



Miljøministeriet  
Naturstyrelsen

# Annex A Resultattabeller og beregninger fra åle- kvabbeeksperiment

# Kolofon

**Titel:**

Resultattabeller og beregninger fra åle-  
kvabbeeksperiment

**URL:**

[www.nst.dk](http://www.nst.dk)

**ISBN nr. elektronisk version:**

978-87-7279-282-8

**Emneord:****Udgiverkategori:**

Statslig

**Udgiver:****Ansvarlig institution:****Copyright:**

Må citeres med kildeangivelse.

**Forfattere:**

Nanna Brande-Lavridsen, Poul  
Bjerregaard & Bodil Korsgaard,  
Syddansk Universitet. Jakob Strand &  
Ingela Dahllöf, Institut for Bioscience,  
Aarhus Universitet  
Universitet

**Andre bidragydere**

Birgit Søborg, Zhanna Tairova, Gitte  
Jakobsen, Jette Porsgaard, Anette Birk  
Vorup, Kim Gustavson.

**Sprog:**

Dansk

**År:**

2011

# Indhold

Forord .....	7
Beregningsgrundlag for eksponering .....	9
Tabel 1 - Laboratorier .....	11
Tabel 2 - Analysemetoder og kvalitetsdata .....	12
Tabel 3 - Biologiske data for ålekvabber .....	13
Tabel 4 – Miljøfarlige stoffer i æg, Dag 3 .....	14
Tabel 5. Miljøfarlige stoffer i unger .....	15
Referencer .....	17



# Forord

Dette annex indeholder kompletterende tabeller samt beregningsgrundlag for eksponeringsforsøget med ålekvabber.

Den samlede rapportering af forsøget findes i;

- Eksponeringsforsøg med ålekvabbe, NST 2011



# Beregningsgrundlag for eksponering

De i forsøget anvendte doser blev beregnet ud fra to forskellige principper, dels baseret på indholdet af kemikalierne i ålekvabbernes føde (her estimeret ud fra indholdet i muslinger), dels baseret på indholdet af kemikalier i ålekvabberne i områderne med de højeste misdannelsesfrekvenser. Indledningsvis foretoges beregninger, så de indgivne doser ville resultere i koncentrationer henholdsvis 10 og 100 gange højere end koncentrationerne fundet i kontaminerede områder.

## *Beregning ud fra indholdet i muslinger*

Det forudsattes i beregningen, at en standardålekvabbe på 60 g vådvægt æder ca. 5 gram tørstof på en uge, og at én uges indtagelse af kemikalier var den dosis, vi ønskede at injicere på eksponeringens dag 0. Data for koncentrationerne af kemikalierne i blåmuslinger i de kontaminerede områder er taget fra det marine overvågningsprogram (NOVANA).

## *Beregning ud fra indholdet i ålekvabber*

For de kemikalier, hvor der fandtes data (Cu, TCDD, TBT, PFOS & BFR) blev der udregnet doser baseret på forskellene i koncentrationerne for ålekvabberne fra Agersø og Roskilde/Frederiksværk. Der blev anvendt gennemsnits-vævsproportioner: det blev antaget, at muskler, lever, ovarie og rest udgør henholdsvis 60, 2, 3 og 35 % af dyret. For de fleste af kemikalierne fandtes data for koncentrationerne i muskel, lever og ovarie. Koncentrationen af kemikalier i resten af dyret blev sat til halvdelen af musklernes.

Der blev taget udgangspunkt i augustkoncentrationer, da det er fra sidst i august og nogle uger fremad, at misdannelserne induceres. Den højeste værdi for Roskilde/Frederiksværk blev brugt. For BDE-47 fandtes ingen analyser af koncentrationen i leveren, og leverens koncentration blev sat til det samme som musklernes. Ud fra disse data blev de doser beregnet, som bringer ålekvabberne fra Agersø-niveau til 10 og 100 gange Roskilde/Frederiksværk-niveau ved én injektion på dag 0.

Resultat baseret på muslingedata:

Cu	TBT	Pyren	TCDD	BFR-47	PFOS	NP	
µg/g	ng/g	ng/g	pg/g	ng/g	ng/g	ng/g	
17	13	208	0.33	0.25	3	100	Dk10
167	125	2083	3	3	33	1000	Dk100

Resultat baseret på koncentrationer i ålekvabber:

Cu	TBT	Pyren	TCDD	BFR-47	PFOS	NP	
µg/g	ng/g	ng/g	pg/g	ng/g	ng/g	ng/g	
9	2.3		15	0.65	494		DK-10
89	23		153	6.5	4940		DK-100

Ovenstående tabeller giver resultatet af beregningerne som pico-, nano- eller mikrogram kemikalie pr. gram vådvægt ålekvabbe.

For flertallet af kemikalierne giver de to beregningsmåder doser, der ligger i sammenlignelige størrelsesordner, og forslaget til DK-10 og DK-100 et kompromis mellem de to beregningsmetoder. For PFOS er der imidlertid meget stor forskel på de to beregningsmetoder; dette skyldes især leverens høje koncentration, som giver et højt bidrag i den ene beregningsmetode.

Kompromis:

Cu	TBT	Pyren	TCDD	BFR-47	PFOS	NP	
µg/g	ng/g	ng/g	pg/g	ng/g	ng/g	ng/g	
10	5	200	10	0.5	100	100	Forslag til DK-10
100	50	2000	100	5	1000	1000	Forslag til DK-100

#### *Implementering i forsøget*

Indledende pilotforsøg viste, at Dk100 udviste toksiske effekter hos ålekvabberne, hvorfor den højeste dosis reduceredes til 50 gange Roskilde/Frederiksværk-belastningen. Kobbersalte kunne ikke opløses i jordnøddeolie, og de beregnede doser gav toksiske effekter efter injektion i vandig opløsning. Kobber udgik derfor af Dk-blandingerne, og den anvendte kobberdosis (som enkeltstof) reduceredes kraftigt.

Det var af afgørende betydning, at vi fik ålekvabbernes kemikalieindhold op hurtigt efter indfangningen, når æggene var befrugtede. Med henblik på at holde kemikaliebelastningen passende høj i løbet af forsøget – og det var vigtigst i forsøgets første 2-3 uger – bød de valgte kemikalier på forskellige udfordringer:

De svært omsættelige stoffer – f.eks. TCDD, PFOS og flammehæmmeren – forventedes at forblive i dyrene gennem forsøget, efter de blev injiceret på dag 0. TBT og kobber var sværere at forudsige skæbnen for. Hurtigt omsættelige stoffer som pyren og nonylphenol blev formentlig omsat og udskilt efter få dage; her kunne vi have valgt en eller to ekstra injektioner efter 1 og 2 uger, men på grund af den indledningsvist høje dødelighed i forsøget, undlodtes dette.

#### *Dk50 - Fremstilling af Stamopløsning 1 til ålekvabbeforsøget (15 ml)*

TCDD - Hjemkøbt stock: 10 µg/ml (= 10 ng/µl). Der skal sættes 360 ng til de 15 ml jordnøddeolie.

36 µl tilsættes de 15 ml jordnøddeolie direkte fra den hjemkøbte ampul.

TBT- Udregningen er baseret på indholdet af tin. Sn: 118,70 g/mol; TBT-Cl: 325,51 g/mol. 0,4936 mg TBT-Cl skal sættes til 15 ml jordnøddeolie. 49,3 mg = 42,9 µl afvejes og opløses i 10 ml EtOH (→ 4,93 mg/ml). 0,1 ml sættes til 15 ml jordnøddeolie.

Pyren- 7,2 mg sættes til 15 ml jordnøddeolie. 72 mg afvejes og opløses i 1,0 ml olie. 0,1 ml (= 7,2 mg) sættes til 15 ml jordnøddeolie.



## Tabel 1 - Laboratorier

*Tabel 1. Laboratorier som har udført analyser i FORMÅL.*

<b>Laboratorium</b>	<b>Analyse</b>
Afdelingen for Marin Økologi, Danmarks Miljøundersøgelser, Aarhus Universitet	Biometri, reproduktiv succes, CYP1A, protein, PAH-metabolitter, metaller, organotin
Afdeling for Miljøkemi og Mikrobiologi, Danmarks Miljøundersøgelser, Aarhus Universitet	Bromerede flammehæmmer, Nonylphenol, lipid
Afdelingen for Atmosfærisk Miljø, Danmarks Miljøundersøgelser, Aarhus Universitet	Dioxin, PFOS

## Tabel 2 - Analysemetoder og kvalitetsdata

Tabel 2. Analysemetoder og kvalitetsdata.

Analyse	Enhed	Detektionsgrænse	Usikkerhed %	Målemetode
<b>Organotin</b>				
Tributyltin (TBT)	µg Sn/kg vv	0,1	5	GC-PFPD
DibutyltinDBT	µg Sn/kg vv	0,1	14	GC-PFPD
Monobutyltin (MBT)	µg Sn/kg vv	0,5	10	GC-PFPD
<b>BFR</b>				
BDE-47	µg/kg TS	0,098	5,4	GC-MS
BDE-49	µg/kg TS	0,014	7,6	GC-MS
<b>PFAS</b>				
Perfluorooctane sulfonate (PFOS)	µg/kg vv	0,2	11,4	LC-MS-MS
<b>Nonylphenol</b>				
NP	ng/g vv	10	20	GC-MS
<b>Dioxin</b>				
2378-TCDD	ng/kg vv	0,02	3	GC-HRMS
<b>Tørstof</b>	% vådvægt		3,0	DS 204
<b>Lipid</b>	% af vådvægt		1,1	Smedes (1999)
<b>CYP1A/EROD</b>	pmol resorufin/min/ mg protein	1	15	Enzym kinetik, fluorescens <sup>1</sup>
<b>Protein</b> (kalibreret mod BSA)	mg/ml	2	15	Bradford (1976)
<b>PAH-metabolitter</b>	µg/ml 1-hydroxy- pyrene ækvivalenter	0,05	10	Synkron fluorescens scan <sup>2</sup>

vv = vådvægt, TS = tørstof.

<sup>1)</sup> Stagg & McIntosh 1998.

## Tabel 3 - Biologiske data for ålekvabber

Tabel 3. Biologiske data for de indsamlede ålekvabber.

Gruppe	Tidspunkt	Antal hunner	Antal kuld	Længde hunner (cm) Middel (min-max)	Vægt hunner (g) Middel (min-max)	Antal unger i kuld Middel ±SD	Længde Unger (g) Middel ± SD	Vægt kuld (g) Middel ± SD	% kuld med > 5 % type 0	% kuld med > 5 % type A	% kuld med > 5 % type B-G	% kuld med > 5 % type I
Kontrol	nov. 10	14	12	28,3 (26,4-30,4)	77,5 (48,5-96,8)	122,6 ± 29,8	33,1 ± 2,0	17,8 ± 4,1	16.7	0.0	0.0	16.7
Dk10	nov. 10	17	16	28,7 (26,9-32,7)	77,7 (61,1-111,1)	114,2 ± 54,1	34,0 ± 2,7	16,3 ± 6,6	37.5	0.0	18.8	25.0
Dk50	nov. 10	20	18	28,4 (22,1-31,5)	73,6 (37,3-114,6)	95,3 ± 49,5	33,7 ± 3,9	13,1 ± 4,3	44.4	0.0	5.6	16.7
Dk50+	nov. 10	15	13	27,8 (25,7-30,0)	68,3 (53,8-88,6)	87,8 ± 43,9	35,4 ± 4,9	13,8 ± 5,2	38.5	0.0	23.1	15.4
Dk+	nov. 10	7	6	25,5 (19,8-31,0)	61,6 (31,8-89,1)	95 ± 27,4	33,4 ± 1,9	14,5 ± 4,9	16.7	0.0	16.7	0.0
TBT	nov. 10	5	5	27,9 (26,9-29,3)	68,4 (58,1-79,1)	93,4 ± 42,6	36,7 ± 2,6	17,1 ± 6,3	75.0	0.0	75.0	0.0
Pyren	nov. 10	5	4	28,2 (27,2-28,7)	71,2 (50,0-84,4)	77,0 ± 44,2	33,8 ± 2,4	12,7 ± 5,5	40.0	0.0	20.0	20.0
TCDD	nov. 10	5	5	27,7 (24,2-30,9)	64,4 (46,8-84,8)	89,8 ± 35,8	34,1 ± 2,0	14,4 ± 4,9	20.0	0.0	0.0	0.0
Cu	nov. 10	7	7	28,7 (27,0-30,4)	75,9 (67,1-86,2)	111,1 ± 38,6	35,1 ± 2,0	18,9 ± 3,9	28.6	14.3	0.0	28.6
Kontrol D0	sep.10	16	-	28,4 (25,0-33,0)	87,6 (62,0-126)	-	-	-	-	-	-	-
Kontrol D3	sep. 10	10	-	28,1 (26,0-31,0)	84,6 (64-112)	-	-	-	-	-	-	-
Dk50+ D3	Sep. 10	6	-	28,4 (26,0-30,5)	90,0 (77-106)	-	-	-	-	-	-	-

KI: Konditionsindeks

LSI: Lever-somatisk indeks er levervægt divideret med somatisk vægt.

GSI: Gonade-somatisk indeks er gonade/kuldvægt divideret med somatisk vægt.

RK: Reproduktiv kapacitet er antal under divideret med totalvægten af hunnen.

Type 0, A og B-G er karakterisering af forskellige typer af fejludvikling hos unger, som er karakteriseret ifølge Strand & Dahllöf 2005.

## Tabel 4 - Miljøfarlige stoffer i æg, Dag 3

Tabel 4. Miljøfarlige stoffer i æg, Dag 3 efter 4r eksponering.

		Kontrol	Dk50+
<b>Organotin</b>			
TBT	µg Sn/kg TS	3,36	51,4
DBT	µg Sn/kg TS	1,99	1,99
MBT	µg Sn/kg TS	3,64	3,64
<b>Dioxin</b>			
2378-TCDD	ng/kg TS	0,00	0,00
TEQ		0,55	0,55
<b>PFOS</b>			
PFOS	ng/kg TS	34,2	34,2
<b>BFR</b>			
BDE-47	µg/kg TS	0,38	0,38
BDE-209	µg/kg TS	0,64	0,64
<b>Nonylphenol</b>			
NP	ng/kg TS	10,6	10,6
<b>Tørstof</b>			
Tørstof	%	12,3	12,3
<b>Lipid</b>			
Lipid	% af TS	2,5	2,5

TS = tørstof.

## Tabel 5 - Miljøfarlige stoffer i unger, november

Tabel 4. Miljøfarlige stoffer i unger, november.

		Kontrol	Dk50+
<b>Organotin</b>			
TBT	µg Sn/kg TS	9,69	9,69
DBT	µg Sn/kg TS	1,58	1,58
MBT	µg Sn/kg TS	6,02	6,02
<b>Dioxin</b>			
2378-TCDD	ng/kg TS	0,00	0,00
TEQ		0,46	0,46
<b>PFOS</b>			
PFOS	ng/kg TS	16,9	16,9
<b>BFR</b>			
BDE-47	µg/kg TS	0,26	0,26
BDE-209	µg/kg TS	0,39	0,39
<b>Nonylphenol</b>			
NP	ng/kg TS	39,8	39,8
<b>Tørstof</b>			
Tørstof	%	10,4	10,4
<b>Lipid</b>			
Lipid	% af tørstof	1,6	1,6

TS = tørstof,

## Tabel 6 – PAH-metabolitter og EROD i hunner

Tabel 5. PAH-metabolitter og EROD i hunner.

Gruppe	Tidspunkt	PAH-metabolitter	EROD
		µg/ml galde	pmol/min mg protein
Kontrol	Dag 0	0,38	7,45
Kontrol	Dag 3	0,47	4,59
Dk50+	Dag 3	19,6	6,63
Kontrol	Nov. 10	0,51	7,75
Dk10	Nov. 10	0,87	14,6
Dk50	Nov. 10	7,28	11,5
Dk50+	Nov. 10	2,30	34,9
Pyren	Nov. 10	25,7	16,1

# Referencer

- Ariese, F, Beyer, J., Jonsson, G, Visa, C,P, & Krahn, M,M, 2005: Review of analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic compounds (PACs) in fish bile, - ICES Techniques in Marine Environmental Sciences No,39, 41 pp,
- Bradford, M,M, 1976: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, - Analytical Biochemistry 72: 248-254,
- Smedes, F, 1999: Determination of total lipid using non - chlorinated solvents, - Analyst 124: 1711–1718,
- Stagg, R, & McIntosh, A, 1998: Biological effects of contaminants: Determination of CYP1A-dependent mono-oxygenase activity in dab by fluorimetric measurement of EROD activity, - ICES Techniques in Marine Environmental Sciences No, 23, 16 pp,
- Strand, J, & Dahllöf, I, 2005: Teknisk anvisning for marin overvågning, 4.5 Biologisk effektmonitoring - muslinger, NOVANA, Danmarks Miljøundersøgelser, Teknisk anvisning fra DMU's Marine Fagdatacenter, 15 s,



Naturstyrelsen  
Haraldsgade 53  
2100 København  
[www.nst.dk](http://www.nst.dk)