



# SCREENING AF PHENOLER I MARINT BIOTA

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 54

2013



AARHUS  
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

*[Tom side]*

# SCREENING AF PHENOLER I MARINT BIOTA

---

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 54

2013

Pia Lassen

Aarhus Universitet, Institut for Miljøvidenskab



AARHUS  
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

# Datablad

Serietitel og nummer:	Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 54
Titel:	Screening af phenoler i marint biota
Forfatter:	Pia Lassen
Institution:	Aarhus Universitet, Institut for Miljøvidenskab
Udgiver:	Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi ©
URL:	<a href="http://dce.au.dk">http://dce.au.dk</a>
Udgivelsesår:	April 2013
Faglig kommentering:	NOVANA MFS-gruppe
Finansiel støtte:	Miljøministeriet
Bedes citeret:	Lassen, P. 2013. Screening af phenoler i marint biota. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 24 s. - Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 54 <a href="http://www.dmu.dk/Pub/SR54.pdf">http://www.dmu.dk/Pub/SR54.pdf</a>
	Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse
Sammenfatning:	I nærværende undersøgelse er muslingeprøver fra danske farvande målt for phenoler som en opfølgning på en screeningsundersøgelse i Nordisk Ministerråds regi. Resultaterne viser at koncentrationerne ligger mellem detektionsgrænsen og ca. 100 ng/g våd vægt for de enkelte phenoler, bortset fra Nonylphenol-mix, hvor der er målt op til ca. 325 ng/g våd vægt. Koncentrationerne ligger indenfor samme størrelsesorden som ved den nordiske screeningsundersøgelse, bortset fra 4-tert-octylphenol, hvor koncentrationerne er betydelig lavere i nærværende undersøgelse.
Emneord:	Phenoler, NOVANA, muslinger
Layout:	Grafisk Værksted, AU-Silkeborg
Foto forside:	Helnæs Bugt. Foto: Peter Bondo Christensen
ISBN:	978-87-7156-001-5
ISSN (elektronisk):	2244-9981
Sideantal:	24
Internetversion:	Rapporten er tilgængelig i elektronisk format (pdf) som <a href="http://www.dmu.dk/Pub/SR54.pdf">http://www.dmu.dk/Pub/SR54.pdf</a>

# Indhold

<b>Forord</b>	<b>5</b>
<b>Sammenfatning</b>	<b>6</b>
<b>Summary</b>	<b>7</b>
<b>1 Baggrund</b>	<b>8</b>
<b>2 Metoder og materialer</b>	<b>9</b>
2.1 Analyseparametre	9
2.2 Analysemetoder	9
2.3 Prøver	10
2.4 Kontrol og blindprøver	10
<b>3 Resultater</b>	<b>11</b>
3.1 Resultat af analyserne	11
3.2 Blindværdier	11
3.3 Kontroller	12
3.4 Genfinding	14
<b>4 Diskussion</b>	<b>16</b>
4.1 Diskussion af resultater	16
4.2 Diskussion af metode	17
<b>5 Konklusion</b>	<b>19</b>
<b>6 Referencer</b>	<b>20</b>
<b>Bilag</b>	<b>21</b>

*[Tom side]*

## Forord

På baggrund af en undersøgelse for phenoler i de nordiske land i regi af Nordisk Ministerråd, har der været et behov for en uddybende screeningsundersøgelse for phenoler i marint biota.

Screeningsundersøgelsen er foretaget som en del af NOVANA og finansieret af Naturstyrelsen under Miljøministeriet.

Resultaterne er derfor af primær interesse for det marine delprogram.

## Sammenfatning

I forbindelse med en screeningsundersøgelse af alkylphenoler i Nordisk Ministerråds regi blev der fundet høje koncentrationer for enkelte af de undersøgte phenoler i marin biota, og der blev konstateret et behov for en uddybende screeningsundersøgelse. Der er derfor i nærværende undersøgelse blevet målt 16 muslingeprøver fra danske farvande for phenoler. Endvidere er ekstra blind- og kontrolprøver blevet analyseret som dokumentation for analysekvaliteten.

Usikkerheden på målingerne vurderes at ligge på omkring 25-50 % for de enkelte parametre, med undtagelse af 2,6-di-tert-butylphenol, bisphenol-A og methyleret-TBBPA, hvor usikkerheden forventes at ligge på op til 100 %. Dog er antallet af kontrol prøver for lavt til, at der kan foretages en tilstrækkelig robust statistik. På baggrund af blindprøver og interferens var det ikke muligt at rapportere data for 4-butyphenol og dodecylphenol.

Resultaterne fra muslingeprøverne ligger mellem detektionsgrænsen og ca. 100 ng/g våd vægt for de enkelte phenoler, bortset fra nonylphenol-mix, hvor der er målt op til ca. 325 ng/g våd vægt. En vurdering af koncentrationniveauerne, baseret på gennemsnit, viser, at stort set alle stoffer ligger forholdsvis lavt bortset fra nonylphenol-mix. Koncentrationerne ligger indenfor samme størrelsesorden som ved den nordiske screeningsundersøgelse, bortset fra 4-tert-octylphenol, hvor koncentrationerne er betydelig lavere i nærværende undersøgelse.

Fedtfjernelsen er et essentielt trin i ekstraktionen som blandt andet er temperaturfølsomt. Ved gennemgang af gamle laboratorienoter fra det oprindelige Nordiske Ministerrådsprojekt, kunne noget tyde på, at dette ikke var givet tilstrækkelig opmærksomhed. Der kan derfor muligvis ligge en fejlkilde der.



## Summary

In a screening project of alkylphenols in the environment under the Nordic Council of Ministers there were found high concentrations for some of the investigated phenols in marine biota. This resulted in an extended screening investigation in Denmark. In the present investigation 16 mussel samples from Danish marine waters were measured for phenols. Additional blind and control samples were analysed for documentation of the analytical quality.

The uncertainties of the measurements were in the range of 25-50% for the single components except for 2,6-di-tert-butylphenol, bisphenol-A and methylated-TBBPA where the uncertainty were around 100%. However, the number of control samples was not high enough to perform a robust statistical analysis. It was not possible to report data for 4-butyphenol and dodecylphenol due to high blind values and interference.

The concentrations of the phenols in the mussel samples ranged between detections limits and 100 n/g wet weight with the exception of nonylphenol-mix, where the concentration were up to approximately 325 ng/g wet weight. An evaluation of the concentration levels, based on average, shows relatively low levels except for nonylphenol-mix. The concentrations were within the same levels as in the Nordic Council of Ministers investigation with the exception of 4-tert-octylphenol where the concentrations in the present investigation are significant lower.

Removal of fat from the samples during the extraction is an essential step where the temperature plays an important role for the efficiency. A review of the laboratory notes from the previous investigation from Nordic Council of Ministers showed that it is possible that this essential step was not given proper attention. It is possible that this could lead to an error.

# 1 Baggrund

Alkylphenoler er generelt "high volumen" stoffer, som bruges både i industrien og i forbrugerprodukter. Flere af dem er identificeret som bioakumulerbare og/eller persistente. De fleste er toksiske overfor akvatiske organismer og enkelte også hormonforstyrrende. En nærmere beskrivelse af stofferne kan ses i Hansen og Lassen, 2008.

I forbindelse med en screeningsundersøgelse af phenoler i Nordisk Ministerråds regi blev der fundet høje koncentrationer af de nogle af de undersøgte phenoler i biota, og der blev konstateret et behov for en uddybende screening for phenoler i marint biota. Formålet med projektet er således at verificere, om der findes høje koncentrationer af phenoler i biota i det de danske farvande.

I nærværende undersøgelse er 16 muslingeprøver, indsamlet under NOVANA 2009, analyseret for en række phenoler.

## 2 Metoder og materialer

### 2.1 Analyseparametre

Analysen inkluderer følgende parametre:

4-tert-butylphenol (cas nr. 98-54-4), 2,6-di-tert-butylphenol (cas nr. 128-39-2), 4-tert-octylphenol (cas nr. 140-66-9), n-octylphenol (cas nr. 1806-26-4), nonylphenol-mix (cas nr. 284-325-5), n-nonylphenol (cas nr. 104-40-5), 4-dodecylphenol (cas nr. 27193-86-8), 4-cumylphenol (cas nr. 599-64-4), bisphenol-A (cas nr. 80-05-7), tetrabrombisphenol A (TBBPA) (cas nr. 79-94-7), tetrabrombisphenol-A dimethylether (methyleret-TBBPA) (cas nr. 37853-61-5), octylphenol-ethoxylat (cas nr. 9063-89-2), nonylphenol-ethoxylat (cas nr. 9016-45-9).

### 2.2 Analysemetoder

Baggrund for valg af analysemetode er beskrevet i Hansen og Lassen, 2008.

I forbindelse med denne undersøgelse er analysemetoden gennemgået og finjusteret, specielt med skærpet fokus på de mest sårbare trin i analysen.

I projektet er anvendt en etableret analysemetode, der bygger på ekstraktion med organisk solvent, efterfulgt fedtjernelse ved acetonitril udrystning, derivatisering og kvantificering på GC-MS.

10 g homogeniseret musling røres op med Hydromatrix til det er et tørt. Overføres til ekstraktionshulse og spikeres med ekstraktionsstandarder; <sup>13</sup>C- eller deuterium-mærkede (bisphenol-A, n-nonylphenol, tetrabrombisphenol-A, 4-tert-butylphenol og 4-n-octylphenol), henstand 1-2 timer. Soxhlet-ekstraheret natten over med 550 ml hexan/acetone/dichlormethan i forholdet 2:2:1.

Prøven inddampes til ca. 10 ml og overføres til skilletragt og ekstraheres med 3 x acetonitril (mættet med hexan) til fjernelse af fedt. Acetonitril fraktionen inddampes til næsten tørhed, genopløses i 10 ml hexan og oprenses på Silika-søjler ved eluering med 10 ml acetone/hexan (1:1) og dernæst med dichlormethan. Eluaterne inddampes til næsten tørhed og genopløses i 1 ml toluen.

Ved analyse af acetone/hexan eluatet blev det konstateret at 2,6-di-tert-butylphenol, TBBPA og methyleret-TBBPA ikke kunne genfindes i tilstrækkelig grad. Dichlormethan eluatet og acetone/hexan eluatet blev derfor kombineret og prøverne reanalyseret.

Prøverne derivatiseres med BSTFA, tilsættes volumenspike (5 deuterium mærkede PAH'er) og analyseres på GC-MS i SIM mode. Prøverne blev kvantificeret overfor eksterne standarder.

I forbindelse med den endelige kvalitetssikring er data korrigeret for genfinding og fratrukket blindværdier før rapportering.

Alle glasvarer mv. til analysen er udglødet ved 450 °C i 6 timer og ikke var-mestabile materialer (hülze, Hydromatrix mv.) er rensset i dichlormethan ved Soxhlet i 6 timer.

## 2.3 Prøver

Der blev udvalgt 16 marine biota prøver, muslinger.

Der blev indsamlet biota i det marine program til andre formål i 2009, og prøverne til analyse for phenoler blev udvalgt ud fra geografisk fordeling. Det var også til hensigt at udvælge på baggrund af niveauerne for de øvrige organiske miljøfarlige stoffer, der måles under det marine program. Imidlertid var der generelt blevet fremsendt forholdsvis små mængder muslinger fra miljøcentrene, hvorfor prøverne måtte udvælges ud fra tilstrækkelig mængde. Det lykkedes dog at opnå en rimelig geografisk spredning. I tabel 2.1 ses en liste over prøverne.

Prøverne var blevet udtaget og behandlet i henhold til NOVANAs tekniske anvisninger i efteråret 2009 (Pedersen et al., 2004).

**Tabel 2.1.** Udvalgte muslingeprøver til projektet.

Miljøcenter	Område	Station	Prøvetagningsdato i	DMU prøvenr.
			2009	2009-
Odense	Odense Fjord	M2	10-nov	7750
	Nakkebølle Fjord		10-nov	7724
Ribe	Halen	RIB2161010 Halen	08-dec	7867
	Lister dyb	SJYLISD5001	08-dec	7865
	Hejlsminde Nor	SJYLBHN5003	01-dec	7831
	Als Sund	SJYALSS5001	02-dec	7834
Ålborg	Langerak	MMS 11	19-okt	7570
Århus	Århus Bugt	170165	28-sep	7494
	Grenå Havn	150129	29-sep	7519
Nykøbing	Stege Bugt	Dr.Alexandrines Bro	29-okt	7676
	Karrebæk Fjord	N.østre Røse ...63	29-okt	7673
Roskilde	Kulhuse		02-dec	7801
	Kalundborg		02-dec	7803
DMU	Nivå Bugt		09-sep	7381
	Egholm		11-nov	7766
	Stålvalseværket		02-nov	7722

## 2.4 Kontrol og blindprøver

Da denne metode på ingen måde er en rutineanalyse og antallet af prøver er lavt, blev der foretaget ekstra blind- og kontrolanalyser i projektet til dokumentation af analysekvaliteten. Da der ikke forefindes biologisk referencemateriale for disse stoffer, var kontrollerne baseret på et inhouse referencemateriale, som var et muslinge homogenat. Til selve kontrollerne blev referencematerialet spiket med standarder, dvs. standard addition metoden, og der blev analyseret kontroller både med og uden spike.

Selve muslinge homogenatet består af vilde muslinger indsamlet i dansk farvand, som efterfølgende er blevet homogeniseret. For at kunne samle tilstrækkelig stort antal muslinger har det været nødvendigt at høste muslingerne fra relativt sunde muslingebanker, hvor muslingerne er større og mere velnærede end dem der typisk indsamles i det marine program.

## 3 Resultater

### 3.1 Resultat af analyserne

Resultaterne fremgår af nedenstående tabeller:

**Tabel 3.1a.** Phenoler i muslinger udtaget i 2009 under NOVANA (ng/g våd vægt).

Område	Odense	Nakkebølle	Hejlsminde					
	Fjord	Fjord	Halen	Lister dyb	Nor	Als Sund	Langerak	Århus Bugt
Prøve nr.	7750	7724	7867	7865	7831	7834	7570	7494
2,6-di-tert-Butylphenol	<2	2,2	2,4	3,0	6,3	<2	4,0	11,6
4-tert-Octylphenol	33,1	13,3	93,5	26,2	10,2	30,8	41,6	85,4
Nonylphenol-mix	58,9	73,9	120,0	121,2	83,8	119,3	214,0	327,4
Octylphenol	<1	1,6	1,1	<1	<1	<1	6,5	<1
4-Cumylphenol	<1	<1	<1	3,2	<1	1,7	1,7	1,8
n-Nonylphenol	8,7	11,2	16,9	16,7	6,4	8,8	9,2	14,0
Octylphenol-ethoxylat	21,3	26,0	51,9	38,8	25,2	42,0	32,4	43,2
Bisphenol-A	17,1	13,5	18,3	27,8	12,2	21,6	28,2	9,1
Nonylphenoethoxylat	25,7	37,1	67,9	40,5	33,9	80,1	57,2	63,0
Methyleret-TBBPA	2,3	<2	<2	2,4	<2	<2	3,2	<2
TBBPA	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2

**Tabel 3.1b.** Phenoler i muslinger udtaget i 2009 under NOVANA (ng/g våd vægt).

Område	Grenå	Stege	Karrebæk			Nivå	Egholm	Stålvalseværket
	Havn	Bugt	Fjord	Kulhuse	Kalundborg	Bugt		
Prøve nr.	7519	7676	7673	7801	7803	7381	7766	7722
2,6-di-tert-Butylphenol	<2	7,0	4,0	3,4	4,0	3,4	4,4	<2
4-tert-Octylphenol	33,4	37,4	18,8	103,7	44,4	29,6	27,3	<1
Nonylphenol-mix	141,3	120,3	64,2	207,8	166,7	76,2	123,8	31,7
Octylphenol	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1,8	1,7
4-Cumylphenol	<1	1,5	<1	<1	2,7	<1	4,9	3,8
n-Nonylphenol	12,8	7,8	10,4	25,5	15,3	7,9	15,1	4,5
Octylphenol-ethoxylat	33,4	40,9	30,2	46,7	61,6	29,1	25,8	70,5
Bisphenol-A	28,9	9,0	19,6	19,4	26,8	10,0	6,1	16,8
Nonylphenoethoxylat	47,3	43,8	33,9	68,6	84,0	56,2	66,7	90,5
Methyleret-TBBPA	<2	<2	11,1	<2	<2	2,2	6,1	<2
TBBPA	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2

På baggrund af blindværdier og kontroller har det ikke vist sig muligt at af-rapportere 4-butyphenol og dodecylphenol (se afsnit 3.2 og 3.3). For gennemgang af resultater, se afsnit 4.1

### 3.2 Blindværdier

Gennemsnit af middelværdier er beregnet på basis af 4 blindprøver, da en gik tabt under analysen.

**Tabel 3.2.** Blindværdier (ng/g våd vægt).

Parameter	Middelværdi	Spredning
4-Butylphenol	166,9	30,17
2,6-di-tert-Butylphenol	0,5	0,18
4-tert-Octylphenol	0,2	0,21
Nonylphenol-mix	3,9	2,31
Octylphenol	0,6	0,31
4-Cumylphenol	0,2	0,08
n-Nonylphenol	0,2	0,10
Dodecylphenol	3,6	8,15
Octylphenol-ethoxylat	0,1	0,03
Bisphenol-A	0,2	0,12
Nonylphenol-ethoxylat	1,0	0,80
Methyleret-TBBPA	0	0
TBBPA	0	0

Blindværdierne viste forholdsvis lave værdier og spredning, bortset fra 4-butylphenol. Det har ikke været muligt at opspore den mulige kontaminering til 4-butylphenol i laboratoriet. På baggrund af den høje blind har det ikke været muligt at afrapportere data på 4-butylphenol. I undersøgelsen for Nordisk Ministerråd sås høje blindværdier for 4-butylphenol men ikke lige så høje for biota som i nærværende undersøgelse. I den tidligere undersøgelse blev det konstateret, at udglødning af glasvarerne var essentielt for at undgå kontaminering med 4-butylphenol. Der har derfor været særlig fokus på dette i denne undersøgelse men det har ikke løst problemet. Værdierne for blind er opgivet i bilag.

For dodecylphenol krummede standardkurven, hvilket betød at flere at blindværdier blev negative. Detektionsgrænsen er derfor sat højt i det tilfælde. Detektionsgrænserne er opgivet i bilag og baseret på spredning af blind samt vurdering i forhold til støj-signal forhold på apparatur.

### 3.3 Kontroller

En række kontrolprøver (muslinge homogenat) blev analyseret med og uden standard addition. Ved en fejl blev der anvendt to forskellige kontrolmaterialer, hvorfor resultaterne er opgivet i et A og B kontrol materiale. Koncentrationen af spiken lå mellem 24-40 ng/g kontrolprøve af de enkelte stoffer. Værdien af den målte spike blev beregnet ved at fratække målinger af kontrolmaterialet uden spike fra målinger af kontrolmaterialet med spike.

Som tidligere nævnt er muslinge homogenatet fremstillet ud fra forholdsvis velnærede muslinger i forhold til de mere magre muslinger, som er målt i denne undersøgelse. Dette har betydet at fedtjernelse har været en større udfordring for kontrollerne sammenlignet med prøverne og har sandsynligvis givet større usikkerhed på bestemmelserne. I nedenstående tabeller ses resultaterne for kontrolmuslingerne med og uden standard addition. Alle resultater for kontrollerne er samlet i bilag.

**Tabel 3.3.** Kontrolmateriale A, muslinge homogenat med og uden spike, spredning og gennemsnitsværdier (ng/g våd vægt).

Parameter	Kontrol A,	Kontrol A + spike,	Differens med			
	gennemsnit	gennemsnit	Spredning	% Spredning	og uden spike	Spikeværdi
4-Butylphenol	155,9	166,5	15,9	9,5	10,6	<b>29,8</b>
2,6-di-tert-Butylphenol	18,4	12,1	7,4	60,6	-6,2	<b>27,6</b>
4-tert-Octylphenol	314,5	338,6	87,5	25,8	24,2	<b>24,4</b>
Nonylphenol-mix	276,5	309,5	100,9	32,6	33,1	<b>27,1</b>
Octylphenol	10,5	49,6	7,5	15,1	39,1	<b>25,0</b>
4-Cumylphenol	1,6	22,3	3,5	15,9	20,7	<b>27,6</b>
n-Nonylphenol	17,3	59,9	5,0	8,4	42,6	<b>40,0</b>
Dodecylphenol	1425	1477	554	37	51	<b>25,9</b>
Octylphenol-ethoxylat	146,5	190,3	28,9	15,2	43,8	<b>36,3</b>
Bisphenol-A	12,2	34,2	29,0	84,8	22,0	<b>26,0</b>
Nonylphenol-ethoxylat	199,6	219,2	44,4	20,3	19,5	<b>32,0</b>
Methyleret-TBBPA	6,3	18,5	9,3	50,1	12,2	<b>20,0</b>
TBBPA	<2	23,6	1,4	5,9	23,6	<b>24,7</b>

**Tabel 3.4.** Kontrolmateriale B, muslinge homogenat med og uden spike, spredning og gennemsnitsværdier (ng/g våd vægt)

Parameter	Kontrol B	Kontrol B+spike,	Differens med			
	gennemsnit	gennemsnit	Spredning	% Spredning	og uden spike	Spikeværdi
4-Butylphenol	224,5	78,3	136,3	174,0	-146,1	<b>29,8</b>
2,6-di-tert-Butylphenol	4,8	3,8	2,1	54,0	-1,0	<b>27,6</b>
4-tert-Octylphenol	63,2	76,9	17,5	22,7	13,7	<b>24,4</b>
Nonylphenol-mix	153,8	173,5	71,2	41,1	19,7	<b>27,1</b>
Octylphenol	12,1	39,1	7,7	19,8	27,0	<b>25,0</b>
4-Cumylphenol	1,9	16,9	4,7	27,8	15,1	<b>27,6</b>
n-Nonylphenol	24,3	53,2	9,4	17,7	28,9	<b>40,0</b>
Dodecylphenol	283	607	388	64	323	<b>25,9</b>
Octylphenol-ethoxylat	66,2	91,9	8,7	9,5	25,7	<b>36,3</b>
Bisphenol-A	49,5	51,1	26,9	52,6	1,7	<b>26,0</b>
Nonylphenol-ethoxylat	95,8	123,2	17,1	13,9	27,4	<b>32,0</b>
Methyleret-TBBPA	4,9	15,4	3,6	23,2	10,5	<b>20,0</b>
TBBPA	<2	24,2	3,3	13,7	24,2	<b>24,7</b>

### 3.3.1 Gennemgang af resultaterne for kontrollerne

For 4-butylphenol betød de høje blindværdier at der var alt for høj usikkerhed på data og det var ikke var muligt at estimere værdierne. Flere af de målte spikede kontroller endte således med at være lavere end de uspikede prøver.

For 2,6-di-tert-butylphenol var det ikke muligt at genfinde spiken til trods for reanalyse (se afsnit 2.2). Kontrol på GC-MS viste, at stoffet var tilsat spiken. Resultaterne fra prøverne viste også generelt meget lave værdier og det må antages at disse værdier er underestimerede.

For 4-tert-octylphenol var det ene kontrolmateriale forholdsvis høj i koncentration (> faktor 10) i forhold til spiken, hvilket giver større usikkerhed på bestemmelse af spiken. Imidlertid genfindes spiken for begge kontrolmaterialer rimelig indenfor usikkerheden.

For nonylphenol-mix var begge kontrolmaterialer forholdsvis høje i koncentration i forhold til spiken, hvilket giver større usikkerhed på bestemmelse af

spiken. Samtidig er nonylphenol-mix en blanding af flere isomerer hvilket også giver højere usikkerhed. Imidlertid genfindes spiken for begge kontrolmaterialer rimelig indenfor usikkerheden.

Resultaterne for octylphenol viste noget højere værdier end spikeværdien og det er således muligt at de målte værdier i prøverne er overestimeret med 10-30 %.

For 4-cumylphenol er spike værdierne fundet inden for usikkerheden.

For n-nonylphenol er spike værdierne fundet inden for usikkerheden.

For dodecylphenol blev der fundet meget høje værdier specielt for det ene kontrolmateriale og det var ikke muligt at bestemme spike værdien i de spikede kontrolprøver. Da de høje værdier gik igen for alle prøverne er det vurderet at der må være en interferens ved kromatograferingen. Der er derfor ikke afrapporteret data for dodecylphenol i prøverne. En mulig interferens kan forstærkes af, at dodecylphenol er en isomer blanding bestående flere toppe som der integreres samlet over.

For octylphenol-ethoxylat var det ene kontrolmateriale forholdsvis høj i koncentration i forhold til spiken, hvilket giver større usikkerhed på bestemmelse af spiken. Samtidig er octylphenol-ethoxylat en blanding af flere isomerer hvilket også giver højere usikkerhed. Imidlertid genfindes spiken for begge kontrolmaterialer rimelig indenfor usikkerheden, når den høje koncentration på det ene kontrolmateriale tages i betragtning.

Bisphenol-A udviste stor spredning for begge spikede kontrolmaterialer, og det var således kun muligt at genfinde spiken for det ene kontrolmateriale. Bisphenol-A havde forholdsvis lave genfindinger i prøver og kontroller og det vurderes, at tabet sker i fedtjernelsestrinnet. Data er dog medtaget for prøver, men der må forventes en usikkerhed på resultaterne på 50-80 %.

For nonylphenol-ethoxylat var der i det ene kontrolmateriale forholdsvis høj koncentration i forhold til spiken, hvilket giver større usikkerhed på bestemmelse af spiken. Samtidig er nonylphenol-ethoxylat en blanding af flere isomerer hvilket også giver højere usikkerhed. Imidlertid genfindes spiken for begge kontrolmaterialer rimelig indenfor usikkerheden, når den høje koncentration på det ene kontrolmateriale tages i betragtning.

For methyleret-TBBPA er spikeværdierne underestimeret med ca. 50 %, hvilket sandsynligvis skyldes lave genfindinger (se afsnit 3.4). Det er således muligt at de målte værdier i prøverne er underestimeret med ca. 50 %.

Til trods for de lave genfindinger for TBBPA (se afsnit 3.4) er spike værdierne fundet med god præcision. Det er vurderingen at de lave genfindinger af både TBBPA og methyleret-TBBPA skyldes fedtjernelsestrinnet.

### **3.4 Genfinding**

Pga. interferens var det ikke muligt at anvende nonylphenol samt for en række prøver og kontroller heller ikke 4-n-octylphenol som genfindingsstandard. I de tilfælde blev anden genfinding anvendt, hvilket øger usikkerheden noget. I tabel 3.5 ses en oversigt over genfindingerne. Alle data ses i bilag.



**Tabel 3.5.** Opsummering af genfindingsprocenter for prøver og kontroller.

<b>Mærket standard</b>	<b>Genfinding procent</b>	<b>Range indenfor prøver</b>
4-tert-Butylphenol-D9	98	47-196
4-n-Octylphenol-D17	173	70-442
Nonylphenol-13C6	513	79-2174
Bisphenol-A-D6	59	30-117
TBBPA-13C12	27	11-75

Bisphenol- A og TBBPA havde forholdsvis lave genfindinger. Specielt for bisphenol-A ser dette ud til at give større spredning på resultaterne, hvorimod genfinding for TBBPA ser ud til at give forholdsvis robuste resultater for TBBPA, men en underestimering af methyleret TBBPA, se afsnit 3.3.

## 4 Diskussion

### 4.1 Diskussion af resultater

Udover den almindelige kvalitetssikring er resultaterne blevet yderligere vurderet på baggrund af blindværdier og kontroller. På grund af det forholdsvis lave antal er det dog ikke muligt at lave robust statistik, og kontrolanalyserne kan mere bruges til vurdering af analysekvaliteten. Vurdering af enkelte parametre er gennemgået i afsnit 3.1, hvorfor dette her er en opsummering.

På baggrund af blindprøver og interferens var det ikke muligt at rapportere data for 4-butyphenol og dodecylphenol. 2,6-di-tert-butyphenol kunne stort set ikke genfindes i kontrollerne hvorfor det er vurderet at resultaterne for denne parameter muligvis er kraftigt underestimeret. For methyleret-TBBPA og bisphenol-A tyder resultaterne på, at der er en underestimering i målingerne på ca. 50 henholdsvis 50-80 %.

For resten af parametrene viste kontrolprøverne, at resultaterne falder indenfor usikkerheden (se afsnit 4.2).

Vurderes resultaterne i forhold til tilfældige og systematiske fejlkilder har 2,6-di-tert-butyphenol, methyleret-TBBPA og bisphenol-A en systematisk fejlkilde, som giver underestimerede resultater. For octylphenol ser der ud til at være en systematisk fejlkilde, som giver lidt overestimerede værdier. For resten af stofferne er fejlkilderne tilfældige og ligger derfor spredt både over og under spikeværdien.

Sammenlignes resultaterne i nærværende undersøgelse med resultaterne for muslinger fra den nordiske screeningsundersøgelse ligger disse indenfor samme koncentrationsniveau når usikkerheden medtages, bortset fra 4-tert-octylphenol og 2,6-di-tert-butyphenol, som ligger betydelig lavere. For 4-tert-octylphenol viste halvdelen af muslingeprøverne meget høje koncentrationer (op til 7 µg/g våd vægt) i den nordiske screeningsundersøgelse. Disse høje værdier har ikke kunnet genfindes i nærværende undersøgelse (se også afsnit 4.2). Resultaterne for 4-tert-octylphenol vurderes derfor at være fejlbehæftede i den nordiske screeningsundersøgelse. For 2,6-di-tert-butyphenol viste nærværende undersøgelse på basis af kontrollerne, at målingerne sandsynligvis var underestimerede. Omvendt var vurderingen i den nordiske screeningsrapport, at resultaterne her muligvis var overestimerede pga. analytiske fejlkilder. Resultaterne ligger sandsynligvis et sted mellem de to undersøgelser. Resten af resultaterne fra den nordiske screeningsundersøgelse understøttes af nærværende undersøgelse.

Der er ikke foretaget ret mange målinger på muslinger i de andre nordiske lande. Sammenholdes de målte værdier i denne rapport med de få data, der findes, ligger de tilsvarende i samme størrelsesorden.

**Tabel 4.1.** Opsummering af målte værdier i prøver (ng/g våd vægt).

Parameter	middel	min-maks værdier
4-Butylphenol*	na	na
2,6-di-tert-Butylphenol	3,8	<2-11,6
4-tert-Octylphenol	39,3	<1-104
Nonylphenol-mix	128,2	32-327
Octylphenol	1,2	<1-7
4-Cumylphenol	1,7	<1-5
n-Nonylphenol	11,9	5-26
<i>Dodecylphenol**</i>	<i>390,7</i>	<i>21-598</i>
Octylphenol-ethoxylat	38,7	21-71
Bisphenol-A	17,8	6-28
Nonylphenol-ethoxylat	56,0	26-91
Methyleret-TBBPA	4,1	<2-6
TBBPA	<2	<2

\*4-butylphenol kunne ikke kvantificeres pga. for høj blindværdi.

\*\*dodecylphenol er ikke afrapporteret pga. interferens.

En vurdering af koncentrationniveauerne, baseret på gennemsnit, viser, at følgende stoffer har meget lave niveauer (<DL til 10 ng/n våd vægt): 2,6-ditert-butylphenol (kan dog muligvis være underestimeret), octylphenol, 4-cumylphenol, methyleret-TBBPA, TBBPA. Mellem lave niveauer: 4-tert-octylphenol, n-nonylphenol, octylphenol-ethoxylat, bisphenol-A, nonylphenol-ethoxylat. Højere niveauer: nonylphenol-mix.

Det er vanskeligt at vurdere, om de målte koncentrationer har effekter, da der ikke findes effektdata på muslinger for de pågældende stoffer, bla. fordi der pt. ikke findes OECD guidelines for muslinger. Stofferne er generelt vurderet som meget toksiske. Imidlertid er koncentrationerne forholdsvis lave for de fleste stoffer med undtagelse af nonylphenol-mix. Det er således sandsynligt, at der ikke vil forekomme effekter på stofferne enkeltvis set, muligvis bortset fra nonylphenol-mix. Der bør imidlertid tages alle forbehold for denne vurdering, da følsomheden overfor disse stoffer for muslinger i forhold til eksempelvis fisk ikke kendes.

## 4.2 Diskussion af metode

Metoden blev yderligere optimeret i forbindelse med dette projekt og det har derfor været muligt at opnå en bedre analysekvalitet.

Resultaterne viser dog at der er forholdsvis stor usikkerhed på analyserne. Fedtjernelsen er metodens svageste del, både ved tab af stoffer og ved mulig efterfølgende interferens. Den høje spredning fra de forholdsvis fede kontrolmuslinger kan primært forklares ud fra dette. Andre metoder til fjernelse af fedt er blevet testet/overvejet, men pga. stoffernes fysiske og kemiske egenskaber har det ikke været muligt at finde alternativer. Da det samtidig ikke er muligt at skaffe mærkede genfindingsstandarder for alle stofferne, vil de anvendte genfindingskorrektioner ikke nødvendigvis afspejle det præcise tab af de enkelte stoffer, hvilket også vil øge usikkerheden på målingerne. Usikkerheden på målingerne vurderes at ligge på omkring 25-50 % for de enkelte parametre, med undtagelse af 2,6-di-tert-butylphenol, bisphenol A og methyleret-TBBPA, hvor usikkerheden forventes at ligge på op til 100 %.

Ved valideringsarbejdet i forbindelse med metoden blev metodens sårbare trin vurderet og identificeret. Det helt essentielle trin i ekstraktionen er igen fedtfjernelsen med acetonitril mættet med hexan. Mætningsgraden varierer tilsyneladende en del ved selv små temperaturændringer og det kan derfor være nødvendigt at tilsætte hexan i flere omgange og lade blandingen stå et stykke tid. Ved gennemgang af gamle laboratorienoter fra det oprindelige Nordiske Ministerrådsprojekt kunne noget tyde på, at dette ikke var givet tilstrækkelig opmærksomhed. Der kan derfor muligvis ligge en fejlkilde der. På baggrund af ovenstående har usikkerheden på analyserne muligvis være noget højere i Nordisk Ministerrådsprojektet.

## 5 Konklusion

I forbindelse med dette projekt er metoden blevet yderligere optimeret og det har derfor været muligt at opnå en bedre analysekvalitet. Resultaterne viser dog, at der er forholdsvis stor usikkerhed på analyserne. Fjernelse af fedt fra ekstraktet er metodens svageste del, både ved tab af stoffer og ved mulig efterfølgende interferens, primært på grund af stoffernes fysiske og kemiske egenskaber.

Usikkerheden på målingerne vurderes at ligge på omkring 25-50 % for de enkelte parametre, med undtagelse af 2,6-di-tert-butylphenol, bisphenol-A og methyleret-TBBPA, hvor usikkerheden forventes at ligge på op til 100 %. På baggrund af blindprøver og interferens var det ikke muligt at rapportere data for 4-butyphenol og dodecylphenol.

Resultaterne fra muslinge prøverne ligger mellem detektionsgrænsen og ca. 100 ng/g våd vægt for de enkelte phenoler, bortset fra nonylphenol-mix, hvor der er målt op til ca. 325 ng/g våd vægt. Koncentrationerne ligger derfor inden for samme størrelsesorden som ved den nordiske screeningsundersøgelse og understøtter derfor disse, bortset fra 4-tert-octylphenol og 2,6-di-tert-butylphenol, som er betydelig lavere i nærværende undersøgelse. På baggrund af denne undersøgelse må det vurderes, at der generelt ikke findes de forhøjede værdier af 4-tert-octylphenol i muslinger i det marine miljø, som der blev fundet i den nordiske screeningsundersøgelse. For 2,6-di-tert-butylphenol viste kontrollerne i denne undersøgelse, at værdier var underestimerede, mens der i den nordiske screeningsundersøgelse blev taget forbehold for analytiske fejlkilder, som kunne give forhøjede værdier. Resultaterne ligger sandsynligvis et sted mellem de to undersøgelser.

Fedtfjernelsen er et essentielt trin i ekstraktionen, som blandt andet er temperaturfølsom. Ved gennemgang af gamle laboratorienoter fra det oprindelige Nordisk Ministerrådsprojekt kunne noget tyde på, at dette ikke var givet tilstrækkelig opmærksomhed. Der kan derfor muligvis ligge en fejlkilde der, hvilket kan have givet højere usikkerhed på den nordiske screeningsundersøgelse i forhold til nærværende undersøgelse.

Generelt kan det ses, at der ikke er specielt stor spredning i koncentrationsniveauerne i Danmark, men dette er muligvis forventeligt, da prøverne generelt er taget i kystnære områder. En vurdering af koncentrationsniveauerne, baseret på gennemsnit, viser, at stort set alle stoffer ligger forholdsvis lavt bortset fra nonylphenol-mix. Om de pågældende niveauer i muslingerne giver anledning til effekt er muligvis ikke ret sandsynligt bortset fra eventuelt nonylphenol-mix. Der bør imidlertid tages alle forbehold for denne vurdering, da følsomheden overfor disse stoffer for muslinger ikke kendes.

## 6 Referencer

Asger B. Hansen and Pia Lassen 2008, Screening of phenolic substances in the Nordic environments, TemaNord 2008:530, Nordic Council, [www.norden.org](http://www.norden.org)

Britta Pedersen, Martin M. Larsen and Ingela Dahllöf (2004): Tekniske anvisninger for marin overvågning. 4.4. Miljøfarlige stoffer i muslinger. Miljøministeriet, Danmarks Miljøundersøgelser

## Bilag

**Tabel 6.1.** Blindværdier (ng/g).

Parameter	Blind 1	Blind 2	Blind 3	Blind 4	Middelværdi	Spredning
4-butylphenol	200,9	130,0	178,4	158,1	166,9	30,2
2,6-ditert-butylphenol	0,3	0,4	0,7	0,5	0,5	0,2
4-tert-octylphenol	0,1	0,1	0,5	0,0	0,2	0,2
Nonylphenol-mix	3,1	5,2	6,3	1,1	3,9	2,3
Octylphenol	0,4	0,7	1,0	0,3	0,6	0,3
4-cumylphenol	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	0,08
n-Nonylphenol	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2	0,1
Dodecylphenol	-0,7	-0,4	15,9	-0,3	3,6	8,2
octylphenol-ethoxylat	0,1	0,1	0,1		0,1	0,03
Bisphenol-A	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2	0,1
Nonylphenoethoxylat	0,5	2,0	1,2	0,2	1,0	0,8
Methyleret-TBBPA	0	0	0	0	0	0
TBBPA	0	0	0	0	0	0

**Tabel 6.2.** Kontrolmateriale A, muslinge homogenat med og uden spike (ng/g våd vægt).

Parameter	kontrol A	kontrol A	kontrol A+spike 1	kontrol A+spike 2	kontrol A+spike 3
4-butylphenol	182,9	128,8	183,2	151,7	164,5
2,6-ditert-butylphenol	8,9	27,9	20,2	10,4	5,8
4-tert-octylphenol	199,9	429,0	343,9	423,4	248,6
Nonylphenol-mix	276,5	na	423,4	273,6	231,5
Octylphenol	9,9	11,1	58,1	46,6	44,1
4-cumylphenol	1,6	1,7	19,9	20,5	26,4
n-Nonylphenol	16,8	17,8	57,6	56,4	65,6
Dodecylphenol	1032	1819	2010	1516	905
octylphenol-ethoxylat	156,8	136,1	193,6	159,9	217,3
Bisphenol-A	22,3	2,2	67,2	12,3	23,3
Nonylphenoethoxylat	200,0	199,2	266,8	178,9	211,7
Methyleret-TBBPA	2,2	10,4	21,7	25,8	8,1
TBBPA	<2	<2	25,2	23,0	22,7

**Tabel 6.3.** Kontrolmateriale B, muslinge homogenat med og uden spike (ng/g våd vægt).

Parameter	kontrol B		kontrol B	kontrol B	kontrol B	kontrol B
	kontrol B	kontrol B	+spike 1	+spike 2	+spike 3	+spike 4
4-butylphenol	258,9	190,0	282,5	21,1	3,6	6,2
2,6-ditert-butylphenol	1,4	8,3	5,6	0,8	4,7	4,2
4-tert-octylphenol	64,0	62,4	87,2	na	86,7	56,7
Nonylphenol-mix	153,8	na	272,0	179,4	117,3	125,3
Octylphenol	11,8	12,4	38,9	50,0	35,1	32,4
4-cumylphenol	1,5	2,2	21,9	19,0	16,0	10,9
n-Nonylphenol	26,8	21,7	63,5	43,2	58,4	47,4
Dodecylphenol	153	414	153	1007	837	429
octylphenol-ethoxylat	61,0	71,3	99,0	na	94,5	82,1
Bisphenol-A	43,3	55,6	88,0	42,5	24,0	50,1
Nonylphenoethoxylat	96,0	95,5	104,5	126,6	138,3	na
Methyleret-TBBPA	6,9	3,0	19,2	16,7	15,1	10,7
TBBPA	<2	<2	27,0	25,7	24,8	19,4

**Tabel 6.4.** Detektionsgrænser (ng/g våd vægt).

Parameter	Detektionsgrænse
4-butylphenol	30
2,6-ditert-butylphenol	2
4-tert-octylphenol	1
Nonylphenol-mix	5
Octylphenol	1
4-cumylphenol	1
n-Nonylphenol	1
Dodecylphenol	10
octylphenol-ethoxylat	1
Bisphenol-A	1
Nonylphenoethoxylat	1
Methyleret-TBBPA	2
TBBPA	2



**Tabel 6.5.** Genfinding af mærkede standarder i %.

<b>Sample ID</b>	<b>4-tertbutylphenol-d9</b>	<b>4n-Octylphenol-d17</b>	<b>Nonylphenol-13c6</b>	<b>Bisphenol-A-D6</b>	<b>TBBPA-13c12</b>
blind 1	76	116	135	92	69
blind 2	64	70	79	55	11
blind 3	23	198	141	117	75
blind 4	47	55	63	60	16
2009-7522	130	241	106	30	36
2009-7570	130	251	594	30	12
2009-7766	120	235	468	60	41
2009-7673	111	167	558	42	13
2009-7750	141	226	441	55	17
2009-7865	144	245	423	51	18
2009-7381	117	305	263	94	27
2009-7724	179	473	1171	86	59
2009-7676	81	107	292	75	12
2009-7803	77	97	286	49	10
2009-7831	73	109	228	79	19
2009-7834	100	130	260	55	26
2009-7494	95	146	228	75	20
2009-7519	68	110	325	39	14
2009-7801	94	145	463	72	19
2009-7867	93	125	332	73	15
ref musling B +St Ad 1	126	223	1259	52	16
ref musling B +St Ad 2	146	206	831	55	47
ref musling B +St Ad 3	196	442	2174	61	27
ref musling A +St Ad 1	74	101	468	51	64
ref musling A +St Ad 2	60	88	397	50	17
Ref musling A	70	104	339	48	19
Ref musling A	87	115	345	56	16
ref musling A +St Ad 3	95	141	549	51	27
Ref musling B	71	121	735	45	14
Ref musling B	88	146	1146	43	23
Ref musling B + St Ad 4	68	121	789	42	23

## SCREENING AF PHENOLER I MARINT BIOTA

Forholdsvis flygtige og svært nedbrydelige organiske kemikalier kan transporteres til arktiske områder og ophobes i de arktiske fødekæder. Formålet med denne undersøgelse var at sammendrage viden om forekomsten i Arktis af nye kontaminanter, som ikke er omfattet af eksisterende overvågningsprogrammer, med fokus på bioakkumulerende stoffer. Rapporten sammenfatter resultater fra forskellige kilder, med henblik på stoffernes forekomst i dyr og abiotiske medier i Arktis samt fødekæder udenfor Arktis. Den beskriver også resultater fra modelberegninger og teoretiske undersøgelser om stoffernes potentiale til at være arktiske kontaminanter. På denne basis er relevansen for det grønlandske miljø vurderet. Det konkluderes, at i alt 11 stoffer som omfatter flammehæmmere, pesticider og andre kemikalier, vil være særligt relevante for videregående undersøgelser i Grønland, f.eks. i form af screeningsundersøgelser eller retrospektive tidsserier.