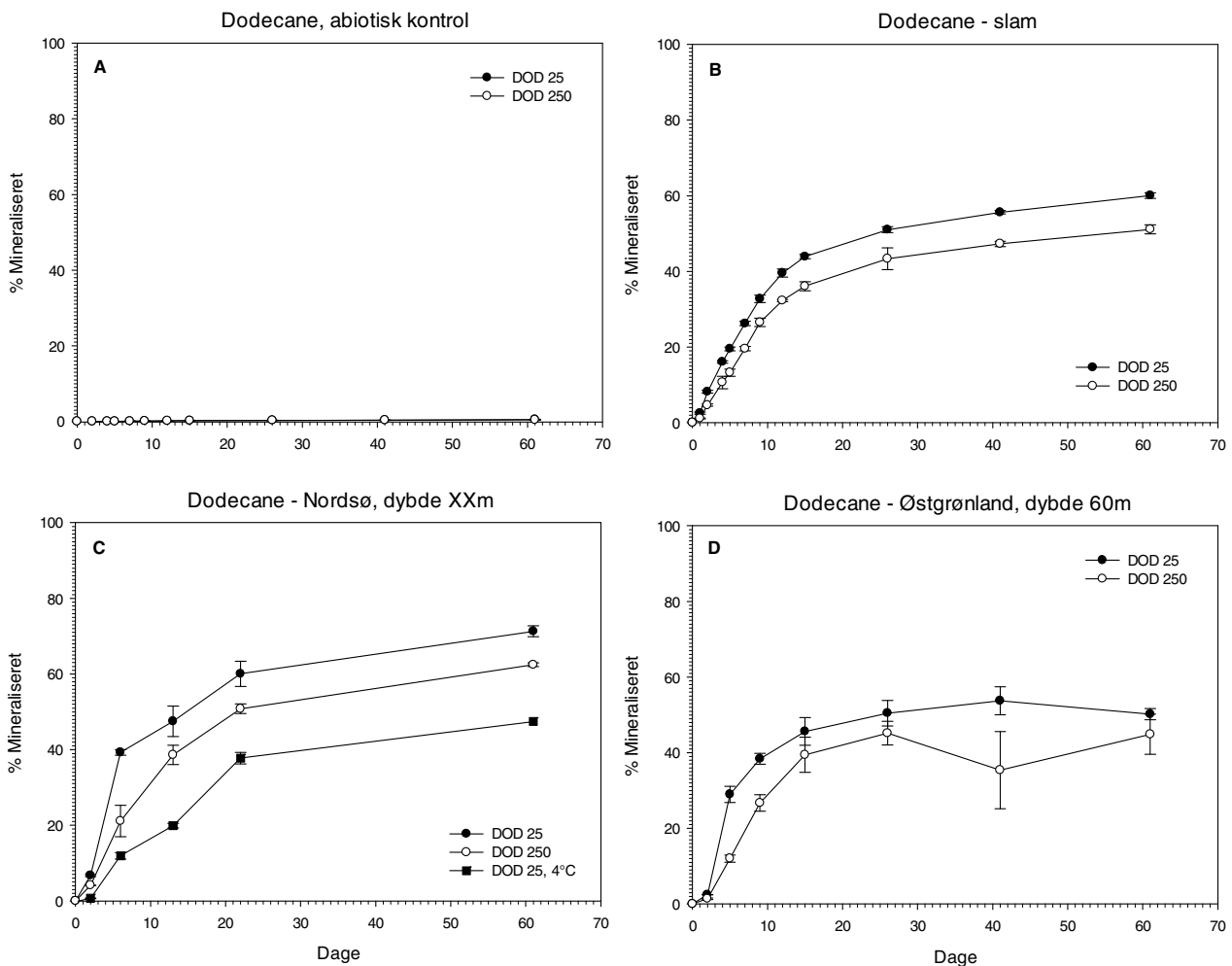
Figur 4. Mineralisering af benzosyre i: Abiotiske kontroller, slam, vand fra Nordsøen, og Østgrønland både uden og med tilsat acetone (acetonekontroller, replikater afbilledet enkeltvis) ved de to koncentrationer 25 og 250 µg/l. BEN: benzosyre, ACE BEN: benzosyre + 25 µl acetone (acetonekontroller).



Figur 5. Mineralisering af ethylenglycol (ETY) i: abiotiske kontroller, slam, vand fra Nordsø og Østgrønland i de to koncentrationer 25 og 250 µg/l.

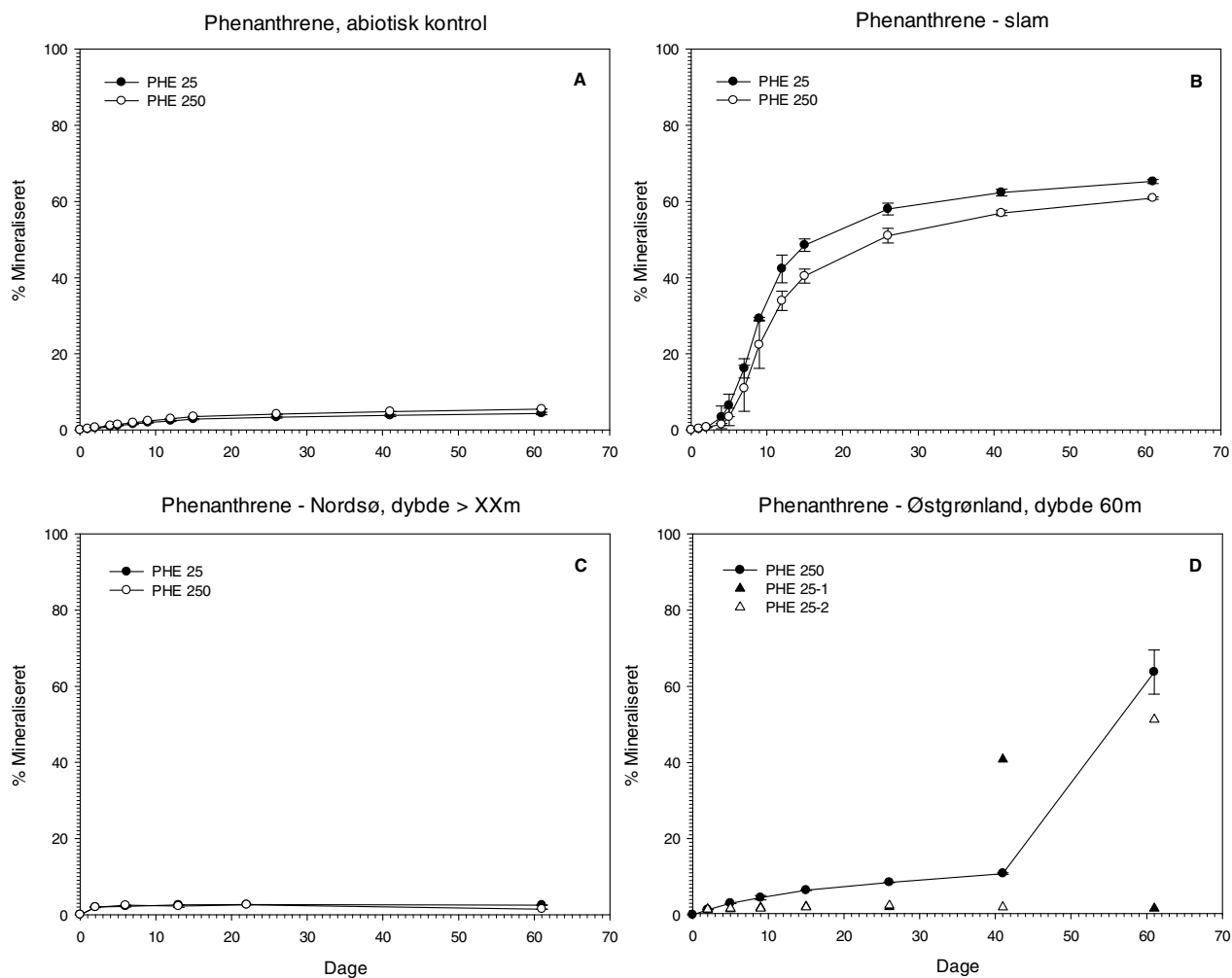
Dodecan: Tilsvarende benzosyre og ethylenglycol observeredes den hurtigste mineralisering af dodecan i prøverne fra Nordsøen. Mineraliseringen forløb forskelligt ved de to koncentrationer, idet der i prøverne med 25 µg/l var mineraliseret 39,5% indenfor 6 dage, mens kun 21,2% var mineraliseret i det samme tidsrum i prøverne med 250 µg/l. Mineraliseringen gik generelt langsommere i prøverne fra Østgrønland, og også her langsomst ved den høje koncentration. Mineraliseringen forløb langsomst i slamprøverne, hvor 16,5 og Figur 4.1. 23% var mineraliseret indenfor 6 dage ved henholdsvis den høje og lave dodecan koncentration. Ved forsøgets afslutning sås, at mest dodecan var mineraliseret i nordsøprøverne efterfulgt af slam- og østgrønlandsprøverne (tabel 4).

Også i de indledende forsøg observeredes hurtigst mineralisering ved den laveste koncentration både i slamprøverne og prøverne fra Nordsøen og Diskobugten (bilag 1 Figur 3b-e). Som beskrevet ovenfor er den reelle nedbrydning, målt i µg/l benzosyre mineraliseret dog væsentligt højere i prøverne med den høje koncentration (Figur 8). Der sås ingen mineralisering til ¹⁴CO₂ eller fordampning af dodecan i de abiotiske kontrolprøver, hvilket viser, at der ikke sker kemisk omdannelse af stoffet, og at det ikke fordampes (Figur 6a).



Figur 6. Mineralisering af dodecan (DOD) i: Abiotiske kontroller, slam, vand fra Nordsø og Østgrønland i de to koncentrationer 25 og 250 µg/l.

Phenanthren: I modsætning til de øvrige testede offshore kemikalier observeredes der kun mineralisering af phenanthren i slamprøverne og prøverne fra Østgrønland (Figur 7; Tabel 5). I slamprøverne var 60-65% mineraliseret ved forsøgets afslutning - størst ved den lave koncentration. I prøverne fra Østgrønland, tilsat 250 µg/l sås indledningsvis en langsom mineralisering indtil dag 41, hvorefter mineraliseringen gik meget hurtigt og ved forsøgets afslutning var 64% af stoffet mineraliseret (Figur 7d; Tabel 4). Én enkelt østgrønlandsprøve tilsat 25 µg/l phenanthren viste også mineralisering efter 40 dage, men det var kun i dette ene replikat, at der var mineralisering i løbet af hele inkubationsperioden. Disse resultater står i modsætning til de indledende forsøg hvor der ikke sås mineralisering af phenanthren i havvand, hverken fra Nordsøen eller Diskobugten (bilag 1, Figur B4). I disse forsøg var den målte ¹⁴C-radioaktivitet i prøverne desuden sammenfaldende med radioaktiviteten i de abiotiske kontrolforsøg og tilskrives derfor fordampning af phenanthren op i basefælden (Figur 7a; bilag 1 Figur 4c-f).

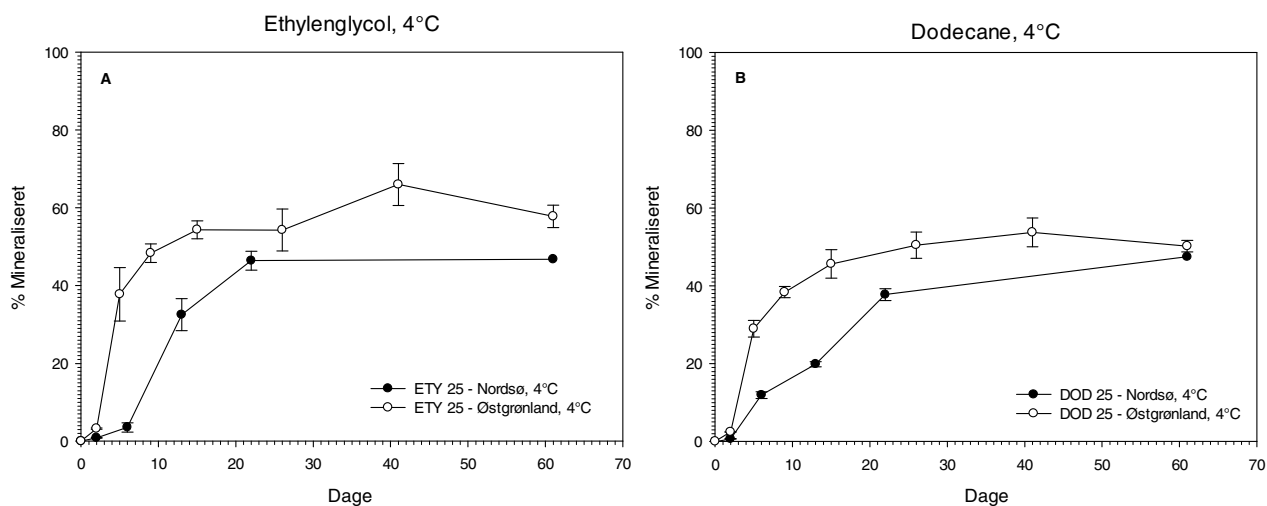


Figur 7. Mineralisering af phenanthren (PHE) i: Abiotiske kontroller, vand fra Østgrønland, Nordsø og slam i de to koncentrationer 25 og 250 µg/l. Data for PHE 25 Østgrønland er data for alle prøver vist enkeltvis og ikke som gennemsnit af en dobbeltbestemmelse.

4.3 Diskussion

Mineralisering af ethylenglycol og dodecan i Nordsøen ved 4°C: OECD's test af aerob bionedbrydelighed i overfladevand (OECD, 2004) foreskriver, at testen udføres ved *in situ* temperaturer, og derfor blev undersøgelserne med vand fra Østgrønland og Nordsøen udført ved henholdsvis 4 og 10 °C. Der blev desuden opstillet forsøg med Nordsøvand ved 4 °C for ethylenglycol og dodecan med det formål at undersøge temperaturens betydning for mineraliseringen.

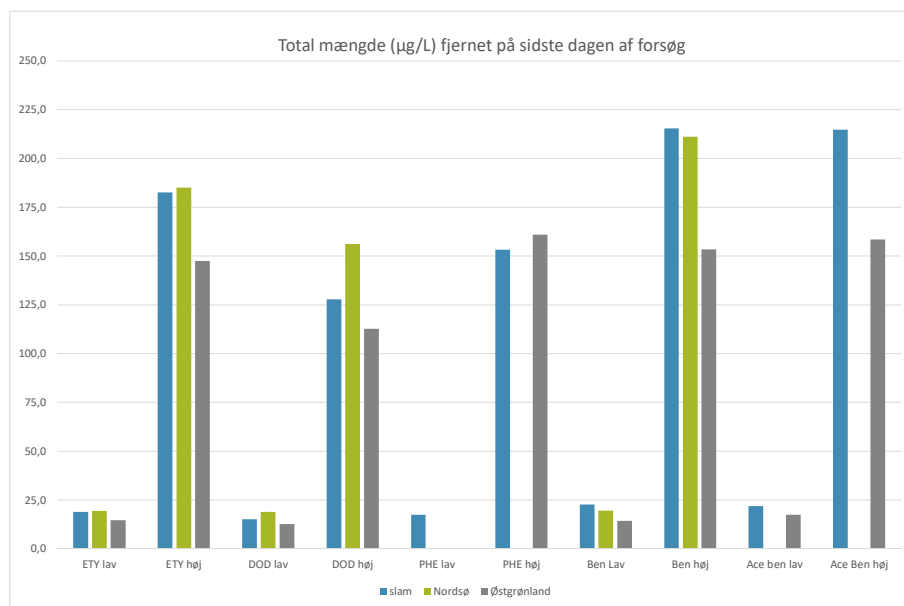
Det ses af Figur 8, at den valgte temperatur har en effekt på mineraliseringen, som i Nordsøen går væsentligt langsommere end i Østgrønland ved 4 °C. Samtidig ses det af Figur 5c og 6c, at mineraliseringen af ethylenglycol og dodecan i Nordsøen går langsommere ved 4 °C end når forsøget udføres ved 10 °C. Resultaterne viser, at nedbryderbakterierne ved Østgrønland tilsyneladende er tilpasset de koldere temperaturer.



Figur 8. Mineralisering af ethylenglycol (ETY) og dodecan (DOD) i vand fra Nordsøen og Østgrønland ved 4 °C. Stofferne blev tilsat til en koncentration på 25 µg/l.

I Figur 9 er angivet den samlede mængde af modelstoffer nedbrudt ved forsøges afslutning. Det fremgår af Figur 9, at den samlede mængde, der er nedbrudt, er ca. 10 gange større ved den høje stofkoncentration (250 µg/l) end ved den lavere koncentration på 25 µg/l. Dette indikerer at stofferne ikke hæmmede den mikrobielle aktivitet i testene.

Figur 9. Den samlede mængde af de fire stoffer mikrobielt mineraliseret ved afslutningen af forsøgene efter 60 dage i test. Slam er mineralisering i medie med aktivt slam jævnfør OECD guideline 301. Norsøvand og Østgrønland er mineraliseringen i simuleringstest jævnfør OECD guideline 309. Lav angiver test hvor startkoncentration af modelstoffer er 25 µg/l. Høj angiver test hvor startkoncentration er 250 µg/l. ETY: ethylenglycol, DOD: dodecan, PHE: phenanthren, BEN: benzosyre, ACE BEN: acetonekontroller med benzosyre.



Tabel 4. Den ultimative bionedbrydelighed i procent af startkoncentration efter hhv. 28 og 61 dage. ETY: ethylenglycol, DOD: dodecan, PHE: phenanthren, BEN: benzosyre, ACE BEN: acetonekontroller med benzosyre. Lav: startkoncentration 25 µg/l, Høj: startkoncentration 250 µg/l.

Stof	Ultimativ bionedbrydelighed (%)					
	Slam (dag 28)	Slam (dag 61)	Østgrønland (28 dage)	Østgrønland (61 dage)	Nordsø (28 dage)	Nordsø (61 dage)
ETY lav	65	75	56	58	64	77
ETY høj	62	73	61	59	60	74
DOD lav	52	60	51	50	62	71
DOD høj	44	51	44	45	52	62
PHE lav	59	65	0	0/52*	0	0
PHE høj	51	61	7	64	0	0
BEN lav	76	86	64	54	66	74
BEN høj	78	86	62	61	89	84
Ace Ben lav	76	83	60	66	IB	IB
Ace ben høj	76	85	63	63	IB	IB

IB – "ikke bestemt".

*0/52 angiver at der kun var mineralisering i den ene af de to replikater.

Tabel 5. Lagfasen i dage til 10% af startkoncentrationen er mineraliseret i prøverne med slam, og vand fra Østgrønland og Nordsøen. ETY: ethylenglycol, DOD: dodecan, PHE: phenanthren, BEN: benzosyre, ACE BEN: acetonekontroller med benzosyre. Lav: startkoncentration 25 µg/l, Høj: startkoncentration 250 µg/l.

Stof	Slam	Nordsø	Østgrønland
ETY lav	3	3/8 ^a	3
ETY høj	3	3	3
DOD lav	2	2/5 ^a	3
DOD høj	4	4	5
PHE lav	6	> 61	> 61 ^b
PHE høj	7	> 61	40
BEN lav	2	3	10
Ben høj	2	3	10
ACE BEN lav	2	IB ^c	3-10
ACE BEN høj	2	IB ^c	11

^a Tiden til 10% mineralisering i forsøg ved 4°C.

^b En replikat viste mineralisering efter 40 dage.

^c IB: ikke bestemt.

Resultater fra forskellige nedbrydningstest indgår i OSPAR's vurdering og kategorisering af offshore kemikalier (OSPAR 2017). OECD 301, hvor bionedbrydeligheden af kemikalier undersøges i medie med aktivt slam, anvendes indledningsvis i OSPAR-pre-screening. Hvis mineraliseringen er <20 % indenfor 28 dage, anbefaler OSPAR, at kemikaliet søges substitueret. Som det ses af Tabel 4, er mineraliseringen efter 28 dage >20 % for alle testede kemikalier. I næste trin skal kemikalier opfylde en række kriterier i forhold til bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet, hvor definerede kriterier for mindst to af parametrene skal være opfyldt. Kriteriet for bionedbrydelighed på dette trin er, at mere end 60 % af stoffet skal være mineraliseret i indenfor 28 dage. Som det ses af Tabel 4, ville hverken dodecan eller phenanthren opfylde kriteriet for bioned-

brydelighed. 60% mineralisering af dodecan opnås først efter 61 dages inkubation ved den lave koncentration og i prøverne med den høje koncentration opnås de 60% ikke inden for forsøgsperioden. 60% mineralisering af phenanthren opnås efter ca. 35 dage med den lave koncentration og i den høje koncentration ved forsøgets afslutning efter 61 dage.

Der er ifølge OSPAR også mulighed for at benytte andre test, der bedre simulerer nedbrydningen i det miljø en eventuelt forurening vil forekomme i. En sådan test kunne være guideline 309 (OECD 309, 2004), der i nærværende undersøgelse er anvendt med havvand fra henholdsvis Nordsøen og Østgrønland. For benzosyre, ethylenglycol og dodecan sås den hurtigste nedbrydning i havvand fra Nordsøen efterfulgt af havvand fra Østgrønland. I overensstemmelse hermed var den ultimative mineralisering ved forsøgets afslutning også højest i prøverne fra Nordsøen. Den hurtige nedbrydning i test med vand fra Nordsøen kan skyldes, at dette vand i højere grad har været eksponeret for en række miljøfremmede stoffer, og derfor er adapteret til nedbrydning af disse. Det var dog overraskende, at der var et lille potentiale for mineralisering af phenanthren i Østgrønland, om end dette varierede, med store forskelle mellem de enkelte testflasker. I de indledende undersøgelser blev phenanthren ikke mineraliseret, hverken i havvand fra Nordsøen eller i havvand fra Diskobugten. Resultatet er i overensstemmelse med en tidligere undersøgelse, hvor der tilsvarende ikke sås nedbrydning af phenanthren i havvand fra Diskobugten (Scheibye et al., 2017). Det skal dog bemærkes, at phenanthren i forhold til resultaterne i denne undersøgelse ikke umiddelbart ville være blevet godkendt, da <60 % blev mineraliseret indenfor 28 dage ifølge OECD 301 testen med spildevandsslam. Der er dog usikkerheder forbundet med en sådan test, og det kan ikke udelukkes, at man med slam fra et andet renseanlæg ville opnå >60% mineralisering efter 28 dage. Hvor der foreligger usikkerhed om stoffernes nedbrydningsegenskaber, og for stoffer der er kritiske, anbefales det, at der gennemføres supplerende undersøgelser, hvor nedbrydningen af kemikaliet undersøges i naturligt havvand og ved miljørealistiske forhold, f.eks. jævnfør retningslinjer i OECD guideline 309.

I de fleste tilfælde var der kun lille eller ingen forskel på nedbrydningsforløbet ved 25 og 250 µg/l. Dette viser, at nedbrydningskinetikken stort set er den samme ved de to koncentrationer, og at resultaterne derfor er gældende i hvert fald inden for dette koncentrationsinterval. Alt andet lige betyder dette, at den samme andel af de testede stoffer vil blive fjernet per tidsenhed. Undersøgelsen viser desuden, at den høje koncentration af stofferne ikke hæmmer mineraliseringen. Havvand kan mange steder være nærringsfattigt med lave koncentrationer af f.eks. N og P, der er essentielle for biologisk nedbrydning. Undersøgelser med havvand fra Grønland har desuden vist, at der kan være betydelige årstidsvariationer i nærringstofindholdet (Thingstad et al., 2008), og at der under nærringsstoffbegrænsning ikke er nævneværdig nedbrydning af selv let omsættelige stoffer (Larsen et al., 2015). Da der ses tilnærmelsesvis samme procentvise mineralisering både ved lave og høje koncentrationer af teststofferne, er der ikke noget, der tyder på, at nærringsstoffer har begrænset nedbrydningen - hverken i vand fra Nordsøen eller Østgrønland. Der mangler imidlertid mere dybdegående viden om, hvordan nærringsstoffbegrænsning påvirker nedbrydningen af kemikalier - ikke mindst i det arktiske havmiljø.

4.4 Opsamling

Der er generelt set usikkerheder forbundet med test af let nedbrydelighed udført ved f.eks. OECD guideline 301. Det er bl.a. fordi slam fra forskellige renselanlæg kan have forskellige nedbrydningspotentialer, samt at de nedbrydningsrater og aktuel bionedbrydelighed, der fremkommer, ikke er sammenlignelige med dem, der forekommer i miljøet. Det anbefales derfor, at der altid udføres simuleringstests med havvand (f.eks. OECD guideline 309) i forbindelse med godkendelse af offshore-kemikalier.

Indholdet af næringsstoffer, herunder indholdet af N og P, er lavt i mange havvandstyper, og der kan forekomme årstidsvariationer. Der mangler viden om, hvordan næringsstofbegrænsning påvirker nedbrydningen af kemikalier og olieforbindelser specielt i kolde isfyldte arktiske områder. Anbefalingen vil derfor være at anvende en test som afspejler de aktuelle miljøforhold. Desuden kan en lav eller fuldstændig mangel på mineralisering også betyde en ufuldstændig omdannelse af teststoffet til et eller flere nedbrydningsprodukter, som kan have andre toksikologiske egenskaber end det oprindeligt tilsatte stof, hvilket øger vigtigheden af at teste under miljøaktuelle forhold som med guideline 309.

5. Bioakkumulering af modelstoffer i *Calanus hyperboreus* - en højarktiske modelorganisme

5.1 Baggrund

Det arktiske miljø har en række unikke forhold, der kan have stor betydning for skæbne og effekter af kemikalier, der udledes i miljøet. Højarktiske organismer er bl.a. kendetegnet ved en langsom metabolisme og udvikling, store sæsonmæssige variationer i aktivitet, en unik sammensætning af lipider og ofte et meget højt indhold af lipid til at klare en lang vinter uden indtag af føde. Som en særlig tilpasning til de lave temperaturer har arktiske organismer et højt indhold af flerumættede fedtsyrer i cellemembraner.

Den højarktiske vandloppe *Calanus hyperboreus* blev i projektet valgt som modelorganisme til at studere bioakkumulering og toksicitet af de udvalgte modelstoffer. Studier af bioakkumulering og toksicitet af modelstoffer blev i 2015 og 2016 gennemført ved Arktisk station på Disko i Vestgrønland.

Calanus hyperboreus er en nøgleorganisme i de højarktiske havområder, hvor den er et vigtigt fødegrundlag for havfugle, pelagiske fisk og hvaler. Lipidindholdet i *Calanus hyperboreus* kan være mere end 60% af organismens vægt. Det oplagrede lipid bruges dels som energidepot til de lange dvale perioder hvor *Calanus hyperboreus* opholder sig på dybt vand uden indtag af føde, og dels til produktion af æg, der lægges om vinteren, mens hunnen endnu opholder sig på dybt vand. Kemikalier ophobet i lipider kan dels føre til en intern belastning af de voksne individer i vintermånederne, hvor lipid depoter mobiliseres, dels kan ophobede kemikalier i lipider overføres til æg og dermed til næste generation.

Figur 10. Højarktisk modelorganisme vandloppe *Calanus hyperboreus* (øverst) sammenlignet med *Calanus glacialis* (miderst) og *Calanus finmarchicus* (nederst).



5.2 Materialer og metoder

Bioakkumuleringen af modelstofferne i den højarktiske vandloppe *Calanus hyperboreus* blev undersøgt i studier på Arktisk station i maj-juni 2015 og 2016. Bioakkumulering blev studeret ved at måle optagelse hhv. udskillelse af ^{14}C -mærkede modelstoffer i test med *Calanus hyperboreus* over en periode på 7 dage. Optagelsen af modelstof blev målt over 4 dage hvorefter udskillelsen blev målt over 3 dage efter overførsel til rent havvand. Anvendelse af ^{14}C -mærkede stoffer muliggør stor nøjagtighed og lav detektionsgrænse i bestemmelse af optag, udskillelse og bioakkumulering af stofferne.

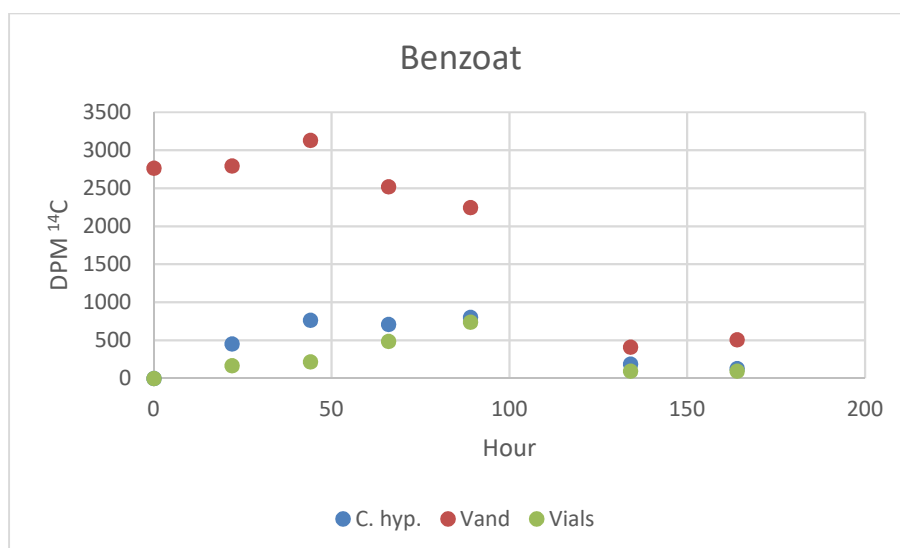
Figur 11. *Calanus hyperboreus* blev indsamlet i Diskobugten med zooplanktonnet fra skibet Porsild tilknyttet Arktisk Station, Københavns Universitet.



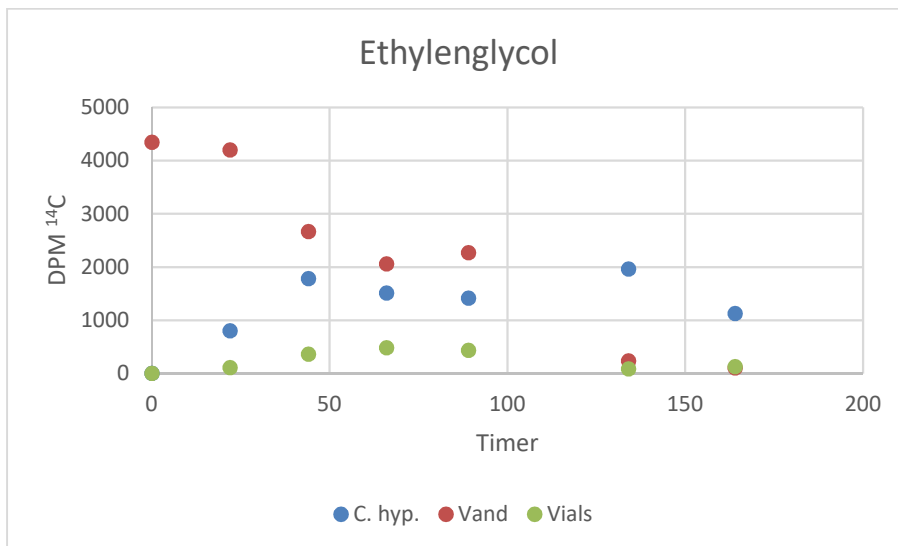
5.3 Resultater

I Figur 12, 13, 14 og 15 er fordelingen af de ^{14}C -mærkede modelstoffer i bioakkumuleringstest angivet. Efter 4 dage (89 timer) blev vandlopper overført til rent havvand, hvor udskillelse af stofferne fra vandloppen til vand blev målt over ca. 3 dage. Den korte testperiode på i alt 7 dage gør, at eventuel nedbrydning af model stofferne kan antages at være lille og uden betydning i fortolkningen af resultaterne.

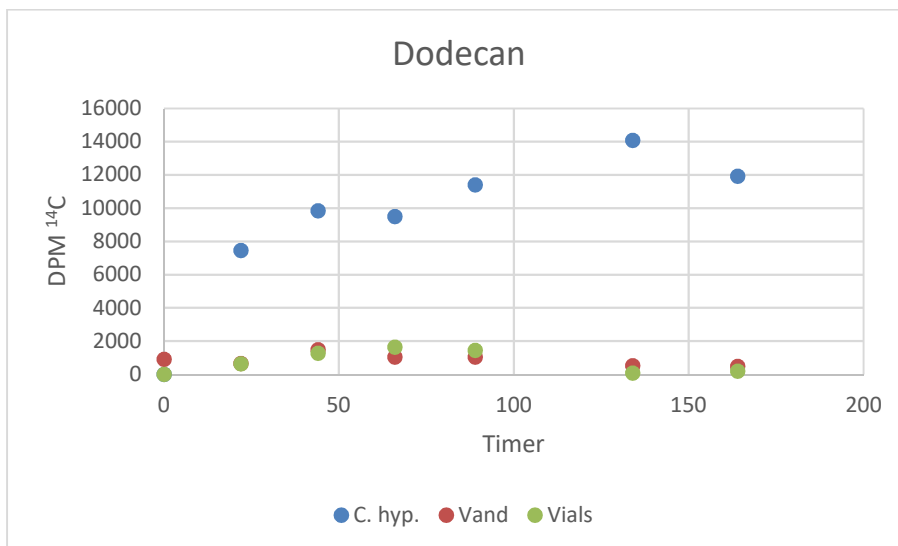
Figur 12. Tidsmæssig fordeling af ^{14}C mærket benzoesyre i *Calanus hyperboreus*, i testvandet og adsorberet til overflade af glassials. Efter time 89 overføres vandloppene til rent vand for at måle udskillelsen til vandet.



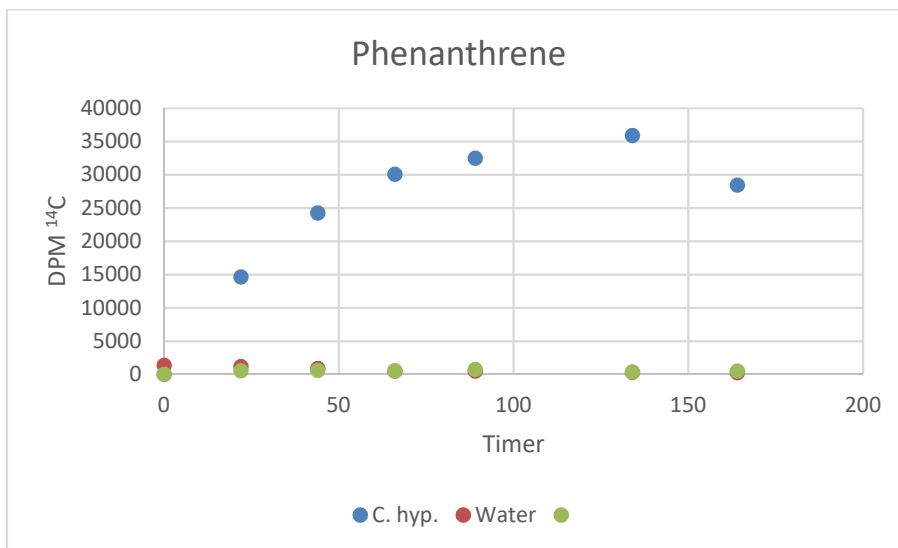
Figur 13. Tidsmæssig fordeling af ^{14}C mærket ethylenglycol i *Calanus hyperboreus*, i testvandet og adsorberet til overflade af glasvials. Efter time 89 overføres vandloppene til rent vand for at måle udskillelsen til vandet.



Figur 14. Tidsmæssig fordeling af ^{14}C mærket dodecan i *Calanus hyperboreus*, i testvandet og adsorberet til overflade af glasvials. Efter time 89 overføres vandloppene til rent vand for at måle udskillelsen til vandet.



Figur 15. Tidsmæssig fordeling af ^{14}C mærket phenanthren i *Calanus hyperboreus*, i testvandet og adsorberet til overflade af glasvials. Efter time 89 overføres vandlopper til rent vand for at måle udskillelsen til vandet.

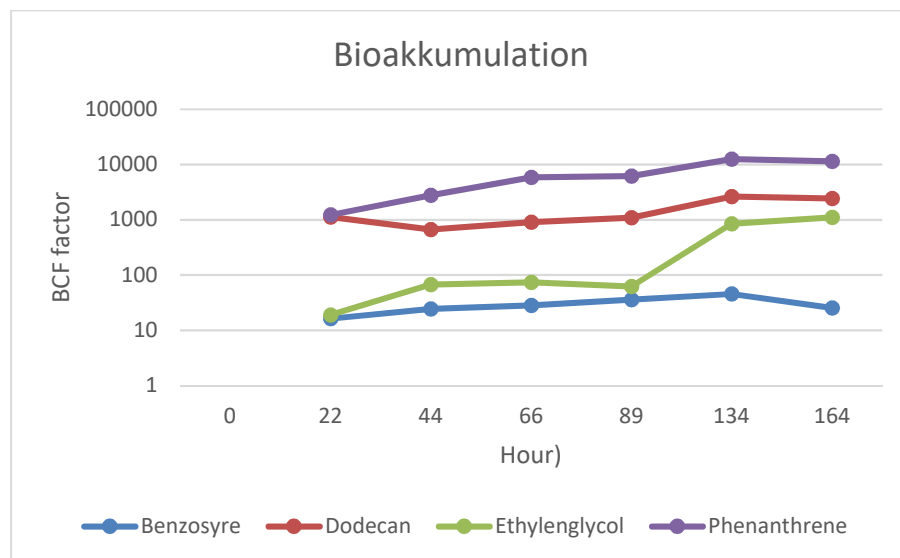


Af figurene fremgår, at optagelse af benzosyre er relativt lille og udskillelsen tilsvarende er hurtig. I forhold til benzosyre er optagelsen af ethylglycol relativt større og udskillelsen langsommere. For modelstofferne dodecan og phenanthren er optagelse hurtig og relativt stor, og udskillelsen er meget langsom.

Bioakkumuleringen af kemikalier kan udtrykkes som bio-concentrations-factor (BCF) for stoffer ud fra forholdet mellem koncentrationen i organismen og koncentrationen i vandet.

Hvis koncentration i organismen udtrykkes fx i $\mu\text{g}/\text{kg}$ og koncentrationen i vandet $\mu\text{g}/\text{l}$ er enheden for BCF og BAF således l/kg . Estimerede BCF værdier for modelstofferne i *Calanus hyperboreus* er angivet i Figur 16.

Figur 16. Estimerede bio-concentrations-factor (BCF) for de 4 modelstoffer (benzosyre, dodecan, ethylenglycol og phenanthren) i test med *Calanus hyperboreus*. Bemærk at y-aksen er logaritmisk.



5.4 Diskussion

Data for bioakkumulering indgår i OSPAR's vurdering og kategorisering af offshore-kemikalier (OSPAR 2017). Risikoen for bioakkumulering af stoffer vurderes ud fra stoffernes fordeling mellem oktanol/vand (K_{ow}) bestemt i laboratorietest, jævnfør retningslinjer i OECD guideline 107 - *Partition Coefficient - Shake Flask Method* eller jævnfør retningslinjer i OECD guideline 123 - *Partition Coefficient-Slow-Stirring Method*. I nogle tilfælde findes der BCF-værdier fra toksicitetstest på fisk eller krebsdyr, typisk tempererede og tropiske organismer. I OSPAR kategoriseres stoffer som ikke bioakkumulerbare, hvis BCF er mindre end 100 eller $\text{Log } K_{ow}$ mindre end 3 (svarende til en K_{ow} skal være mindre end 1000).

I Epiwin software (US-EPA) beregnes BCF og K_{ow} ud fra stoffernes molekylære opbygning og fysiske/kemiske egenskaber.

I Tabel 6 herunder er værdier for BCF og oktanol/vand (K_{ow}) for modelstofferne som er fundet i Probas (Fælles produktregister for Arbejdstilsynet og Miljøstyrelsen), Echa (Europæiske Kemikalie Agentur) og EpiWin (Beregningsprogram udviklet af US-EPA).

Tabel 6. BCF og oktanol/vand (K_{ow}) for modelstofferne fra Probas, Echa og EpiWin samt BCF værdier for *Calanus hyperboreus* fra eksperimenter udført i dette projekt.

	Probas, ECHA, og EpiWin		<i>Calanus hyperboreus</i>
	K_{ow}	BCF	BCF
Benzosyre	0,01 - 75	3,2	25 - 36
Ethylenglycol	0,04 - 0,06	3,2	74 - 1106
Dodecan	1,2 E06-3,8 E06	207 - 592	1097 - 2636
Phenanthren	2,2 E04 – 2,8 E04	1202 - 1866	6196 - 11464

I forhold til OSPAR-kriterier for hvornår et stof kategoriseres som potentielt akkumulerbar ($K_{ow} > 1000$ og $BCF > 100$) indikerer data fra Probas, ECHA og Epiwin, at dodecan og phenanthren er potentiel bioakkumulerbare stoffer. Benzosyre og ethylenglycol vil ud fra OSPAR K_{ow} -kriterierne blive kategoriseret som ikke bioakkumulerbare stoffer, hvorimod BCF værdier indikerer at ethylenglycol potentielt er et stof, der kan blive ophobet i *Calanus hyperboreus*. Generelt er BCF-værdier for den arktiske copepod *Calanus hyperboreus* markant højere end værdier fra standard test.

Risiko ved en bioakkumulering af kemikalier i lipiddepoter hos arktiske organismer er dels, at det kan føre til en betydelig intern eksponering i forbindelse med at lipid depoter mobiliseres i vinterperioder uden fødeindtag, dels at kemikalier overføres til æg og larver. Desuden kan kemikalier ophobet i *Calanus hyperboreus* belaste fødekæden herunder fisk, havfugle og hvaler.

5.5 Opsamling

Resultater oparbejdet i projektet indikerer, at bioakkumuleringen af kemikalier kan være markant større i den højarktiske vandloppe *Calanus hyperboreus* end hvad data fra oktanol/vand-fordelingskoefficienten og standard test indikerer. På denne baggrund anbefales det, at grundlaget for miljørisikovurderingen i arktiske havområder styrkes med studier, hvor bioakkumulering af kemikalier og oliestoffer undersøges i højarktiske organismer.

6. Toksicitet af modelstoffer på *Calanus hyperboreus* og *Calanus finmarchicus*

6.1 Baggrund

Højarktiske organismer er bl.a. kendetegnet ved en langsom metabolisme og udvikling, stor sæsonmæssig variation i aktivitet, en unik sammensætning af lipider og ofte et meget højt indhold af lipid til at kunne klare en lang vinter uden indtag af føde. Som en særlig tilpasning til de lave temperature har arktiske organismer et højt indhold af flerumættede fedtsyrer i cellemembraner.

Sammenligning mellem arktiske og tempererede arters følsomhed/tolerance overfor olierelaterede stoffer er publiceret af Olsen et al. 2011 og Hoop et al. 2011. I disse artikler sammenlignes arktiske og tempererede krebsdyrs, muslingers og pighuders tolerance ud fra en dødelighed efter typisk 4 dage. Reviewet indikerer, at de arktiske arter generelt er mere følsomme/mindre tolerante end de tempererede arter. På grund af store usikkerheder i data er forskellen imidlertid ikke statistisk signifikant. Et grundlæggende problem i denne og tilsvarende undersøgelser er, at effekten på tempererede og arktiske arter aflæses efter samme tid (fx 4 dage), hvilket kan være misvisende, da effekter hos arktiske arter pga. langsommere processer i de arktiske organismer først erkendes efter længere tid. Et andet forhold, der skal tages i betragtning er, at arktiske organismer kan akkumulere større mængder af toksiske stoffer end tempererede og tropiske arter pga. de arktiske organismers høje indhold af lipid. Akkumuleringen kan på længere sigt øge den interne belastning særligt i forbindelse med at ophobet lipid mobiliseres og de akkumulerede stoffer frisættes. Hidtil er der kun gennemført relativt få toksicitetstest med arktiske organismer og kun meget få kemikalier er undersøgt. George-Ares & Febbo præsenterede på IOSC 2011 erfaringer fra nogle nye undersøgelser (http://www.iosc.org/papers_posters/IOSC-2011-53-file001.pdf), og de konkluderede bl.a., at resultater fra 4 dages test med tempererede arter skal sammenlignes med arktiske arter eksponeret i 14 dage.

I et review om effekter af oliestoffer i arktiske havområder af Camus et al. 2014 angives det, at datasættet for sub-lethale effekter på arktiske arter herunder vandlopper og fisk i dag er utilstrækkeligt. Der mangler data til at vurdere om toksiciteten overfor tempererede organismer er repræsentative for polære arter og økosystemer (Camus et al. 2015). Grundet de store fysiologiske forskelle mellem tempererede og arktiske organismer, er der stor usikkerhed om, hvorvidt toksicitetsdata for tempererede organismer er repræsentative for arktiske arter i forbindelse med risikovurdering af kemikalie- og olie forurening i arktiske økosystemer.

Selv om det er forbundet med usikkerhed, om toksicitetsdata for tempererede organismer er repræsentative for polære arter, er grundlaget for risikovurdering af kemikalie- og olie forurening i arktiske økosystemer typisk baseret på data for tempererede arter. Parametre, der kan have betydning for tempererede og arktiske organismers følsomhed i forhold til eksponering for toksiske stoffer, er analyseret i review af Gustavson et al 2016. Reviewet sammenfatter, at datagrundlaget på nuværende tidspunkt ikke er tilstrækkeligt til at belyse forskelle mellem arktiske og tempererede organismers følsomhed i forhold til toksiske stoffer.

På baggrund af ovenævnte forhold blev toksiciteten af 5 modelstoffer (benzoesyre, ethylenglycol, glutaraldehyd, dodecan og phenanthren) bestemt overfor *Calanus hyperboreus*, som er en højarktisk vandloppe, samt på *Calanus finmarchicus*, som også er udbredt på lavere breddegrader bl.a. i Nordsøen. Effekten af modelstofferne efter en eksponering på 48 timer blev samlet observeret i en periode på i alt 14 dage.

6.2 Materialer og metoder

Toksiciteten af modelstofferne overfor den højarktiske vandloppe *Calanus hyperboreus* og den tempererede vandloppe *Calanus finmarchicus* blev undersøgt i studier på Arktisk station i maj-juni 2016. Vandlopper blev indsamlet i Diskobugten med zooplanktonnet og skibet Porsild tilknyttet Københavns Universitet.

Foto: Spand med dagens fangst af *Calanus* spp fra Disko bugten. Det tidskrævende arbejde med at sortere voksne hunner af *Calanus hyperboreus* og *Calanus finmarchicus* fra til test foregik i kølerum. I alt 540 voksne hunner af hver art indgik i testen.



Toksiciteten af benzoesyre, glutaraldehyd, ethylenglycol, dodecan og phenanthren blev undersøgt på voksne hunner af *Calanus hyperboreus* og *Calanus finmarchicus*. Vandlopperne blev i starten af eksperimentet eksponeret i 48 timer for de enkelte modelstoffer i 1 liter Red Cap glasflasker. Toksiciteten af modelstofferne blev undersøgt ved 5 koncentrationer i triplikater med 6 individer af hver af de to arter i hver glasflaske. I alt 540 voksne hunner af hver art indgik i testen. Testkoncentration/nominal koncentration for benzoesyre, ethylenglycol og glutaraldehyd var 0,1; 1; 10; 100 og 1000 mg/l. Toksiciteten af dodecan og phenanthren blev undersøgt ved testkoncentration 0,001; 0,01; 0,1; 1 og 10 mg/l. Stamopløsninger af benzoesyre, ethylenglycol og glutaraldehyd blev lavet i vand. Stamopløsninger af dodecan og phenanthren blev lavet i acetone. Mængden af acetone i testopløsninger var 0,01%. Acetone koncentrationen i testopløsningerne var under den, som anbefales i guideline til toksicitetstest. Efter 48 timers eksponering blev vandlopper overført til rent havvand og rene beholdere. Dødeligheden og friskheden blev herefter aflæst til dag 2, 4, 6, 8, 12 og 14. I studiet indgik kontroller og acetonekontroller (n=3).

6.3 Resultater

I Tabel 7 er angivet antal døde individer af hhv. *Calanus hyperboreus* og *Calanus finmarchicus* registreret over testperioden på 14 dage.

Tabel 7. Antal døde individer af *Calanus hyperboreus* og *Calanus finmarchicus* der blev registreret over en 14 dages periode. Dyrene var eksponeret i 48 timer, hvorefter de blev overført til rent vand. Øverste tal i tabellen angiver antal døde individer af *Calanus hyperboreus* og nederste tal angiver antal døde individer af *Calanus finmarchicus*. Det totale antal dyr af hver art for hvert stof og koncentration var 18. Røde tal angiver, at individer ved den pågældende koncentration var inaktive i forhold til i kontrollerne.

Benzosyre							
	Dag 2	Dag 4	Dag 6	Dag 8	Dag 10	Dag 12	Dag 14
Kontrol	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
100 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1000 mg/l	18/2	18/2	18/2	18/2	18/2	18/2	18/2

Ethylenglycol							
	Dag 2	Dag 4	Dag 6	Dag 8	Dag 10	Dag 12	Dag 14
Kontrol	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
100 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1000 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Glutaraldehyd							
	Dag 2	Dag 4	Dag 6	Dag 8	Dag 10	Dag 12	Dag 14
Kontrol	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10 mg/l	5/0	5/0	8/0	14/0	18/0	18/0	18/0
100 mg/l	18/18	18/18	18/18	18/18	18/18	18/18	18/18
1000 mg/l	18/18	18/18	18/18	18/18	18/18	18/18	18/18

Dodecan							
	Dag 2	Dag 4	Dag 6	Dag 8	Dag 10	Dag 12	Dag 14
Kontrol	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,001 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,01mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Phenanthren							
	Dag 2	Dag 4	Dag 6	Dag 8	Dag 10	Dag 12	Dag 14
Kontrol	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,001 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,01mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0,1 mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10mg/l	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

6.4 Diskussion

Kun ved den højeste koncentration af benzosyre var der en dødelighed. Alle 18 individer af *Calanus hyperboreus* var døde ved den højeste benzosyre koncentration allerede fra dag 2. *Calanus finmarchicus* var tilsyneladende mere tolerant idet kun 2 ud af 18 døde i testen med benzosyre.

Eksponering for ethylenglycol gav ingen dødelighed hos hverken *Calanus hyperboreus* eller *Calanus finmarchicus*. Imidlertid blev det observeret, at ethylenglycol tilsyneladende påvirkede loppernes aktivitet. I forhold til kontrol var aktiviteten af dyr eksponeret for ethylenglycol markant reduceret ved alle testkoncentrationer fra dag 4.

Alle individer af *Calanus hyperboreus* døde hurtigt ved de 3 højeste testkoncentrationer af glutaraldehyd. Tilsvarende døde alle individer af *Calanus finmarchicus* ved de 2 højeste koncentrationer af glutaraldehyd. Resultatet indikerer, at *Calanus hyperboreus* er mindre tolerant end *Calanus finmarchicus*. Individer af begge arter er i forhold til kontroldyr inaktive selv ved den laveste testkoncentration på 0,1 mg/l af glutaraldehyd fra dag 2.

I testene blev der ikke registreret nogen effekter af dodecan og phenanthren.

Resultatet fra eksponeringen af de 2 arter med benzosyre og glutaraldehyd indikerede, at *Calanus hyperboreus* måske er mere følsom/mindre tolerant end *Calanus finmarchicus*.

I forhold til dødeligheden er der ingen indikationer på at hverken *Calanus hyperboreus* eller *Calanus finmarchicus* påvirkes ved lavere koncentrationer end hvad standard laboratorietest viser. EC50 og LC50 værdier for 2 og 4 dages test er angivet i Tabel 8.

Tabel 8. angiver EC50 og LC50 range for dafnie standardtest af 2-21 dages varighed. Data er ekstraheret fra ECHA (Det Europæiske Kemikalie Agentur) og ECOTOX (US-EPA).

	EC50/LC50 (mg/l)
Benzosyre	100-200
Ethylenglycerol	8600 - 34000
Glutaraldehyd	2 - 30
Dodecan	0,1-0,2
Phenanthren	0,2-0,7

6.5 Opsamling

Resultater af dette projekt indikerer, at den akutte toksicitet hos *Calanus hyperboreus* eller *Calanus finmarchicus* ikke er større end hvad, der er fundet i standard laboratorietest med f.eks. *Dafnia*. Kemikalier ophobet i lipiddepoter kan dels føre til en intern belastning af de voksne individer, primært i vintermånederne, hvor lipiddepoter mobiliseres, og dels kan kemikalier akkumuleret i lipider overføres til æg og larver.

I forbindelse med miljørisikovurdering af kemikalier og olieforbindelser i arktiske marine økosystemer anbefales det, at der sættes øget fokus på sublethale effekter på arktiske vandlopper og fiskelarver, samt at undersøge toksiske effekter på æg og larvestadier af kemikalier, som er ophobet og overført fra moderindividet.

7. Sammenfatning og anbefalinger

Miljøriskovurderingen af offshore-kemikalier i OSPAR er i dag baseret på data fra OECD/ISO standardtest og et pre-screeningssystem (OSPAR Recommendation 2017/1). I OSPAR-pre-screeningssystemet vurderes de enkelte kemikaliers egenskaber i forhold til bioakkumulering, bionedbrydelighed og toksicitet. Projektets formål er at udbygge vidensgrundlaget i forhold til miljørisikovurdering af offshore-kemikalier i forhold til anvendelse/udledning i højarktiske farvande. Det er et mål i projektet at belyse, om der i forhold til OSPAR-vurderingssystemet er behov for supplerende data om nedbrydning, bioakkumulering og toksicitet af kemikaliet under arktiske forhold og med arktiske organismer. Projektets formål er at forbedre myndighedernes grundlag i forhold til miljøvurdering og regulering af olie og gas efterforsknings- og udvindingsaktiviteter i arktiske havområder. Resultaterne søges desuden formidlet til Arktisk Råd og OSPAR.

Miljøet og biologien i højarktiske havområder er unikke og bl.a. kendetegnet ved lave temperaturer i overfladevandet året rundt, store sæsonmæssige variationer i solindstrålingen, stor udbredelse af havis og et dyre- og planteliv tilpasset et koldt klima og store sæsonvariationer. Kendetegnende for de arktiske organismer er bl.a. langsom metabolisme, vækst og udvikling, et højt indhold af lipid og korte fødekæder. På baggrund af dette anses de højarktiske økosystemer generelt for at være særligt sårbare overfor påvirkninger. Der foreligger i dag kun en begrænset viden om nedbrydning, bioakkumulering og toksicitet af kemikalier og olieforbindelser i højarktiske økosystemer.

Bionedbrydeligheden af modelstoffer er i projektet dels undersøgt i naturligt havvand fra Disko og Østgrønland jævnfør retningslinjer i OECD guideline 309 - *Simulering af aerob mineralisering af teststoffer under naturlige forhold i overfladevand*, dels i medie med aktivt slam jævnfør retningslinjer i henhold til OECD guideline 301 - *Bestemmelse af let bionedbrydelighed af stoffer med aktivt slam*, som er den typiske standard, der bruges til bestemmelse af bionedbrydelighed.

Der er generelt set usikkerheder forbundet med test af let nedbrydelighed udført ved f.eks. OECD guideline 301. Det er bl.a. fordi slam fra forskellige rensesanlæg kan have forskellige nedbrydningspotentialer, samt at de nedbrydningsrater og den aktuelle bionedbrydelighed, der fremkommer, ikke er sammenlignelige med dem, der forekommer i miljøet. Det anbefales derfor, at der altid udføres simuleringstests med havvand (f.eks. OECD guideline 309) i forbindelse med vurdering af offshore-kemikalier.

Indholdet af næringsstoffer, herunder indholdet af N og P, er lavt i mange havvandstyper og der forekommer årstidsvariationer. Der mangler viden om, hvordan næringsstoffebegrænsning kan påvirke nedbrydningen af kemikalier og olieforbindelser specielt i kolde isfyldte højarktiske farvande. Desuden kan en lav eller fuldstændig mangel på mineralisering også betyde en ufuldstændig omdannelse af teststoffet til et eller flere nedbrydningsprodukter, som kan have andre toksikologiske egenskaber end det oprindeligt tilsatte stof, hvilket øger vigtigheden af, at teste under miljøaktuelle forhold som med guideline 309. For at styrke datagrundlaget for miljørisikovurdering i højarktiske hav-

områder anbefales det, at næringsstofferne betydning for bionedbrydeligheden af kemikalier og oliestoffer ved højarktiske forhold belyses i supplerende studier under miljøaktuelle forhold som med OECD guideline 309.

Vandloppen *Calanus hyperboreus* er en nøgleorganisme i de højarktiske havområder, hvor den er et meget vigtigt fødegrundlag for havfugle, pelagiske fisk og hvaler. *Calanus hyperboreus* har et højt indhold af lipider og repræsenterer det generelt høje indhold af lipid, man finder i højarktiske organismer.

Risiko ved en bioakkumulering af kemikalier hos arktiske organismer er dels at det kan øge den interne eksponering i organismen i forbindelse med at lipid depoter mobiliseres i vinterperioder uden fødeindtag, dels at kemikalier kan blive overført til æg og larver.

Resultater oparbejdet i projektet indikerer, at bioakkumuleringen af kemikalier kan være markant større i den højarktiske vandloppe *Calanus hyperboreus* end hvad data fra oktanol/vand-fordelingskoefficienten og standard test indikerer. På denne baggrund anbefales det, at grundlaget for miljørisikovurderingen i arktiske havområder styrkes med studier, hvor bioakkumulering af kemikalier og oliestoffer undersøges i højarktiske organismer.

Kemikalier ophobet i lipiddepoter kan dels føre til en intern belastning i arktiske organismer i vintermånederne, hvor lipiddepoter mobiliseres, og dels kan kemikalier akkumuleret i lipider overføres til æg og derved belaste nye generationer. Desuden kan kemikalier ophobet i *Calanus hyperboreus* belaste fødekæden herunder fisk, havfugle og hvaler. Grundet størrelsen er *Calanus hyperboreus* en relativ let art at håndtere og lave analyser på. Grundet dette samt sin store betydning i de arktiske økosystemer anbefales det, at *Calanus hyperboreus* anvendes som testorganisme, når vidensgrundlaget skal styrkes i forhold til bioakkumulering og toksicitet på arktiske organismer.

I forbindelse med miljørisikovurdering af kemikalier og olieforbindelser i arktiske marine økosystemer anbefales det, at der sættes øget fokus på sublethale effekter på arktiske vandlopper og fiskelarver, samt på at undersøge toksiske effekter på æg og larvestadier af kemikalier, som er ophobet og overført fra moderindividet.

8. Referencer

AMAP 2008. Arctic oil and gas 2007. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP) Oslo, ISBN 978-82-7971-048-6. Arctic Council 2009. Arctic offshore Oil and Gas guidelines.

Camus L, Gardiner W, Hansen BH, Clark J, Word JQ, Sanni S, Titov O (2014). Ecotoxicology of oil and treated oil in the Arctic. In Word JQ (4ed) Environmental impacts of Arctic oil spills and Arctic spill response technologies. Literature review and recommendations. Arctic Oil Spill Response. Technology Joint Industry Programme, Section 6.

Camus L, Brooks S, Geraudie P, Hjorth M, Nahrgang J, Olsen GH, Smit MGD (2015) Comparison of produced water toxicity to Arctic and temperate species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 113:248-258. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.12.007

Chapman PM, Riddle MJ (2003) Missing and needed: Polar marine ecotoxicology. *Marine Pollution Bulletin* 46:927-928. doi:10.1016/S0025-326X(03)00252-2

Chapman PM, Riddle MJ (2005) Toxic effects of contaminants in polar marine environments. *Environmental Science & Technology* 39(9):200A-207A. doi:10.1126/science.198.4321.1029-a

DCE 2013. Forslag til strategi for miljøvurdering og bortskaffelse af boremudder og borekemikalier i forbindelse med olie- og gasaktiviteter i grønlandske farvande (<http://naalakkersuisut.gl/~media/Nanoq/Files/Hearings/2013/Boremudderstrategi%20DCE%202013/Documents/Boremudderstrategi%20-%20DCE%2014%20maj%202013%20incl%20eng%20summary.pdf>)

George-Ares & Febbo præsenterede på IOOSC 2011 erfaringer fra nogle nye undersøgelser (http://www.ioosc.org/papers_posters/IOOSC-2011-53-file001.pdf),

Gustavson, K., Tairova, Z, Wegeberg, S. and Mosbech, A. 2016. Baseline studies for assessing ecotoxicological effects of oil activities in Baffin Bay. Aarhus University, DCE – Danish Centre for Environment and Energy, 42 pp. Scientific Report from DCE – Danish Centre for Environment and Energy No. 187. <http://dce2.au.dk/pub/SR187.pdf>

Hoop DL, Schipper AM, Leuven RSEW, Huijbregts MaJ, Olsen GH, Smit MGD, Hendriks aJ (2011) Sensitivity of polar and temperate marine organisms to oil components. *Environmental Science and Technology* 45(20):9017-9023. doi:10.1021/es202296a

Larsen, A; Egge, JK Nejtgaard, JC; Di Capua, I; Thyrraug, R; Bratbak, G; Thingstad, TF (2015): Contrasting response to nutrient manipulation in Arctic mesocosms are reproduced by a minimum microbial food web model. *Limnol. Oceanogr.* 60: 360-374.

Lee R, Hagen W, Kattner G (2006) Lipid storage in marine zooplankton. *Marine Ecology Progress Series* 307(1863):273-306. doi:10.3354/meps307273.

OECD (1992): OECD guideline for the testing of chemicals 301. Ready biodegradability. 17. July 1992

OECD (2004): OECD guideline for the testing of chemicals 309. Aerobic mineralization in surface water – simulation biodegradation test. 13. April 2004

OECD (2014): OECD guideline for the testing of chemicals 310. Ready biodegradability – CO₂ in sealed vessels (Headspace test). September 2014

OSPAR (2017): OSPAR recommendation 2017/1 on a harmonized pre-screening scheme of offshore chemicals. OSPAR 17/19/1, annex 8

OECD guideline 107 - Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method, 1995

OECD guideline 123 - Partition Coefficient (1-Octanol/Water): Slow-Stirring Method, 2006

Olsen G.H, Smit MGD, Carroll J, Jæger I, Smith T, Camus L. (2011) Arctic versus temperate comparison of risk assessment metrics for 2-methyl-naphthalene. *Marine Environmental Research* 72(4):179-187. doi:10.1016/j.marenvres.2011.08.003

Scheibye K; Christensen JH; Johnsen AR (2017) Biodegradation of crude oil in Arctic subsurface water from the Disko Bay (Greenland) is limited. *Environ Poll.* 223:73-80

Thingstad, TF; Bellerby, RGJ; Bratbak, G; Borsheim, KY; Egge, JK; Heldal, M; Larsen, A; Neill, C; Nejtgaard, J; Norland, S; Sandaa, RA; Skjoldal, EF; Tanaka, T; Thyrhaug, R; Topper, B (2008) Counterintuitive carbon-to-nutrient coupling in an Arctic pelagic ecosystem. *Nature.* 455: 387-391

FORBEDRING AF VIDENSGRUNDLAGET FOR MILJØRISIKOVURDERING FOR ANVENDELSE OG UDLEDNING AF OFFSHORE-KEMIKALIER I ARKTISKE HAVOMRÅDER

I forbindelse med efterforskning og udvinding af olie og gas anvendes en lang række kemikalier som ved udledning kan belaste havmiljøet. Projektets mål er at udbygge vidensgrundlaget i forhold til miljørisikovurdering af kemikalier i forhold til anvendelse og udledning i arktiske havområder. Målgruppen for projektet er miljømyndigheder, arbejdsgrupper under OSPAR og Arktisk Råd. I projektet er bionedbrydelighed, bioakkumulerbarhed og toksicitet af udvalgte modelstoffer undersøgt ved arktiske forhold og på arktiske organismer. I rapport er angivet resultater og anbefalinger. Målgruppen for projektet er miljømyndigheder, arbejdsgrupper under OSPAR og Arktisk Råd.