

TBT i forurensede sedimenter

Potensiell utlekking fra deponier og
toksiske virkninger ovenfor jordlevende
organismer

Trine Eggen, Arne Stuanes, Ivar Muniz,
Carl Einar Amundsen, Line Sverdrup

Jordforsk rapport nr. 68/03

Tittel:

TBT i forurensede sedimenter
- utlekking og toksisitet ovenfor jordlevende organismer

Forfatter(e):

Trine Eggen, Arne Stuanes, Ivar Muniz, Carl Einar Amundsen, Line Sverdrup.

Dato: 19.12.03	Tilgjengelighet: Åpen	Prosjekt nr.: 3740	Arkiv nr.: 6.02.05
Rapport nr.: 68/03	ISBN-nr.: 82-7467-496-0	Antall sider: 29	Antall vedlegg:

Oppdragsgiver:

Statens forurensningstilsyn, SFT

Kontaktperson(er):

Kari Kjørnigsen

Stikkord:

Tributyltinn, TBT, sedimenter, utlekking, toksisitet

Fagområde:

Jordforurensning

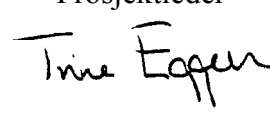
Sammendrag:

God karakterisering er viktig med tanke på de mange vurderinger og tiltak som skal gjøres i forbindelse med forurensede sedimenter. I pilotprosjektet for sedimentopprydding i Horten havn ble det gjennomført en grundig karakterisering av sedimentet. Det ble påvist en klar sammenheng mellom organisk innhold og TBT-konsentrasjon. Høyest TBT-konsentrasjon ble funnet i de minste partikkelfraksjonene som i dette tilfellet utgjorde en liten andel vurdert på vektbasis. Dette har betydning både i forhold til valg av behandlingstiltak som for eksempel partikkelseparering av utvalgte fraksjoner, og for vurderinger av mulig spredning av tinnorganiske forbindelser via partikkeltransport ved mudringstiltak og deponering på land. Utvaskingsforsøk som simulerte normale nedbørsmengder i østlandsområdet (1000 mm årsnedbør ved kysten) over en periode på ca. 9,5 år, viste at utlekkingen av TBT var høyere enn for nedbrytningsproduktene. TBT-konsentrasjonen i utvaskingsvannet sank relativt rask i løpet av første års nedbørstilsetting, men det var videre en jevn og relativt konstant utlekking gjennom resten av testperioden. Dette indikerer at et TBT-forurensset sediment vil kunne være en langvarig kilde til TBT-utlekking over tid. Forutsatt en lav nedbrytningshastighet, vil det være betydelige mengder utlekkbare tinnorganiske-forbindelser igjen i sedimentet selv etter en estimert nedbørsutvaskingsperiode på 9,5 år.

Ansvarlig leder

.....
Øistein Vethe

Prosjektleder


.....
Trine Eggen

Forord

I tilknytning til Horten Havnevesens arbeid med bygging av nytt anløpspunkt i Horten havn og planer om deponering av forurensede sedimenter på land, ble det med økonomisk støtte fra Statens forurensningstilsyn igangsatt et pilotprosjekt relatert til problemstillinger rundt tributyltinn (TBT) og deponering på land.

Pilotprosjektet inkluderte både eksperimentelt arbeid og modellbaserte beregninger av transport/utlekkingspotensiale av TBT fra sedimenter på land, samt toksiske virkninger av TBT på jordlevende invertebrater (spretthaler og enchytraeider), og er beskrevet i rapport "Pilotprosjekt – Horten havn, TBT-forurensede sedimenter". Prosjektkoordinator for hele pilotprosjektet var Norconsult AS.

Den foreliggende rapporten presenterer kun de praktiske og eksperimentelle delene av prosjektet knyttet til utlekking og toksisitet av TBT, og gir en oppsummering og forenkling av konklusjonene fra arbeidet. Institutt for jord- og vannfag ved NLH med Prof. Arne Stuanes og Norsk institutt for naturforskning med seniorforsker Ivar Muniz har vært viktige bidragsyttere i prosjektet.

Innhold

Sammendrag	1
1. Innledning	3
1.1. TBT og bindingsegenskaper	4
1.2. TBT og nedbrytningsegenskaper	4
1.3. Effekter på terrestriske økosystemer	4
2. Eksperimentelt arbeid	6
2.1. Karakterisering av sediment fra Horten havn	6
2.2. Utlekkingslekkingsforsøk	6
2.3. Toksisitetstesting av TBT	7
3. Resultater og diskusjon	12
3.1. Kjemisk-fysisk karakterisering av sediment	12
3.2. Mineralsammensetning i sediment	14
3.3. Utlekkingspotensiale av TBT ved deponering på land	15
3.4. Effekter på terrestriske økosystemer	18
4. Hva lærte vi?	21
5. Referanser	22

Tinnorganiske forbindelser har vært brukt som antibegroingsmiddel på båter, bl.a. i maling og bunnstoff. Man finner nå ofte disse stoffene igjen i sedimenter og muddermasser, og i konsentrasjoner som overstiger grenseverdiene for dumping av mudringsmasser i sjøen. Mest utbredt er tributyltinn (TBT), dibutyltinn (DBT), og monobutyltinn (MBT), men også trifenyлтinn, difenyлтinn og monofenyлтinn er påvist i en del sedimentprøver i Norge. Forurensede sedimenter og muddermasser som ikke tillates dumpet i sjøen, planlegges ofte deponert på land. For å unngå å forflytte miljøproblemer fra marint til terrestrisk miljø, er det behov for kunnskap om hvordan tinnorganiske stoffer brytes ned i sedimenter og jord, og hvor lett de lekker ut og transporteres i sediment og jord når det blir deponert på land.

I dette arbeidet har TBT-forurensset sediment fra Horten havn blitt karakterisert og brukt til utlekkingsforsøk samt testet for effekter på jordlevende dyr.

Resultatene viste at:

- I TBT-forurensset sediment fra Horten havn var fraksjonen fin sand til grov silt (0,2-0,02 mm) dominerende og utgjorde nærmere 80 % av sedimentet. Innholdet av organisk karbon var lavt, 0,3 %. Mer enn 50 % av den totale TBT-mengden i sedimentet var knyttet til partikkelfraksjonen < 6 µm. **Dette har betydning både i forhold til valg av behandlingstiltak, for eksempel partikkelseparering av utvalgte fraksjoner, og for vurderinger av mulig spredning av tinnorganiske forbindelser ved deponering på land via partikkeltransport.** Partikler mindre enn 6µm vil kunne transporteres med vann både via overflateavrenning og gjennom porer i jord. Det er derfor svært viktig at sedimentene i minst mulig grad utsettes for erosjon ved deponering på land, og at tiltak iverksettes for å redusere spredning av partikkelfraksjoner som inneholder betydelige mengder TBT.
- Utvaskingsforsøk med Horten-sedimentet viste at med nedbørmengder som antas som normalt i østlandsområdet (1000 mm årsnedbør ved kysten) og som tilsvarer ca. en 9,5 års periode, var utlekkingen av TBT høyere enn for nedbrytningsproduktene DBT og MBT. TBT-utlekkingen i denne perioden var 0,5 % av totalt innhold i sedimentet, i sammenligning med 0,2-0,3 % for DBT og MBT. Selv om TBT-konsentrasjonen sank relativt raskt i løpet av ca. 1 års nedbørstilsetning, var det videre en jevn og relativt konstant utlekking gjennom resten av testperioden. **Dette indikerer, forutsatt en lav nedbrytningshastighet, at TBT-forurensset sediment vil kunne være en langvarig og stabil kilde til TBT-utlekking og at det vil være betydelige mengder utlekkbare tinnorganiske forbindelser igjen i sedimentet selv etter en estimert nedbørstilsetning tilsvarende 9,5 år.**
- Bestemmelse av utlekkingspotensialet for TBT fra Horten-sediment i risteforsøk, viste at TBT må betraktes som svært utlekkbar ($K_d \approx 200$ L/kg) (Eggen, T. et al., 2003) i forhold til andre organiske miljøgifter som ofte påvises i sedimenter, for eksempel PAH og PCB.

- Konsentrasjonen av TBT i forurenset sediment i denne studien (280 µg/kg) er i samme størrelsesorden som effektnivået for TBT som vi finner i testene med enchytraeider (10 % reduksjon i reproduksjon (EC_{10}) = 200 µg/kg) og spretthaler (EC_{10} = 1200 µg/kg) i sediment som var kunstig tilsatt TBT. De beregnede 50 % effektkonsentrasjonene for henholdsvis reproduksjon (EC_{50}) og overlevelse (LC_{50}) for de samme artene var EC_{50} = 670 µg/kg og LC_{50} = 3200 µg/kg (enchytraeider) og EC_{50} = 2100 µg/kg og LC_{50} = 6400 µg/kg (spretthaler). Dette er høyere enn konsentrasjonen i vårt utgangssediment. Ved avrenning fra deponert sediment, vil TBT – konsentrasjonen i omkringliggende jord være mye lavere enn i opprinnelig sediment.

1. Innledning

I marine systemer har TBT bl.a. vist seg å medføre imposex hos bløtdyr (snegl). Imposex opptrer ved svært lave konsentrasjoner i vannfasen, helt ned i 1 ng/l, og det er blitt rapportert høy grad av bioakkumulering. Mange steder langs norskekysten er det påvist sedimenter med TBT-konsentrasjoner som overstiger SFTs klassifisering ”meget sterkt forurensset” (Berge et al., 1997). I forbindelse med mudring og fjerning av disse forurensede sedimentene, er deponering på land et mulig alternativ. Før tillatelser og krav i forbindelse med landdeponering fastsettes, er det viktig å øke kunnskapen om utlekkings- og spredningspotensialet for TBT og toleransegrenser for TBT i terrestrisk miljø.

Det finnes lite tilgjengelig litteratur om tinnorganiske forbindelsers frigjørings- og bindings egenskaper (sorpsjonsegenskaper) til jord- og sedimenter, og deres effekter på terrestriske økosystemer. Arbeidet med å fylle disse kunnskapshullene har derfor både en nasjonal og internasjonal betydning.

Kunnskapene om virkningene i marint miljø er betydelig bedre og man vet at bløtdyr er svært følsomme for TBT og det er registrert ulike negative effekter, blant annet imposex (hunner utvikler mannlige kjønnsorganer) ved TBT-konsentrasjoner ned til 1 ng/l i vannfasen. Det er påvist butyltinn i organer hos pattedyr, oter (*Lutra canadensis*) (Kannan et al., 1999) og sjøfugl og ender (Kannan et al., 1998). Høyest butyltinnkonsentrasjoner er funnet i nyre og lever, og viser at disse stoffene akkumuleres via en annen mekanisme enn tradisjonelle fettløselige miljøgifter som for eksempel PCB og DDT. En studie fra Japan som undersøkte biomagnifisering (oppkonsentrering) av butyltinn i storskarv (*Phalacrocorax carbo*), beregnet en oppkonsentreringsfaktor fra fisk til storskarv på mellom 1.1-4.1 (Guruge et al., 1996).

En annen studie viste oppkonsentrering av trifenylytinn (TFT) i næringskjeden i en innsjø i Nederland (Ståb et al., 1996). Graden av oppkonsentrering av tributyltinn var mindre enn for TFT. I lever fra fisk og fugl ble det funnet høye konsentrasjoner av TBTs nedbrytningsforbindelser DBT og MBT, men ikke av TFT. Dette indikerer at det skjer en omforming (metabolisering) av TBT i lever, og i en større grad enn hva som er tilfelle for TFT. Når det gjelder effekter av TBT på terrestrisk miljø er svært lite kjent. Det er svært viktig å ha kunnskap om TBTs egenskaper i forhold til utlekking, nedbrytning og effekter på det terrestriske økosystemet før en tillater deponering av TBT-forurensede sedimenter i strandkant- eller landdeponi. Strandkantdeponering av sedimenter forurensede lett utvaskbare miljøgifter vil i løpet av kort tid lekke ut miljøgiftene.

Målsetningen med dette arbeidet har vært å bestemme:

1. Hvilke partikkelstørrelser som dominerer i sedimentet og til hvilke av partikkelfraksjonene forurensningene er bundet. Det er viktig informasjon i forhold til valg av behandling og rensing av massene.
2. Hvor stor andel av den totale forurensningen man kan anta vil transporteres ut fra sedimentene i form av kolloider.
3. Økotoksikologiske effektverdier på noen jordlevende arter.

1.1. TBT og bindingsegenskaper

TBT er en kationisk metallorganisk forbindelse, og bindings- og frigjøringsprosesser påvirkes sterkt av ulike miljøparametere som pH, ionestyrke og ionesammensetning, samt mengde av organisk materiale (Arnold et al., 1997 og 1998; Berg et al., 2001; Weidenhaupt et al., 1997).



Bindings- og frigjøringsprosesser for TBT karakteriseres som raske i forhold til andre organiske miljøgifter som vanligvis forefinnes i sedimenter. Undersøkelser viser at tinnorganiske forbindelser generelt har lav bindingskapasitet til rene mineraler. I disse forsøkene var fordelingskoeffisienten, K_d , (forholdet mellom TBT bundet til jord eller sedimenter og TBT løst i vann ved likevekt), i størrelsesorden 30 til 80 l/kg (Weidenhaupt et al., 1997). Dette er imidlertid også avhengig av mineralsammensetningen, for eksempel graden av pH-avhengige ladninger på mineraloverflaten og mineralstrukturen. Tinnorganiske stoffers binding til organisk materiale er derimot mye sterkere og fordelingskoeffisienten for naturlige sedimenter med lavt til høyt innhold av organisk karbon varierer mellom 100-100000 l/kg (Berg et al, 2001; Arnold et al, 1998). En studie fra Miljøstyrelsen kunne ikke påvise noen entydig sammenheng mellom bindingsgrad av TBT i sedimenter og redoks-forhold (oksygen-innhold) (Andersen et al., 2003). De hadde undersøkt sedimenter fra tre ulike havneområder; fiskerihavn, industrihavn og småbåthavn.

Bindingsegenskapene varierer med pH og høyest bindingsevne finner man i området pH 6-7, dvs. rundt verdien for TBTs dissosiasjonskonstant ($\text{pKa } 6,25$). I dette pH-området er forholdet mellom positivt ladede TBT ioner og negativt ladede mineraloverflater høyest. Ved lavere pH vil TBT få større konkurranse fra andre kationer (positivt ladede ioner) og dermed lavere bindingsevne og lavere fordelingskoeffisient. Ved høyere pH-verdier vil TBT foreligge som en ikke-ladet forbindelse (TBT-OH) som vil ha en lavere bindingsgrad til mineraloverflater. Ettersom tilstedeværelsen av andre positivt ladede forbindelser eller ioner konkurrerer med TBT om bindingsstedene på mineraloverflaten, vil bindingskapasitet for TBT være lavere i saltvann enn i ferskvann.

1.2. TBT og nedbrytningsegenskaper

Halveringstidene for triorganiske tinnforbindelser er i litteraturen oppgitt til å være svært lang i sedimenter; i overflate sedimenter 1-2 år, men helt opptil 20 år under sterkt anaerobe (oksygenfrie) forhold. I vannfasen derimot er halveringstidene langt raskere, i størrelsesorden 1-3 uker (Sarradin et al., 1991; Dowson et al., 1993).

1.3. Effekter på terrestriske økosystemer

Det at TBT-holdige marine sedimenter blir tatt opp og plassert i landbaserte deponier, reiser enn rekke økologisk sett viktige problemstillinger.

Virkninger av TBT og dets nedbrytningsprodukter på terrestrisk miljø er lite kjent.

En sammenstilling av de mest kjente aspektene knyttet til toksisitet og TBT er punktvis nevnt her (Davidson, 1995).

- TBT er et effektivt antibegroingsmiddel og er ansett som det giftigste stoff som man med viten og vilje har sluppet ut i miljøet
- Andre kilder for TBT enn skipsmaling og bunnstoff på båter, er som algedreper i treimpregnering, rensemidler for interiører og som desinfeksjonsmidler med sanitært tilsnitt
- TBT har høy giftighet og virkninger oppstår på nanogram-nivå og har skadelige effekter på en rekke "non-target" organismer
- TBT har lang nedbrytningstid i sedimenter (300-500 dagers halveringstid er rapportert), men relativt kort nedbrytningstid i vannfasen (uker). Nedbrytningsproduktene som dannes ved debutylering, dibutyltinn og monobutyltinn, er mindre giftige enn TBT.
- TBT tas opp i organismene og anrikes i visse vevstyper
- TBT og dets nedbrytningsprodukter vil organismene kunne skille ut via fysiologiske prosesser
- TBT i organismer over et gitt nivå fører til subletale effekter og er manifestert ved
 - deformerte skall hos bløtdyr
 - redusert kroppsvekt
 - imposex som resulterer i sterilitet og reproduksjonstap, i verste fall lokale tap av hele artsbestander
- Alle karakteristiske effekter som til nå er assosiert med TBT-forgiftning ser ut til å være hormonelt regulert
- TBT passerer fettholdige cellemembraner og påvirker viktige stoffskifteprosesser som for eksempel de som er koplet opp mot vitamin D-syntesen og kalsiumstoffskifte
- TBT og enkelte hormoner deler de samme metabolske rutene i cellene.
- TBT-tester på pattedyr viser nevrologiske effekter
- Nyere forskning har vist at TBT kan føres opp i næringskjeden, for eksempel fra vannfase → planteplankton → planktonetere → fugl.

Basert på det man vet om virkningsmekanismen av TBT på cellenivå og marine organismer, er det viktig å ha god kjennskap til toleransen av TBT i terrestrisk miljø før man forflytter TBT-problemet fra marint til landmiljø. Resultater fra standardiserte laborietestarter må derfor valideres ved feltstudier av mer økologisk relevante norske arter fra de naturtypene som potensielt kan påvirkes av TBT fra landdeponier, og kunnskapsbaserte miljømål for deponihåndtering bør utvikles.

2. Eksperimentelt arbeid

Følgende arbeid er blitt gjennomført:

1. karakterisering av TBT-forurensede sedimenter fra Horten havn,
2. bestemmelse av utlekkingspotensialet av TBT under vannmettede forhold,
3. standardiserte toksisitetstester (overlevelse og reproduksjon) med spretthaler og enchytraeider. Disse artene er valgt fordi de representerer økologisk viktige grupper av jordlevende organismer, og er mye brukt som indikatorer på miljøtilstand i jord.

2.1. Karakterisering av sediment fra Horten havn

Sediment fra Horten havn er karakterisert med hensyn på ulike kjemisk-fysiske egenskaper (tabell 2.3). I tillegg er sedimentet separert i 9 ulike størrelsesfraksjoner ved våtsikting og sentrifugering (tabell 4). Konsentrasjonen av tinnorganiske forbindelser (TOT=TBT, DBT, MBT) og organisk materiale, glødetap ble bestemt i alle fraksjoner. I tillegg ble mineralsammensetning bestemt i finsand (0,2 – 0,06 mm), grov silt (0,06-0,02 mm) og leirefraksjonen (2-0,45 µm). For å minimere nedbrytning av TBT i vannfasen, ble sikte- og sentrifugeringsprosessen gjennomført ved 4°C.

2.2. Utlekkingslekkingsforsøk

Utlekkingsforsøket ble gjennomført med kunstig nedbør. Fordi de forurensede sedimentene vil bli deponert i kystområdet, har man valgt å bruke en typisk kystnedbør (tabell 2.1). Forsøket ble gjennomført i rustfrie stålkolonner (d=10 cm, h=40 cm) (bilde 2.1), og det skjematisk forsøksoppsettet er vist i figur 1. Det ble veid inn 4,75 kg sediment (tørrestoff) i hver av to søyler (I og II). For å oppnå en vanngjennomstrømming som i løpet av ca. 4 uker gav et akkumulert væske:sediment-forhold (LS-forhold) lik 10, ble strømningshastigheten justert til ca 2 ml per minutt i forsøksperioden. I løpet av 4 uker strømmet 47,5 liter vann gjennom kolonnen. Eluatet fra kolonnen ble samlet opp og eluater fra ulike tidsintervaller ble analysert (tabell 2.2). Ledningsevne, pH, salinitet og redoks-forhold ble målt kontinuerlig i eluatet (gjennomstrømningsvannet). Eluatene ble samlet opp i isavkjølte glassflasker, deretter sentrifugert for å fjerne partikler større enn 0,45 µm og surgjort (pH 2, 5M HCl) og lagret mørkt ved 4°C før analyse.

For å få et bilde på hvordan utlekkingen fra ulike deler av kolonnen har vært, ble sedimentet i kolonnen presset ut etter utlekkingsforsøket og delt vertikalt i 5 like deler (h:7 cm, diam:10 cm). Fra hver enkelt del ble det deretter tatt ut 3 prøver à 20 gram: en fra kjernen (radius: 0-2 cm), en fra midten (radius: 2-4 cm) og en prøve fra den ytterste delen (radius 5 cm). Sedimentprøvene ble deretter slemmet opp i 40 ml ionebyttet vann og ledningsevnen ble målt.

Tabell 2.1: Sammensetning av nedbør brukt i utlekkingsforsøket (mg/l).

pH	Na	K	Ca	Mg	Cl	SO ₄	NO ₃	NH ₄
4,4	0,88	0,09	0,14	0,12	1,53	1,12	0,77	0,39

Tabell 2.2: Oppsamling av eluater fra kolonnetesten. Sammenhengen mellom antall porevolumer og væske:jord-forhold (LS). Estimert nedbørsmengde i år relaterer seg til nedbørsmengden ved kysten i Østlandsområdet, 1000 mm nedbør pr. år.

LS-forhold	0,05	0,1	0,2	0,5	0,8	1	1,5	2	3	5	7	10
Porevolum	1,4	2,4	4,5	13	16	22	32	46	73	115	164	222
Estimerte år	0,06	0,1	0,19	0,55	0,6	0,9	1,4	2	3	5	7	9,5

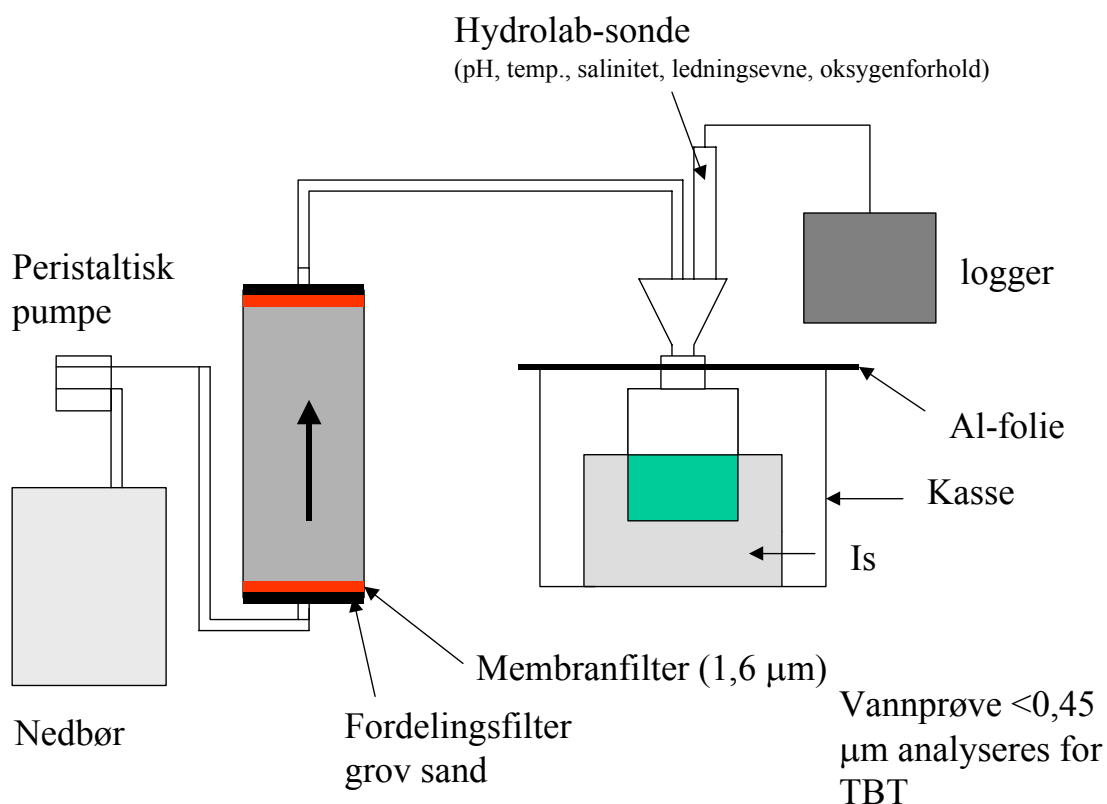


Fig. 2.1: Skjematisk oversikt av forsøksoppsett.

2.3. Toksisitetstesting av TBT

Behandling av sediment. Landlevende organismer er følsomme for saltpåvirkning, og det var derfor nødvendig å fjerne en del av saltet fra sedimentene. Sedimentet ble avsaltet etter følgende fremgangsmåte: Sediment og destillert vann ble blandet godt i en bøtte, og massen ble satt til sedimentering i ca 24 timer. Deretter ble vannfasen fjernet og saliniteten til det resterende sedimentet ble bestemt (målt som ionestyrke). Prosessen ble gjentatt til sedimentets ionestyrke var ca 1 mS/cm. Sedimentet ble så tørket til konstant vekt ved 80°C.

TBT ble tilsatt i form av TBT-Cl løst i aceton. Konsentrasjonen i aceton var justert slik at forventet konsentrasjon i sediment ble oppnådd med tilsetning av acetonløsning tilsvarende 20 % av sedimentets tørrvekt. Referanse (kontroll) sediment er sediment fra Horten som ikke inneholder tinnorganiske forbindelser. Kjemisk-fysiske forhold i referansesedimentet er ellers sammenlignbare med TBT-forurensset sediment som er anvendt i de andre forsøkene (se tabell 2.4). Følgende TBT-konsentrasjoner ble testet: 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25 og 0 mg/kg. Aceton ble så dampet av over 24 timer i avtrekkskap. Det er i tillegg laget kontrollsediment med og uten tilsetning av ren aceton, for å undersøke om løsemiddelrester har innflytelse på resultatene. Testene gjennomføres i lukkede 100 ml testbeholdere av hardplast. Hver testbeholder inneholder ca 50 g sediment med en gitt konsentrasjon av TBT-Cl.

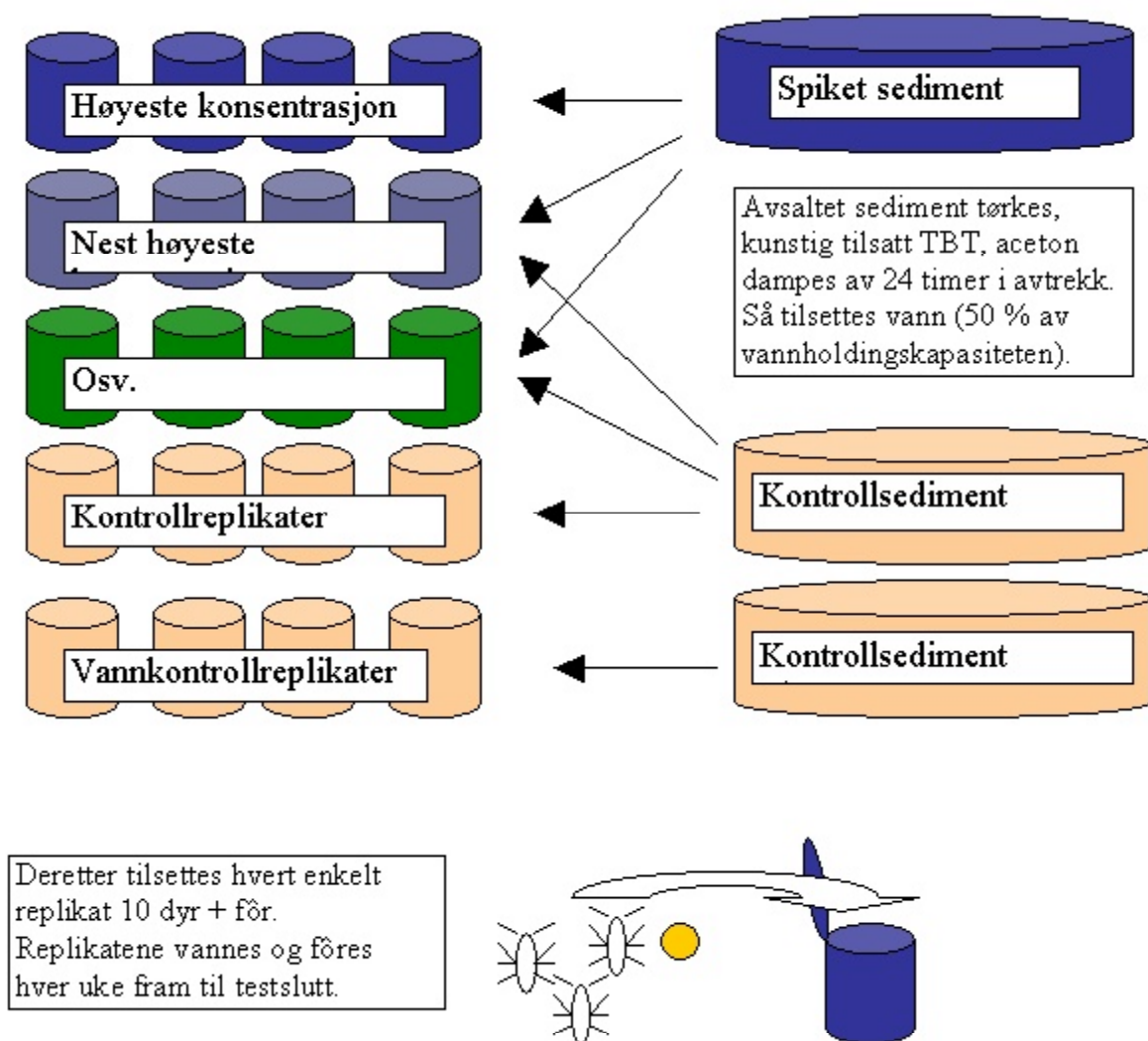


Fig. 2.2: Oppsett for toksisitetstesting med spretthaler og enchytraeider.

Testing med organismer. Reproduksjonstester med både spretthaler og enchytraeider er gjennomført i henhold til internasjonale standardprosedyrer (se henholdsvis ISO (1999) og OECD (2000)). Formålet med disse testene er å vurdere effekten av forurensninger på overlevelse og reproduksjon hos spretthaler av arten *Folsomia candida* og enchytraeider av arten *Enchytraeus crypticus*. Disse artene er valgt for testing først og fremst fordi de representerer økologisk viktige grupper av jordlevende organismer og som nevnt er testene standardiserte. *F. candida* er en partenogenetisk art (hunner som føder hunner), mens *E. crypticus* i likhet med for eksempel meitemark, er hermafroditter (tvekjønnede).

I spretthaletesten brukes synkrone dyr dvs. alle individer er på samme utviklingsstadium. Ved start av testen er individene 10-12 dager gamle, utviklingsmessig er dyrene kjønnsmodne uten å ha lagt sitt første egg enda. I starten av testen tilsettes ti hunner av *F. candida* og litt fôr (tørrgjær) til hvert beger. Hver konsentrasjon testes i fire replikater. Eksponeringstiden er totalt 28 dager, og testbeholderne åpnes etter 7, 14 og 21 dager for tilsetning av vann (for å kompensere for vanntap pga fordampning) og tørrgjær. Etter 28 dager avsluttes testen, og antallet spretthaler telles. Telling gjennomføres ved at dyrene utdrives med vann (de flyter på overflaten), og deretter telles de under lupe. Det er lett å skille de voksne som opprinnelig ble tilsatt i testen fra de juvenile som er produsert i

eksponeringsperioden. I testen ser man derfor både på effekter på overlevelse og på reproduksjonskapasitet til overlevende individer.



Bilde 2.1: Bilde av spretthale (*Folsomia candida*).

I enchytraeidetesten brukes ikke synkrone dyr, men kjønnsmodne dyr (dvs. dyr med clitellum = magebelte) av omtrent samme størrelse. I starten av testen tilsettes ti individer av *E. crypticus* og litt fôr (kokt, tørket og malt havregryn) til hvert beger. Hver konsentrasjon testes i fire replikater. Eksponeringstiden er totalt 28 dager, og testbeholderne åpnes etter 7, 14 og 21 dager for tilsetning av vann for å kompensere for vekttap pga. fordampning og tørrgjær. Testen avsluttes ved å riste testsediment med vann i testbegrene, og så sette begrene til sedimentering. Etter at supernatanten klarer opp, blir dyrene da liggende på overflaten av sedimentet. Dyrene suges så over på en petriskål med vann, hvor de telles under lupe. Også i denne testen er det lett å skille de voksne "mordyrene" som opprinnelig ble tilsatt i testen fra de juvenile som er produsert i løpet av eksponeringsperioden.



Bilde 2.2: Bilde av enchytraeider (*Enchytraeus crypticus*).

Analyse av data

Tellingene fra hvert enkelt replikat (gjentak) benyttes i den statistiske analysen av testdataene. Fra økotoksikologiske tester oppgis normalt to summeparametre som tilsvarer en terskelverdi for toksiske effekter. Den ene er den såkalte NOEC-verdien (No Observable Effect Concentration), som er den høyeste konsentrasjonen i testen som ikke gir signifikant effekt på testens mest følsomme endepunkt (dvs.

reproduksjon eller overlevelse). Den andre er den såkalte EC_{10} -verdien, som er den konsentrasjon av testsubstansen som er estimert å gi en 10 % reduksjon i testens mest følsomme endepunkt.

NOEC-verdien bestemmes ved variansanalyse (ANOVA) og Dunnett's test på 5 % nivå, etter å ha sjekket at forutsetningene for å benytte metoden på dataene, er oppfylt. Dataprogrammet JMP (versjon 4.0) benyttes for disse analysene (SAS, 1996). På tilsvarende måte bestemmes også den laveste konsentrasjon som gir signifikant effekt, den såkalte LOEC-verdien (Lowest Observable Effect Concentration).

For å beregne EC_{10} , benyttes et dataprogram kalt ICp, som er utgitt av amerikanske miljøvernmyndigheter (Nordberg-King, 1993). Det er en lineær interpolasjonsmetode som fungerer godt på data hvor responsen er monotont avtagende med økende konsentrasjon. Med dette programmet beregnes også en EC_{50} -verdi (50 % effekt på reproduksjon), samt en LC_{50} -verdi (50 % effekt på overlevelse).

3. Resultater og diskusjon

3.1. Kjemisk-fysisk karakterisering av sediment

Tabell 3.1. viser at partikler i størrelsesområdet 0,2-0,02 mm (fin sand til grov silt) dominerer og utgjør nærmere 80 % av sedimentet. Innholdet av tinnorganiske forbindelser i disse størrelsesfraksjonene er imidlertid lavere enn i de finere fraksjonene (<0,02 mm) som inneholder den største mengden tinnorganiske forbindelser. I sedimentet som er brukt her finnes for eksempel mer enn 50 % av TBT i fraksjonen <6 µm, og 37 % i fraksjonen 2-0,45 µm (figur 3.1). Dette har betydning både i forhold til tiltak, partikkelseparering av utvalgte fraksjoner, og for vurderinger knyttet til mulig spredning av tinnorganiske forbindelser etter deponering på land (partikkeltransport). Partikler mindre enn 6 µm vil kunne transporteres med vann både via overflateavrenning og gjennom porer i jord (makroporetransport). Det er derfor svært viktig at sedimentene i minst mulig grad utsettes for erosjon ved deponering på land og at det iverksettes tiltak for å redusere denne partikkelspredningen.

Tabell 3.1: Partikkelfordeling i TBT-forurensset sediment fra Horten, samt innhold av tinnorganiske forbindelser (oppgitt som µg/kg tørrvekt) og organisk materiale (glødetap) i de ulike fraksjonene.

Fraksjon		Vekt- andel %	TOC %	Gløde- tap %	TBT µg/kg	DBT µg/kg	MBT µg/kg	%-andel TBT
Sand	2-0,6 mm	2,1	1,21	2,1	102	270	309	2
	0,6 - 0,2 mm	4,1	0,6	1,1	727	126	105	9
	0,2 - 0,06 mm	49,5	0,19	0,4	44	31	35	22
Silt	0,06–0,02 mm	28	0,19	0,5	34	35	34	9,5
	0,02-0,006 mm	4,8	0,68	2,0	219	123	115	11
	6–2 µm	2,9	1,73	5,1	537	337	253	16
Leire	2-0,45 µm	8,6	2,01	4,6	436	380	248	38

Innholdet av tungmetaller i det TBT-forurensede sedimentet er generelt lavt og overholder normverdiene som er satt for mest følsomt arealbruk (SFT-veileder 99:01A).

Tabell 3.2: Kjemisk-fysisk karakterisering av TBT-forurenset sediment og referanse-sediment (brukt til toksisitetstester) fra Horten havn, gitt som konsentrasjon eller beregnet som prosent av tørrstoff.

Parametre	TBT-forurenset sediment	Referanse-sediment
Tributyltinn (TBT; µg/kg)	283	i.d.
Dibutyltinn (DBT; µg/kg)	145	i.d.
Monobutyltinn (MBT; µg/kg)	139	i.d.
Totalt organisk karbon (%)	0,3	0,2
Total karbon (%)	0,5	0,2
pH	8,7	8,3
Glødetap (%)	1,2	
Totalt nitrogen (%)	< 0,05	
Ammonium (mg/kg)	9,24	
Nitrat + nitritt (mg/kg)	< 0,56	
Natrium (mg/kg)	3470	
Kalsium (mg/kg)	9150	
Jern (mg/kg)	15000	
Fosfor (mg/kg)	491	
Svovel (mg/kg)	1750	
Aluminium (mg/kg)	9230	
Kobber (mg/kg)	13	
Sink (mg/kg)	45,3	
Nikkel (mg/kg)	15,9	
Krom (mg/kg)	23,5	
Arsen (mg/kg)	< 5	
Bly (mg/kg)	17,7	
Kvikksølv (mg/kg)	<0,015	
Kadmium (mg/kg)	<0,4	

i.d.: ikke detektert

3.2. Mineralsammensetning i sediment

Partiklenes diameter har stor betydning for hvor stor partikkeloverflaten vil bli per vektenhet. Mens grov sand kan ha en spesifikk overflate på $0,01 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, kan silt ha en spesifikk overflate som er 100 ganger større. Dette er beregnet ut fra kuleformede partikler. Både i silt- og leirfraksjonen er det leirmineraler som har spesifikk overflate på noen få $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$ til flere hundre $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$. Dette skyldes at disse mineralene er plateformede.

Overflateegenskapene til partikler i de ulike fraksjonene er forskjellige også fordi mineralsammensetningen varierer. Ved avtakende partikkelstørrelse øker andelen av de plateformede leir- og glimmermineralene i fraksjonen. Leir- og glimmermineralene har en større kapasitet til å binde til seg ulike forbindelser per overflateenhet sammenlignet med mineraler som feltspat og kvarts som er de dominerende mineralene i de groveste fraksjonene. Fraksjonene med størst diameter fra det undersøkte sedimentet er dominert av mineraler som plagioklasfeltspater og kvarts mens de finere fraksjonene er dominert av leirmineralene kloritt og illitt og glimmermineralet muskovitt.

Forholdet mellom TBT-konsentrasjon og organiske innhold, enten målt indirekte som glødetap eller direkte som organiske karbon, viser at det er god samvariasjon mellom disse parametrene. Partikkelfraksjonene $0,2 \text{ mm} - 0,06 \text{ mm}$ og $0,06 \text{ mm} - 0,02 \text{ mm}$ som utgjorde til sammen 68 % av sedimentet, hadde både laveste TBT-konsentrasjoner og innhold av organisk karbon. De to fraksjonene mindre enn $6 \mu\text{m}$ hadde høyest TBT-konsentrasjon og organisk innhold. Større bindingskapasitet i de minste størrelsesfraksjonene er nok et resultat av både større mineraloverflate og av høyere organisk innhold (figur 3.1).

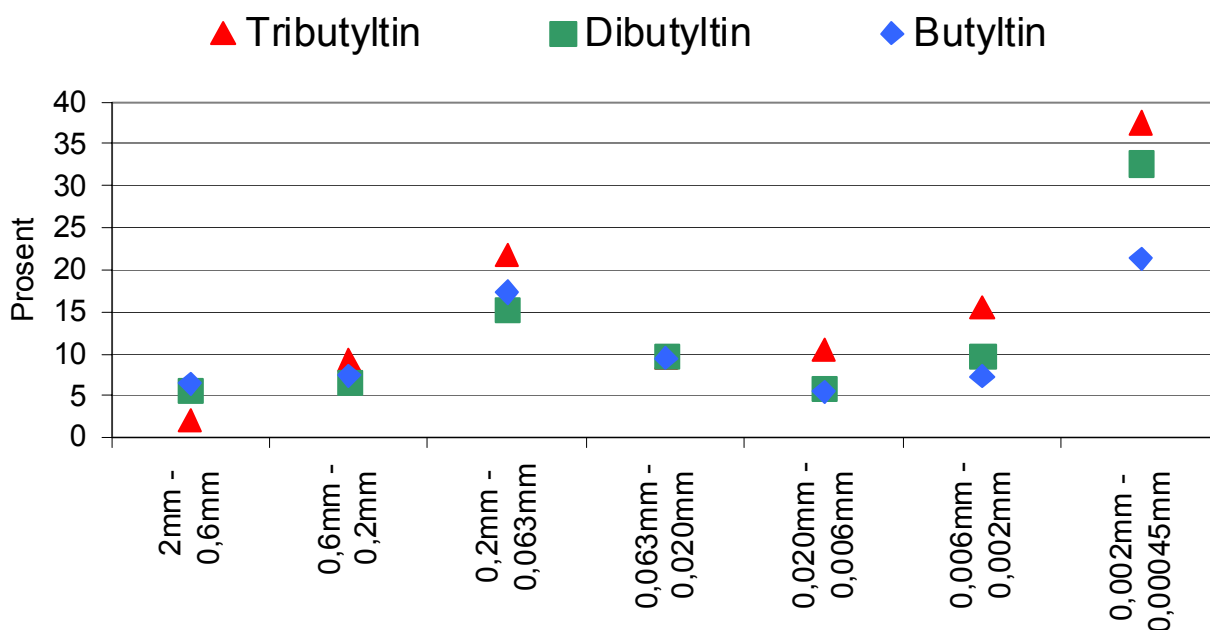


Fig 3.1: Prosentvis fordeling av tinnorganiske forbindelser i ulike partikkelstørrelsesfraksjoner i sediment.

3.3. Utlekkingspotensiale av TBT ved deponering på land

I løpet av utlekkingsforsøket har 47,5 liter vann strømmet igjennom kolonnen. Denne vannmengden tilsvarer 9,5 års nedbør dersom det antas en årlig nedbør på 1000 mm og 50 % infiltrasjon i massene. Dette gir en indikasjon på de mengdene vann som er tilført kolonnen i løpet av de 3 ukene forsøket varte.

pH

pH i sedimentet ble målt til 7,2 og pH i elueringsvæska (simulert nedbør) var 4,5. pH i eluatet varierer mellom 7,5 og 9 (figur 3.2). pH var høyest den første uka (tilsvarer i dette scenariet ca. 3 år), (pH 8,5-9) og avtar deretter i løpet av uke 2 (ca 6 år) til i underkant av pH 8. pH økte deretter til mellom 8,5 og 9, trolig på grunn av at kolonnen ved et uhell ble tappet for vann. I løpet av den siste uken sank pH igjen til i underkant av 7,5 (ca. 9 år). Det er da forutsatt at en normal nedbørsmengde over år gir samme effekt som en høy vannmengde i løpet av kort tid. Selv om sedimentet inneholder en del sjøvann med en viss bufferkapasitet, synker pH gjennom utlekkingsforsøket. Bufferkapasiteten i selve sedimentet er imidlertid så vidt høyt at det vil ta svært lang tid før pH i massene vil bli 4,5. De tinnorganiske forbindelsene TBT, DBT og MBT har alle dissosiasjonskonstanter i intervallet 6-7, og dvs. at i pH intervallet 6-7 er halvparten av TBT i kation-form og halvparten som en uladet forbindelse. I sedimenter med mye pH-avhengige ladninger vil derfor TBT ha lavest mobilitet i dette pH-området. Dette skyldes som nevnt at det er i dette pH-intervallet det finnes mest positivt ladete tinnorganiske forbindelser i forhold til negativt ladete mineraloverflater. Dette forholdet er avhengig av type sedimenter (mengde og type leirmineraler) og salinitet.

Salinitet

Saliniteten avtar som forventet relativt raskt (figur 3.2) fordi saltene i sedimentet vaskes raskt ut. I vårt forsøksoppsett sank saliniteten fra 16 til 1 ‰ i løpet av to dager (tilsvarer ca. mindre enn ett år). Det er vist at salinitet har en vesentlig betydning for K_d -verdien og dermed utlekkingsgraden av TBT (Hoch et al., 2002). Det er vist at bindingsegenskapene (gitt som K_d -verdien) for TBT er ca. 3 ganger lavere i sjøvann (salinitet 32 ‰) enn i ferskvann (0 ‰). Det er viktig å være klar over at avrenning fra sjøsedimenter vil kunne ha betydelig negativ effekt på organismer som lever i jord i nærheten av et deponi.

Konsentrasjon i eluater og prosent utvasking

Konsentrasjonene av tinnorganiske forbindelser i eluatene avtar ettersom utvaskingen pågår (figur 3.3), i det gitte forsøket sank TBT-konsentrasjonen i eluatet fra ca. 0,45 µg/l og stabiliserte seg rundt 0,05 µg/l i hele utlekkingsperioden. Konsentrasjonen avtok raskere for TBT enn for DBT og MBT. Den langsomme nedgangen i konsentrasjoner viser imidlertid at mobiliseringen og dermed utvaskingen skjer langsomt og at det vil ta lang tid før tinnforbindelsene under de gitte strømningsforholdene er vasket ut fra sedimentet. I kolonneforsøket er ca. 0,5 % av TBT og 0,1-0,2 % DBT og MBT (prosent av totalt innhold) vasket ut fra sedimentet (figur 3.4) i løpet av den estimerte 9,5 års nedbørsperioden. Dette viser at den vannløselige fraksjonen av tinnorganiske forbindelser i sedimentene er relativt liten i forhold til det totale innholdet i sedimentet.

I risteforsøk med Horten-sediment og destillert vann ved pH 4 og et væske:jord-forhold på 5 (halvparten av væske:jord-forholdet som brukt i kolonneforsøket), ble totalt ca. 4 % TBT, 0,7 % DBT og 0,4 % MBT mobilisert (Eggen et al., 2003, under rapportering). At det i risteforsøket ble mobilisert mer tinnorganiske forbindelser enn i kolonneforsøket viser at det er mer tinnorganiske forbindelser tilgjengelig for utlekking i sedimentet etter kolonneforsøket. Erfaring viser at det er vanlig at en mindre andel av den vannløselige fraksjonen i jord eller sediment frigjøres og lekker ut i kolonneforsøk enn i risteforsøk. Dette skyldes flere forhold. For det første er det kortere kontaktid mellom elueringsvæsken og sedimentet i et kolonneforsøk sammenlignet med et risteforsøk. For det andre vil de fysiske bevegelsene i et risteforsøk øke mobiliseringen i forhold til en jevn strømming gjennom sedimentet. I tillegg vil strømmingen i en slik kolonne aldri bli helt lik i hele massen. Dette siste skyldes at elueringsvæsken alltid til en viss grad vil strømme i kanaler og makroporer i sedimentet i kolonnen.

Målinger av ionestyrken i sedimentet etter kolonneforsøket viste at saltinnholdet i alle deler av sedimentet i kolonnen var redusert med ca. 90 % i forhold til saltinnholdet ved starten av forsøket. Målingene indikerer at det har vært en noe høyere utvasking av salter i kjernen av kolonnen i de nederste 15 cm og en noe større utvasking i ytterkanten i den øvre delen, men forskjellene er ikke store. Det har altså vært en relativt jevn strømming gjennom sedimentet, men enkelte deler kan likevel være noe mer utvasket enn andre. Vi tror imidlertid at dette har liten betydning for den relativt lave andelen utvasking som ble målt. Tatt i betraktning de relativt tette massene (porevolum 4,6 %, permeabilitet $4,4 \times 10^{-5}$ m/s ved 0,6 bar) har strømmingen i kolonnen vært homogen i sedimentet. Resultatene fra kolonneforsøket med mettet vannstrømming over en gitt tid, gir totalt sett en mer realistisk indikasjon på de konsentrasjoner av organiske tinnforbindelser som kan forventes i avrenning fra sedimentet, og den totale mengden som kan lekke ut over tid under feltforhold, enn det resultatene fra risteforsøket viste.

I risteforsøk er distribusjonskoeffisientene, K_d for de tinnorganiske forbindelsene målt til henholdsvis ca. 200 l/kg for TBT og 2000-3000 l/kg for DBT og MBT (Jordforsk, under rapportering). Også kolonneforsøket viser at TBT, som er mest giftig, er ca. 10 ganger mer mobilt enn nedbrytningsproduktene DBT og MBT.

For å prøve å estimere hva avrenning fra et deponi med dette sedimentet vil bety for miljøet rundt, kan man tenke seg følgende scenario:

En m^3 TBT-forurenset sediment fra Horten havn (samme konsentrasjon som i kolonneforsøket: 280 $\mu\text{g/kg}$ ts) legges i en haug på et areal $2,25 \text{ m}^2$ (1,5 m x 1,5 m). Hvis en antar ca. 0,5 % avrenning av TBT i løpet av en periode på 9,5 år (estimert på grunnlag av utvaskingsforsøket), vil dette medføre en total avrenning av 2,1 mg TBT i hele perioden. Hvis en videre stipulerer at jorden har et relativt høyt organisk innhold og dermed antar binding i det øverste jordlaget, antatt 20 cm, vil det i dette scenariet medføre en gjennomsnittlig TBT-konsentrasjon på 2,6 $\mu\text{g/kg}$. Ved deponering på jord med lav bindingskapasitet, vil TBT transporteres ned til dypere jordlag, og faren for spredning er større.

Det foreligger ikke nedbrytningsdata av TBT i sedimenter eller vann under forhold som er relevant for våre beregninger (tatt i betraktning at TBT brytes ned raskere under aerobe forhold ved landdeponering enn hva eksisterende data for sedimenter i marint anaerobt miljø), og effekten og betydningen av nedbrytning er derfor ikke vurdert inn i våre estimater.

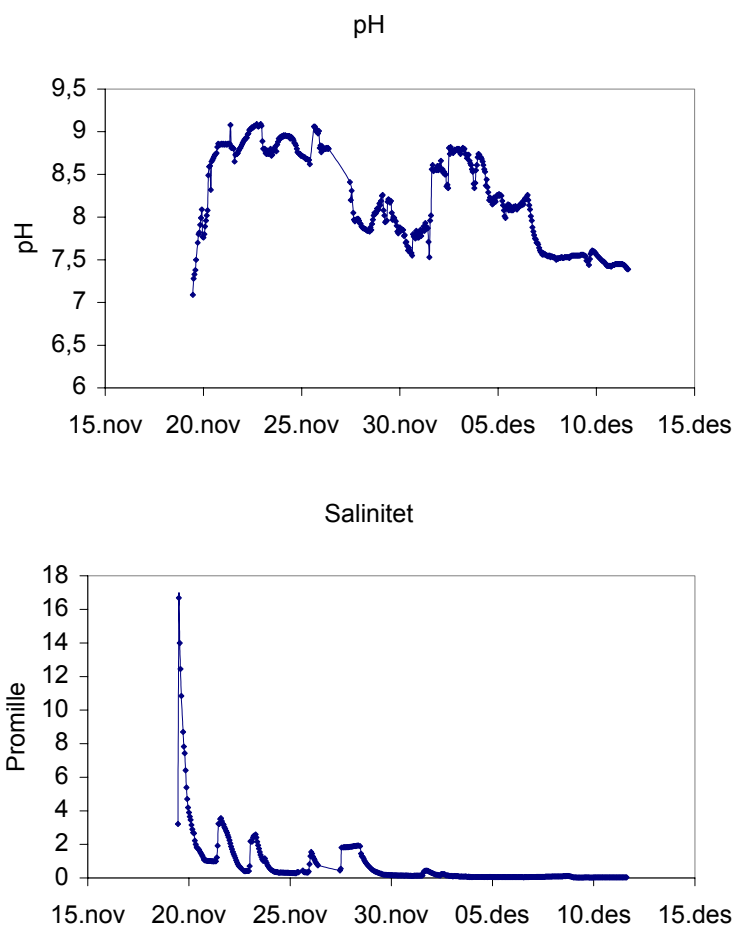


Fig 3.2: Endring i eluat gjennom forsøksperioden; pH (topp) og salinitet (bunn.)

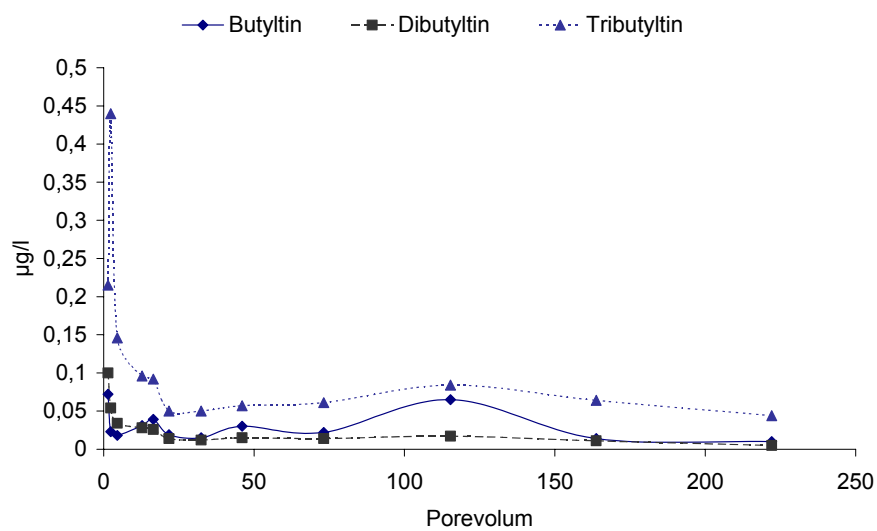


Fig. 3.3: Konsentrasjoner ($\mu\text{g/l}$) av tributyltinn, dibutyltinn og butyltinn i eluater fra utlekkingstesten plottet mot antall porevolumer elueringsvæske som har strømmet gjennom kolonnen.

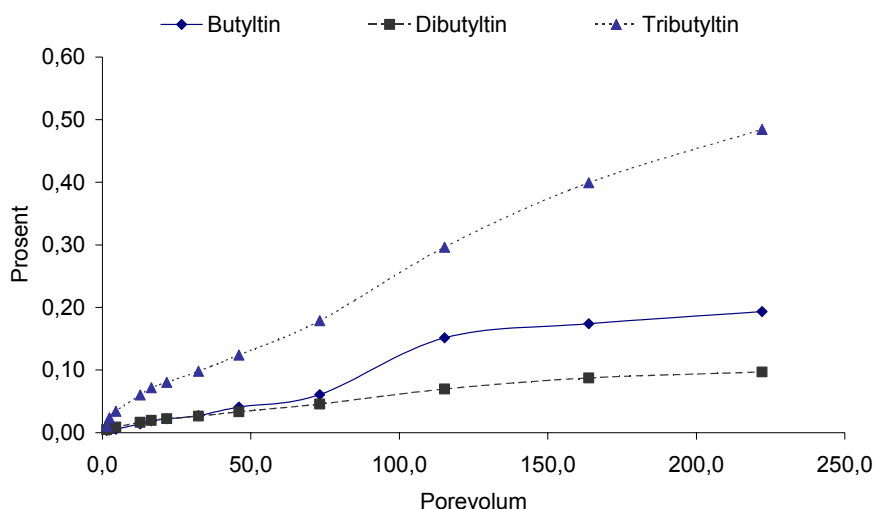


Fig. 3.4: Prosent utlekking av ulike tinnorganiske forbindelser som funksjon av antall porevolumer elueringsvæske som har gått igjennom sedimentet.

3.4. Effekter på terrestriske økosystemer

Toksisitetstesting viste at avsaltet sjøsediment fungerte godt som levested for de testede organismene. For spretthaler var gjennomsnittlig reproduksjon noe lavere enn det vi normalt finner ved testing i landbruksjord og standardjordtyper, men reproduksjonen var likevel langt høyere enn det minstekravet som er satt i teststandarden. Da det ikke var noen signifikant forskjell på kontrollreplikater med og uten aceton, kan det konkluderes med at dette løsemidlet i seg selv ikke hadde noen effekt på organismene. Resultatene viser ellers at TBT er relativt giftig overfor terrestriske invertebrater, at reproduksjon er et mer følsomt endepunkt enn overlevelse, og at den enchytraeide-arten som ble testet var noe mer følsom enn spretthalerne. Den beregnede terskelverdien for effekter (10 % reduksjon i reproduksjon) er 0,2 og 0,7 mg TBT-Cl/kg sediment (tørrvekt) for henholdsvis enchytraeider og spretthaler. Konsentrasjonene som er funnet i sedimentet (tabell 3.1 og 3.2) ligger på dette konsentrasjonsnivået. Dose-responskurver for de to testene er gitt i figur 3.5 og 3.6, og resultater fra statistisk analyse av disse dataene er gitt i tabell 2.5.

De valgte testartene lever i overflatejord, og er dermed representative for organismer som kan etablere seg i utildekkede deponimasser som har lav saltinnhold, eller i jord som er sekundært kontaminert av TBT.

Konsentrasjonen av TBT i forurensed sediment i denne studien (280 $\mu\text{g/kg}$) er i samme størrelsesorden som effektnivået av TBT som vi finner i testene med enchytraeider (10 % reduksjon i reproduksjon (EC_{10}) = 200 $\mu\text{g/kg}$) og spretthaler (EC_{10} = 1200 $\mu\text{g/kg}$) i sediment som var kunstig tilsatt TBT. De beregnede 50 % effektkonsentrasjonene for henholdsvis reproduksjon (EC_{50}) og overlevelse (LC_{50}) for de samme artene var EC_{50} = 670 $\mu\text{g/kg}$ og LC_{50} = 3200 $\mu\text{g/kg}$ (enchytraeider) og

$EC_{50} = 2100 \mu\text{g/kg}$ og $LC_{50} = 6400 \mu\text{g/kg}$ (spretthaler). Dette er høyere enn konsentrasjonen i vårt utgangssediment.

Ved deponering av disse sedimentene på land, under betingelsene beskrevet i scenariet i kapittel 3.3, vil TBT-konsentrasjoner i omkringliggende jord grovt estimert til $2,6 \mu\text{g TBT/kg}$. Ved så lave konsentrasjoner vil man ikke forvente effekter på overlevelse eller reproduksjon av de to testede artene av spretthaler og enchytraeider. Det er imidlertid viktig å understreke at spretthaler og enchytraeider ikke forventes å være de mest følsomme organismene for effekter av TBT i terrestrisk miljø. Kunnskap om effekter av TBT i marint system gir grunnlag for å tro at hormoneffekter på bløtdyr, samt akkumulering i næringskjeden, er mer kritiske med tanke på uønskede effekter i det terrestriske økosystemet.

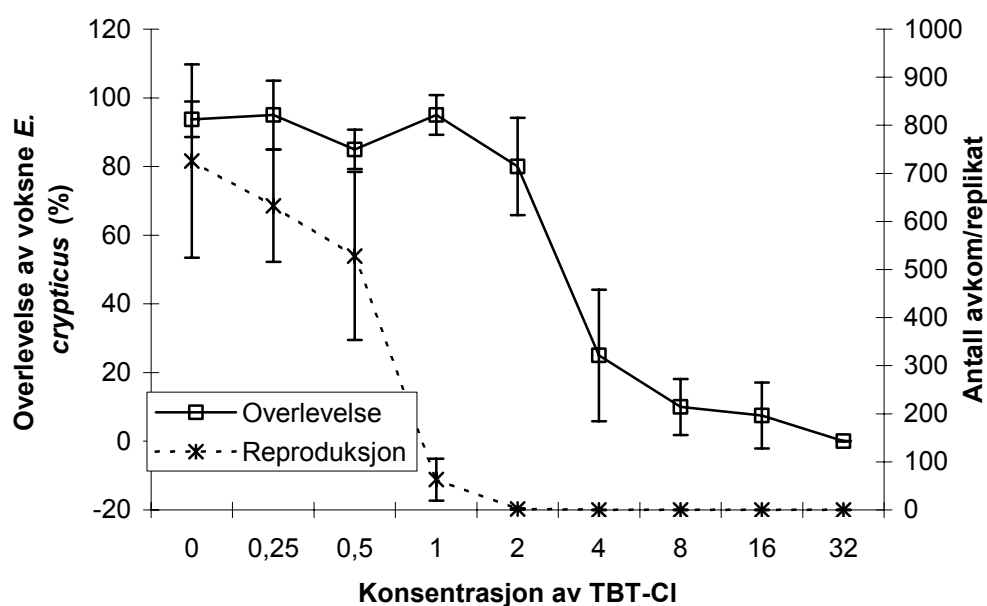


Fig 3.5: Overlevelse av voksne individ og antall avkom (reproduksjon) i testen med *Enchytraeus crypticus*. Figuren viser gjennomsnitt $\pm$ standardavvik for de ulike konsentrasjonene av TBT-Cl (nominelle konsentrasjoner) oppgitt som mg/kg ts.

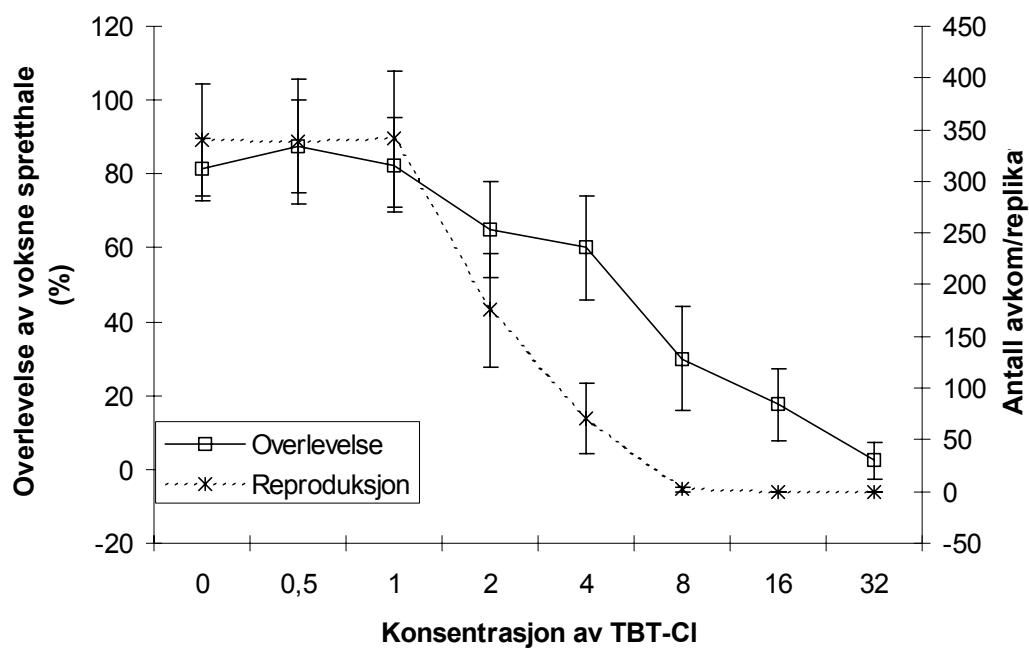


Fig 3.6: Overlevelse av voksne individ og antall avkom (reproduksjon) i testen med *Folsomia candida*. Figuren viser gjennomsnitt $\pm$ standardavvik for de ulike konsentrasjonene av TBT-Cl (nominelle konsentrasjoner) oppgitt som mg/kg ts.

Tabell 3.3: Oversikt over beregnede NOEC, LOEC, EC10, EC50 og LC50-verdier for testene med spretthaler (*Folsomia candida*) og enchytraeider (*Enchytraeus crypticus*).

Testorganisme	Beregnete effektkonsentrasjoner for TBT-Cl i avsaltet sjøsediment (mg/kg). For L(E)Cx-verdier, er 95 % konfidensintervall gitt i parentes.				
	NOEC	LOEC	EC10	EC50	LC50
<i>F. candida</i>	1	2	1,2 (0,6-1,3)	2,1 (1,8-2,8)	6,4 (5,0-8,3)
<i>E. crypticus</i>	0,5	1	0,19 (0,09-0,54)	0,67 (0,54-0,76)	3,2 (2,8-3,9)

4. Konklusjoner - Hva lærte vi?

1. **God karakterisering av sedimentet er viktig for valg av rette tiltaksløsninger**

God karakterisering gir mulighet til volumminimalisering i forhold til både videre behandling eller deponering. Viktige parametre er:

- Kornfordeling
 - TOC
2. **40 % av TBT-innholdet er knyttet til kolloidalfraksjonen (partikler < 6 µm) og kan derfor være gjenstand for partikkeltransport ut av sedimentet.**
 3. **Potensialet for utlekking av TBT fra det utvalgte havnesedimentet er stort.**
 4. **Det er viktig å ha kontroll på kolloidalfraksjonen under mudringsprosessen.**
 5. **Deponering på land eller i strandkantdeponi uten sikring kan gi høy momentan utlekking og videre en relativt lav, men vedvarende utlekking av TBT.**

5. Referanser

- Andersen, L., Holm, J., Broholm, K., Asmussen, O.W., Klem, S. 2003. Vurdering af udvasking fra havnesedimenter under forskellige redox-forhold. Miljøstyrelsen Rapport Nr. 19.
- Arnold, C.G., Ciani, A., Müller, S.R., Amirbahman, A., Schwarzenbach, R.P. 1998. Association of triorganotin compounds with dissolved humic acids. *Environmental Science & Technology*, 32(19):2976-2983.
- Arnold, C.G., Weidenhaupt, A., David, M.M., Müller, S.R., Haderlein, S.B., Schwarzenbach, R.P. 1997. Aqueous Speciations and 1-Octanol Water Partitioning of Tributyl- and Triphenyltin: Effect of pH and Ion Composition. *Environmental Science & Technology*, 31:2596-2602.
- Berg, M., Arnold, C.G., Müller, S.R., Mühlemann, J., Schwarzenbach, R.P. 2001. Sorption and desorption behavior of organotin compounds in sediment-pore water systems. *Environmental Science & Technology*, 35(15):3151-3157.
- Davidson, N. A., 1995. Evaluation of Copper and Tributyltin – containing compounds. California Environmental Protection Agency, pp. 1-7.
- Eggen, T., et al. 2003. Mobility of TBT in contaminated sediment. Manuskript under skriving.
- Guruge, K.S., Tanabe, S., Iwata, H., Taksukawa, R., Yamagishi, S. 1996. Distribution, biomagnification, and elimination of butyltin compound residues in Common Cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Lake Biwa, Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 31:210-217.
- Hoch, M., Alonso-Azcarate, J., Lischick, M. 2002. Adsorption behavior of toxic tributyltin to clay-rich sediments under various environmental conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(7): 1390-1397.
- ISO. 1999. Soil Quality – biological methods – Inhibition of reproduction of *Collembola (Folsomia candida)* by soil pollutants. ISO method 11267- Geneva, Switzerland.
- Kannan, K., Senthikumar, K., Elliott, J.E., Feyk, L.A., Giesy, J.P. 1998. Occurrence of butyltin compounds in tissues of water birds and seaducks from the United States and Canada. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35:64-69.
- Kannan, K., Grove, R.A., Senthikumar, K., Henny, C.J., Giesy, J.P. 1999. Butyltin compounds in River Otters (*Lutra canadensis*) from the Northwestern United States. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35:64-69.
- Berge, J.A. Berglind, L. Brevik, E.M. Følsvik, N. Green, N. Knutzen, J. Konieczny, R.M. Walday, M. 1997. Levels and environmental effects of TBT in marine organisms and sediments from the Norwegian coast. NIVA-Report no 3656.
- Nordberg-King, T.J. 1993. A linear interpolation method for sub-lethal toxicity: The ICp-approach. Ver. 2.0. Software package and user's guide. National Effluent Toxicity Assessment Center, Duluth, Minnesota, USA.
- OECD. 2000. Draft Standard: Enchytraeide Reproduction Test, proposed guideline no. 220. OECD Guideline for testing of chemicals.

SAS. 1996. JMP Statistical Discovery Software ver. 4.0.0. SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary, NC, USA.

Stäb, J.A., Traas, T.P., Stroomberg, G., van Kesteren, J., Leonards, P., van Hattum, B., Brinkman, U.A.Th., Cofino, W.P. 1996. Determination of organotin compounds in the foodweb of a shallow freshwater Lake in The Netherlands. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 31:319-328.

Weidenhaupt, A., Arnold, c., Müller, R., Haderlein, S.B., Schwarzenbach, R.P. 1997. Sorption of organotin biocides to mineral surfaces. Environmental Science & Technology 31(9): 2603-2609.