

Mastergradsoppg. 2011

BIOTILGJENGELIGHET OG OPPTAK AV ANTIMON, KADMIUM, KOBOLT OG SINK  
I ØYENSTIKKERNYMFER (ODONATA, ANISOPTERA) SOM FUNKSJON AV  
ØKENDE VEISALTKONSENTRASJONER - ET TRACEREKSPERIMENT

BIOAVAILABILITY AND UPTAKE OF ANTIMONY, CADMIUM, COBALT AND ZINC  
IN DRAGONFLY LARVAE (ODONATA, ANISOPTERA) AS A FUNCTION OF  
INCREASING ROAD SALT CONCENTRATIONS - A TRACER EXPERIMENT

MARI THANSTRØM NYHEIM



UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP  
INSTITUTT FOR PLANTE- OG MILJØVITENSKAP  
MASTEROPPGAVE 30 STP. 2011





## **Forord**

Denne mastergradsoppgaven (30 studiepoeng) inngår i et toårig masterstudium i Miljø- og naturressurser, studieretning Miljøgifter og økotoksikologi, ved Institutt for plante- og miljøvitenskap (IPM) på Universitetet for miljø- og biovitenskap. Arbeidet med oppgaven er utført i samarbeid med Statens vegvesen.

Førsteamanuensis Lindis Skipperud (IPM) har vært hovedveileder, mens postdoktor Lene Sørli Heier (IPM) og PhD/senioringeniør Sondre Meland (Statens vegvesen) har vært medveiledere. Tusen takk for all hjelp og veiledning!

Takk til Marit Nandrup Pettersen, Tove Loftaas og Merethe Kleiven for hjelp med laboratoriarbeidet, og Cato Wendel for hjelp med autoradiografi. Takk også til Hilde Kolstad for hjelp med fotografering i lupe.

En ekstra stor takk til gjengen på lesesalen for alle hyggelige kaffepauser og sprell vi har funnet på opp gjennom årene. Dere er fantastiske! Spesielt takk til navnesøster Mari for ditt gode selskap og alltid smittende gode humør!

Sist, men ikke minst; tusen takk Andreas, klippen i mitt liv, for all støtte og oppmuntring i frustrerte stunder!

Oslo, 5. mars 2011

Mari Thanstrøm Nyheim

## Sammendrag

Lang vintersesong fører til at det brukes store mengder veisalt (NaCl) på norske veier. Store deler av veisaltet som spres på veiene ender opp i veinære vannforekomster og rensedammer. Høye saltkonsentrasjoner i vannfasen kan øke mobiliseringen av tungmetaller fra sedimentet og påvirke biota som lever i vannforekomstene. Denne oppgaven undersøker hvordan veisalt i vannfasen påvirker mobiliteten til Co, Cd, Sb og Zn i sediment og hvordan dette påvirker akkumulering av disse metallene i nymfer av Øyestikkere (*Odonata*). Dette er undersøkt ved hjelp av tracerteknikk i et laboratorieeksperiment ved bruk av henholdsvis  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$ . Nymfer av underorden Libeller (*Anisoptera*) ble eksponert for moderat kontaminert sediment og vann med ulike saltkonsentrasjoner (0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L).

Det ble benyttet sekvensiell ekstraksjon på sedimentet for å undersøke bindingen og mobiliteten til metallene. For  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  ble det funnet positiv korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og aktivitet i vannfasen, og positiv korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og de fraksjonene som antas som biotilgjengelige ved sekvensiell ekstraksjon.  $^{125}\text{Sb}$  så ut til å være hardt bundet til sedimentet og ble lite mobilisert av veisalt i vannfasen. Grunnet lav aktivitet av  $^{65}\text{Zn}$  i sedimentet var det vanskelig å trekke konklusjoner for dette metallet.

Nymfene akkumulerte  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{60}\text{Co}$  og  $^{125}\text{Sb}$ .  $^{65}\text{Zn}$  ble ikke akkumulert. Basert på verdier for bioakkumulasjonsfaktoren (BAF) var rangeringen for akkumulering av de ulike metallene i følgende rekkefølge:  $^{60}\text{Co} > ^{109}\text{Cd} \approx ^{125}\text{Sb} > ^{65}\text{Zn}$ .

For  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  førte økt saltkonsentrasjon i vannfasen ikke til økt opptak av metallene i nymfene, det så heller ut til å være en motsatt trend. For  $^{125}\text{Sb}$  var derimot metalloptaket lavest i kontrollgruppa som ikke ble tilsatt veisalt. For  $^{65}\text{Zn}$  var både aktiviteten i vannfasen og nymfene så lav at det er vanskelig å trekke noen konklusjoner utfra resultatene.

Autoradiografi og målinger av nymfer som skiftet exoskjelett viste at akkumuleringen av  $^{60}\text{Co}$  eller  $^{109}\text{Cd}$ , eller begge metallene, fordelte seg i indre organer og vev samt exoskjelettet.

## Abstract

Because of the long winters in Norway, the amount of road salt needed to keep the roads ice-free is high. A large part of this road salt ends up in ponds close to the roads. High concentration of salt may increase the mobilization of heavy metals in sediments and effect biota living in the ponds. This thesis investigates how road salt in the aqueous phase affects the mobility of Co, Cd, Sb and Zn in sediment and how this affects the accumulation of these metals in nymphs of *Odonata*. This was done using  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  and  $^{65}\text{Zn}$  and tracer technique in a laboratory experiment. Nymphs of dragonflies (*Anisoptera*) was exposed to moderate contaminated sediment and water with different salt concentrations (0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L).

Sequential extraction was used on the sediments to investigate the mobility and bindings of the metals. For  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  a positive correlation was identified between the salt concentration and activity in the aqueous phase, and between the salt concentration and the fractions that is asumed to be bioavailable in sequential extraction.  $^{125}\text{Sb}$  seemed to be tightly bound to the sediment and were not mobilized by road salt in the aqueous phase. Due to low activity of  $^{65}\text{Zn}$  in the sediment it was hard to draw any conclusions for this metal.

The nymphs accumulated  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{60}\text{Co}$  and  $^{125}\text{Sb}$ , while  $^{65}\text{Zn}$  showed none accumulation. Based on values of the bioaccumulation factor (BAF), the ranking of the accumulation of the different metals appeared to be as follows:  $^{60}\text{Co} > ^{109}\text{Cd} \approx ^{125}\text{Sb} > ^{65}\text{Zn}$ .

An increase in salt concentration in the aqueous phase did not lead to an increase in the accumulation of  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  in the nymphs, rather the opposite trend was observed for these metals. This was not true for  $^{125}\text{Sb}$  which had the lowest accumulation in the control group with no added road salt. For  $^{65}\text{Zn}$  the activity in the aqueous phase and in the nymphs was so low that it was hard to draw any conclusions from the results.

Autoradiography and measurements of nymphs that changed their exo-skeleton showed that the accumulation of either  $^{60}\text{Co}$  or  $^{109}\text{Cd}$ , or both of these metals, was in both internal organs and tissues and exo-skeleton.

# Innhold

<b>Forord</b> .....	<b>I</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>II</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>IV</b>
<b>1 Innledning</b> .....	<b>1</b>
1.1 Hypoteser.....	2
<b>2 Bakgrunnsteori</b> .....	<b>3</b>
2.1 Forurensing fra vei .....	3
2.1.1 Tungmetaller og biotilgjengelighet.....	5
2.1.2 Veisalt .....	7
2.2 Rensing av veiavrenning.....	8
2.3 Øyestikkere ( <i>Odonata</i> ) .....	10
2.3.1 Livssyklus Øyestikkere .....	10
2.3.2 Nymfestadiet.....	11
2.3.3 Akkumulering av tungmetaller i invertebrater .....	11
2.4 Tracerteknikk .....	12
<b>3 Materialer og metode</b> .....	<b>14</b>
3.1 Innsamling av Øyestikkernymfer .....	14
3.2 Innsamling av sediment.....	17
3.3 Laboratoriearbeid .....	18
3.3.1 Sedimentet.....	18
3.3.2 Saltholdig eksponeringsvann .....	19
3.3.3 Forsøksorganismer og eksponeringsoppsett.....	19
3.3.4 Målinger på NaI-detektor .....	21
3.3.5 Autoradiografi.....	23
3.3.6 Sekvensiell ekstraksjon.....	23
3.4 Beregning av fordelingskoeffisienten ( $K_d$ ), biokonsentrasjonsfaktoren (BCF) og bioakkumuleringsfaktoren (BAF).....	25
3.5 Statistikk .....	25
<b>4 Resultater</b> .....	<b>27</b>
4.1 Sediment og vannfase .....	27
4.1.1 Metallkonsentrasjoner og aktivitet av tracere i sedimentet.....	27
4.1.2 Konsentrasjoner av NaCl i vannfasen .....	28
4.1.3 pH og konduktivitet i vannfasen .....	28
4.1.4 Sekvensiell ekstraksjon av sedimentet .....	30
4.1.5 Aktivitet i vannfasen.....	33
4.1.6 Fordelingskoeffisienten ( $K_d$ ).....	35
4.2 Akkumulering av tungmetaller i øyestikkernymfer .....	36
4.2.1 Akkumulert dødelighet til nymfer .....	36
4.2.2 Akkumulering av $^{60}\text{Co}$ .....	36
4.2.3 Akkumulering av $^{109}\text{Cd}$ .....	39
4.2.4 Akkumulering av $^{125}\text{Sb}$ .....	42
4.2.5 Akkumulering av $^{65}\text{Zn}$ .....	45
4.2.6 Bioakkumuleringsfaktoren (BAF) .....	46
4.2.7 Biokonsentrasjonsfaktoren (BCF).....	47
4.3 Autoradiografi av nymfer .....	48



4.4	Målinger ved skifte av exoskjelett.....	50
<b>5</b>	<b>Diskusjon .....</b>	<b>54</b>
5.1	Sediment og vannfase .....	54
5.2	Akkumulering av tungmetaller .....	56
5.3	Veisalts påvirkning av tungmetallakkumulering .....	60
5.4	Autoradiografi og målinger ved skifte av exoskjelett.....	61
<b>6</b>	<b>Konklusjon .....</b>	<b>64</b>
<b>7</b>	<b>Litteraturliste.....</b>	<b>65</b>
<b>Vedlegg</b>	<b>.....</b>	<b>i</b>
Vedlegg 1	.....	i
Vedlegg 2	.....	v
Vedlegg 3	.....	ix
Vedlegg 4	.....	x

## 1 Innledning

Norske og internasjonale undersøkelser viser at veiavrenning fra trafikkerte områder bidrar til spredning av miljøgifter (Bækken et al. 2005; Roseth 2006; Westerlund & Viklander 2006). EUs rammedirektiv for vann gir strenge krav til vannkvalitet og har ført til økt fokus for å redusere spredning av forurensning. Ansvar for håndtering av forurensning fra vei ligger hos Statens vegvesen, som har sektormyndighet og skal følge opp de delene av Regjeringens miljøpolitikk som berører vegsektoren (Statens vegvesen 2011).

Land på den nordlige halvkule bruker betydelig mengder avisingskjemikalier på veiene for å oppretteholde og oppnå bar vei og økt friksjon, som igjen gir økt framkommelighet og trafikk sikkerhet (Statens vegvesen 2010). I Norge har veisalt blitt brukt til dette formålet siden før 1970 (Vaa & Sakshaug 2007). Lang vintersesong fører til at det brukes store mengder veisalt på norske veier, og det har også vært en betraktelig økning i saltbruk de siste årene. Vintersesongen 1993/1994 var saltforbruket for riks- og fylkesveger totalt 60 000 tonn, mens det vinteren 2009/2010 hadde økt til hele 201 000 tonn (Statens vegvesen 2010). Økt saltforbruk vil gi en økning i saltmengdene som transporteres i overvann fra vei. Tiltakene knyttet til overvannshåndtering har i stor grad fokusert på metaller, olje og organiske forurensninger, og i mindre grad på veisalt (Amundsen et al. 2008). Salt SMART er et forsknings- og utviklingsprogram i Statens vegvesen 2007-2011. Programmet skal bidra til at Statens vegvesens innsats for å opprettholde framkommelighet og trafikk sikkerhet om vinteren ikke skal gi uakseptabel skade på miljøet. Dette skal oppnås ved en miljøforsvarlig saltpraksis. Det er i den forbindelse utført kartlegginger, undersøkelser og forsøk for å finne ut mer om hvordan salt påvirker miljøet (Statens vegvesen 2008). Denne oppgaven er i så måte aktuell da den undersøker hvordan nymfer av Øyenstikkere (*Odonata*) som lever i vannforekomster nær vei påvirkes av å leve i et miljø med forhøyede konsentrasjoner av veisalt.

## 1.1 Hypoteser

Hovedmålet med denne oppgaven har vært å undersøke i hvilken grad nymfer av Libeller (*Anisoptera*) som lever i vannforekomster langs vei blir påvirket av å leve i et miljø med moderate konsentrasjoner av tungmetaller og forhøyede konsentrasjoner av veisalt. Vannforekomster i denne sammenhengen inkluderer både naturlige dammer og innsjøer samt kunstig anlagte rensedammer. Opptaksstudiet er gjennomført ved bruk av tracerteknikk i et laboratorieeksperiment.

Følgende hypoteser for forsøket er definert:

- Salt øker biotilgjengeligheten til tungmetaller i sedimentet
- Nymfene akkumulerer tungmetaller fra sedimentet, og akkumuleringen øker med økende saltkonsentrasjon

## **2 Bakgrunnsteori**

### **2.1 Forurensing fra vei**

Avrenningsvann fra vei og tunnelvaskevann inneholder miljøgifter fra kjøretøy og veidekket. De vanligste forurensningene er tungmetaller, polyaromatiske hydrokarboner (PAH) og natriumklorid (NaCl) (Tabell 1).

Tabell 1. Forurensningsstoffer i veiavrenning og deres antatte kilder basert på litteratordata. Modifisert etter Meland (2010). Aktuelle forurensningsstoffer i oppgaven er uthevet.

	Kilde	Forurensningsstoff <sup>1</sup>	Referanser
Kjøretøy	Bremser	Ba, Cu, Fe, Mo, Na, Ni, Pb, <b>Sb</b>	(Dongarrà et al. 2009; McKenzie et al. 2009; Sternbeck et al. 2002; Thorpe & Harrison 2008)
	Dekk (inkludert piggdekk)	Al, <b>Zn</b> , Ca, <b>Cd</b> , <b>Co</b> , Cu, Mn, Pb, W, hydrokarboner, PAH	(Glaser et al. 2005; Karlsson & Viklander 2008; McKenzie et al. 2009; Ravindra et al. 2008; Sternbeck et al. 2002; Thorpe & Harrison 2008)
	Katalysatorer	Pt, Pd, Rh	(Ek et al. 2004; Whiteley & Murray 2005)
	Karosseri	Cr, Fe, <b>Zn</b>	(Taylor & Robertson 2009)
	Forbrenning	Ag, Ba, <b>Cd</b> , Cr, <b>Co</b> , Mo, Ni, V, <b>Sb</b> , Sr, <b>Zn</b> , PAH, MTBE, BTEX	(Brown & Peake 2006; Desta et al. 2007; Glaser et al. 2005; Lin et al. 2005; Marr et al. 1999; Ravindra et al. 2008; Wang et al. 2003; Weckwerth 2001)
	Olje- og petroleumsøl, drypping, brukt smøremiddelolje	PAH	(Ravindra et al. 2008; Wang et al. 2000)
Annet	Veioverflate (asfalt)	Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, Pb, Si, Sr, Ti, PAH	(Brown and Peake, 2006, Sternbeck et al., 2002, Thorpe and Harrison, 2008)
	Avisende og støvdempende kjemikalier	Ca, Mg, <b>Na</b> , <b>Cl</b> , ferro-cyanide	(Viklander et al., 2003, Aldrin et al., 2008)(Novotny et al., 2008, Ramakrishna and Viraraghavan, 2005)
	Veiutstyr (for eksempel trafikkskilt, midtrabatter og lignende)	<b>Zn</b>	(Thorpe & Harrison 2008)
	Vaskemidler i tunnelvask	Tensider	(Meland et al. 2010)

<sup>1</sup>Forkortelser: Ag = sølv, Al = aluminium, Ba = barium, BTEX = benzen, toluen, etylbenzen, xylen, Ca = kalsium, Cd = kadmium, Cl = klor, Co = kobolt, Cr = krom, Cu = kobber, K = kalium, Mg = magnesium, Mn = mangan, Mo = molybden, MTBE = metyl-tert-butyleter, Na = natrium, Ni = nikkel, Pb = bly, Pd = palladium, Pt = platina, Rh = rhodium, Sb = antimon, Si = silisium, Sr = strontium, Ti = titan, Zn = sink

I forbindelse med regn- og snøsmeltingsepisoder, samt vasking av tunneler, vil miljøgiftene fra veiavrenning tilføres de veinære økosystemene, hvor de kan akkumuleres og utgjøre et forurensingspotensiale. Behovet for behandling av overvannet varierer med trafikkmengde og omgivelsenes sårbarhet (Statens vegvesen 2006).

### **2.1.1 Tungmetaller og biotilgjengelighet**

Tungmetaller er en gruppe metalliske grunnstoffer, generelt med tetthet større enn 5 g/cm<sup>3</sup>. De forskjellige tungmetallene har ulike fysiske, kjemiske og biologiske egenskaper og et potensiale til å utøve toksiske effekter på organismer (Gadd 1992). Tungmetaller er ikke biologiske nedbrytbare, det vil si at de ikke kan brytes ned til mindre skadelige komponenter (Walker et al. 2006).

Norske og internasjonale undersøkelser av avrenningsvann fra vei viser at konsentrasjonene av ulike tungmetaller er høy (Barbosa 1999; Roseth 2006; Westerlund & Viklander 2006). De fleste tungmetaller som entrer vannforekomster er assosiert med partikler og akkumuleres i sedimentet (Marsalek & Marsalek 1997; Yousef et al. 1994). Partiklenes sedimentasjonshastighet bestemmes av partiklenes egenvekt og størrelse, og beregnes etter Stoke's lov. Turbulens i vannet vil også kunne påvirke sedimentasjonen (Kalff 2002). Endrede miljøforhold, som redokspotensiale, salinitet og pH, kan remobilisere tungmetaller tilbake til vannfasen. På den måten vil sedimentene kun fungere som et midlertidig oppsamlingssted (Bäckström et al. 2004; Luoma 1983). Akkumulering av metaller i sedimenter påvirker vannkvalitet, bioassimilering og bioakkumulasjon av metaller i akvatiske organismer, noe som igjen gir potensielle langsiktige konsekvenser for human helse og økosystemer (Ip et al. 2007; Mertz & Underwood 1986).

Definisjonen av biotilgjengelighet varierer i den vitenskapelige litteraturen. Hare (1992) definerer biotilgjengelighet som den delen av en forbindelse som potensielt kan taes opp av en organisme, Fairbrother et al. (2007) definerer det som andelen av en forbindelse som absorberes inn i og over biologiske membraner av en organisme, mens Fries et al. (1989) definerer det som den andelen av en forbindelse som

absorberes i en organisme for og deretter metaboliseres, lagres eller skilles ut. Biotilgjengelighet er et sammensatt begrep, og i følge Erickson et al. (2008) er det viktig å lage en bredere definisjon slik at alle de faktorer som påvirker biotilgjengelighet blir en del av definisjonen. De ulike påvirkningsfaktorene kan beskrives med fire punkter:

- Kjemisk opptak, og dermed også biotilgjengelighet, avhenger av de morfologiske, fysiologiske og biokjemiske egenskapene til en organisme.
- Biotilgjengelighet må referere til en spesifikk kjemisk konsentrasjon i organismen som studeres, som total kjemisk konsentrasjon i hele organismen eller i et spesifikt vev/organ.
- Biotilgjengelighet må referere til en spesifikk konsentrasjon i miljøet.
- Eksponeringsveier må spesifiseres.

Det er ikke den totale metallkonsentrasjonen i akvatiske organismers omgivelser som først og fremst bestemmer biologiske responser, men heller konsentrasjonen av den eller de formene av metallet som er biotilgjengelig for organismen (VanLoon & Duffy 2005). Korrelasjoner mellom totale metallkonsentrasjoner i sediment eller vann og metallkonsentrasjoner i organismer kan derfor ofte være svake (Bryan & Langston 1992; Luoma 1983; Tessier et al. 1984; VanLoon & Duffy 2005), selv om andre studier har vist det motsatte (Krantzberg & Stokes 1989; Nummelin et al. 2007; Parks 1988). Analyse av det totale tungmetallinnholdet kan være utilstrekkelig ved vurdering av miljøkonsekvensene av forurenset sediment. Den kjemiske formen metallet forekommer på vil avgjøre metallens mobilitet, biotilgjengelighet og toksisitet (Ajayi & Vanloon 1989; Fairbrother et al. 2007; Florence 1982). Specieringen av metaller avhenger av egenskapene til metallet i seg selv og tilgjengelighet og egenskaper til mulige ligander. Ionestyrke, pH, og redokspotensiale, oksygenforhold, TOC og mineralpartikler har også innvirkning på specieringen (Salbu & Oughton 1995; VanLoon & Duffy 2005). Tilstandsformer med lav molekylær masse (LMM), som ioner og organiske komplekser, er som regel mer mobile og potensielt mer biotilgjengelige enn høy molekylær masse (HMM) former som kolloider, polymerer, og partikler (Fairbrother et al. 2007; Salbu & Oughton 1995).

### 2.1.2 Veisalt

Nesten alt veisalt er natriumklorid (NaCl). Det forekommer også andre typer veisalt, som magnesiumklorid, MgCl<sub>2</sub>, og kalsiumklorid, CaCl<sub>2</sub> (Amundsen et al. 2008), men 99,5% av saltet som benyttes i Norge i dag er NaCl. Dette er grunnet egenskaper i forhold til frysepunktnedsettelse og smelting av is og økonomi (Vaa & Sakshaug 2007).

NaCl løses lett i vann, i form av natrium- (Na<sup>+</sup>) og kloridioner (Cl<sup>-</sup>), og vil følge med avrenningsvann til resipienten. Kloridionet er svært mobilt og vil ikke binde seg til partikler (Walker et al. 2006). Det saltholdige overvannet ledes bort fra veien ved hjelp av grøfter eller trekker ned i jorda langs veien. Avhengig av de lokale forholdene langs veien, strømmer saltet vertikalt direkte til grunnvannet eller horisontalt ut i omgivelsene langs veien. Saltet som når ut i omgivelsene trekker ned i jorda og er tilgjengelig for opptak av planter og trær gjennom rotsystemet. Veisaltet kan også spres til omgivelsene ved saltsprut (Ramakrishna & Viraraghavan 2005; Åstebøl et al. 1996).

Store deler av saltet som spres på veiene ender opp i innsjøer. En rekke studier viser sammenheng mellom veisalting og økte saltkonsentrasjoner i innsjøer. Blant annet viser store regionale undersøkelser fra USA en klar sammenheng mellom tetthet av bebyggelse og kloridkonsentrasjoner i innsjøer (Langen & Prutzman 2006; Mattson et al. 1992; Munson & Gherini 1993). Høyt kloridinnhold i vannforekomster har en rekke miljømessige følger: (a) stratifisering hemmer vertikal blanding og lufting av nederste lagene (b) mangel på oksygen i nederste lagene og høye konsentrasjoner av klorid kan føre til kjemiske prosesser som øker mobiliseringen av metaller fra bunnsediment, og (c) høye kloridkonsentrasjoner kan gi toksiske effekter på biota som lever i dammene (Marsalek 2003). Flere undersøkelser har vist at det kan dannes relativt stabile saltsjiktninger i veinære innsjøer, dammer og rensebassenger vinterstid (Bækken et al. 2005; Bækken & Haugen 2006; Marsalek 2003; Semandeni-Davies 2005).



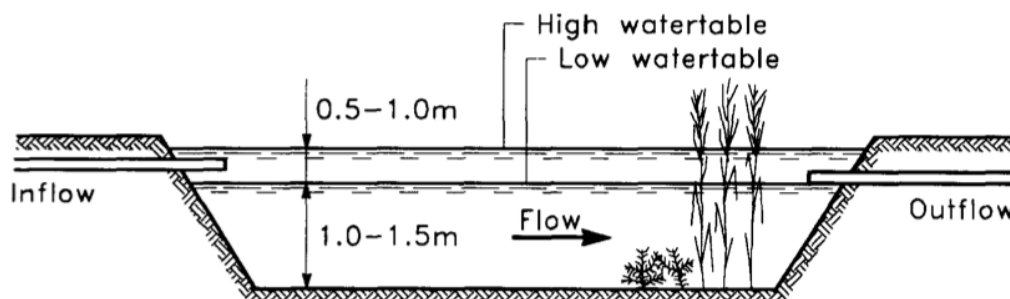
Ved sammenligning av veikantsnø i Sundsvall (bruk av veisalt) og Luleå (ikke bruk av veisalt) i Nord-Sverige, ble det funnet lavere metallkonsentrasjoner i prøvene fra Sundsvall, noe som sannsynligvis skyldes at saltpåføring øker andel løste metaller i smeltevannet (Reinosdotter et al. 2003). To svenske studier (Pettersson 1999; Semadeni-Davies 2006) målte konsentrasjonene av metaller i vannfasen ved innløpet til våte overvannsbassenger, og fant at konsentrasjonene var høyere ved avrenningsepisoder hvor det var veisalt i overvannet. Salt påvirker altså løseligheten av metaller i overvann og man kan anta at denne effekten også vil oppstå når saltholdig overvann kommer i kontakt med sedimenter i våte overvannsbassenger og veinære vannforekomster.

Avrenning fra snødeponier i USA har vist seg å kunne inneholde svært høye konsentrasjoner av klorid. Konsentrasjoner på mer enn 10 000 mg Cl/L har blitt målt (Evans & Frick 2001), og i følge Maksimovic (2001) kan kloridnivået i smeltevann fra snø være over 25 000 mg/L. I Norge har målinger utført i perioden 1998 til 2007 vist at konsentrasjoner av klorid i overvann fra vei normalt ligger i intervallet 50-1000 mg Cl/L, mens høye konsentrasjoner kan ligge i intervallet 3000-5000 mg Cl/L (Amundsen & Roseth 2004; Bækken et al. 2005; Roseth 2006; Åstebøl & Røhr 2002; Åstebøl & Coward 2005). Til sammenlikning er kloridkonsentrasjonen i norske innsjøer som oftest i området 1-10 mg/L (Andersen 2002).

## 2.2 Rensing av veiavrenning

Våte overvannsbassenger er naturbaserte anlegg hvis formål er å hindre at miljøgifter fra avrenningsvann fra vei når resipienten. I bassengene fører ulike prosesser til både nedbrytning av stoff og stoffjerning ved akkumulering i sedimentet. Bassengene er permanente vannvolum som ligner små innsjøer; de har vannfase og sediment og som oftest dyre- og planteliv. Renseprosessene ligner også de naturlige renseprosessene som finner sted i grunne innsjøer. Ved snøsmelting og regn mottar bassenget avrenningsvann og slipper ut tilsvarende mengde vann fra tidligere avrenningsepisoder. Vannet som ledes ut av bassenget har dermed hatt en viss oppholdstid i bassenget, så en viss andel av partiklene har rukket å sedimentere (Figur

1) (Hvitved-Jacobsen et al. 1994; Hvitved-Jacobsen et al. 2010; Statens vegvesen 2006).



Figur 1. Skisse vått overvannsbasseng (Hvitved-Jacobsen et al. 1994).

Våte overvannsbasseng er effektive mot partikulært bundne forurensinger (Färm 2002; Hvitved-Jacobsen et al. 1994), men har lavere effekt mot løste forurensinger (Meland 2010; Statens vegvesen 2006; Åstebøl & Coward 2005). Bassengene har ingen renseeffekt for veisalt, men kan allikevel redusere utløpskonsentrasjonene ved fordøyning (Bækken et al. 2005) og forsinke saltbelastningen på omgivelsene (Statens vegvesen 2006). Det finnes per i dag ingen enkle og kostnadseffektive rensemetoder som fjerner NaCl i overvann fra vei. Kloridionet er svært mobilt og vanskelig å fjerne fra vannfasen. Natrium kan holdes tilbake ved ionebytteprosesser, men denne prosessen kan føre til mobilisering av miljøproblematiske tungmetaller (Amundsen et al. 2008).

Veisalt i veiavrenning kan bidra til at renseeffektiviteten for våte overvannsbassenger går ned. Løst salt i vannfasen øker ionestyrken og endrer ionesammensetningen i vannet. Dette kan påvirke adsorpsjonen av metallioner i sedimentet ved ionebytteprosesser og lede til kompleksbinding av metaller med klorid. Kloridkomplekser vil holde metallene i løsning og hindre at metallene sedimenteres og dermed holdes tilbake i overvannsbassenger (Stead-Dexter & Ward 2004). En undersøkelse av Semandeni-Davies (2005) viste at renseeffektiviteten for Pb, Zn og partikler nesten ble halvert vinterstid, mens renseeffekten for Cd og Cu ble opprettholdt på omtrent samme nivå som ellers i året. Den nedsatte renseeffekten antas å være en kombinert effekt av isdekke, lav vanntemperatur og tilførsel av

veisalt.

Rensebassengene fungerer som habitat for flere levende organismer til tross for at anleggene ikke er naturlige biotoper (Bishop et al. 2000a; Bishop et al. 2000b). Da disse dammene er designet for å samle opp forurenset veiavrenning, kan organismer som lever i dammene bli eksponert for høye nivåer av tungmetaller (Casey et al. 2005; Datry et al. 2003). Brand et al. (2010) antyder på bakgrunn av sine forskningsresultater at veisalt bidrar til en degradering av rensebassengenes kvalitet som habitat for levende organismer.

### 2.3 Øyestikkere (*Odonata*)

Ordenen Øyestikkere (*Odonata*) omfatter to underordener: Vannymfer (*Zygoptera*) og Libeller (*Anisoptera*) (Gullan et al. 2000; Species 2000 & ITIS 2011). Øyestikkere tilhører de mest opprinnelige gruppene av insekter, de eldste fossilene daterer seg tilbake til over 300 millioner år siden (Kålås et al. 2010). Globalt finnes det rundt 5750 arter (Species 2000 & ITIS 2011), i Norge er det registrert 50 arter (Artsdatabanken 2011).

#### 2.3.1 Livssyklus Øyestikkere

Øyestikkernes livssyklus foregår hovedsakelig i vann. Generasjonstiden varierer fra rundt to måneder til seks år. De er hemimetabole (ufullstendig forvandling) insekter med egg-, nymfe- og adultstadie (imago). Overgangen fra nymfe til imago inneholder derfor ikke noe puppestadium (McGavin et al. 2001; Nilsson 1996). I tropiske og varmttempererte områder er de fleste arter univoltine (fullfører en generasjon per år), bivoltine (fullfører to generasjoner per år) eller multivoltine (fullfører en eller flere generasjoner per år), mens arter i varm- til kaldtempererte områder oftest er univoltine eller semivoltine (generasjonstiden er mer enn et år) (Corbet 1980; Nilsson 1996).

Nymfene gjennomgår 10-20 molts (skallskifter) før overgangen til imago. Når nymfene er fullvokst, klatrer de ut vannet ved hjelp av et strå, en kvist eller lignende,

og overgangen til imago finner sted: Kutikula sprekker opp på dorsalsiden og imago kryper ut. Det tomme exoskjelettet, exuviae, blir sittende igjen (Gullan et al. 2000; Nilsson 1996).

### **2.3.2 Nymfestadiet**

Nymfestadiet er den lengste perioden i øyestikkerens livssyklus. Denne perioden kan vare fra ett til seks år, avhengig av faktorer som næringstilgang og vanntemperatur. Noen arter kan derfor ha et lengre nymfestadium i Norge enn de har ellers i Europa. Imagostadiet varer som regel fra 2-10 uker (Corbet 1980; Nilsson 1996).

Nymfene puster gjennom gjelleliknende strukturer. Vannymfer får oksygen gjennom tre bladformede gjellevedheng på tuppen av abdomen. Hos Libeller er gjellene helt eller delvis trukket inn i bakkroppen, og nymfene får friskt vann over gjellene ved å suge vann gjennom anus (Wichard et al. 2002).

Nymfene er ikke-diskriminerende predatorer som spiser både invertebrater og små vertebrater som fiskeyngel og amfibielarver. Store nymfer kan av og til være toppredatorer i fiskeløse habitater, mens i andre habitater er de et viktig bytte for fisk og andre akvatiske predatorer (Corbet 1999; Nilsson 1996; Wichard et al. 2002).

Nesten alle nymfer er vannlevende og lever i permanente og midlertidige dammer og vannansamlinger, innsjøer og sakteflytende elver og bekker. Små, næringsrike, ikke-sure innsjøer og dammer uten fisk har den største artssammensetningen. Nymfene lever på bunnen av vannet eller mellom akvatiske planter. Noen arter gjemmer seg mellom steiner eller graver seg ned i sedimentet (Gullan et al. 2000; Nilsson 1996).

### **2.3.3 Akkumulering av tungmetaller i invertebrater**

Alle akvatiske invertebrater tar opp tungmetaller. Opptaket er enten fra de omkringliggende vannet eller fra mat, den relative andelen fra hver rute varierer med type invertebrat og biotilgjengeligheten av metallene. Når opptak er større enn ekskresjon, blir metallene bioakkumulert (Rainbow & Wang 2001; Walker et al.

2006; Wang & Fisher 1999). Skjebnen til hvert metall avhenger invertebratens fysiologi, og om hvorvidt metallet brukes til et essensielt metabolsk formål, utskilles, lagres i kroppen eller utøver et toksisk effekt (Rainbow 2002). Øyenstikkernymfer er predatorer og kan derfor akkumulere mer metaller enn andre akvatiske insekter som er herbivore og detritivore (Corbi et al. 2008). Kontaminering av akvatiske insekter med et terrestrialt adultstadie, som øyenstikkere, representerer en viktig link for overførsel av metaller til høyere trofiske nivåer, som fisker, reptiler, fugler og pattedyr (Corbi et al. 2008; Warren et al. 1998; Wayland & Crosley 2006).

Tungmetaller kan være plassert på overflaten eller på innsiden av insekter. Målinger av metallfordelingen mellom overflate og innsiden kan være nyttige i vurderingen av: (1) biotilgjengelighet og dermed den potensielle toksisitet av tungmetaller forbundet med hele dyret, (2) omfanget av tungmetaller som blir tapt under molting mellom nymfestadier, og (3) andelen av metall i nymfene som overføres med imago fra akvatiske til terrestriske økosystemer (Hare 1992; Menzie 1980; Young & Harvey 1988).

## 2.4 Tracerteknikk

Tracerteknikk baserer seg på at radioaktive isotoper er kjemisk identiske til de stabile isotopene av det samme elementet. Fram til destintegrasjon vil det radioaktive atomet være uskillbart fra den stabile isotopen, med unntak av isotopisk masseforskjell. Dersom man til et stabilt grunnstoff tilsetter spor av en radioaktiv isotop av det samme grunnstoffet, kan man ved hjelp av den radioaktive strålingen fra den tilsatte isotopen studere hvordan grunnstoffet deltar i reaksjonen, og hvordan det blir tatt opp av organismer (Choppin et al. 2002). Tracerteknikk er spesielt anvendelig i spesieringsstudier, og også et godt verktøy for å studere for eksempel adsorpsjon-desorpsjon og fast fase - vann interaksjoner (Salbu 1987).

Viktige aspekter ved valg av tracer:

- Kjemiske egenskaper; traceren må følge prosessen
- Strålings egenskaper; type stråling, energi, halvveringstid

- toksisitet
- avfall

Halveringstiden til traceren er en viktig faktor. Den bør ikke være for kort, men heller ikke for lang. Hvis halveringstiden er for kort, kan traceren være utdødd før forsøket er avsluttet, og hvis halvveringstiden er for lang kan det oppstå problemer med avfall fra forsøket. Det er også viktig at det er enkelt å måle aktiviteten fra traceren.  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  er alle gammaemittere som enkelt kan måles på en NaI-detektor. Ved valg av tracer bør også prisen på traceren taes i betraktning (Choppin et al. 2002).

### 3 Materialer og metode

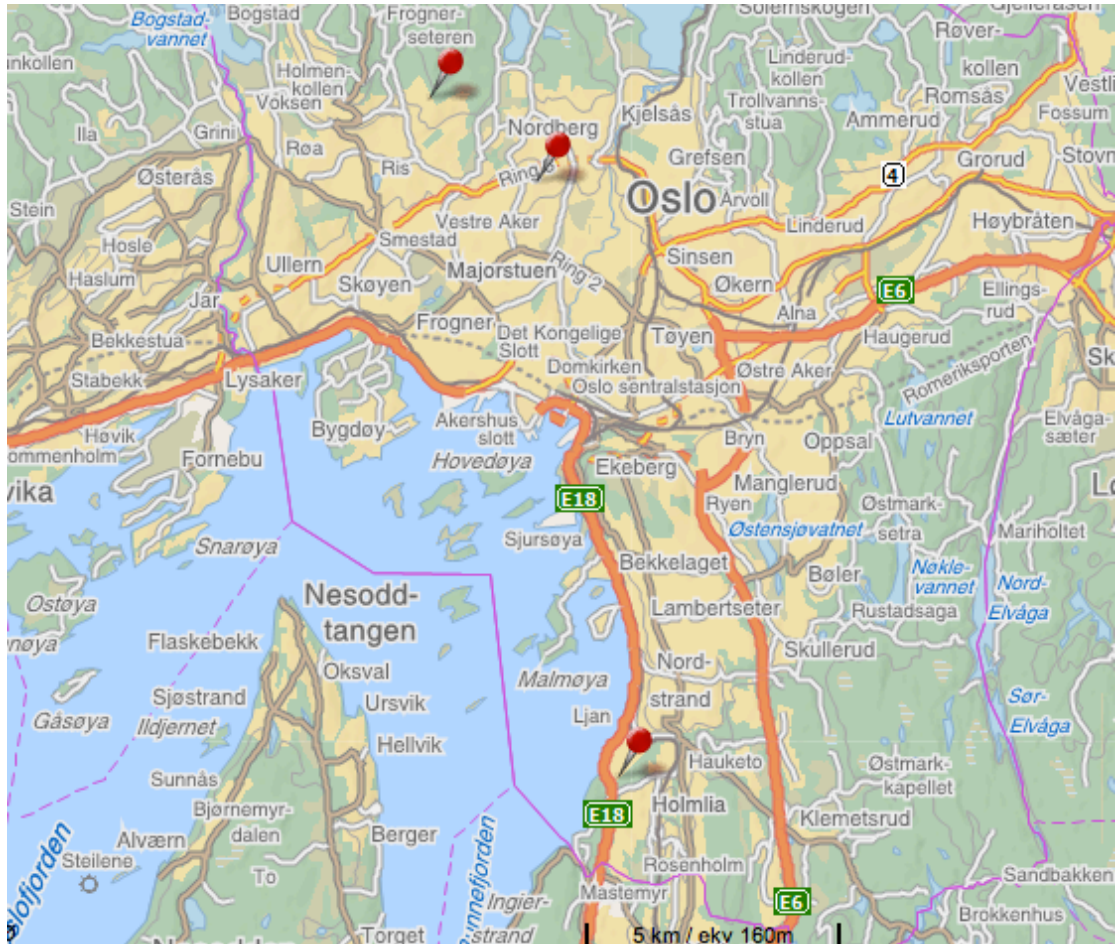
#### 3.1 Innsamling av Øyestikkernymfer

Nymfer av Libeller ble samlet inn ved hjelp av håv 8. September 2010 (Figur 2).



Figur 2. Innsamling av nymfer. Foto (venstre bilde): Mari Bryn Damsgård

For å få nok nymfer til forsøket, ble nymfene hentet fra 3 ulike dammer, alle med beliggenhet i Oslo kommune (Figur 3). De 3 ulike dammene var Båntjernveien 3-5 (Figur 4), Møllesvingen 20 (Figur 5) og Herregårdsveien ved Øvre Ljan (Figur 6). Ingen av dammene ligger i nær tilknytning til høyt trafikkerte veier og er dermed ikke utsatt for veiforurensing.



Figur 3. Kart som angir plassering av de tre dammene Øyestikkernymfene i forsøket er hentet fra.



Figur 4. Dammen i Båntjernveien 3-5.





Figur 5. Dammen i Møllesvingen 20.



Figur 6. Dammen i Herregårdsveien, Øvre Ljan.

Libeller ble valgt som forsøksorganisme fordi de har en ”praktisk” størrelse i forbindelse med håndtering. I tillegg er de robuste og tåler å bli flyttet på i forbindelse med gjentatte målinger.

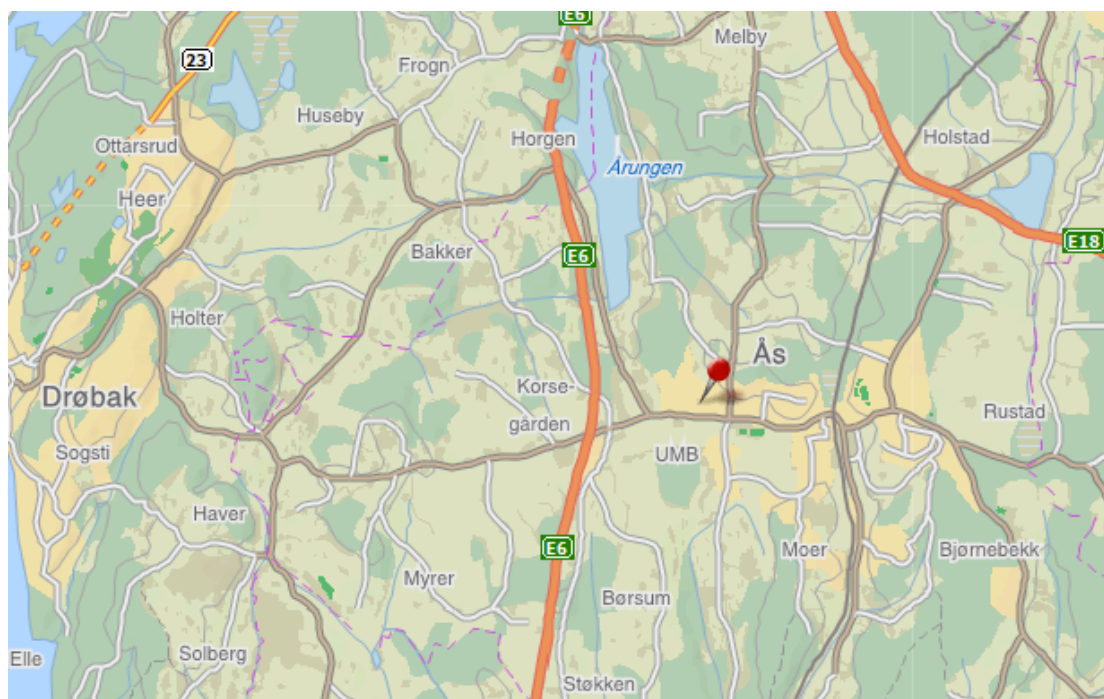
Tabell 2 oppgir antall nymfer, samt generell vannkvalitet, ved innsamling fra de 3 dammene. pH og konduktivitet i vann ble målt med et pH- og konduktivitetsmeter (Extech Exstik II EC510). Før måling ble instrumentet kalibrert i 2 bufferløsninger med pH 4 og 7.

Tabell 2. Antall nymfer og vannparametere ved innsamling.

Dam	Antall libeller	pH	Konduktivitet ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Temperatur ( $^{\circ}\text{C}$ )
Møllesvingen	39	6,7	193	13,3
Båntjernveien	59	7,2	202	11,7
Herregårdsveien	20	6,6	93,1	12,4

### 3.2 Innsamling av sediment

Sediment ble samlet inn 28. Juni 2010 fra dammen foran Urbygningen på Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB) i Ås kommune (Figur 7 og Figur 8), og oppbevart i kjøleskap ved  $4^{\circ}\text{C}$  frem til forsøksstart. Ved innsamling var pH 8,8, konduktiviteten  $227 \mu\text{S}/\text{cm}$  og temperaturen  $19,6^{\circ}\text{C}$  i vannet. pH og konduktivitet ble målt med et pH- og konduktivitetsmeter (Extech Exstik II EC510). Før måling ble instrumentet kalibrert i 2 bufferløsninger med pH 4 og 7.



Figur 7. Kart som angir plasseringen av dammen hvor sedimentet ble samlet inn.



Figur 8. Dammen hvor sedimentet ble samlet inn. Foto: Mari Bryn Damsgård.

### 3.3 Laboratoriearbeid

#### 3.3.1 Sedimentet

##### 3.3.1.1 Tørrstoff og glødetap

Tørrstoff ble bestemt ved å tørke sedimentet ved 105 °C i 24 timer og deretter veie det. Tørrstoff er den andelen tørrvekt utgjør av våtvekt. Glødetap, som indikerer andel organisk materiale, ble bestemt ved å gløde sedimentet i glødeskap ved 550 °C i 8 timer. Prøvene ble så avkjølt i romtemperatur før de ble veid. Glødetap er vektdifferanse mellom tørket og glødet prøve.

##### 3.3.1.2 Tilsetning og analyse av stabile metaller

Sedimentprøvene som ble brukt til  $^{109}\text{Cd}$ - og  $^{60}\text{Co}$ -tracerforsøket ble tilsatt kadmium (0,739  $\mu\text{g/g}$ ) og kobolt (1,274  $\mu\text{g/g}$ ) i form av henholdsvis kadmiunklorid ( $\text{CdCl}_2$ ) og koboltklorid ( $\text{CoCl}_2$ ) for å etterligne et moderat veiforurensset sediment.

Etter tilsetning ble sedimentet analysert for innhold av de aktuelle tungmetallene i forsøket (Cd, Co, Zn og Sb). Sedimentprøvene ble oppløst på Ultra Clave (MILESTONE ultraCLAVE Mod. ACT 33). Gjennomsnittvekt innveid sediment var 0,30 ( $\pm 0,01$ ) gram. Estuarine Sediment 1646 ble benyttet som referansemateriale.

Internstandard (indium (In), 2% HNO<sub>3</sub>) og blanke prøver ble brukt for kvalitetskontroll. Sedimentprøvene ble analysert for metaller med Inductively coupled plasma mass spectroscopy (ICP-MS) (Modell Perkin Elmer Sciex ELAN 6000).

### 3.3.1.3 Tilsetning av radioaktive tracere

De radioaktive tracerene <sup>109</sup>Cd (T<sub>1/2</sub> 464 dager), <sup>60</sup>Co (T<sub>1/2</sub> 5,271 år), <sup>65</sup>Zn (T<sub>1/2</sub> 245 dager) og <sup>125</sup>Sb (T<sub>1/2</sub> 2,758 år) ble benyttet for å studere nymfenes metallakkumulering (Tabell 3). Fortynnede løsninger av de ulike tracerene ble tilsatt en batch sediment som ble ristet over natten, før sedimentet ble overført til begerglass benyttet i forsøket.

Tabell 3. De ulike tracerene som ble benyttet i forsøket, oppgitt med produsent og form i opprinnelig løsning.

Tracer	Form i opprinnelig løsning	Produsent
<sup>125</sup> Sb	<sup>125</sup> SbCl <sub>3</sub> i 6M HCl	Eckert & Ziegler, Valencia, California
<sup>60</sup> Co	<sup>60</sup> CoCl <sub>2</sub> i 0.1N HCl	Cerca Lea, Frankrike
<sup>65</sup> Zn	<sup>65</sup> ZnCl <sub>2</sub> i 0.5M HCl	Perkin Elmer, Boston,
<sup>109</sup> Cd	<sup>109</sup> Cd i 0.1M HCl	QSA Global GmbH, Braunschweig, Tyskland

### 3.3.2 Saltholdig eksponeringsvann

Veisalt (40% Na, 60% Cl) ble blandet med destillert vann til konsentrasjoner på 500 5000 og 10 000 mg NaCl/L. For å finne de reelle saltkonsentrasjonene etter tilsetning ble vannprøver analysert med Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) (Modell Perkin Elmer Optima 5300 DV).

### 3.3.3 Forsøksorganismer og eksponeringsoppsett

Samtlige nymfer i forsøket var av underorden Libeller (Figur 9). Det ble ikke gjort noen nærmere artsbestemmelse av nymfene, så det kan ikke utelukkes at nymfene var

fra flere ulike arter. Av de totalt innsamlede 118 ble 64 tilfeldig utvalgt til å være med i forsøket. Snittvekt til nymfene (oppgitt med standardavvik):  $0,20 \text{ g} \pm 0,13$ .



Figur 9. Øyestikkernymfe av underorden Libeller (*Anisoptera*). Foto: H.Kolstad.

For at nymfene skulle få tømt tarmen før forsøksstart, ble de oppbevart i klimaskap ved  $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$  i en 1 liter plastbeholder med springvann i 5 døgn før forsøket ble startet. Hver av de 64 nymfene ble ved forsøksstart plassert i et 50 mL begerglass med cirka 5 gram sediment og 50 mL destillert vann med ulik saltkonsentrasjon (Figur 10 og Tabell 4).



Figur 10. Begerglass med sediment og vann.

Tabell 4. Innhold i de 64 beerglassene.

<b>Begerglass nr.</b>	<b>NaCl (mg/L)</b>	<b>metall</b>
1-8	10000	$^{60}\text{Co} + ^{109}\text{Cd}$
9-16	5000	$^{60}\text{Co} + ^{109}\text{Cd}$
17-24	500	$^{60}\text{Co} + ^{109}\text{Cd}$
25-32	0	$^{60}\text{Co} + ^{109}\text{Cd}$
33-40	0	$^{125}\text{Sb} + ^{65}\text{Zn}$
41-48	500	$^{125}\text{Sb} + ^{65}\text{Zn}$
49-56	5000	$^{125}\text{Sb} + ^{65}\text{Zn}$
59-64	10000	$^{125}\text{Sb} + ^{65}\text{Zn}$

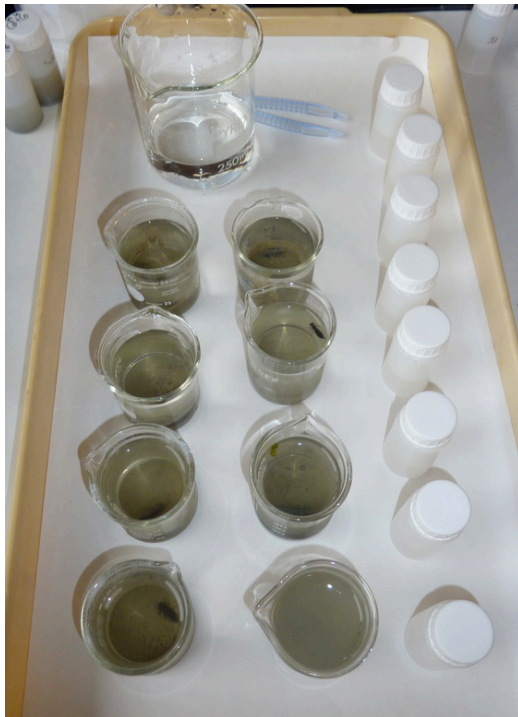
Nymfene ble under hele forsøket, med unntak av når de ble målt på NaI-detektor, oppbevart i klimaskap ved 10 °C.

### 3.3.4 Målinger på NaI-detektor

Alle radioaktive isotoper i forsøket ble målt ved hjelp av en NaI-detektor (Wizard, Perkin-Elmer).  $^{60}\text{Co}$  ble målt på 1173,0 keV,  $^{109}\text{Cd}$  ble målt på 22,0 keV,  $^{125}\text{Sb}$  ble målt på 428,0 keV og  $^{65}\text{Zn}$  ble målt på 1115,5 keV.

Ved målingene ble nymfene tatt opp av beerglassene og skylt i springvann for å få bort eventuelle løse sedimentpartikler på exoskjelettet. De ble deretter plassert i 20

mL vails med 10 mL springvann (Figur 11) og målt på NaI-detektoren før de igjen ble plassert tilbake i begerglassene i klimaskapet. Målinger ble gjort etter 1, 3, 7, 14 og 21 dager. Etter dag 21 ble nymfene tatt ut av begerglassene og plassert i nye begerglass som kun inneholdt springvann for å se på eventuell utskillelse av metallene. De ble så målt etter 1 dag (forsøksdag 22), 7 dager (forsøksdag 28) og 15 dager (forsøksdag 36). Nymfene ble målt i 2 minutter ved dag 1 og dag 3, og i 4 minutter ved de resterende målingene.



Figur 11. Overføring av nymfer fra begerglass til vails.

Ved hvert uttak av nymfer ble 1 ml vann fra hvert begerglass pipettert ut. Vannprøvene ble målt på NaI-detektoren i 10 minutter. Ved hvert uttak ble pH i vann målt, og konduktivitet ble målt ved siste uttak. Målingene ble utført med WTW inoLab pH/Cond 720 pH-/konduktivitesmeter. Instrumentet ble kalibrert i to bufferløsninger (pH 4 og 7) før målingene ble utført.

### 3.3.5 Autoradiografi

Det ble benyttet autoradiografi for å prøve å lokalisere hvor i nymfene aktiviteten akkumulerte seg. 8 nymfer, 1 fra hver saltkonsentrasjon og forskjellig tracerkombinasjon, ble tatt ut etter 21 dager og lagt i tomme begerglass i klimaskapet (10 °C). 8 nymfer til ble tatt ut ved forsøksslutt (36 dager) og oppbevart i tomme begerglass i klimaskapet. Etter ytterligere 6 dager ble disse teipet fast på en papplate (Figur 12). Halvparten av nymfene var hele, den andre halvparten disikert og indre organer og vev ble plassert ved siden av. Nymfene ble så eksponert i en eksponeringskassett i 14 dager før autoradiografibildet ble scannet ved hjelp av en Typhoon variable mode imager (Typhoon 8600).



Figur 12. Nymfer teipet fast til papplate for autoradiografi.

### 3.3.6 Sekvensiell ekstraksjon

For å undersøke bindingsforholdene til tungmetallene i sedimentet ble det utført 4. trinns sekvensiell ekstraksjon ved dag 1 og 21 (Figur 13). Metoden som ble benyttet



er en modifisert variant (Oughton et al. 1992) av en metode utviklet av Tessler et al. (1979).



Figur 13. Sekvensiell ekstraksjon.

Følgende trinn ble utført:

Trinn 1: 20 mL MilliQ-vann ble tilsatt prøvene som så ble ristet opp og lagt på rullebord i 1 time og deretter sentrifugert i 30 minutter. Supernatanten ble pipettert av og filtrert gjennom blått bånd filter.

Trinn 2: 20 mL 1 M  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  ( $\text{NH}_4\text{Ac}$ ) (pH~7) ble tilsatt prøvene som så ble ristet opp og lagt på rullebord i 2 timer og deretter sentrifugert i 30 minutter. Supernatanten ble pipettert av og filtrert gjennom blått bånd filter.

Trinn 1 og 2 fjerner porevannet i sedimentet og lett utbyttbare komponenter. Fraksjonene antas å si noe om hvor mye som er vannløselig og biotilgjengelig.

Trinn 3: 20 mL 1 M  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  ( $\text{NH}_4\text{Ac}$ ) (pH~5) ble tilsatt i prøvene som så ble ristet opp og lagt på rullebord i 2 timer og deretter sentrifugert i 30 minutter. Supernatanten ble pipettert av og filtrert gjennom blått bånd filter. Prøven ble så tilsatt 10 mL MilliQ-vann, ristet opp og sentrifugert i 15 minutter. Supernatanten ble pipettert av og filtrert gjennom blått bånd filter. Fraksjonen antas å si noe om hvor mye biotilgjengeligheten kan økes ved endring av pH.

Trinn 4: 20 mL 7 M HNO<sub>3</sub> ble tilsatt prøvene som så ble ristet opp. Prøvene ble så satt i vannbad ved 80°C i 6 timer og deretter sentrifugeret i 30 minutter. Supernatanten ble pipetert av og filtrert gjennom blått bånd filter. 10 mL MilliQ-vann ble tilsatt og prøvene ristet opp og sentrifugert i 15 minutter. Supernatanten ble filtrert gjennom blått bånd filter. Fraksjonen antas å si noe om hvor mye som er syreoppløselig.

Til slutt ble residuet overført til telleglass. Alle fraksjonene ble målt på NaI-detektor i 10 minutter.

### **3.4 Beregning av fordelingskoeffisienten ( $K_d$ ), biokonsentrasjonsfaktoren (BCF) og bioakkumuleringsfaktoren (BAF).**

Fordelingskoeffisienten ( $K_d$ ) (ml/g) ble beregnet for å se hvor hardt de ulike tungmetallene var bundet til sedimentet. Jo høyere  $K_d$ , jo fastere er stoffet bundet til sedimentet.  $K_d$  beregnes ved å dele aktiviteten av metallet i sedimentet på aktiviteten av metallet i vannfasen.

Biokonsentrasjonsfaktoren (BCF) (ml/g) og bioakkumuleringsfaktoren (BAF) ble beregnet for å se i hvilken grad nymfene akkumulerte metaller fra sediment og vannfase. BCF angir aktiviteten av metallet i organismen i forhold til aktiviteten i vannfasen og beregnes ved å dele aktiviteten av metallet i organismen på aktiviteten i vannfasen. BAF angir aktiviteten av metallet i organismen i forhold til aktiviteten i sedimentet og beregnes ved å dele aktiviteten av metallet i organismen på aktiviteten i sedimentet (Walker et al. 2006).

### **3.5 Statistikk**

Statistiske analyser ble utført i Minitab<sup>®</sup> Statistical Software.

Det ble utført parvis t-test for å teste forskjeller i gjennomsnittsaktivitet i nymfer mellom ulike dager. Alle data ble først testet for normalfordeling ved hjelp av

Anderson-Darling test. Hvis dataene ikke var normalfordelte ble de log-transformerte før testen.  $P < 0,05$  ble satt som statistisk signifikant.

Ved test av forskjeller mellom aktivitet i nymfer ved ulike saltkonsentrasjoner ble det utført ANOVA med 95% konfidensintervall. Der dataene ikke var normalfordelte eller hadde homogen varians (testet med Levens test og Bartletts test) ble det isteden utført Kruskal-Wallis test.

Ved test av korrelasjon er det oppgitt Pearson produkt-moment korrelasjonskoeffisient. Ved null lineær sammenheng er  $r = 0$ . Ved perfekt sammenheng er  $r = \pm 1$ . Lave verdier av  $r$  trenger ikke bety at det ikke er relasjon mellom de to variablene, da Pearson korrelasjonskoeffisient kun måler styrken av lineær sammenheng (Rice 2007).

Seks av nymfene skiftet exoskjelett under forsøket. Disse er utelatt fra deler av statistikken ettersom det er forventet at en del aktivitet vil være knyttet til isotoper som sitter utenpå/inni i exoskjelettet. Det presenteres egen statistikk for disse nymfene.

## 4 Resultater

Hovedfokus i oppgaven er tungmetallakkumulering i øyestikkernymfer og hvordan veisalt (NaCl) påvirker dette. Konsentrasjoner i sediment og vann benyttes som forklarende variabler for konsentrasjoner i nymfene. Derfor presenteres resultater for sediment og vann først, deretter følger resultater knyttet til akkumulering av metaller i nymfene.

### 4.1 Sediment og vannfase

#### 4.1.1 Metallkonsentrasjoner og aktivitet av tracere i sedimentet

Sedimentet som ble benyttet i forsøket hadde 70.1% tørrstoff og et glødetap på 2,2%. Tabell 5 viser konsentrasjoner av stabile metaller og aktivitet i sedimentet etter tilsetning.

Tabell 5. Konsentrasjoner av stabile metaller ( $\mu\text{g/g}$ ) og aktivitet i sedimentet (ccpm/g) etter tilsetning.

Metall/tracer	konsentrasjon ( $\mu\text{g/g}$ )	aktivitet (ccpm/g)
Co / $^{60}\text{Co}$	7,85	2139
Cd / $^{109}\text{Cd}$	1,16	5581
Sb / $^{125}\text{Sb}$	0,01	2490
Zn / $^{65}\text{Zn}$	99,4	446

Tabell 6 viser total aktivitet i sedimentet ved dag 1 og 21. For ingen av de fire tungmetallene har aktiviteten gått ned fra dag 1 til dag 21 ved alle de fire saltkonsentrasjonene.

Tabell 6. Aktivitet (ccpm/g) i sedimentet dag 1 og 21 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L.

Tracer	Dag	0 mg NaCl/L	500 mg NaCl/L	5000 mg NaCl/L	10 000 mg NaCl/L
<sup>109</sup> Cd	1	5485	5309	4922	4931
	21	5239	4992	4911	5052
<sup>60</sup> Co	1	2051	1918	1745	1913
	21	2059	1937	1712	1921
<sup>125</sup> Sb	1	1548	1625	1783	1568
	21	1095	1835	1122	1508
<sup>65</sup> Zn	1	411	408	417	398
	21	390	403	417	396

#### 4.1.2 Konsentrasjoner av NaCl i vannfasen

Reelle konsentrasjoner av NaCl etter tilsetning av veisalt er 0, 498, 4706 og 9418 mg NaCl/L. Siden Cd og Co ble tilsatt sedimentet i form av salter (CdCl<sub>2</sub> og CoCl<sub>2</sub>), er det i begerglassene med dette sedimentet og <sup>109</sup>Cd + <sup>60</sup>Co ekstra Cl. Tilsatt mengde salt i sedimentet tilsvarer 2,00 µg Cl/g. I hvert begerglass med 5 g sediment tilsvarer dette kun 0,01 mg Cl og er dermed neglisjerbart i den videre tolkningen av resultatene.

#### 4.1.3 pH og konduktivitet i vannfasen

Tabell 7 viser resultatene fra pH målingene ved forsøksdag 1, 3, 7, 14 og 21. Tabell 8 angir gjennomsnittskonduktivitet i vannfasen ved forsøksdag 21.

Tabell 7. Minimum og maksimum pH i vannfasen ved ulike tracer og saltkonsentrasjoner ved dag 1, 3, 7, 14 og 21.

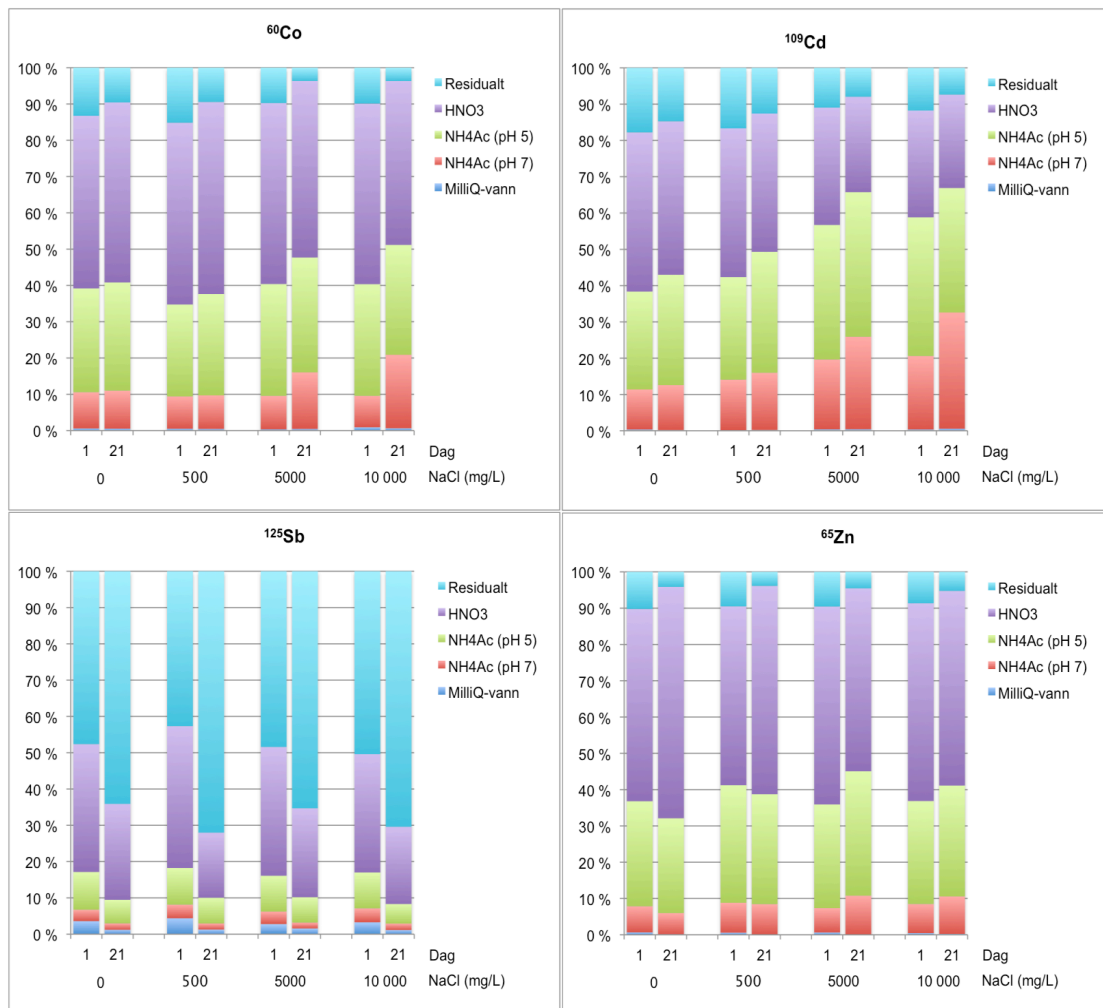
Tracer	NaCl (mg/L)	Dag	min pH	maks pH
$^{109}\text{Cd} + ^{60}\text{Co}$	0	1	6,3	6,5
		3	6,4	6,6
		7	6,4	6,6
		14	6,4	6,5
		21	6,5	6,7
	500	1	6,3	6,4
		3	6,3	6,4
		7	6,4	6,5
		14	6,2	6,4
		21	6,1	6,3
	5000	1	6,1	6,3
		3	6,3	6,4
		7	6,3	6,3
		14	6,3	6,4
		21	6,5	6,6
	10000	1	6,2	6,4
		3	6,3	6,4
		7	6,3	6,4
		14	6,4	6,6
		21	6,6	6,8
$^{125}\text{Sb} + ^{65}\text{Zn}$	0	1	6,5	6,5
		3	6,4	6,5
		7	6,3	6,5
		14	6,5	6,7
		21	6,8	7,1
	500	1	6,2	6,4
		3	6,2	6,4
		7	6,2	6,4
		14	6,2	6,4
		21	6,1	6,3
	5000	1	6,2	6,2
		3	6,3	6,4
		7	6,3	6,4
		14	6,2	6,5
		21	6,5	6,6
	10000	1	6,2	6,4
		3	6,3	6,4
		7	6,3	6,5
		14	6,4	6,5
		21	6,7	6,8

Tabell 8. Gjennomsnittskonduktivitet (n = 8) i vannfasen ved forsøksdag 21 for ulike tracer og saltkonsentrasjoner.

Tracer	NaCl (mg/L)	Konduktivitet ( $\mu\text{S/cm}$ )	$\pm$ Std.avvik
$^{109}\text{Cd} + ^{60}\text{Co}$	0	2,6	0,7
	500	947	33,8
	5000	9409	446,4
	10000	19920	302,5
$^{125}\text{Sb} + ^{65}\text{Zn}$	0	2,4	0,7
	500	933	36,2
	5000	9503	355,0
	10000	19718	279,9

#### 4.1.4 Sekvensiell ekstraksjon av sedimentet

Figur 14 viser resultatene fra sekvensiell ekstraksjon av sedimentet.



Figur 14. Sekvensiell ekstraksjon dag 1 og 21 for  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  ved 0, 500, 5000 og 10000 mg NaCl/L.  $n = 1$ . Fraksjonsfordeling i sediment er oppgitt i prosent. Vannfraksjonen antas å si noe om hvor mye som er vannløselig, NH<sub>4</sub>Ac (pH 7)-fraksjonen antas å si noe om hvor mye som er biotilgjengelig, NH<sub>4</sub>Ac (pH 5)-fraksjonen antas å si noe om hvor mye biotilgjengeligheten kan økes ved endring av pH, HNO<sub>3</sub>-fraksjonen antas å si noe om hvor mye som er syreoppløselig.

For  $^{60}\text{Co}$  utgjør vannfraksjonen under 1% både dag 1 og 21 ved alle de fire saltkonsentrasjonene. Ved 0 og 500 mg NaCl/L er det ikke store forskjeller i fordelingen av de ulike fraksjonene mellom dag 1 og 21. Ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L utgjør derimot NH<sub>4</sub>Ac (pH 7)-fraksjonen større del ved dag 21 enn dag 1; NH<sub>4</sub>Ac (pH 7)-fraksjonen øker fra 9,2% til 16% ved 5000 mg NaCl/L og fra 8,7% til 20% ved 10 000 mg NaCl/L. Korrelasjonen mellom saltkonsentrasjon og vannfraksjonen og NH<sub>4</sub>Ac (pH 7)-fraksjonen samlet er ikke signifikant ved dag 1 ( $r = -0,482$ ,  $p = 0,518$ ), men den er signifikant ved dag 21 ( $r = 0,966$ ,  $p = 0,034$ ).



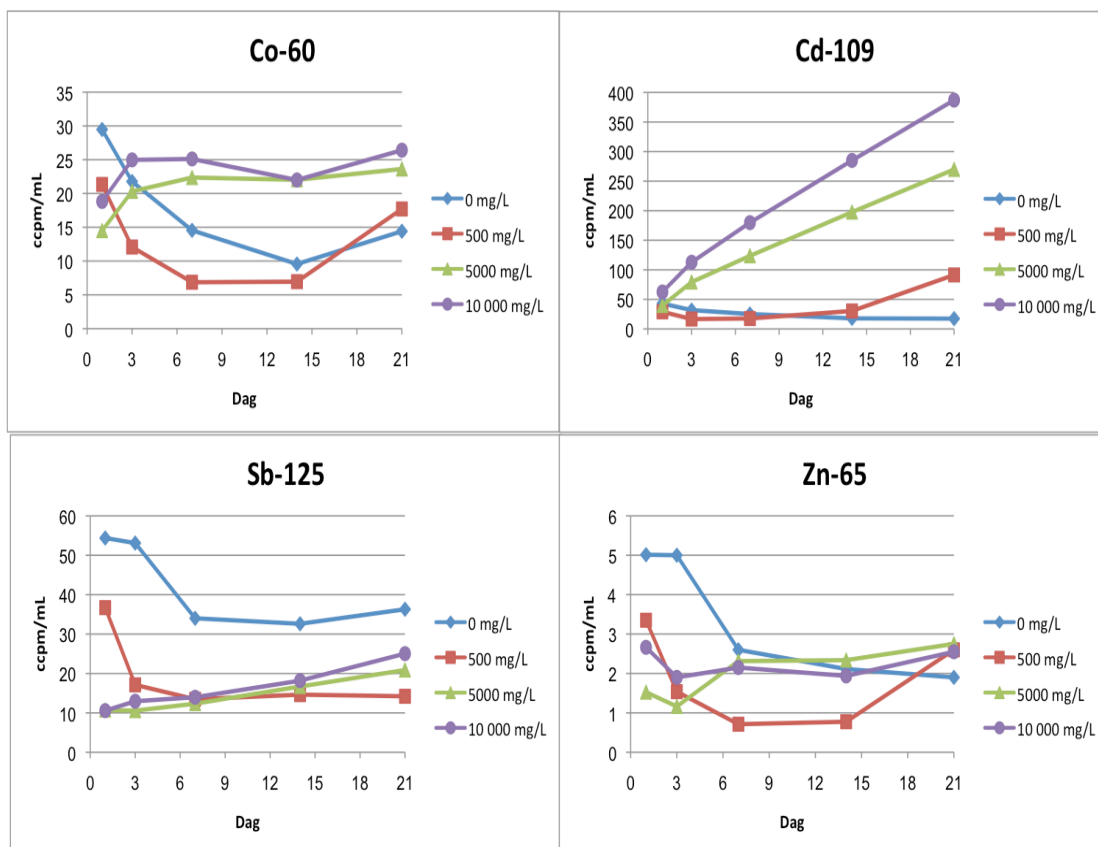
For  $^{109}\text{Cd}$  utgjør vannfraksjonen under 1% både dag 1 og 21 ved alle de fire saltkonsentrasjonene.  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen øker i andel fra dag 1 til dag 21 ved alle de fire saltkonsentrasjonene, men den største stigningen finner vi ved 5000 og 10000 mg  $\text{NaCl/L}$ . Fraksjonen øker fra 11% til 12% ved 0 mg  $\text{NaCl/L}$  fra 14% til 16% ved 500 mg  $\text{NaCl/L}$ , fra 19% til 26% ved 5000 mg  $\text{NaCl/L}$  og fra 20% til 32% ved 10 000 mg  $\text{NaCl/L}$ . Korrelasjonen mellom saltkonsentrasjon og vannfraksjonen og  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen samlet er ikke signifikant ved dag 1 ( $r = 0,918$ ,  $p = 0,082$ ), men den er signifikant ved dag 21 ( $r = 0,991$ ,  $p = 0,009$ ).

For  $^{125}\text{Sb}$  er det ingen store forskjeller i fordelingen av de ulike fraksjonene mellom de fire saltkonsentrasjonene. De fire første fraksjonene, vannfraksjonen,  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen,  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 5)-fraksjonen og  $\text{HNO}_3$ -fraksjonen utgjør alle større del av sedimentet ved dag 1 enn dag 21 ved alle saltkonsentrasjoner. Residuet utgjør største delen av sedimentet (mellom 43% og 72%), og øker i andel fra dag 1 til 21 ved alle saltkonsentrasjoner. Vannfraksjonen og  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen utgjør liten del av sedimentet, henholdsvis under 4,4% og 3,8%. Korrelasjonen mellom saltkonsentrasjon og vannfraksjonen og  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen samlet er ikke signifikant ved verken dag 1 ( $r = -0,236$ ,  $p = 0,764$ ) eller dag 21 ( $r = -0,001$ ,  $p = 0,999$ ).

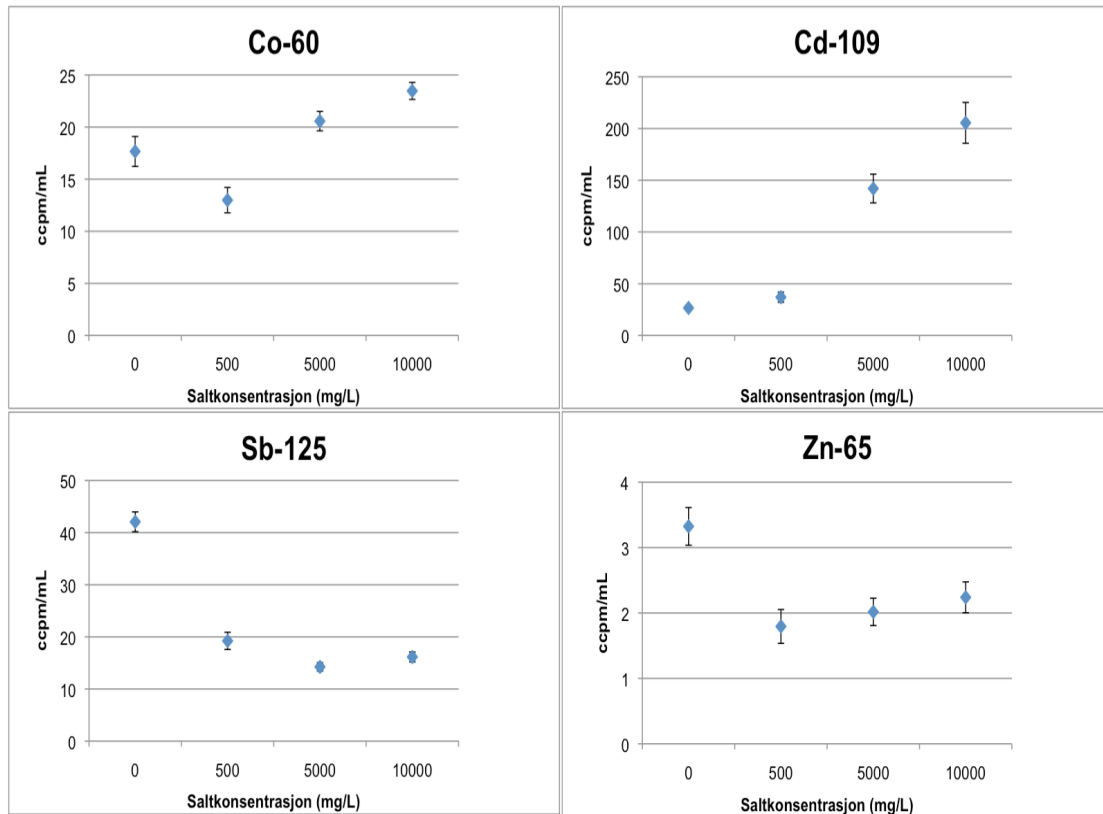
For  $^{65}\text{Zn}$  utgjør vannfraksjonen under 1% både dag 1 og 21 ved alle de fire saltkonsentrasjonene. Ved 0 og 500 mg  $\text{NaCl/L}$  er det ikke store forskjeller i fordelingen av de ulike fraksjonene mellom dag 1 og 21. Ved 5000 og 10 000 mg  $\text{NaCl/L}$  utgjør  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen en litt større del ved dag 21 enn dag 1;  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen øker fra 6,7% til 11% ved 5000 mg  $\text{NaCl/L}$  og fra 8,0% til 10% ved 10 000 mg  $\text{NaCl/L}$ . Korrelasjonen mellom saltkonsentrasjon og vannfraksjonen og  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen samlet er ikke signifikant ved verken dag 1 ( $r = -0,163$ ,  $p = 0,837$ ) eller dag 21 ( $r = 0,754$ ,  $p = 0,246$ ).

#### 4.1.5 Aktivitet i vannfasen

Figur 15 viser gjennomsnittaktivitet i vannfasen ved ulike saltkonsentrasjoner over tid, mens Figur 16 viser gjennomsnittaktivitet i vannfasen samlet for dag 1, 3, 7, 14 og 21 ved de ulike saltkonsentrasjonene.



Figur 15. Gjennomsnittaktivitet (ccpm/mL) i vannfasen som en funksjon av tid (dager) for  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. n = 8. Grafene har ulike skala på y-aksen.

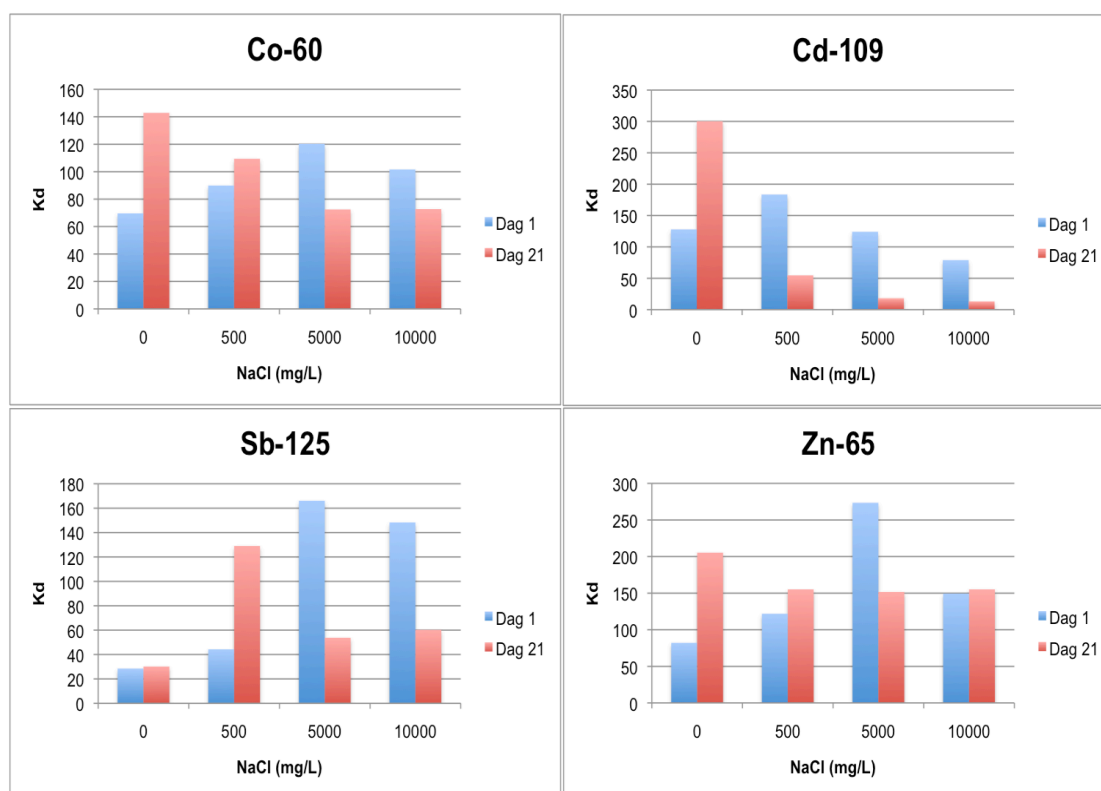


Figur 16. Gjennomsnittsakivitet (ccpm/mL) i vannfasen samlet for dag 1, 3, 7, 14 og 21 for  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L.  $n = 40$ . Gjennomsnittsakivitet er oppgitt med Standard Error (SE). Grafene har ulike skala på y-aksen.

For både  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  er gjennomsnittsakiviteten i vannfasen høyest ved 0 mg NaCl/L, og den skiller seg klart ut fra gjennomsnittsakiviteten ved 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Kruskal-Wallis Test viser signifikante forskjeller ( $p = 0,000$ ) for gjennomsnittsakivitet i vannfasen samlet dag 1-21 mellom de ulike saltkonsentrasjonene hos alle de fire metallene. Det er signifikant positiv korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og aktivitet i vannfasen for  $^{109}\text{Cd}$  ( $r = 0,686$ ,  $p = 0,000$ ) og  $^{60}\text{Co}$  ( $r = 0,425$ ,  $p = 0,000$ ). For  $^{125}\text{Sb}$  er det derimot signifikant negativ korrelasjon ( $r = -0,492$ ,  $p = 0,000$ ), mens det for  $^{65}\text{Zn}$  ikke er signifikant korrelasjon ( $r = -0,110$ ,  $p = 0,167$ ).

#### 4.1.6 Fordelingskoeffisienten ( $K_d$ )

Figur 17 viser Fordelingskoeffisienten ( $K_d$ ) for de fire tungmetallene i forsøket. Vannprøver ble tatt ved hver nymfemåling (dag 1, 3, 7, 14 og 21), mens sedimentprøver kun ble tatt ved dag 1 og 21.  $K_d$  presenteres derfor kun for dag 1 og 21.



Figur 17. Gjennomsnittet av fordelingskoeffisienten ( $K_d$ ) (ml/g) for  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  dag 1 og dag 21 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Grafene har ulik skala på y-aksen.

Figur 17 viser store forskjeller for  $K_d$  mellom de fire metallene. For  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{60}\text{Co}$  er  $K_d$  lavere ved dag 1 enn dag 21 ved 0 og 500 mg NaCl/L, mens det er omvendt ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Dette er til dels også gjeldende for  $^{65}\text{Zn}$ , men her er  $K_d$  for 10 000 mg NaCl/L omtrent lik ved dag 1 og dag 21. For  $^{109}\text{Cd}$  har  $K_d$  minket betraktelig fra dag 1 til dag 21 for 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L, mens det er helt motsatt ved 0 mg NaCl/L.

For  $^{109}\text{Cd}$  er det negativ korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og  $K_d$  ved både dag 1 (r

= -0,649, p = 0,000) og dag 21 (r = -0,451, p = 0,010). For  $^{60}\text{Co}$  er det positiv korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og  $K_d$  ved dag 1 (r = 0,382, p = 0,034), men negativ korrelasjon ved dag 21 (r = -0,464, p = 0,007). For  $^{125}\text{Sb}$  er det positiv korrelasjon ved dag 1 (r = 0,628, p = 0,000), mens det ikke er signifikant korrelasjon ved dag 21 (r = -0,202, p = 0,267). For  $^{65}\text{Zn}$  er det ikke signifikant korrelasjon verken ved dag 1 (r = 0,239, p = 0,110) eller 21 (r = 0,173, p = 0,368).

## 4.2 Akkumulering av tungmetaller i øyestikkernymfer

### 4.2.1 Akkumulert dødelighet til nymfer

Noen av nymfene døde underveis i forsøket. Tabell 9 oppgir akkumulert dødelighet ved ulike saltkonsentrasjoner og tracere.

Tabell 9. Akkumulert dødelighet ved ulike saltkonsentrasjoner og tracere.

NaCl (mg/L)	$^{60}\text{Co} + ^{109}\text{Cd}$	$^{65}\text{Zn} + ^{125}\text{Sb}$
0	4	4
500	3	4
5000	1	3
10000	3	4

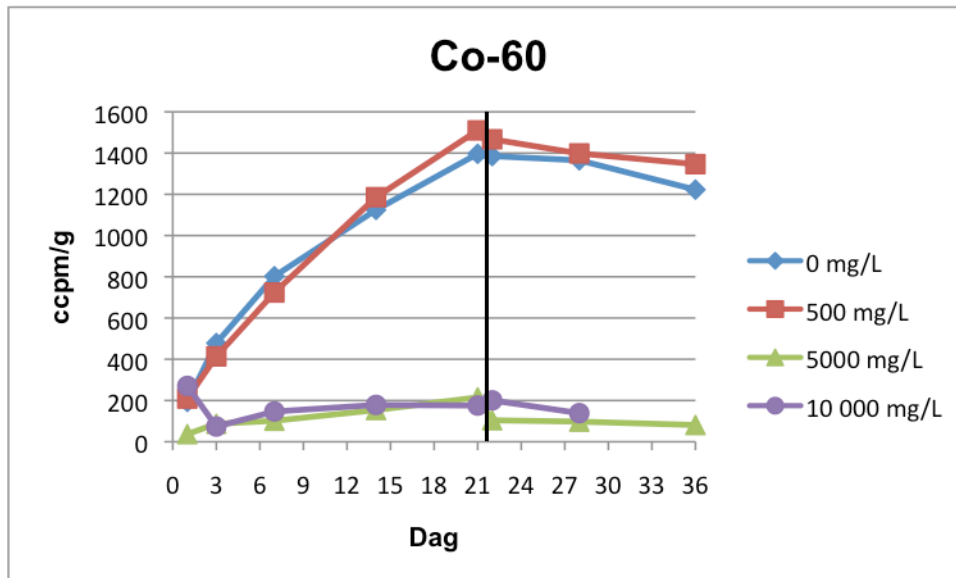
4 av 8 nymfer som gjennomgikk skallskifte var fra begerglassene med  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  og 10 000 mg NaCl/L. Det er derfor få nymfer igjen for denne kombinasjonen ved målinger etter dag 7.

### 4.2.2 Akkumulering av $^{60}\text{Co}$

Tabell 10 og Figur 18 viser gjennomsnittaktivitet av  $^{60}\text{Co}$  i nymfer dag 1-36 ved de fire ulike saltkonsentrasjonene.

Tabell 10. Gjennomsnittaktivitet (ccpm/g) for <sup>60</sup>Co i nymfer dag 1-36 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Det er oppgitt målte minimum- og maksimumaktivitet og standard Error (SE) for gjennomsnitt. n angir antall nymfer. Dag 3, 7, 14 og 21 er sammenlignet med dag 1. Ved detoksifisering er dag 22, 28 og 36 sammenlignet med dag 21 (siste eksponeringsdag). Signifikante p-verdier er uthevet. \* = ingen verdier grunnet ingen gjenværende eller for få nymfer.

NaCl (mg/L)	Dag	n	Gj.snitt	± SE	min	maks	p-verdi
0	1	8	193	28	103	323	
	3	8	478	69	213	763	<b>0,001</b>
	7	8	803	126	340	1293	<b>0,000</b>
	14	7	1125	210	548	2093	<b>0,000</b>
	21	3	1396	267	900	1816	<b>0,021</b>
Detoksifisering	22	3	1385	280	867	1830	0,423
	28	3	1365	279	849	1809	0,206
	36	3	1223	272	716	1648	0,067
500	1	7	209	33	129	353	
	3	7	414	75	145	646	<b>0,002</b>
	7	7	723	145	154	1185	<b>0,001</b>
	14	7	1186	209	192	1656	<b>0,000</b>
	21	3	1510	233	1110	1915	<b>0,002</b>
Detoksifisering	22	3	1467	275	970	1918	0,454
	28	3	1398	248	937	1784	0,186
	36	3	1346	252	902	1775	0,088
5000	1	7	116	48	32	376	
	3	7	267	60	83	539	<b>0,015</b>
	7	7	141	45	23	374	0,667
	14	7	245	77	55	605	0,112
	21	6	328	114	59	804	0,052
Detoksifisering	22	5	357	157	37	889	0,477
	28	5	326	136	47	781	0,086
	36	5	306	133	36	759	0,058
10000	1	4	271	179	20	800	
	3	4	74	38	7,7	171	0,159
	7	4	147	69	5,8	312	0,381
	14	4	179	90	17	396	0,658
	21	3	175	99	10	351	0,713
Detoksifisering	22	2	201	14	187	214	*
	28	1	139	*	*	*	*
	36	0	*	*	*	*	*



Figur 18. Gjennomsnittsaktivitet (ccpm/g) for <sup>60</sup>Co i Øyenstikkernymfer som funksjon av tid (dager) ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Sort vertikal strek markerer overgang til springvann. For 10 000 mg/L er det ingen målinger etter dag 28 grunnet ingen gjenværende nymfer.

Figur 18 viser at det er en bratt stigningskurve for aktiviteten av <sup>60</sup>Co i nymfene ved 0 og 500 mg NaCl/L fra dag 1-21. Akkumuleringen når ikke likevekt i løpet av denne perioden. Tabell 10 viser at det er signifikante forskjeller i aktivitet mellom dag 1 og alle de påfølgende målingsdagene på kontaminert sediment ved både 0 og 500 mg NaCl/L. For begge disse saltkonsentrasjonene synker aktiviteten noe etter overgang til springvann ved dag 21, men ingen av de påfølgende målingsdagene skiller seg signifikant fra dag 21. Gjennomsnittsaktiviteten øker også fra dag 1-21 ved 5000 mg NaCl/L, men det er kun dag 3 som skiller seg signifikant fra dag 1. Etter overgang til springvann ved dag 21, går gjennomsnittsaktiviteten litt opp ved dag 22 før den igjen går nedover ved dag 28 og 36. Ingen av dagene på springvann skiller seg signifikant fra dag 21. Ved 10 000 mg NaCl/L synker gjennomsnittsaktiviteten fra dag 1 til dag 3 før den igjen stiger fram til dag 21. Ingen av dagene på kontaminert sediment skiller seg signifikant fra dag 1. Ved overgang til springvann går gjennomsnittsaktiviteten først litt opp ved dag 22 før den igjen går ned ved dag 28. Her kan man ikke si noe om det er signifikante forskjeller eller ikke, da det ved første måling etter overgang til springvann kun er 2 nymfer igjen, deretter kun 1 ved påfølgende måling, og så 0 igjen ved siste måling.

Figur 18 viser likheter mellom akkumuleringsskurven ved 0 og 500 mg NaCl/L, og det samme gjelder ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Gjennomsnittaktivitetene ved 0 og 500 mg NaCl/L er mye høyere enn ved 5000 og 10 000 mg/L. Kruskal-Wallis Test med 95% konfidensintervall viser signifikante forskjeller i  $^{60}\text{Co}$ -aktivitet i nymfene samlet dag 1-36 mellom alle de ulike saltkonsentrasjonene ( $p = 0,000$ ).

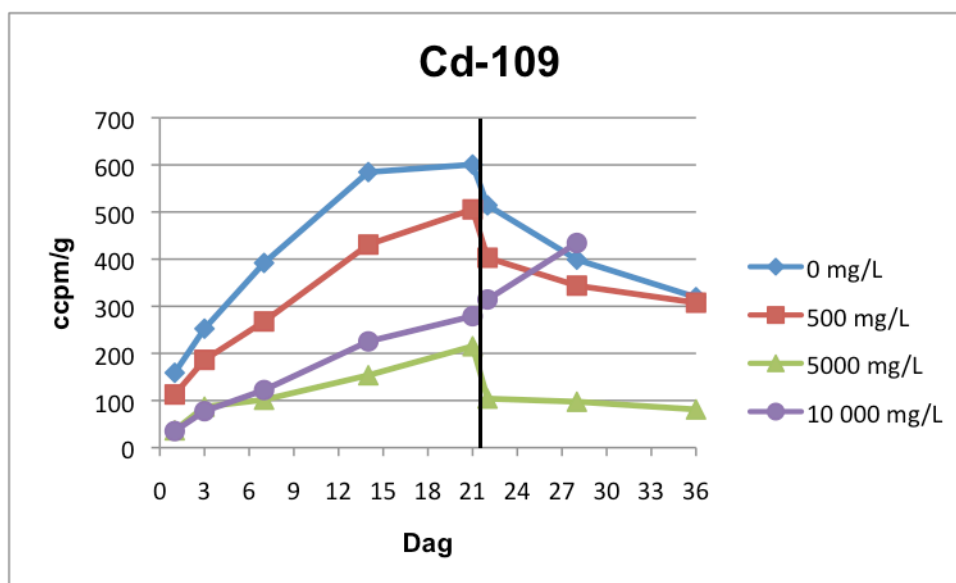
#### **4.2.3 Akkumulering av $^{109}\text{Cd}$**

Tabell 11 og Figur 19 viser gjennomsnittaktivitet av  $^{109}\text{Cd}$  i nymfer dag 1-36 ved de fire ulike saltkonsentrasjonene.



Tabell 11. Gjennomsnittsakktivitet (ccpm/g) for <sup>109</sup>Cd i nymfer dag 1-36 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Det er oppgitt målte minimum- og maksimumaktivitet og standard Error (SE) for gjennomsnitt. n angir antall nymfer. Dag 3, 7, 14 og 21 er sammenlignet med dag 1. Ved detoksifisering er dag 22, 28 og 36 sammenlignet med dag 21 (siste eksponeringsdag). Signifikante p-verdier er uthevet. \* = ingen verdier grunnet ingen gjenværende eller for få nymfer.

NaCl (mg/L)	Dag	n	Gj.snitt	± SE	min	maks	p-verdi
0	1	8	159	30	74	332	
	3	8	253	49	143	523	0,137
	7	8	392	66	160	732	<b>0,005</b>
	14	7	585	144	140	1287	<b>0,007</b>
	21	3	601	261	127	1028	0,243
	Detoksifisering	22	3	514	236	83	897
	28	3	399	193	63	732	<b>0,040</b>
	36	3	319	163	44	609	<b>0,038</b>
500	1	7	113	12	54	143	
	3	7	186	49	73	422	0,114
	7	7	268	50	118	519	<b>0,001</b>
	14	7	431	72	150	679	<b>0,000</b>
	21	3	506	168	264	828	<b>0,040</b>
	Detoksifisering	22	3	403	202	160	804
	28	3	344	145	123	618	0,081
	36	3	308	152	97	602	0,080
5000	1	7	37	4,5	17	52	
	3	7	87	15	40	164	<b>0,000</b>
	7	7	102	11	62	148	<b>0,000</b>
	14	7	154	8,1	135	190	<b>0,000</b>
	21	6	215	23	152	324	<b>0,000</b>
	Detoksifisering	22	5	104	6,6	88	121
	28	5	97	11	69	128	<b>0,001</b>
	36	5	81	8,1	64	108	<b>0,001</b>
10000	1	4	35	9,6	12	56	
	3	4	77	22	21	117	0,324
	7	4	122	21	64	160	<b>0,010</b>
	14	4	225	54	75	324	<b>0,000</b>
	21	3	279	116	97	493	0,222
	Detoksifisering	22	2	314	123	192	437
	28	1	434	*	*	*	*
	36	0	*	*	*	*	*



Figur 19. Gjennomsnittsakivitet (ccpm/g) for <sup>109</sup>Cd i Øyestikkernymfer som funksjon av tid (dager) ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Sort vertikal strek markerer overgang til springvann. For 10 000 mg/L er det ingen målinger etter dag 28 grunnet ingen gjenværende nymfer.

Gjennomsnittsakiviteten i nymfene øker mye fra dag 1-21 ved alle de fire saltkonsentrasjonene. Opptaket når ikke likevekt i løpet av dagene på kontaminert sediment. Tabell 11 viser at det ved 500 mg NaCl/L ikke er signifikant forskjell i aktivitet mellom dag 1 og 3, men det er signifikant forskjell mellom dag 1 og resten av målingsdagene på kontaminert sediment (dag 7-21). Ved 0 og 10 000 mg NaCl er det signifikant forskjell mellom dag 1 og 7 og mellom dag 1 og 14, men mellom dag 1 og 3 og mellom dag 1 og 21 er det derimot ikke signifikant forskjell. Ved 5000 mg NaCl/L er det signifikant forskjell i aktivitet mellom dag 1 og alle de påfølgende målingsdagene på kontaminert sediment. Ved overføring til springvann viser grafene at aktiviteten i nymfene går nedover ved 0, 500 og 5000 mg NaCl/L, men det er kun ved 5000 mg NaCl/L at det er signifikant forskjell mellom dag 21 og alle de påfølgende dagene i springvann. Ved 10 000 mg NaCl/L er det en økning i gjennomsnittaktivitet etter plassering i springvann. Men som for <sup>60</sup>Co er det vanskelig å si noe om signifikante forskjeller i dette tilfellet, da det ved første måling etter overgang til springvann kun er 2 nymfer igjen, deretter kun 1 ved dag 28 og 0 ved siste måling.

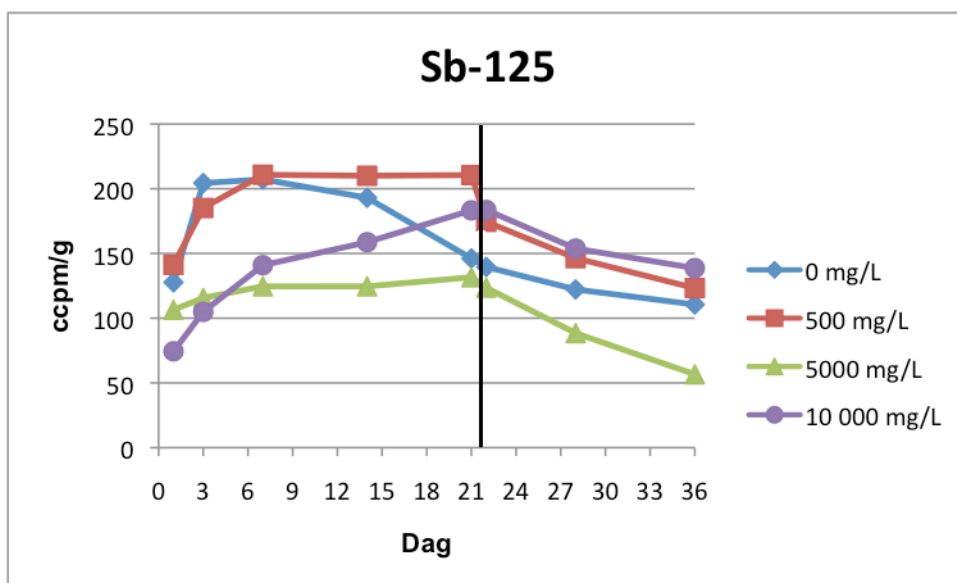
Figur 19 viser visse likheter mellom akkumuleringsskurven ved 0 og 500 mg NaCl/L. Dette stemmer også for 5000 og 10 000 mg NaCl/L, men ved disse saltkonsentrasjonene forsvinner derimot likheten etter dag 21. Akkumuleringen ved 0 og 500 mg NaCl/L er høyere enn ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L, selv om forskjellen ikke er like fremtredende som for  $^{60}\text{Co}$  (Figur 18). Kruskal-Wallis Test med 95% konfidensintervall viser signifikante forskjeller i gjennomsnittsaktivitet i nymfene samlet dag 1-36 mellom de ulike saltkonsentrasjonene ( $p = 0,000$ ).

#### **4.2.4 Akkumulering av $^{125}\text{Sb}$**

Tabell 12 og Figur 20 viser gjennomsnittsaktivitet av  $^{125}\text{Sb}$  i nymfer dag 1-36 ved de fire ulike saltkonsentrasjonene.

Tabell 12. Gjennomsnittsakktivitet (ccpm/g) for  $^{125}\text{Sb}$  i nymfer dag 1-36 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Det er oppgitt målte minimum- og maksimumaktivitet og standard Error (SE) for gjennomsnitt. n angir antall nymfer. Dag 3, 7, 14 og 21 er sammenlignet med dag 1. Ved detoksifisering er dag 22, 28 og 36 sammenlignet med dag 21 (siste eksponeringsdag). Signifikante p-verdier er uthevet.

NaCl (mg/L)	Dag	n	Gj.snitt	± SE	min	maks	p-verdi
0	1	8	128	30	73	335	
	3	8	204	30	69	322	<b>0,024</b>
	7	8	207	21	141	285	<b>0,008</b>
	14	7	193	34	95	348	0,080
	21	4	146	13	107	166	0,058
Detoksifisering	22	3	140	5,0	130	147	0,073
	28	3	122	15	92	138	0,210
	36	3	111	15	81	129	0,153
500	1	8	141	23	64	261	
	3	8	185	18	107	264	0,110
	7	8	211	30	103	364	0,111
	14	8	210	41	87	439	0,105
	21	7	211	34	73	341	0,115
Detoksifisering	22	6	175	37	32	266	0,051
	28	5	146	32	46	213	<b>0,010</b>
	36	3	123	40	70	203	<b>0,004</b>
5000	1	8	107	45	0,0	400	
	3	8	116	19	59	219	0,308
	7	8	125	12	87	187	0,222
	14	8	125	24	68	274	0,298
	21	6	132	28	60	241	0,202
Detoksifisering	22	5	124	28	50	203	0,111
	28	5	88	19	24	126	0,055
	36	4	57	15	21	93	0,057
10000	1	8	74	21	0,0	161	
	3	8	105	22	30	248	0,106
	7	8	141	29	67	290	0,074
	14	7	159	32	71	316	0,052
	21	4	183	57	106	351	0,075
Detoksifisering	22	3	184	71	92	324	0,057
	28	3	154	58	66	264	0,089
	36	3	139	51	55	232	0,109



Figur 20. Gjennomsnittsakivitet (ccpm/g) av <sup>125</sup>Sb i Øyestikkernymfer som funksjon av tid (dager) ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Sort vertikal strek markerer overgang til springvann.

Figur 20 viser en økning av gjennomsnittsakivitet i nymfene ved 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L fra dag 1 til 21. Ved 500 og 5000 mg NaCl/L flater kurven ut, og det ser ut som om akkumuleringen har nådd likevekt. Selv om det for disse saltkonsentrasjonene er økning i aktivitet, viser Tabell 12 at det ikke er signifikant forskjell mellom dag 1 og noen av de påfølgende målingsdagene på kontaminert sediment. Ved 0 mg NaCl/L er det også en økning i aktivitet fra dag 1-21 hvis vi kun ser på disse to målingene isolert, men opptakskurven stiger ikke jevnt fra dag 1 til 21. Det er økning til dag 3 og 7 før aktiviteten igjen avtar ned mot dag 21. Det er kun signifikant forskjell mellom dag 1 og 3 og mellom dag 1 og 7. Etter plassering i springvann går gjennomsnittsakiviteten i nymfene nedover ved samtlige saltkonsentrasjoner, men det er kun signifikante forskjeller mellom dag 21 og 28 og mellom dag 21 og 36 ved 500 mg NaCl/L.

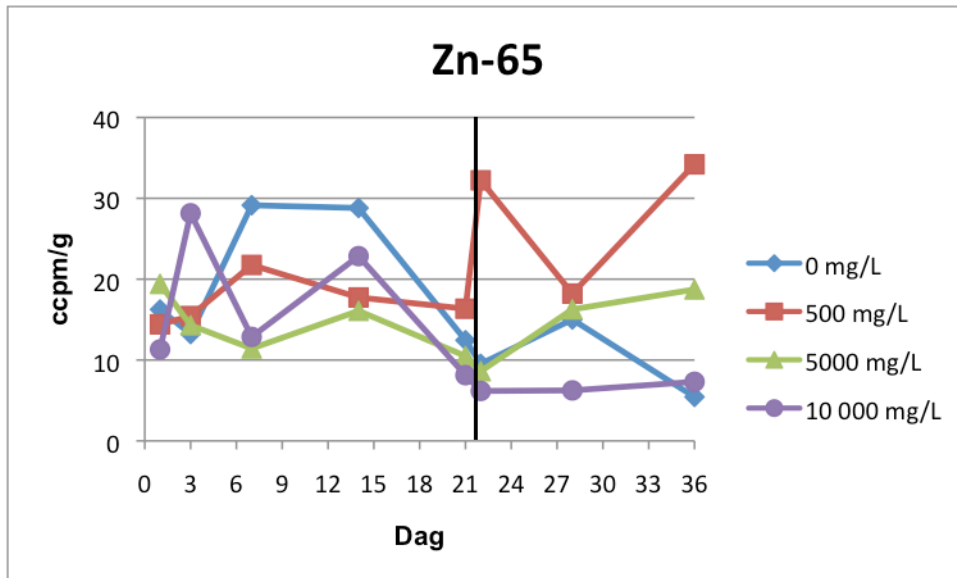
Gjennomsnittsakiviteten ved 0 og 500 mg NaCl/L er generelt høyere enn ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Dette er samme trend som vi observert for <sup>60</sup>Co (Figur 18) og <sup>109</sup>Cd (Figur 19). ANOVA med 95% konfidensintervall viser signifikante forskjell ( $p = 0,000$ ) i gjennomsnittsakivitet i nymfene samlet dag 1-36 mellom 0 og 5000 mg NaCl/L og mellom 0 og 10 000 mg NaCl/L, samt mellom 500 og 5000 mg NaCl/L, og mellom 500 og 10000 mg NaCl/L.

#### 4.2.5 Akkumulering av $^{65}\text{Zn}$

Tabell 13 og Figur 21 viser gjennomsnittaktivitet av  $^{65}\text{Zn}$  i nymfer dag 1-36 ved de fire ulike saltkonsentrasjonene.

Tabell 13. Gjennomsnittaktivitet (ccpm/g) for  $^{65}\text{Zn}$  i nymfer dag 1-36 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Det er oppgitt målte minimum- og maksimumaktivitet og standard Error (SE) for gjennomsnitt. n angir antall nymfer. Dag 3, 7, 14 og 21 er sammenlignet med dag 1. Ved detoksifisering er dag 22, 28 og 36 sammenlignet med dag 21 (siste eksponeringsdag). Signifikante p-verdier er uthevet.

NaCl (mg/L)	Dag	n	Gj.snitt	± SE	min	maks	p-verdi
0	1	8	16	5,1	0,0	42	
	3	8	13	3,0	0,0	24	0,847
	7	8	29	6,7	13	64	0,128
	14	7	29	10	0,0	72	0,498
	21	4	13	4,8	0,0	23	0,984
Detoksifisering	22	3	9,5	7,1	0,0	23	0,437
	28	3	15	3,6	9,0	21	0,580
	36	3	5,4	5,0	0,0	15	0,349
500	1	8	14	6,9	0,0	59	
	3	8	15	6,2	0,0	49	0,773
	7	8	22	8,6	0,0	60	0,707
	14	8	18	8,0	0,0	64	0,958
	21	7	16	5,7	0,0	43	0,496
Detoksifisering	22	6	32	12	0,0	76	0,357
	28	5	18	4,8	6,4	31	0,326
	36	3	34	10	13	45	0,190
5000	1	8	19	5,0	4,4	43	
	3	8	14	4,4	0,0	39	0,437
	7	8	11	3,6	0,0	22	0,220
	14	8	16	3,0	6,7	29	0,773
	21	6	11	4,8	0,0	33	0,217
Detoksifisering	22	5	8,6	4,0	0,0	21	0,954
	28	5	16	8,1	1,7	46	0,641
	36	4	19	1,9	14	22	0,254
10000	1	8	11	4,8	0,0	34	
	3	8	28	12	0,0	102	0,397
	7	8	13	4,7	0,0	40	0,339
	14	7	23	6,2	3,3	41	0,207
	21	4	8,1	2,9	0,0	13	0,229
Detoksifisering	22	3	6,2	3,2	0,0	11	0,277
	28	3	6,2	1,9	2,6	8,5	0,866
	36	3	7,3	4,1	3,1	16	0,787



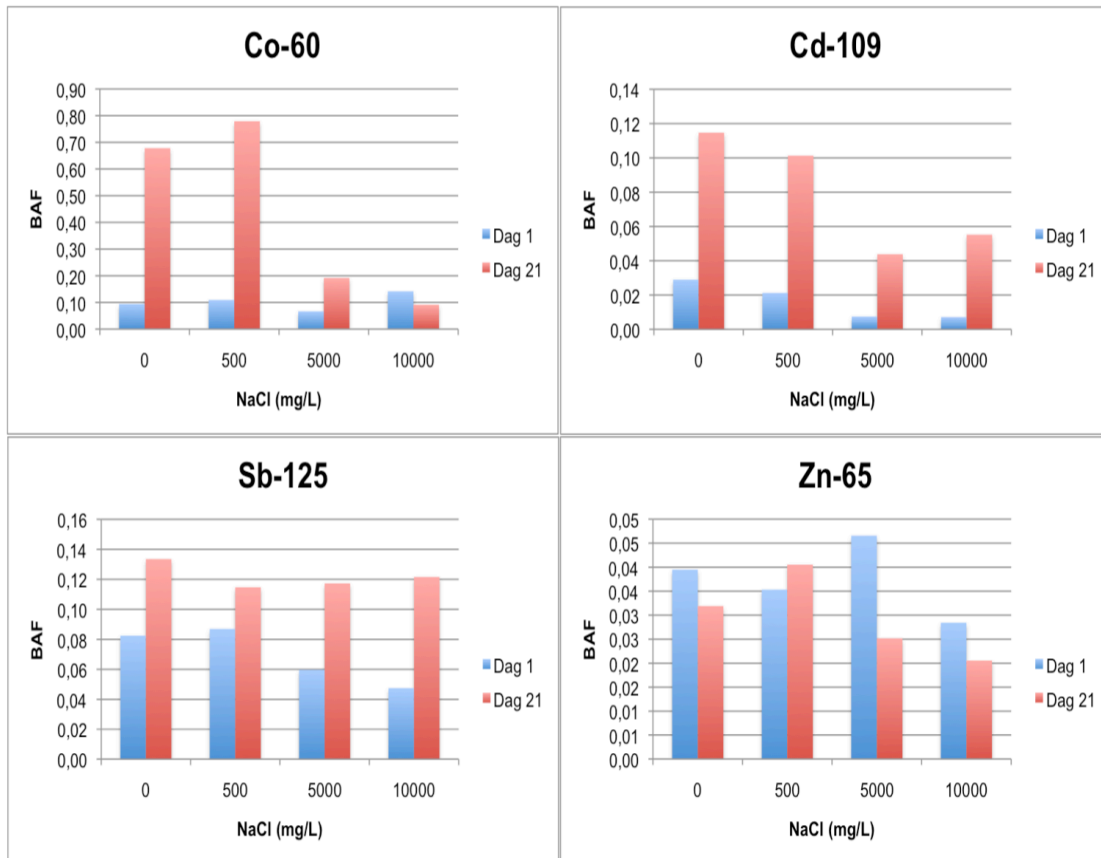
Figur 21. Gjennomsnittsakivitet (ccpm/g) av <sup>65</sup>Zn i Øyenstikkernymfer som funksjon av tid (dager) ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Sort vertikal strek markerer overgang til springvann.

Ut fra Figur 21 og Tabell 13 kommer det fram at det generelt er lav gjennomsnittsakivitet av <sup>65</sup>Zn ved alle de fire saltkonsentrasjonene. Gjennomsnittsakiviteten går opp og ned, og det er vanskelig å se noen klare trender i akkumuleringskurven for noen av saltkonsentrasjonene. Det er ikke signifikant forskjell mellom dag 1 og de påfølgende dagene på kontaminert sediment for noen av saltkonsentrasjonene. Det er heller ikke signifikant forskjell mellom dag 21 og noen av de påfølgende dagene i springvann.

Kruskal-Wallis Test med 95% konfidensintervall viser også at det ikke er signifikante forskjeller i gjennomsnittsakivitet i nymfene samlet dag 1-36 mellom de ulike saltkonsentrasjonene ( $p = 0,461$ ).

#### 4.2.6 Bioakkumuleringsfaktoren (BAF)

Figur 22 viser Bioakkumuleringsfaktoren (BAF) ved dag 1 og dag 21 for de fire forskjellige tungmetallene. Sedimentprøver ble kun tatt ved dag 1 og 21. BAF presenteres derfor kun for disse dagene.



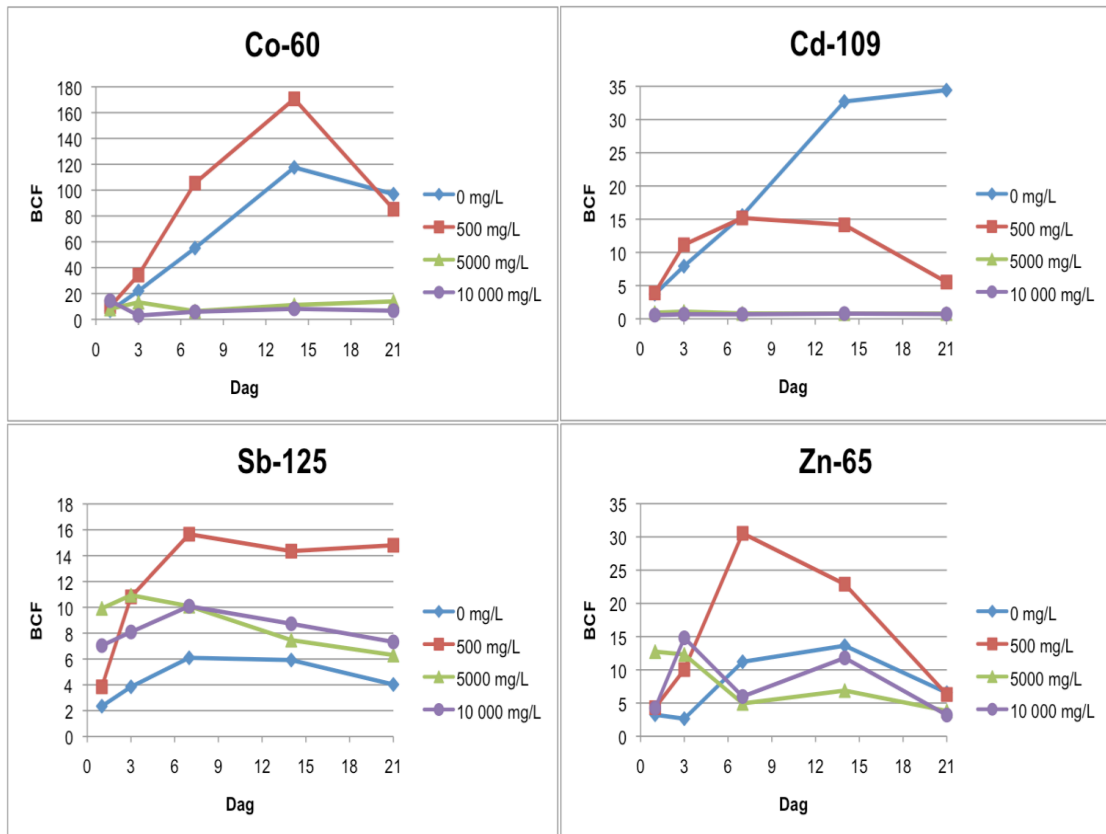
Figur 22. Bioakkumuleringsfaktor (BAF) for <sup>60</sup>Co, <sup>109</sup>Cd, <sup>125</sup>Sb og <sup>65</sup>Zn ved dag 1 og 21 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Grafene har ulike skalaer på y-aksen.

BAF-verdiene er generelt mye lavere for <sup>65</sup>Zn i forhold til de andre metallene, mens BAF-verdiene generelt er høyest for <sup>60</sup>Co. Det er tydelig forskjeller mellom dag 1 og 21 for <sup>60</sup>Co, <sup>109</sup>Cd og <sup>125</sup>Sb. For <sup>60</sup>Co har BAF økt betraktelig fra dag 1 til 21 ved 0, 500 og 5000 mg NaCl/L. Ved 10 000 mg NaCl/L har BAF derimot minsket fra dag 1 til 21. For <sup>109</sup>Cd og <sup>125</sup>Sb har BAF økt betraktelig fra dag 1 til 21 ved samtlige saltkonsentrasjoner. For <sup>65</sup>Zn har BAF minket fra dag 1 til 21 ved alle saltkonsentrasjoner bortsett fra for 500 mg NaCl/L hvor det er omvendt.

#### 4.2.7 Biokonsentrasjonsfaktoren (BCF)

Figur 23 viser Biokonsentrasjonsfaktoren (BCF) fra dag 1 til 21 for de fire tungmetallene.



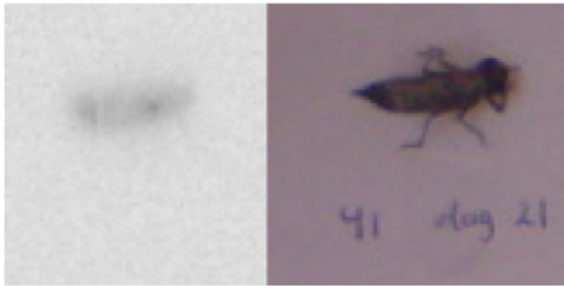


Figur 23. Biokonsentrasjonsfaktor (BCF) (ml/g) for  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  som en funksjon av tid (dager) ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. Grafene har ulik skala på y-aksen.

BCF er generelt mye lavere for  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  i forhold til for  $^{60}\text{Co}$ . For  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$  er BCF betraktelig mye høyere ved 0 og 500 enn ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L. For  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  er BCF høyest ved 500 mg NaCl/L flesteparten av dagene, mens det ikke er de store forskjellene mellom de andre saltkonsentrasjonene.

### 4.3 Autoradiografi av nymfer

Figur 24 til Figur 29 viser autoradiografbilder av 7 tilfeldig utvalgte nymfer.



Figur 24. Autoradiografibilde av nymfe. Aktivitet i nymfe:  $^{125}\text{Sb}$ : 60,9 ccpm,  $^{65}\text{Zn}$ : 7,0 ccpm.



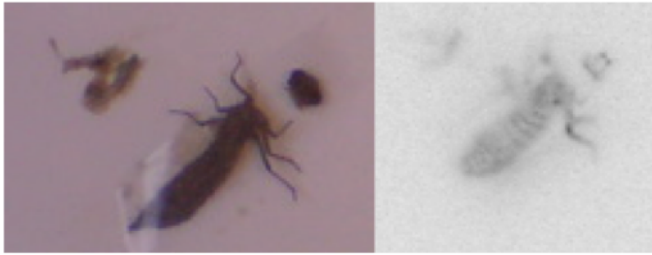
Figur 25. Autoradiografibilde av nymfe. Indre vev og organer er dissekert ut og plassert ved siden av. Aktivitet i nymfe:  $^{109}\text{Cd}$ : 70,1 ccpm,  $^{60}\text{Co}$ : 23,3 ccpm.



Figur 26. Autoradiografibilde av nymfe. Indre vev og organer er dissekert ut og plassert ved siden av. Aktivitet i nymfe:  $^{109}\text{Cd}$ : 21,3 ccpm,  $^{60}\text{Co}$ : 34,6 ccpm.



Figur 27. Autoradiografibilde av nymfe. Aktivitet i nymfe:  $^{109}\text{Cd}$ : 20,1 ccpm,  $^{60}\text{Co}$ : 122,6 ccpm



Figur 28. Autoradiografibilde av nymfe. Indre vev og organer er dissekert ut og plassert ved siden av. Aktivitet i nymfe:  $^{109}\text{Cd}$ : 24,1 ccpm,  $^{60}\text{Co}$ : 393,6 ccpm

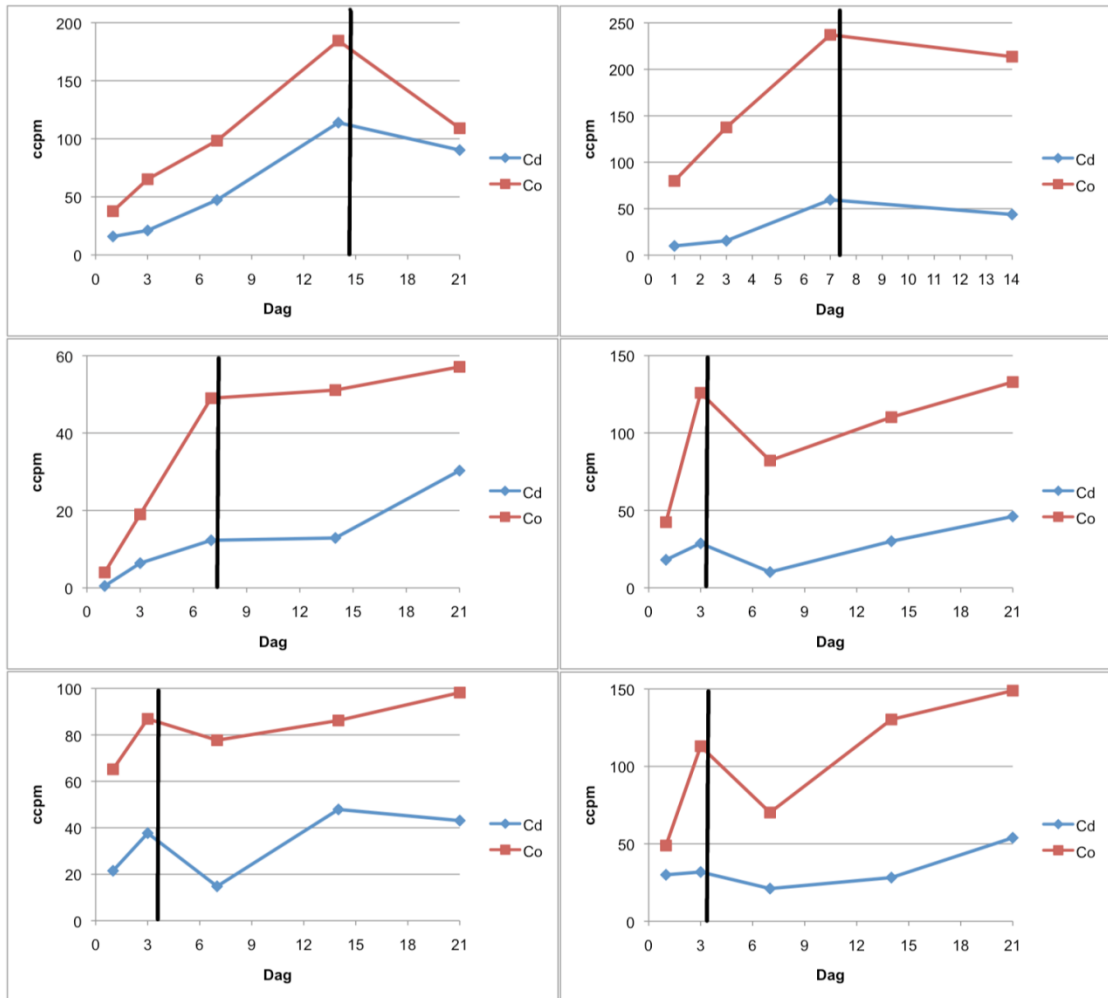


Figur 29. Autoradiografibilde av nymfe. Aktivitet i nymfe:  $^{109}\text{Cd}$ : 70,1 ccpm,  $^{60}\text{Co}$ : 299,9 ccpm

Fra Figur 25, Figur 26 og Figur 28, hvor indre vev og organer er dissekert ut, kommer det tydelig fram at noe av aktiviteten fra  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  sitter på innsiden av nymfen. Det er vanskeligere å se ut fra Figur 24, Figur 27 og Figur 29 hvorvidt aktiviteten fra  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  (Figur 27 og Figur 29) og  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  (Figur 24) er inni eller på utsiden av nymfen.

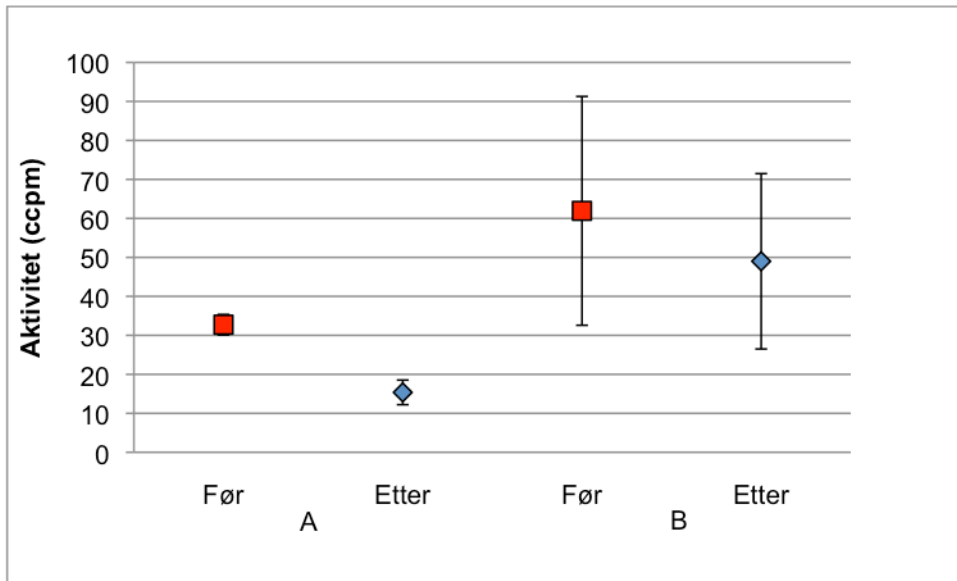
#### 4.4 Målinger ved skifte av exoskjelett

Figur 30 viser akkumulering av  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$  for 6 nymfer som skiftet exoskjelett under eksponeringsforsøket.



Figur 30. Aktivitet (ccpm) av  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  i de 6 nymfene som skiftet exoskjelett under eksponeringsforsøket. Sort vertikal strek angir tidspunkt for skifte av exoskjelett.

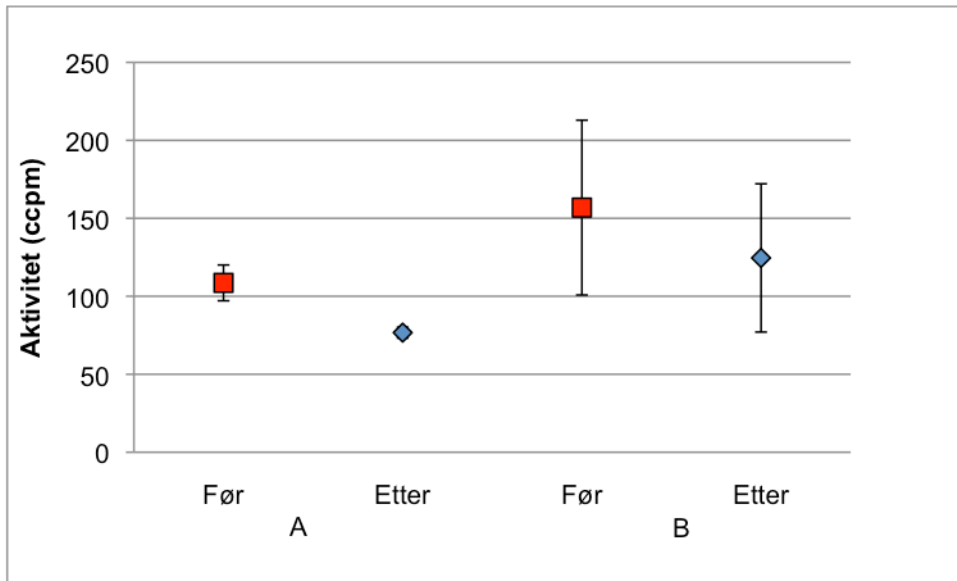
Figur 31 viser aktivitet (ccpm) av  $^{109}\text{Cd}$  i nymfer siste måling før skallskifte og første måling etter skallskifte.



Figur 31. Aktivitet (ccpm) av  $^{109}\text{Cd}$  i nymfer siste måling før skallskifte og første måling etter skallskifte. A angir gjennomsnittsmålingene for 3 nymfer som skiftet mellom dag 3 og 7, B angir gjennomsnittsmålingene for 3 nymfer som skiftet mellom dag 7 og 21. Gjennomsnittsmålingene er merket med Standard Error (SE).

Gjennomsnittsaktiviteten er 53% lavere ( $p = 0,040$ ) første dag etter skallskifte sammenlignet med siste dag før skallskifte for nymfene som skiftet skall mellom dag 3 og 7. Tilsvarende tall er 21% for de som skiftet mellom dag 7 og 21, men ikke signifikant ( $p = 0,211$ ).

Figur 32 viser aktivitet (ccpm) av  $^{60}\text{Co}$  i nymfer siste måling før skallskifte og første måling etter skallskifte.



Figur 32. Aktivitet (ccpm) av  $^{60}\text{Co}$  i nymfer siste måling før skallskifte og første måling etter skallskifte. A angir gjennomsnittsmålingene for 3 nymfer som skiftet mellom dag 3 og 7, B angir gjennomsnittsmålingene for 3 nymfer som skiftet mellom dag 7 og 21. Gjennomsnittsmålingene er merket med Standard Error (SE).

Gjennomsnittsaktiviteten er 29% lavere første dag etter skallskifte sammenlignet med siste dag før skallskifte for nymfene som skiftet skall mellom dag 3 og 7, mens tilsvarende tall er 21% for de som skiftet mellom dag 7 og 21. Men nedgangen er ikke signifikant, verken for nymfene som skiftet mellom dag 3 og 7 ( $p = 0,107$ ), eller de som skiftet mellom dag 7 og 21 ( $p = 0,293$ ).

## 5 Diskusjon

### 5.1 Sediment og vannfase

I følge Klima- og forurensningsdirektoratet (Klif) sitt klassifiseringssystem for miljøkvalitet i ferskvann, er miljøtilstanden til sedimentet som er benyttet i oppgaven ”ubetydelig forurenset” (klasse I) for Zn og ”moderat forurenset” (klasse II) for Cd. Sb og Co inngår ikke i denne klassifiseringen (Andersen et al. 1997). Alle konsentrasjonene er imidlertid innenfor det man kan forvente å finne i sedimenter i norske rensedammer (Damsgård 2011; Leistad 2007) .

Tidligere studier har vist at veisalt kan føre til økt mobilitet, remobilisering og økt biotilgjengelighet av metaller (Amrhein et al. 1992; Bäckström et al. 2004; Luoma 1983). Løst salt i vannfasen øker ionestyrken og endrer ionesammensetningen i vannet. Dette kan påvirke adsorpsjonen av metallioner i sedimentet ved ionebytteprosesser og lede til kompleksbinding av metaller med klorid. Kloridkomplekser vil holde metallene i løsning og hindre at metallene sedimenteres (Stead-Dexter & Ward 2004). Dette er i tråd med resultatene i dette eksperimentet, hvor det er negative korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og  $K_d$  ved dag 1 og 21 for  $^{109}\text{Cd}$  og dag 21 for  $^{60}\text{Co}$ . NaCl i vannfasen synes altså å øke mobiliseringen av metallene fra sedimentet, noe som videre underbygges av den positive korrelasjonen som ble observert mellom saltkonsentrasjon og aktivitet i vannfasen for de samme metallene. Også resultatene fra sekvensiell ekstraksjon peker i samme retning, da vannfraksjonen og  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen, som sammen antas å reflektere hvor mye som biotilgjengelig i sedimentet, er positivt korrelert med saltkonsentrasjon ved dag 21. Disse resultatene stemmer overens med flere undersøkelser, blant annet fant Löfgren (2001) signifikante korrelasjoner mellom målte konsentrasjoner av NaCl og Cd i nordiske overvann. To svenske studier (Pettersson 1999; Semadeni-Davies 2006) målte konsentrasjonene av metaller i vannfasen ved innløpet til våte overvannsbassenger, og fant at konsentrasjonene var høyere ved avrenningsepisoder hvor det var veisalt i overvannet. Dette tyder på at veisalt påvirker løseligheten av metaller i overvann og man kan forvente at denne effekten også vil oppstå når

saltholdig overvann kommer i kontakt med sedimenter. At korrelasjonen mellom veisalt og metall i vannfasen er sterkere for  $^{109}\text{Cd}$  enn for  $^{60}\text{Co}$  kan forklares med at Cd ofte er mer mobilt i jord og sedimenter enn andre tungmetaller (Alloway 1990). Dette underbygges av  $K_d$ -verdiene hvor  $K_d$  ved dag 21 er mye lavere for  $^{109}\text{Cd}$  enn for  $^{60}\text{Co}$  når det har vært NaCl i vannfasen. At prosentandelen til  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen øker i andel fra dag 1-21 ved de to høyeste saltkonsentrasjonene (5000 og 10 000 mg NaCl/L) tyder på at mobiliseringen som følge av veisalt skjer over tid. Dette underbygges av at gjennomsnittsakтивiteten til  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  i vannfasen også økte med tiden ved disse saltkonsentrasjonene. Videre tyder resultatene på at  $^{109}\text{Cd}$  mobiliseres raskere enn  $^{60}\text{Co}$  (Figur 15).

For  $^{65}\text{Zn}$  er det ikke korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og aktivitet i vannfasen, noe som tyder på at veisalt i vannfasen ikke øker mobiliseringen fra sedimentet. Dette underbygges av at det ikke er negativ korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og  $K_d$  og resultatene fra sekvensiell ekstraksjon;  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen øker riktignok litt i prosentandel ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L, men det er ikke signifikant korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og de to første fraksjonene (vannfraksjonen og  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen). Disse resultatene stemmer ikke overens med undersøkelser av Löfgren (2001) og Ruth (2003), som har funnet signifikante korrelasjoner mellom målte konsentrasjoner av NaCl og Zn i nordiske overvann. Forklaringen på manglende korrelasjon kan være at  $^{65}\text{Zn}$  er hardt adsorbent til sedimentet. I følge Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2005) er Zn ofte hardt adsorbent til sedimenter, og Zn-kontaminering av vann vil derfor normalt ikke utgjøre stor miljørisiko for omgivelsene. Sett bort fra enkeltmålinger fra de andre metallene er  $K_d$ -verdiene for  $^{65}\text{Zn}$  noe høyere enn for de andre metallene, noe som kan nettopp kan tyde på at  $^{65}\text{Zn}$  er hardere bundet til sedimentet. Resultatene fra sekvensiell ekstraksjon viser derimot at residuet utgjorde under 10% av sedimentet ved samtlige saltkonsentrasjoner, noe som tyder at  $^{65}\text{Zn}$  ikke var spesielt hardt adsorbent til sedimentet. Grunnen til at det er vanskelig å se trender i resultatene for  $^{65}\text{Zn}$  kan være at det generelt er lav aktivitet av  $^{65}\text{Zn}$  i både sedimentet (446 ccpm/g) og i vannfasen (alle gjennomsnittsakтивiteter under 5 ccpm/mL), og at de store forskjellene dermed ikke oppstår. Den lave aktiviteten i vannfasen førte også til store usikkerheter i



gammamålingene av aktiviteten (relativ usikkerhet av målingene opptil cirka 10%), så det er usikkerhet knyttet til resultatene for  $^{65}\text{Zn}$ .

For  $^{125}\text{Sb}$  er det negativ korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og aktivitet i vannfasen, noe som tyder på at veisalt i vannfasen ikke øker mobiliteten fra sedimentet. Dette underbygges av at vi finner de laveste verdiene for  $K_d$  ved 0 mg NaCl/L. En mulig årsak er at Sb kan danne kloridkomplekser som er lite løselige i vann. Flere undersøkelser viser at andelen Na som er bundet i jord langs saltet vei har økt med tiden (Czerniawska-Kusza et al. 2004; Norrström & Jacks 1998; Norrström & Bergstedt 2001), noe som kan tyde på ionebytteprosesser mellom natriumioner og andre kationer. Det samme kan man forvente vil skje i sedimenteter.  $^{125}\text{Sb}$  foreligger oftest som anion under oksiske forhold, i motsetning til de andre metallene i forsøket, så det forventes heller ikke ionebytteprosesser i samme grad som for  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{65}\text{Zn}$ . Resultatene for sekvensiell ekstraksjon tyder på at  $^{125}\text{Sb}$  er mindre mobilt enn de andre metallene i forsøket. Restfraksjonen utgjør store deler av sedimentet ved alle saltkonsentrasjonene, og  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH 7)-fraksjonen er ved alle saltkonsentrasjoner liten sammenlignet med  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{65}\text{Zn}$ . Det er gjort lite studier på Sb i forhold til mobilitet og biotilgjengelighet i jord og sedimenter (Filella et al. 2002). Noen studier tyder imidlertid på at Sb er ganske mobilt under ulike miljøforhold (Rai & Zachara 1984), mens andre studier tyder på at det er sterkt adsorbent til jord og lite biotilgjengelig (Ainsworth et al. 1990; Flynn et al. 2003).

At gjennomsnittsakiviteten i vannfasen går nedover fra dag 1 før den igjen stiger for  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  er sannsynligvis fordi det var flere sedimentpartikler i vannfasen som ennå ikke hadde sedimentert ved første måling. At dette ikke er gjeldene for  $^{109}\text{Cd}$  kan forklares med at aktiviteten i vannfasen er mye høyere for dette metallet enn de andre metallene, og dermed vil ikke de eventuelle partiklene i vannfasen som ikke har rukket å sedimentere gi like stort utslag i gjennomsnittsakivitet.

## 5.2 Akkumulering av tungmetaller

For alle målinger var det fra starten 8 nymfer per saltkonsentrasjon- og tracerblanding (n=8), men noen nymfer døde underveis i forsøket, noen skiftet skall, og 1 nymfe fra

hver saltkonsentrasjon- og tracerblanding ble tatt ut til autoradiografi ved dag 21. Gjennomsnittaktivitetene er derfor basert på flere individer (n) ved målinger tidlig i forsøket, og vil være mer pålitelige enn målinger ved slutten av forsøket. Dødeligheten blant nymfene var jevnt fordelt mellom de ulike salt- og metallkonsentrasjonene. Det ser ikke ut til at det er noen trend i dødelighet som følge av økte saltkonsentrasjoner eller metallkonsentrasjoner. Resultatene fra en rekke studier tyder også på at øyestikkernymfer er tolerante for vannbårne tungmetaller og kan akkumulere store body burdens med liten effekt på dødelighet (Chessman & McEvoy 1998; Mackie 1989; Meyer et al. 1986; Slooff 1983; Tollett et al. 2009). Årsaken til dødeligheten kan derfor være at eksponeringsbetingelsene ikke var optimale. For eksempel ble nymfene ikke føret underveis i eksperimentet da det kan gi feilkidler i form av at nuklidene kan feste seg til fôrpartikler og/eller avføringspartikler.

Flere studier indikerer at akvatiske organismer kan bioakkumulere tungmetaller (Hare 1992; Stephansen et al. 2010; Tollett et al. 2009), og generelt har øyestikkernymfer høyere konsentrasjon av tungmetaller i kontaminerte områder. Øyestikkernymfene i dette forsøket akkumulerte  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{60}\text{Co}$  og  $^{125}\text{Sb}$ . Dette vises av signifikant økning i gjennomsnittaktivitet over tid, samt at verdiene for BAF øker med tiden. For  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$  underbygges dette videre av at verdiene for BCF også øker med tiden. For  $^{65}\text{Zn}$  er det ingen signifikante forskjeller i gjennomsnittaktivitet mellom dag 1 og de påfølgende dagene på kontaminert sediment, noe som tyder på at metallet ikke ble akkumulert. Sammenligning av verdier for BCF og BAF fra de forskjellige metallene tyder på at  $^{60}\text{Co}$  akkumuleres i nymfene i større grad enn de andre metallene. Rangeringen for akkumulering av de ulike metallene basert på BAF verdiene etter dag 21 er:  $^{60}\text{Co} > ^{109}\text{Cd} \approx ^{125}\text{Sb} > ^{65}\text{Zn}$ . Ut fra de ulike metallenes verdier for BCF kommer det også fram at  $^{60}\text{Co}$  akkumuleres i størst grad, men at det i forhold til akkumulering fra vannfasen ikke er store forskjellene mellom de tre andre metallene.

Det er vist relasjoner mellom konsentrasjon av tungmetaller i nymfer og i vann og sedimenter, men disse relasjonene kan ikke bli generalisert, spesielt ikke når det gjelder sedimenter. Det er dermed noe uenighet hvorvidt øyestikkernymfer kan brukes som tungmetallindikatorer (Cain et al. 1992; Goodyear & McNeill 1999; Hare 1992; Karouna-Renier & Sparling 2001; Nummelin et al. 2007). De svært lave

verdiene av BAF for  $^{65}\text{Zn}$  tyder på  $^{65}\text{Zn}$  akkumuleres i liten grad i forhold til aktivitet i sedimentet, og at øyestikkernymfer er en dårlig indikator for konsentrasjon av Zn i sediment. At BAF-verdiene for  $^{60}\text{Co}$  er høye tyder på at øyestikkernymfer er bedre indikatorer for konsentrasjon av Co i sediment.

At nymfene i dette studiet har høy akkumulering av  $^{109}\text{Cd}$  står i kontrast til en studie av Nummelin et al. (2007), som fant lite akkumulering av Cd i øyestikkernymfer, og konkluderte med at øyestikkernymfer enten er ueffektive i Cd-akkumulering eller effektive til å skille ut Cd. Også resultatene fra en dansk studie (Stephansen et al. 2010) tyder på liten grad av akkumulering av Cd i øyestikkernymfer. I studien ble det sammenlignet metallkonsentrasjoner i øyestikkernymfer fra rensedammer med vanlige dammer. Det ble funnet lave Cd-konsentrasjoner, både i nymfene fra rensedammer og vanlige dammer. Imidlertid viste en studie av Tollet et al. (2009) at øyestikkernymfer akkumulerte høye konsentrasjoner av Cd ( $>1000 \mu\text{g/g}$  tørrvekt) fra kontaminert vannfase.

At det ikke var noen trend for opptak av  $^{65}\text{Zn}$ , samt ingen signifikante forskjeller mellom dag 1 og de på følgende dagene på kontaminert sediment, kan skyldes den lave konsentrasjonen av denne traceren i sedimentet. Det tilsynelatende manglende opptaket samt mangel på dose-respons kan også skyldes at Zn er et essensielt metall og dermed reguleres effektivt. Variasjon i insektskonsentrasjon av essensielle metaller som Zn, er rapportert å være generelt mindre enn for uessensielle metaller, som for eksempel Cd og Co. Denne forskjellen antas å være en konsekvens av at dyrene regulerer indre konsentrasjoner av essensielle metaller mer effektivt enn uessensielle metaller. Hvis et insekt opprettholder metallkonsentrasjonen ved å kontrollere opptak eller utskillelse, vil konsentrasjonen i dyret variere lite med konsentrasjonene i miljøet, i hvert fall ved miljøkonsentrasjoner som ikke overbelaster regulasjonssystemet. Uessensielle metaller blir sannsynligvis ikke homeostasisk regulert, og dermed vil insektskonsentrasjoner av disse metallene bedre reflektere miljøkonsentrasjoner (Hare 1992; Rainbow 2002). Resultatene i dette eksperimentet er i tråd med andre studier hvor det er dokumentert at øyestikkernymfer akkumulerer lite Zn, for eksempel en studie av invertebrater i rensedammer av Casey et al. (2007). Deres undersøkelse tyder på at øyestikkernymfer delvis er i stand til å regulere Zn-

opptak, og at akkumulering ikke er proposjonalt til sedimenteksponeringen av Zn. En undersøkelse av Nummelin et al. (2007) viser også at øyestikkernymfer akkumulerer lite Zn i forhold til flere andre insektordener. Stephansen et al. (2010) fant derimot resultater som tyder på at øyestikkernymfer akkumulerer mye Zn. Konsentrasjonen av Zn i nymfer fra rensedammer var mye høyere sammenlignet med konsentrasjonen i nymfer fra vanlige dammer, og det var generelt høy konsentrasjon av Zn i nymfene sammenlignet med andre metaller.

Opptaket av  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  skjer sannsynligvis gjennom kanaler for Ca. Hastigheten et metallatom passerer membranen som skiller dyret fra omgivelsene med, avhenger av specieringen av metallet, for eksempel om metallet forekommer som et fritt ion eller bundet til en ligand (Hare 1992). Den aktive transporten av essensielle spormetaller over membraner kan være proteinmediert (Cu, Zn), skje via en ionepumpe (Ca) eller ved endocytose (Fe) (Foulkes 2000; Simkiss & Taylor 1989). Uessensielle metaller som Cd og Pb, kan komme inn i celler ved transportmekanismer som normalt brukes av essensielle metaller. For eksempel kan Cd bli transportert i stedet for Ca via spenning-sensitive kanaler (Buchwalter & Luoma 2004; Foulkes 2000; Hinkle et al. 1992).  $^{125}\text{Sb}$  foreligger mest sannsynlig som anion og blir dermed ikke tatt opp gjennom Ca-kanaler som  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$ , men via andre opptaksruter, som for eksempel via kloridceller. Det er også mulig at metalloptaket av  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  skjer via  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Inhibisjon av  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pumpen) av tungmetaller er registrert i enkelte typer fisk, men det finnes ingen direkte bevis for kompetitiv inhibisjon av transepital natriumforflytning av tungmetaller (Wright 1995).

Flere studier tyder på at metallkonsentrasjonen i insekter øker lineært med tiden ved metalleksponering. Etter en viss periode kan opptaket sakte ned og gå mot null og det oppstår en tilnærmet likevekt mellom metallinflux og -efflux (Hare et al. 1991; Timmermans, K.R. et al. 1992; Timmermans, K. R. et al. 1992). Dette ble kun delvis observert for  $^{125}\text{Sb}$  i dette forsøket, noe som kan skyldes at 21 dager på kontaminert sediment ikke var nok for å oppnå denne effekten for de andre metallene. Dette tyder på at akkumuleringen når likevekt ved lavere konsentrasjoner for  $^{125}\text{Sb}$  enn  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$ . Likevekt ville kanskje blitt oppnådd raskere hvis forsøket så på opptak fra kontaminert vann og ikke sediment, da det trolig er en senere prosess når metallene

først skal løses fra sediment og over i vann før opptak i biota.

Detoksifiseringen av metaller involverer binding til proteiner som metallothioneiner eller midlertid lagring av metallene i en uløselig form i intracellulære granuler (Walker et al. 2006). Ser vi på de enkelte målingene til hver nymfe, ser vi at aktiviteten i nymfene stort sett går nedover for alle de fire metallene etter plassering i springvann. Dette kan tyde på at nymfene skiller ut igjen metallene de har akkumulert på kontaminert sediment. Men det er få signifikante resultater knyttet til detoksifiseringen, noe som tyder på at utskillelsen av metallene går sakte. Imidlertid er det knyttet stor usikkerhet til resultatene for detoksifiseringen, da det ved dette tidspunktet kun var få individer igjen. For flere akvatiske insektarter har halveringstider for Cd av en uke eller mindre blitt rapportert, mens også halveringstider på opptil 2 måneder har blitt registrert. Detoksifisering av tungmetaller i insekter avhenger blant annet av insektenes metabolske rate, som bestemmes av temperatur. Lave temperaturer tilsvarer som oftest lav metabolsk rate (Hare 1992). I dette forsøket ble nymfene oppbevart i klimaskap ved 10 °C, noe som kan ha ført til at den metabolske raten var lav og at detoksifiseringen dermed gikk sakte.

### 5.3 Veisalts påvirkning av tungmetallakkumulering

Aktiviteten av  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  øker i vannfasen med økt saltkonsentrasjon, og resultatene fra sekvensiell ekstraksjon tyder også på at biotilgjengeligheten øker med økt saltkonsentrasjon for disse metallene i sedimentet. Samtidig synes metallene å være mindre biotilgjengelig ved de høye saltkonsentrasjonene. Dette kommer fram av akkumuleringsgrafene og underbygges av verdiene for BCF som viser samme tydelige trend; for både  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$  er BCF svært mye høyere ved 0 og 500 enn ved 5000 og 10 000 mg NaCl/L i nesten hele forsøksperioden. Dette kan være fordi  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  danner komplekser med klorid ( $\text{Cl}^-$ ) og dermed ikke er like tilgjengelige for opptak av nymfene som frie metallioner. Metalloptak i virvelløse invertebrater er generelt inverst relatert til salinitet (Wright 1995). Både fysiologiske endringer og fysisk-kjemi (for eksempel metallspesiering) kan påvirke metalloptak når saltinnholdet endres. Den mest aksepterte forklaringen på den negative effekten

salinitet har på metalloptak, er at den mest biotilgjengelige metallformen er det frie metallionet (Sunda et al. 1978; Wright 1995), og at økende kompleksdannelse, hovedsakelig med klorid, ved høyere saltkonsentrasjoner vil redusere den frie ionekonsentrasjonen og dermed redusere metalloptaket (Blust et al. 1992; Rainbow et al. 1993; Sunda et al. 1978).

For  $^{125}\text{Sb}$  ser vi ikke samme trend som for  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$ . Aktiviteten i vannfasen synker med økende saltkonsentrasjon, og BCF er lavest ved 0 mg NaCl/L hele forsøksperioden, noe som viser at opptaket fra vannfasen er lavest ved denne konsentrasjonen. Dette kan være fordi  $^{125}\text{Sb}$  foreligger som anion og dermed ikke danner kloridkomplekser i samme grad som  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$ , og at det dermed ved høye saltkonsentrasjoner er flere biotilgjengelige frie metallioner for  $^{125}\text{Sb}$  enn det er for  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$  ved tilsvarende saltkonsentrasjoner.

For  $^{65}\text{Zn}$  er både aktiviteten i vannfasen og nymfene så lav at det er vanskelig å trekke noen konklusjoner ut fra resultatene.

#### 5.4 Autoradiografi og målinger ved skifte av exoskjelett

Tungmetaller kan være plassert på innsiden eller på utsiden av insekter. På utsiden kan metallene enten være bundet direkte til den kitinøse kroppsoverflaten eller indirekte i forbindelse med avsetning av jernoksid på exoskjelettet. Fordelingen av metaller mellom utsiden og innsiden av insekter kan bli estimert ved å sammenligne metalkonsentrasjonene i exuvia og hele nymfen (Hare 1992).

Nedgang i gjennomsnittsaktivitet etter skifte av exoskjelett er kun signifikant for  $^{109}\text{Cd}$  for skifte mellom dag 3 og 7 (53,9% nedgang,  $p = 0,040$ ). At nedgangen ikke var signifikant for  $^{109}\text{Cd}$  for skifte mellom dag 7 og 21 og for  $^{60}\text{Co}$  ved noen av skiftene kan skyldes at hver gjennomsnittsmåling kun var basert på 3 nymfer ( $n = 3$ ). Ser vi på akkumuleringsgrafene viser de en trend der aktiviteten av både  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$  i nymfene går ned etter skifte av exoskjelett, noe som kan tyde på at deler av akkumuleringen kan tilskrives exoskjelettet. Dette stemmer med resultatene fra flere studier som konkluderer med at mye av tungmetallakkumuleringen hos

øyenstikkernymfer sannsynligvis kan tilskrives adsorpsjon eller akkumulasjon i exoskjelettet (Giesy et al. 1981; Gupta 1995; Hare 1992; Meyer et al. 1986; Tollett et al. 2009).

Nedgangen i aktivitet etter skifte av exoskjelett ser ut til å være noe lavere enn hva som er funnet for ulike metaller i andre studier. Giesy (1981) observerte i et labforsøk at exuviae fra øyenstikkernymfer inneholdt 68% av Cd-konsentrasjonen i hele nymfen. Meyer (1986) eksponerte øyenstikkernymfer for Pb og målte så nivåene i flere organer og exoskjelett og sammenlignet disse. Mesteparten av den totale Pb-konsentrasjonen satt i exoskjelettet. Gupta (1995) målte konsentrasjoner av Cd, Pb og Cu i øyenstikkernymfer. Også her satt mesteparten av metallet i exoskjelettet (100%, 75%, og 68% for henholdsvis Cd, Pb og Cu). I dette forsøket ble aktiviteten i nymfene kun målt ved fastsatte måledager, og det ble ikke registrert eksakt dag nymfene skiftet exoskjelett. Målingen av aktivitet etter skallskifte kan dermed ha forekommet samme dag som skiftet eller flere dager etter. Det er derfor sannsynlig at nymfene har akkumulert metall etter skiftet, og at aktiviteten som ble målt første måledag etter skallskifte er noe høyere enn den ville vært hvis målingen hadde forekommet direkte etter skiftet. Dette kan være grunnen til nedgangen i gjennomsnittsaktivitet kun var signifikant for  $^{109}\text{Cd}$  for skifte mellom dag 3 og 7, og at tallene for fordeling av akkumulasjon mellom exoskjelett og innside ser ut til å være lavere enn det som er funnet i andre studier.

Autoradiografibildene tyder også på at det akkumuleres metall både på innsiden og utsiden av nymfene. Bildene gir oss et visst inntrykk av hvor i nymfene aktiviteten sitter, men bildene viser ikke fra hvilken isotop det er aktivitet. Det er derfor umulig å si om aktiviteten fra den utdissekerte innmaten kommer fra  $^{109}\text{Cd}$  eller  $^{60}\text{Co}$ , men det kommer i hvert fall tydelig fram av bildene at det er akkumulert aktivitet også inni nymfene. I hvilken grad metaller akkumulerer seg på innsiden eller overflaten av insekter kan variere fra metall til metall. En studie av Lavilla et al. (2010) viste at As, Cr, Fe, Mn, Ni og Pb for det meste ble adsorbent i exoskjelettet, mens Cu, Zn og Cd var assosiert med indre vev.

Tungmetaller adsorbent til exoskjelettet har sannsynligvis liten toksisk effekt, da nymfene legger igjen exoskjelettet ved molting (Gullan et al. 2000; Nilsson 1996). Det er likevel ikke sikkert at alt tungmetallet forbundet med exoskjelettet forsvinner ved skallskifte. Meyer et. al (1986) satt fram en hypotese om at mesteparten av Pb i exoskjelettet hos øyenstikkernymfer befinner seg i mesokutikla, som blir reinkorporert inn i det nye kutikula ved påfølgende skallskifter. Tidligere akkumulert metall vil dermed forbli i det nye kutikula ved skallskifte. Dette kan ikke utelukkes i denne studien heller.



## 6 Konklusjon

I hypotesene for forsøket ble det antatt at øyestikkernymfene ville akkumulere tungmetaller fra sedimentet. Nymfene i dette forsøket akkumulerte  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{60}\text{Co}$  og  $^{125}\text{Sb}$ .  $^{65}\text{Zn}$  ble ikke akkumulert. Rangeringen for akkumulering av de ulike metallene var i følgende rekkefølge:  $^{60}\text{Co} > ^{109}\text{Cd} \approx ^{125}\text{Sb} > ^{65}\text{Zn}$ . Forskjeller i akkumulering skyldes trolig ulike opptaksmekanismer. Aktivitet av  $^{65}\text{Zn}$  i sediment og vannfase var svært lav, noe som kan ha vært en medvirkende årsak til svake resultater for  $^{65}\text{Zn}$ .

I hypotesene ble det antatt at salt øker biotilgjengeligheten til tungmetaller i sedimentet. Det var derfor forventet å finne positiv korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og aktivitet i vannfasen, og positiv korrelasjon mellom saltkonsentrasjon og de fraksjonene som antas som biotilgjengelige ved sekvensiell ekstraksjon. Dette så kun ut til å stemme for  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$ .  $^{125}\text{Sb}$  så ut til å være hardt bundet til sedimentet og ble lite mobilisert av veisalt i vannfasen.

I hypotesene ble det antatt at økt saltkonsentrasjon i vannfasen ville føre til økt opptak av metallene i øyestikkernymfene. Dette stemmer ikke for  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$ , for disse metallene så det heller ut til å være en motsatt trend. Dette er sannsynligvis fordi  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  danner kloridkomplekser som ikke er like biotilgjengelige som frie metallioner. For  $^{125}\text{Sb}$  var derimot metalloptaket lavest ved 0 mg NaCl/L. Dette forklares med at  $^{125}\text{Sb}$  sannsynligvis foreligger som anion og dermed ikke danner kloridkomplekser i samme grad som  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$ , og at det dermed ved høye saltkonsentrasjoner er flere biotilgjengelige frie metallioner for  $^{125}\text{Sb}$  enn det er for  $^{109}\text{Cd}$  og  $^{60}\text{Co}$  ved tilsvarende saltkonsentrasjoner. For  $^{65}\text{Zn}$  var både aktiviteten i vannfasen og nymfene så lav at det er vanskelig å trekke noen konklusjoner utfra resultatene.

Autoradiografi og målinger av nymfer som skiftet exoskjelett viser tydelig at det nymfene akkumulerte enten  $^{60}\text{Co}$  eller  $^{109}\text{Cd}$  eller begge metallene både i indre vev og organer og i/på exoskjelettet. Tungmetaller adsorbent til exoskjelettet har sannsynligvis liten toksisk effekt, da nymfene legger igjen exoskjelettet ved molting.

## 7 Litteraturliste

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2005). Toxicological Profile for Zinc. Atlanta, GA: U.S.: Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Ainsworth, N., Cooke, J. A. & Johnson, M. S. (1990). Distribution of antimony in contaminated grassland: 2-- small mammals and invertebrates. *Environmental Pollution*, 65 (1): 79-87.
- Ajayi, S. O. & Vanloon, G. W. (1989). Studies on redistribution during the analytical fractionation of metals in sediments *Science of the Total Environment*, 87-8: 171-187.
- Alloway, B. J. (1990). *Heavy metals in soils*. Glasgow: Blackie. 339 s. s.
- Amrhein, C., Strong, J. E. & Mosher, P. A. (1992). Effect of deicing salts on metal and organic-matter mobilization in roadside soils *Environmental Science & Technology*, 26 (4): 703-709.
- Amundsen, C. E. & Roseth, R. (2004). Utslippsfaktorer fra vei til vann og jord i Norge. Beregning og verifisering av utslippsfaktorer. Oslo: Statens vegvesen, Vegdirektoratet.
- Amundsen, C. E., French, H., Haaland, S., Pedersen, P. A., Riise, G. & Roseth, R. (2008). Salt SMART - Miljøkonsekvenser ved salting av veger - en litteraturgjennomgang. *Teknologirapport 2535*. Oslo: Statens vegvesen. 98 s.
- Andersen, D. O. (2002). *Chemistry of a limed lake and its tributaries. Potential impacts of climate change*. Oslo: University of Oslo. 131 s.
- Andersen, J. R., Bratli, J. L., Fjeld, E., Faafeng, B., Grande, M., Hem, L., Holtan, H., Krogh, T., Lund, V., Rosseland, B. O., et al. (1997). Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann. Oslo: Norsk institutt for vannforskning. 31 s.
- Artsdatabanken. (2011). *Artsnavnebasen*. Trondheim. Tilgjengelig fra: <http://www.artsdatabanken.no/frontpageAlt.aspx?m=2> (lest 12.02.2011).
- Barbosa, A. E. (1999). *Highway runoff pollution and design of infiltration ponds for pollutant retention in semi-arid climates*. Denmark: Aalborg University. 51 s.
- Bishop, C. A., Struger, J., Barton, D. R., Shirose, L. J., Dunn, L., Lang, A. L. & Sheperd, D. (2000a). Contamination and wildlife communities in stormwater detention ponds in Guelph and the Greater Toronto Area, Ontario, 1997 and 1998. Part 1. Wildlife communities. . *Water Quality Research Journal of Canada*, 35 (3): 399-435.
- Bishop, C. A., Struger, J., Shirose, L. J., Dunn, L. & Campbell, G. D. (2000b). Contamination and wildlife communities in stormwater detention ponds in Guelph and the Greater Toronto Area, Ontario, 1997 and 1998. Part II - Contamination and biological effects of contamination. . *Research Journal of Canada*, 35: 437-474.
- Blust, R., Kockelbergh, E. & Baillieul, M. (1992). Effect of salinity on the uptake of cadmium by the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 84: 245-254.
- Brand, A., Snodgrass, J., Gallagher, M., Casey, R. & Van Meter, R. (2010). Lethal and Sublethal Effects of Embryonic and Larval Exposure of *Hyla versicolor* to

- Stormwater Pond Sediments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58 (2): 325-331.
- Brown, J. N. & Peake, B. M. (2006). Sources of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban stormwater runoff. *Science of the Total Environment*, 359 (1-3): 145-155.
- Bryan, G. W. & Langston, W. J. (1992). Bioavailability, accumulation and effects of heavy-metals in sediments with special reference to United-Kingdom estuaries - a review *Environmental Pollution*, 76 (2): 89-131.
- Buchwalter, D. B. & Luoma, S. N. (2004). Differences in Dissolved Cadmium and Zinc Uptake among Stream Insects: Mechanistic Explanations. *Environmental Science & Technology*, 39 (2): 498-504.
- Bäckström, M., Karlsson, S., Bäckman, L., Folkesson, L. & Lind, B. (2004). Mobilisation of heavy metals by deicing salts in a roadside environment. *Water Research*, 38 (3): 720-732.
- Bækken, T., Avolio, C. M., Veidel, A. & Willberg, M. (2005). PORECA. Forurensningsreducerende effekt av Nygård rense- og fordrøyningsbasseng for vegavrenning samt vegavrenning til Kjeksrudbekkene og Brekkebekken: NIVA. 69 s.
- Bækken, T. & Haugen, T. (2006). Kjemisk tilstand i vegnære innsjøer. På virkning fra avrenning av vegsalt, tungmetaller og OAH: Statens vegvesen. 91 s.
- Cain, D. J., Luoma, S. N., Carter, J. L. & Fend, S. V. (1992). Aquatic insects as bioindicators of trace-element contamination in cobble-bottom rivers and streams *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49 (10): 2141-2154.
- Casey, R., Simon, J., Atueyi, S., Snodgrass, J., Karouna-Renier, N. & Sparling, D. (2007). Temporal Trends of Trace Metals in Sediment and Invertebrates from Stormwater Management Ponds. *Water, Air, Soil Pollution*, 178 (1): 69-77.
- Casey, R. E., Shaw, A. N., Massal, L. R. & Snodgrass, J. W. (2005). Multimedia Evaluation of Trace Metal Distribution Within Stormwater Retention Ponds in Suburban Maryland, USA. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74 (2): 273-280.
- Chessman, B. C. & McEvoy, P. K. (1998). Towards diagnostic biotic indices for river macroinvertebrates. *Hydrobiologia*, 364: 169-182.
- Choppin, G. R., Liljenzin, J. O. & Rydberg, J. (2002). *Radiochemistry and nuclear chemistry*. [Oxford]: Butterworth-Heinemann. 709 s. s.
- Corbet, P. S. (1980). Biology of Odonata. *Annual review of entomology*, 25: 189-217.
- Corbet, P. S. (1999). *Dragonflies: Behavior and ecology of Odonata*. Dragonflies: Behavior and ecology of Odonata: Cornell University Press; Cornell University Press. xxxiv+829p s.
- Corbi, J. J., Trivinho-Strixino, S. & dos Santos, A. (2008). Environmental evaluation of metals in sediments and dragonflies due to sugar cane cultivation in neotropical streams. *Water Air and Soil Pollution*, 195 (1-4): 325-333.
- Czerniawska-Kusza, I., Kusza, G. & Dużyński, M. (2004). Effect of deicing salts on urban soils and health status of roadside trees in the Opole region. *Environmental Toxicology*, 19 (4): 296-301.
- Damsgård, M. B. (2011). *Akkumulering av tungmetaller i bunnlevende invertebrater og frosk fra rensebasseng langs E6*. Master. Ås: Universitetet for Miljø og biovitenskap (UMB). 80 s.

- Datry, T., Malard, F., Vitry, L., Hervant, F. & Gibert, J. (2003). Solute dynamics in the bed sediments of a stormwater infiltration basin. *Journal of Hydrology*, 273 (1-4): 217-233.
- Desta, M. B., Bruen, M., Higgins, N. & Johnston, P. (2007). Highway runoff quality in Ireland. *Journal of Environmental Management*, 9 (4): 366-371.
- Dongarrà, G., Manno, E. & Varrica, D. (2009). Possible markers of traffic-related emissions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 154 (1): 117-125.
- Ek, K. H., Morrison, G. M. & Rauch, S. (2004). Environmental routes for platinum group elements to biological materials--a review. *Science of the Total Environment*, 334-335: 21-38.
- Erickson, R. J., Nichols, J. W., Cook, P. M. & Ankley, G. T. (2008). Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems. *Toxicology of Fishes: Crc Press - Taylor & Francis Group*: 9-54.
- Evans, M. & Frick, C. (2001). The effects of road salts on aquatic ecosystems. *Environment Canada. Water Science and technology Directorate*.
- Fairbrother, A., Wenstel, R., Sappington, K. & Wood, W. (2007). Framework for Metals Risk Assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68 (2): 145-227.
- Filella, M., Belzile, N. & Chen, Y.-W. (2002). Antimony in the environment: a review focused on natural waters: I. Occurrence. *Earth-Science Reviews*, 57 (1-2): 125-176.
- Florence, T. M. (1982). The speciation of trace elements in waters. *Talanta*, 29 (5): 345-364.
- Flynn, H. C., Meharg, A. A., Bowyer, P. K. & Paton, G. I. (2003). Antimony bioavailability in mine soils. *Environmental Pollution*, 124 (1): 93-100.
- Foulkes, E. C. (2000). Transport of Toxic Heavy Metals Across Cell Membranes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 223 (3): 234-240.
- Fries, G. F., Marrow, G. S. & Somich, C. J. (1989). Oral bioavailability of aged polychlorinated biphenyl residues contained in soil *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 43 (5): 683-690.
- Färm, C. (2002). Evaluation of the accumulation of sediment and heavy metals in a storm-water detention pond. *Water Science and Technology*, 45 (7): 105-112.
- Gadd, G. M. (1992). Heavy metal pollutants: Environmental and biotechnological aspects. *Encyclopedia of Microbiology, Vols. 1-4*: 351-360.
- Giesy, J. P., Bowling, J. W., Kania, H. J., Knight, R. L. & Mashburn, S. (1981). Fates of cadmium introduced into channels microcosm. *Environment International*, 5 (3): 159-175.
- Glaser, B., Dreyer, A., Bock, M., Fiedler, S., Mehring, M. & Heitmann, T. (2005). Source Apportionment of Organic Pollutants of a Highway-Traffic-Influenced Urban Area in Bayreuth (Germany) Using Biomarker and Stable Carbon Isotope Signatures. *Environmental Science & Technology*, 39 (11): 3911-3917.
- Goodyear, K. L. & McNeill, S. (1999). Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: a review. *Science of the Total Environment*, 229 (1-2): 1-19.
- Gullan, P. J., Cranston, P. S. & McInnes, K. H. (2000). *The insects: an outline of entomology*. Oxford: Blackwell Science. XVI, 470 s. s.

- Gupta, A. (1995). Metal accumulation and loss by *Crocothemis servilia* (Drury) in a small lake in Shillong, northeastern India (Anisoptera: Libellulidae). *Odonatologica*, 24 (3): 283-289.
- Hare, L., Saouter, E., Campbell, P. G. C., Tessier, A., Ribeyre, F. & Boudou, A. (1991). Dynamics of Cadmium, Lead, and Zinc exchange between nymphs of the burrowing mayfly *Hexagenia-Rigida* (Ephemeroptera) and the environment *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48 (1): 39-47.
- Hare, L. (1992). Aquatic insects and trace-metals - bioavailability, bioaccumulation, and toxicity *Critical Reviews in Toxicology*, 22 (5-6): 327-369.
- Hinkle, P. M., Shanshala, E. D. & Nelson, E. J. (1992). Measurement of intracellular cadmium with fluorescent dyes. Further evidence for the role of calcium channels in cadmium uptake. *The Journal of Biological Chemistry*.
- Hvitved-Jacobsen, T., Johansen, N. B. & Yousef, Y. A. (1994). Treatment systems for urban and highway run-off in Denmark. *Science of the Total Environment*, 146-147 (0): 499-506.
- Hvitved-Jacobsen, T., Vollertsen, J. & Haaning Nielsen, A. (2010). *Urban and highway stormwater pollution: concepts and engineering*. Boca Raton: CRC Press. XX, 347 s. s.
- Ip, C. C. M., Li, X. D., Zhang, G., Wai, O. W. H. & Li, Y. S. (2007). Trace metal distribution in sediments of the Pearl River Estuary and the surrounding coastal area, South China. *Environmental Pollution*, 147 (2): 311-323.
- Kalff, J. (2002). *Limnology: inland water ecosystems*. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall. XII, 592 s. s.
- Karlsson, K. & Viklander, M. (2008). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Water and Sediment from Gully Pots. *Water, Air & Soil Pollution*, 188 (1): 271-282.
- Karouna-Renier, N. K. & Sparling, D. W. (2001). Relationships between ambient geochemistry, watershed land-use and trace metal concentrations in aquatic invertebrates living in stormwater treatment ponds. *Environmental Pollution*, 112 (2): 183-192.
- Krantzberg, G. & Stokes, P. M. (1989). Metal regulation, tolerance, and body burdens in the larvae of the genus *Chironomus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46 (3): 389-398.
- Kålås, J. A., Viken, A., Henriksen, S. & Skjelseth, S. (2010). Norsk rødliste for arter 2010. Trondheim: Artsdatabanken.
- Langen, T. A. & Prutzman, H. (2006). The effects of chemical road deicers on surrounding boreal forest and lakes. *Environmental impacts of winter road management at the Cascade Lakes and Chapel Pond. Clarkson centre for environmental research*. 16-27 s.
- Lavilla, I., Rodriguez-Linares, G., Garrido, J. & Bendicho, C. (2010). A biogeochemical approach to understanding the accumulation patterns of trace elements in three species of dragonfly larvae: evaluation as biomonitors. *JEM Journal of Environmental Monitoring*, 12 (3): 724-730.
- Leistad, A. M. (2007). *Rensebasseng for veiavrenning - tilbakeholdelse av miljøgifter i sedimenter*. Ås: UMB.
- Lin, C.-C., Chen, S.-J., Huang, K.-L., Hwang, W.-I., Chang-Chien, G.-P. & Lin, W.-Y. (2005). Characteristics of Metals in Nano/Ultrafine/Fine/Coarse Particles Collected Beside a Heavily Trafficked Road. *Environmental Science & Technology*, 39 (21): 8113-8122.

- Luoma, S. N. (1983). Bioavailability of trace metals to aquatic organisms -- A review. *Science of the Total Environment*, 28 (1-3): 3-22.
- Löfgren, S. (2001). The Chemical Effects of Deicing Salt on Soil and Stream Water of Five Catchments in Southeast Sweden. *Water, Air & Soil Pollution*, 130 (1): 863-868.
- Mackie, G. L. (1989). Tolerances of five benthic invertebrates to hydrogen ions and metals (Cd, Pb, Al). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 18 (1): 215-223.
- Maksimovic, C. (2001). Urban drainage in cold climates. Urban drainage in specific climates. *UNESCO IHP-V/Technical Documents in Hydrology/No. 40*, 2 (40).
- Marr, L. C., Kirchstetter, T. W., Harley, R. A., Miguel, A. H., Hering, S. V. & Hammond, S. K. (1999). Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Motor Vehicle Fuels and Exhaust Emissions. *Environmental Science & Technology*, 33 (18): 3091-3099.
- Marsalek, J. & Marsalek, P. M. (1997). Characteristics of sediments from a stormwater management pond. *Water Science and Technology*, 36 (8-9): 117-122.
- Marsalek, J. (2003). Road salts in urban stormwater: an emerging issue in stormwater management in cold climates. *Water Science and Technology*, 48 (9): 61-70.
- Mattson, M. D., Godfrey, P. J., Walk, M. F., Kerr, P. A. & Zajicek, O. T. (1992). Regional chemistry of lakes in Massachusetts. *Water Resources Bulletin*, 28 (6): 1045-1056.
- McGavin, G. C., Sømme, L. & Gorton, S. (2001). *Insekter*. Oslo: Damm.
- McKenzie, E. R., Money, J. E., Green, P. G. & Young, T. M. (2009). Metals associated with stormwater-relevant brake and tire samples. *Science of the Total Environment*, 407 (22): 5855-5860.
- Meland, S. (2010). *Ecotoxicological effects of highway and tunnel wash water runoff*. Ås: Norwegian University of Life Sciences, Dept. of Plant and Environmental Sciences.
- Meland, S., Heier, L. S., Salbu, B., Tollefsen, K. E., Farmen, E. & Rosseland, B. O. (2010). Exposure of brown trout (*Salmo trutta* L.) to tunnel wash water runoff -- Chemical characterisation and biological impact. *Science of the Total Environment*, 408 (13): 2646-2656.
- Menzie, C. (1980). Potential significance of insects in the removal of contaminants from aquatic systems. *Water, Air, & Soil Pollution*, 13 (4): 473-479.
- Mertz, W. & Underwood, E. J. (1986). *Trace elements in human and animal nutrition*. London: Academic Press. 2 b. s.
- Meyer, W., Harisch, G. & Sagredos, A. N. (1986). Biochemical and histochemical aspects of lead-exposure in dragonfly larvae (Odonata Anisoptera) *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 11 (3): 308-319.
- Munson, R. K. & Gherini, S. A. (1993). Analysis of the mineral acid-base components of acid-neutralizing capacity in adirondack lakes. *Water Resources Research*, 29 (4): 881-890.
- Nilsson, A. (1996). *Aquatic insects of North Europe: a taxonomic handbook*. Stenstrup: Apollo Books. 2 b. s.
- Norrström, A. C. & Jacks, G. (1998). Concentration and fractionation of heavy metals in roadside soils receiving de-icing salts. *The Science of The Total Environment*, 218 (2-3): 161-174.

- Norrström, A. C. & Bergstedt, E. (2001). The Impact of Road De-Icing Salts (NaCl) on Colloid Dispersion and Base Cation Pools in Roadside Soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 127 (1): 281-299.
- Nummelin, M., Lodenius, M., Tulisalo, E., Hirvonen, H. & Alanko, T. (2007). Predatory insects as bioindicators of heavy metal pollution. *Environmental Pollution*, 145 (1): 339-347.
- Oughton, D. H., Salbu, B., Riise, G., Lien, H., Ostby, G. & Noren, A. (1992). Radionuclide mobility and bioavailability in norwegian and soviet soils. *Analyst*, 117 (3): 481-486.
- Parks, J. (1988). Selected ecosystem relationships in the mercury contaminated Wabigoon-English river system, Canada, and their underlying causes. *Water, Air, & Soil Pollution*, 42 (3): 267-279.
- Pettersson, T. J. R. (1999). *Stormwater Ponds for Pollution Reduction*: Chalmers University of Technology.
- Rai, D. & Zachara, J. M. (1984). Chemical attenuation rates, coefficients, and constants in leachate migration. Volume 1: A critical review.: Electric Power Research Institute Publication EPRI EA-3356.
- Rainbow, P. S., Malik, I. & O'Brien, P. (1993). Physicochemical and physiological effects on the uptake of dissolved zinc and cadmium by the amphipod crustacean *Orchestia gammarellus*. *Aquatic Toxicol.*, 25: 15-30.
- Rainbow, P. S. & Wang, W.-X. (2001). Comparative assimilation of Cr, Cr, Se, and Zn by the barnacle *Elminius modestus* from phytoplankton and zooplankton diets. *Marine Ecology Progress Series*, 218: 239-248.
- Rainbow, P. S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120 (3): 497-507.
- Ramakrishna, D. M. & Viraraghavan, T. (2005). Environmental Impact of Chemical Deicers – A Review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 166 (1): 49-63.
- Ravindra, K., Sokhi, R. & Van Grieken, R. (2008). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment*, 42 (13): 2895-2921.
- Reinosdotter, K., Viklander, M. & Malmqvist, P.-A. (2003). Comparison of the effects of using local and central snow deposits: a case study in Luleå. *Water Science and Technology*, 48 (9): 71-80.
- Rice, J. A. (2007). *Mathematical statistics and data analysis*. Belmont, Calif.: Thomson Brooks/Cole. 570 s.
- Roseth, R. (2006). Overvåking av rensdammer E6 Oslo grense til Vinterbro i 2005 og 2006. I: Bioforsk (red.): Bioforsk.
- Ruth, O. (2003). The effects of de-icing in Helsinki urban streams, Southern Finland. *Water Science and Technology*, 48: 33-43.
- Salbu, B. (1987). Radioactive tracer techniques in speciation studies. *Environmental Technology Letters*, 8: 381-392.
- Salbu, B. & Oughton, D. H. (1995). *Strategies of sampling, fractionation, and analysis*. Trace elements in natural waters: CRC Press, Inc.; CRC Press. 41-69 s.
- Semadeni-Davies, A. (2006). Winter performance of an urban stormwater pond in southern Sweden. *Hydrological Processes*, 20 (1): 165-182.
- Semandeni-Davies, A. (2005). Urban snowmelt processes – current research and modelling needs. *Proceeding: Stormwater management in cold climates Planning, design and implementation*.

- Simkiss, K. & Taylor, M. G. (1989). Metal fluxes across the membranes of aquatic organisms. *Crit. Rev. Aquat. Sci.*
- Slooff, W. (1983). Benthic macroinvertebrates and water quality assessment: Some toxicological considerations. *Aquatic Toxicology*, 4 (1): 73-82.
- Species 2000 & ITIS. (2011). *Catalogue of Life, 3rd January 2011*. Tilgjengelig fra: <http://www.catalogueoflife.org/> (lest 12.02).
- Statens vegvesen. (2006). *Vannbeskyttelse i vegplanlegging og vegbygging - utkast*. Oslo: Statens vegvesen, miljøseksjonen. 52 s. Upublisert manuskript.
- Statens vegvesen. (2008). Utdrag av prosjektplan - Etatsprosjektet Salt SMART 2007-2010. Oslo: Statens vegvesen Vegdirektoratet
- Statens vegvesen. (2010). *Fakta om salt og salting*. Oslo: Statens Vegvesen. Tilgjengelig fra: [http://www.vegvesen.no/Fag/Veg+og+gate/Drift+og+vedlikehold/Vinterdrift/Fokusomrader/Salting/\\_attachment/181226?\\_ts=12be839d248](http://www.vegvesen.no/Fag/Veg+og+gate/Drift+og+vedlikehold/Vinterdrift/Fokusomrader/Salting/_attachment/181226?_ts=12be839d248) (lest 11.11.2010).
- Statens vegvesen. (2011). *Statens vegvesens miljøansvar*. Tilgjengelig fra: <http://www.vegvesen.no/Fag/Fokusomrader/Miljo+og+omgivelser/Statens+vegvesens+miljoansvar> (lest 5. 1.2011).
- Stead-Dexter, K. & Ward, N. I. (2004). Mobility of heavy metals within freshwater sediments affected by motorway stormwater. *Science of the Total Environment*, 334-335: 271-277.
- Stephansen, D. A., Nielsen, A. H., Hvitved-Jacobsen, T. & Vollertsen, J. (2010). *Bioaccumulation of heavy metals in fauna from wet detention ponds for stormwater runoff*. Aalborg, Denmark: Section of Environmental Engineering, Aalborg University. Upublisert manuskript.
- Sternbeck, J., Sjødin, A. & Andrdasson, K. (2002). Metal emissions from road traffic and the influence of resuspension--results from two tunnel studies. *Atmospheric Environment*, 36 (30): 4735-4744.
- Sunda, W. G., Engel, D. W. & Thuotte, R. M. (1978). Effect of chemical speciation on toxicity of cadmium to grass shrimp, *Palaemonetes pugio*: importance of free cadmium ion. *Environmental Science & Technology*, 12 (4): 409-413.
- Taylor, K. G. & Robertson, D. J. (2009). Electron microbeam analysis of urban road-deposited sediment, Manchester, UK: Improved source discrimination and metal speciation assessment. *Applied Geochemistry*, 24 (7): 1261-1269.
- Tessier, A., Campbell, P. G. C., Auclair, J. C. & Bisson, M. (1984). Relationships between the partitioning of trace-metals in sediments and their accumulation in the tissues of the fresh-water mollusk *Elliptio-Complanata* in a mining area *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41 (10): 1463-1472.
- Tessler, A., Campbell, P. G. C. & Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51 (7): 844-851.
- Thorpe, A. & Harrison, R. M. (2008). Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. *Science of the Total Environment*, 400 (1-3): 270-282.
- Timmermans, K. R., Peeters, W. & Tonkes, M. (1992). Cadmium, zinc, lead and copper in *Chironomus riparius* (Meigen) larvae (Diptera, Chironomidae): uptake and effects. *Hydrobiologia*, 241 (2): 119-134.
- Timmermans, K. R., Spijkerman, E., Tonkes, M. & Govers, H. (1992). Cadmium and Zinc uptake by 2 species of aquatic invertebrate predators from dietary and



- aqueous sources *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49 (4): 655-662.
- Tollett, V. D., Benvenuti, E. L., Deer, L. A. & Rice, T. M. (2009). Differential Toxicity to Cd, Pb, and Cu in Dragonfly Larvae (Insecta: Odonata). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56 (1): 77-84.
- Vaa, T. & Sakshaug, K. (2007). Salting av vegeter - En kunnskapsoversikt. *Teknologirapport nr. 2493*. Oslo: Statens vegvesen. 48 s.
- VanLoon, G. W. & Duffy, S. J. (2005). *Environmental chemistry: a global perspective*. Oxford: Oxford University Press. XVI, 515 s. s.
- Walker, C. H., Hopkin, S. P., Sibly, R. M. & Peakall, D. B. (2006). *Principles of ecotoxicology*. Boca Raton, Fla.: CRC Taylor & Francis. XXIII, 315 s. s.
- Wang, J., Jia, C. R., Wong, C. K. & Wong, P. K. (2000). Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Created in Lubricating Oils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 120 (3): 381-396.
- Wang, W. X. & Fisher, N. S. (1999). Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *The Science of The Total Environment*, 237-238: 459-472.
- Wang, Y., -F., Huang, K.-L., Li, C.-T., Mi, H.-H., Luo, J.-H. & Tsai, P.-J. (2003). Emissions of fuel metals content from a diesel vehicle engine. *Atmospheric Environment*, 37 (33): 4637-4643.
- Warren, L. A., Tessier, A. & Hare, L. (1998). Modelling Cadmium Accumulation by Benthic Invertebrates in Situ: The Relative Contributions of Sediment and Overlying Water Reservoirs to Organism Cadmium Concentrations. *Limnology and Oceanography*, 43 (7): 1442-1454.
- Wayland, M. & Crosley, R. (2006). Selenium and other trace elements in aquatic insects in coal mine-affected streams in the Rocky Mountains of Alberta, Canada. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50 (4): 511-522.
- Weckwerth, G. (2001). Verification of traffic emitted aerosol components in the ambient air of Cologne (Germany). *Atmospheric Environment*, 35 (32): 5525-5536.
- Westerlund, C. & Viklander, M. (2006). Particles and associated metals in road runoff during snowmelt and rainfall. *Science of the Total Environment*, 362 (1-3): 143-156.
- Whiteley, J. D. & Murray, F. (2005). Autocatalyst-derived platinum, palladium and rhodium (PGE) in infiltration basin and wetland sediments receiving urban runoff. *Science of the Total Environment*, 341 (1-3): 199-209.
- Wichard, W., Arens, W. & Eisenbeis, G. (2002). *Biological atlas of aquatic insects*. Stenstrup: Apollo Books. 339 s. s.
- Wright, D. A. (1995). Trace metal and major ion interactions in aquatic animals. *Marine Pollution Bulletin*, 31 (1-3): 8-18.
- Young, L. B. & Harvey, H. H. (1988). Metals in Chironomidae Larvae and Adults in Relation to Lake pH and Lake Oxygen Deficiency *Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie Verhandlungen IVTLAP*, 23 (1): 246-251.
- Yousef, Y. A., Hvitved-Jacobsen, T., Sloat, J. & Lindeman, W. (1994). Sediment accumulation in detention or retention ponds. *Science of the Total Environment*, 146-147 (0): 451-456.

- Åstebøl, Pedersen, Røhr, Fostad & Soldal. (1996). Effekter av vegsalting på jord, vann og vegetasjon. Sammendragsrapport. . Ås: GEOfuturum as/Norges landbrukshøgskole.
- Åstebøl, S. O. & Røhr, P. K. (2002). Effekter av veisalting på jord, vann og vegetasjon. Rapport for perioden 1998-2001. I: Statens vegvesen (red.). Oslo: Statens vegvesen.
- Åstebøl, S. O. & Coward, J. E. (2005). Overvåking av rensebasseng for overvann fra E6 Skullerudkrysset i Oslo, 2003-2004. I: Statens vegvesen (red.). Oslo: Statens vegvesen. 29 s.

## Vedlegg

### Vedlegg 1

Aktivitet (ccpm) av  $^{60}\text{Co}$  og  $^{109}\text{Cd}$  i nymfer (n=1) dag 1-36 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. \* = ingen verdier grunnet ingen gjenværende nymfe.

Begerglassnr.	mg NaCl/L	Dag	$^{109}\text{Cd}$	$^{60}\text{Co}$
25	0	1	30,1	71,8
26	0	1	74,2	51,5
27	0	1	83,1	34,2
28	0	1	32,6	74,2
29	0	1	15,7	28,8
30	0	1	16,9	29,3
31	0	1	14,0	8,8
32	0	1	13,1	25,8
25	0	3	43,7	163,6
26	0	3	71,3	106,5
27	0	3	41,0	113,4
28	0	3	96,0	87,6
29	0	3	73,2	78,2
30	0	3	46,5	55,4
31	0	3	10,1	45,8
32	0	3	27,3	67,5
25	0	7	63,8	272,9
26	0	7	80,0	225,9
27	0	7	77,5	227,2
28	0	7	168,4	184,8
29	0	7	66,2	181,0
30	0	7	57,6	78,2
31	0	7	31,9	26,1
32	0	7	50,8	131,6
25	0	14	73,1	137,1
26	0	14	70,2	353,7
27	0	14	160,4	344,2
28	0	14	148,3	264,1
29	0	14	180,2	293,0
30	0	14	78,8	138,2
31	0	14	*	*
32	0	14	89,3	167,6
25	0	21	*	*
26	0	21	63,3	450,1
27	0	21	257,1	453,9
28	0	21	148,8	338,8
29	0	21	*	*
30	0	21	*	*
31	0	21	*	*
32	0	21	*	*
25	0	22	*	*
26	0	22	41,6	433,8
27	0	22	224,3	457,6
28	0	22	129,3	335,3
29	0	22	*	*
30	0	22	*	*
31	0	22	*	*
32	0	22	*	*
25	0	28	*	*
26	0	28	31,5	424,7
27	0	28	183,0	452,2
28	0	28	92,4	330,2
29	0	28	*	*

30	0	28	*	*
31	0	28	*	*
32	0	28	*	*
25	0	36	*	*
26	0	36		24,1 393,6
27	0	36		152,3 412,0
28	0	36		70,1 299,9
29	0	36	*	*
30	0	36	*	*
31	0	36	*	*
32	0	36	*	*
<hr/>				
17	500	1		37,8 90,3
18	500	1		23,8 81,1
19	500	1		30,7 30,6
20	500	1		12,8 20,9
21	500	1		12,9 24,9
22	500	1		25,6 44,4
23	500	1		18,2 25,9
24	500	1	*	*
17	500	3		70,3 101,3
18	500	3		23,7 135,5
19	500	3		66,1 48,3
20	500	3		10,2 58,1
21	500	3		38,0 39,7
22	500	3		43,1 119,7
23	500	3		14,5 59,3
24	500	3	*	*
17	500	7		82,8 107,5
18	500	7		66,1 208,9
19	500	7		70,6 86,6
20	500	7		18,8 67,6
21	500	7		26,1 101,6
22	500	7		109,0 248,9
23	500	7		28,7 112,1
24	500	7	*	*
17	500	14		104,8 134,4
18	500	14		132,1 350,1
19	500	14		109,2 188,5
20	500	14		30,7 140,7
21	500	14		49,0 149,0
22	500	14		142,6 337,7
23	500	14		50,5 188,3
24	500	14	*	*
17	500	21	*	*
18	500	21	*	*
19	500	21	*	*
20	500	21		38,3 135,4
21	500	21	*	*
22	500	21		173,8 402,2
23	500	21		52,7 222,0
24	500	21	*	*
17	500	22	*	*
18	500	22	*	*
19	500	22	*	*
20	500	22		22,1 136,2
21	500	22	*	*
22	500	22		168,8 402,7
23	500	22		31,9 193,9
24	500	22	*	*
17	500	28	*	*
18	500	28	*	*
19	500	28	*	*
20	500	28		26,2 132,7
21	500	28	*	*
22	500	28		129,7 374,6
23	500	28		24,5 187,3
24	500	28	*	*
17	500	36	*	*
18	500	36	*	*
19	500	36	*	*

20	500	36	20,1	122,6
21	500	36	*	*
22	500	36	126,5	372,7
23	500	36	19,4	180,3
24	500	36	*	*
9	5000	1	5,3	67,7
10	5000	1	*	*
11	5000	1	11,3	54,2
12	5000	1	5,0	29,5
13	5000	1	6,9	9,2
14	5000	1	12,0	11,9
15	5000	1	12,5	7,7
16	5000	1	5,8	5,0
9	5000	3	15,5	97,0
10	5000	3	*	*
11	5000	3	25,8	53,9
12	5000	3	10,8	50,3
13	5000	3	24,6	39,9
14	5000	3	22,5	31,5
15	5000	3	25,2	52,7
16	5000	3	10,1	46,0
9	5000	7	21,6	30,1
10	5000	7	*	*
11	5000	7	40,4	27,0
12	5000	7	16,3	3,6
13	5000	7	14,3	21,4
14	5000	7	23,7	23,2
15	5000	7	35,5	40,8
16	5000	7	14,6	48,6
9	5000	14	26,0	79,6
10	5000	14	*	*
11	5000	14	88,4	35,7
12	5000	14	23,1	16,3
13	5000	14	26,4	29,9
14	5000	14	44,6	34,6
15	5000	14	45,6	49,3
16	5000	14	19,4	78,6
9	5000	21	37,2	90,8
10	5000	21	*	*
11	5000	21	136,2	38,2
12	5000	21	*	*
13	5000	21	29,9	32,1
14	5000	21	50,3	40,9
15	5000	21	47,8	63,1
16	5000	21	42,1	104,5
9	5000	22	15,9	94,7
10	5000	22	*	*
11	5000	22	77,1	24,1
12	5000	22	*	*
13	5000	22	14,6	33,6
14	5000	22	31,4	35,9
15	5000	22	*	*
16	5000	22	15,7	115,6
9	5000	28	15,5	87,8
10	5000	28	*	*
11	5000	28	82,9	30,6
12	5000	28	*	*
13	5000	28	13,3	29,1
14	5000	28	22,9	39,5
15	5000	28	*	*
16	5000	28	15,0	101,5
9	5000	36	11,5	80,8
10	5000	36	*	*
11	5000	36	70,1	23,3
12	5000	36	*	*
13	5000	36	12,3	27,2
14	5000	36	21,3	34,6
15	5000	36	*	*
16	5000	36	11,3	98,6
1	10000	1	13,1	77,4

2	10000	1	3,9	56,0
3	10000	1	*	*
4	10000	1	*	*
5	10000	1	3,8	6,2
6	10000	1	*	*
7	10000	1	5,9	13,2
8	10000	1	*	*
1	10000	3	31,3	8,9
2	10000	3	1,5	6,8
3	10000	3	*	*
4	10000	3	*	*
5	10000	3	32,9	2,4
6	10000	3	*	*
7	10000	3	15,2	22,2
8	10000	3	*	*
1	10000	7	77,0	31,6
2	10000	7	8,4	14,2
3	10000	7	*	*
4	10000	7	*	*
5	10000	7	19,8	1,8
6	10000	7	*	*
7	10000	7	18,8	40,5
8	10000	7	*	*
1	10000	14	110,3	22,3
2	10000	14	22,7	17,8
3	10000	14	*	*
4	10000	14	*	*
5	10000	14	23,3	5,3
6	10000	14	*	*
7	10000	14	35,4	51,5
8	10000	14	*	*
1	10000	21	*	*
2	10000	21	34,5	11,6
3	10000	21	*	*
4	10000	21	*	*
5	10000	21	29,9	3,0
6	10000	21	*	*
7	10000	21	32,2	45,6
8	10000	21	*	*
1	10000	22	*	*
2	10000	22	30,6	15,0
3	10000	22	*	*
4	10000	22	*	*
5	10000	22	*	*
6	10000	22	*	*
7	10000	22	24,9	24,3
8	10000	22	*	*
1	10000	28	*	*
2	10000	28	30,4	9,7
3	10000	28	*	*
4	10000	28	*	*
5	10000	28	*	*
6	10000	28	*	*
7	10000	28	*	*
8	10000	28	*	*
1	10000	36	*	*
2	10000	36	*	*
3	10000	36	*	*
4	10000	36	*	*
5	10000	36	*	*
6	10000	36	*	*
7	10000	36	*	*
8	10000	36	*	*

---

## Vedlegg 2

Aktivitet (ccpm) av  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  i nymfer (n =1) dag 1-36 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L. \* = ingen verdier grunnet ingen gjenværende nymfe.

Begerglass nr.	mg NaCl/L	Dag	$^{125}\text{Sb}$	$^{65}\text{Zn}$
33	0	1	27,0	10,9
34	0	1	12,4	3,0
35	0	1	16,3	4,1
36	0	1	13,4	0,0
37	0	1	15,9	2,4
38	0	1	21,6	4,4
39	0	1	34,9	1,9
40	0	1	33,5	0,0
33	0	3	17,9	4,9
34	0	3	22,4	2,4
35	0	3	47,7	1,4
36	0	3	32,9	0,0
37	0	3	33,8	0,9
38	0	3	40,7	1,9
39	0	3	56,8	9,4
40	0	3	32,2	2,4
33	0	7	40,2	3,7
34	0	7	39,7	2,5
35	0	7	45,4	5,2
36	0	7	21,2	2,0
37	0	7	34,2	6,8
38	0	7	25,8	4,4
39	0	7	73,9	8,5
40	0	7	28,5	6,4
33	0	14	24,6	1,6
34	0	14	35,5	0,0
35	0	14	62,7	10,6
36	0	14	21,2	3,1
37	0	14	*	*
38	0	14	24,3	4,8
39	0	14	59,2	6,9
40	0	14	27,5	7,2
33	0	21	27,9	2,7
34	0	21	28,2	0,0
35	0	21	*	*
36	0	21	23,4	3,4
37	0	21	*	*
38	0	21	*	*
39	0	21	62,2	6,7
40	0	21	*	*
33	0	22	*	*
34	0	22	24,0	0,0
35	0	22	*	*
36	0	22	22,1	3,5
37	0	22	*	*
38	0	22	*	*
39	0	22	52,1	2,1
40	0	22	*	*
33	0	28	*	*
34	0	28	15,6	2,5
35	0	28	*	*
36	0	28	20,5	3,2
37	0	28	*	*
38	0	28	*	*
39	0	28	55,3	3,6
40	0	28	*	*
33	0	36	*	*
34	0	36	13,8	0,0
35	0	36	*	*
36	0	36	18,3	2,3

37	0	36	*	*	
38	0	36	*	*	
39	0	36		51,4	0,4
40	0	36	*	*	
41	500	1		32,8	2,5
42	500	1		22,6	0,0
43	500	1		20,4	0,0
44	500	1		23,5	1,5
45	500	1		16,9	2,4
46	500	1		10,8	0,0
47	500	1		11,9	4,1
48	500	1		7,5	1,0
41	500	3		45,9	2,7
42	500	3		35,2	8,9
43	500	3		27,2	0,0
44	500	3		23,8	0,9
45	500	3		19,8	3,9
46	500	3		25,8	0,9
47	500	3		13,4	0,0
48	500	3		11,1	1,4
41	500	7		64,2	4,3
42	500	7		18,6	0,0
43	500	7		14,3	2,9
44	500	7		22,9	0,0
45	500	7		22,7	6,5
46	500	7		45,9	4,0
47	500	7		15,8	4,2
48	500	7		25,5	0,0
41	500	14		55,8	7,9
42	500	14		23,5	0,0
43	500	14		24,0	0,0
44	500	14		15,3	2,8
45	500	14		38,2	0,1
46	500	14		31,9	4,4
47	500	14		30,7	0,1
48	500	14		6,1	4,5
41	500	21		60,9	7,0
42	500	21		13,2	1,7
43	500	21		32,5	2,3
44	500	21		18,2	0,0
45	500	21		40,9	5,1
46	500	21		37,0	4,3
47	500	21	*	*	
48	500	21		14,2	0,0
41	500	22	*	*	
42	500	22		5,7	1,7
43	500	22		29,2	5,2
44	500	22		16,4	0,0
45	500	22		31,8	5,9
46	500	22		19,6	2,0
47	500	22	*	*	
48	500	22		13,1	5,3
41	500	28	*	*	
42	500	28		8,2	2,9
43	500	28		21,8	0,7
44	500	28		8,8	2,5
45	500	28		25,6	3,7
46	500	28	*	*	
47	500	28	*	*	
48	500	28		12,4	0,7
41	500	36	*	*	
42	500	36	*	*	
43	500	36	*	*	
44	500	36		6,3	1,2
45	500	36		24,3	5,4
46	500	36	*	*	
47	500	36	*	*	
48	500	36		6,8	3,1
49	5000	1		0,0	3,0
50	5000	1		15,7	2,9



51	5000	1	10,6	2,8
52	5000	1	25,9	3,3
53	5000	1	18,1	0,8
54	5000	1	6,9	5,4
55	5000	1	4,6	3,4
56	5000	1	28,0	0,4
49	5000	3	15,3	0,3
50	5000	3	29,1	2,3
51	5000	3	11,0	5,8
52	5000	3	19,2	2,9
53	5000	3	30,6	0,9
54	5000	3	14,0	0,0
55	5000	3	14,1	4,9
56	5000	3	5,0	1,4
49	5000	7	13,1	0,0
50	5000	7	24,1	2,4
51	5000	7	20,1	3,0
52	5000	7	22,1	4,0
53	5000	7	21,0	3,0
54	5000	7	22,0	0,0
55	5000	7	20,9	5,3
56	5000	7	6,1	0,0
49	5000	14	19,2	2,0
50	5000	14	24,5	3,2
51	5000	14	24,7	2,7
52	5000	14	12,3	4,1
53	5000	14	15,0	1,2
54	5000	14	18,7	1,1
55	5000	14	19,3	5,7
56	5000	14	6,0	0,5
49	5000	21	16,9	0,1
50	5000	21	20,8	0,0
51	5000	21	13,2	1,9
52	5000	21	22,0	5,9
53	5000	21	33,7	1,4
54	5000	21	*	*
55	5000	21	14,5	2,0
56	5000	21	*	*
49	5000	22	14,2	0,2
50	5000	22	11,6	0,0
51	5000	22	12,1	2,2
52	5000	22	21,1	0,8
53	5000	22	30,0	3,8
54	5000	22	*	*
55	5000	22	*	*
56	5000	22	*	*
49	5000	28	8,8	3,2
50	5000	28	5,5	0,4
51	5000	28	10,3	3,0
52	5000	28	19,2	0,5
53	5000	28	21,1	2,0
54	5000	28	*	*
55	5000	28	*	*
56	5000	28	*	*
49	5000	36	*	*
50	5000	36	4,8	3,1
51	5000	36	8,1	2,8
52	5000	36	16,8	4,0
53	5000	36	10,5	3,7
54	5000	36	*	*
55	5000	36	*	*
56	5000	36	*	*
57	10000	1	24,2	0,0
58	10000	1	21,5	0,0
59	10000	1	5,0	7,2
60	10000	1	3,4	2,7
61	10000	1	14,6	1,9
62	10000	1	0,0	5,0
63	10000	1	5,9	0,0
64	10000	1	7,3	0,9

57	10000	3	13,3	15,3
58	10000	3	21,8	4,9
59	10000	3	21,1	3,4
60	10000	3	6,5	0,0
61	10000	3	18,0	3,9
62	10000	3	14,1	4,6
63	10000	3	9,9	0,0
64	10000	3	14,9	7,3
57	10000	7	13,1	0,9
58	10000	7	20,6	0,5
59	10000	7	34,6	3,2
60	10000	7	7,4	2,2
61	10000	7	22,6	1,4
62	10000	7	31,5	4,0
63	10000	7	11,6	0,0
64	10000	7	30,6	5,2
57	10000	14	13,5	0,5
58	10000	14	23,6	5,4
59	10000	14	37,8	1,2
60	10000	14	12,5	3,4
61	10000	14	44,6	8,2
62	10000	14	33,3	4,4
63	10000	14	*	*
64	10000	14	41,1	5,3
57	10000	21	*	*
58	10000	21	*	*
59	10000	21	26,2	2,7
60	10000	21	*	*
61	10000	21	33,3	2,5
62	10000	21	50,0	3,9
63	10000	21	*	*
64	10000	21	45,6	0,0
57	10000	22	*	*
58	10000	22	*	*
59	10000	22	*	*
60	10000	22	*	*
61	10000	22	29,7	2,3
62	10000	22	43,2	3,8
63	10000	22	*	*
64	10000	22	42,1	0,0
57	10000	28	*	*
58	10000	28	*	*
59	10000	28	*	*
60	10000	28	*	*
61	10000	28	28,9	1,7
62	10000	28	31,1	1,2
63	10000	28	*	*
64	10000	28	34,3	1,1
57	10000	36	*	*
58	10000	36	*	*
59	10000	36	*	*
60	10000	36	*	*
61	10000	36	28,6	3,4
62	10000	36	25,6	1,6
63	10000	36	*	*
64	10000	36	30,1	0,4

---

### Vedlegg 3

Vekt (g) av nymfer i ulike begerglass

Begerglassnr.	Vekt (g)
1	0,48
2	0,07
3	0,09
4	0,09
5	0,31
6	0,31
7	0,13
8	0,12
9	0,18
10	0,18
11	0,65
12	0,16
13	0,15
14	0,33
15	0,24
16	0,13
17	0,70
18	0,23
19	0,23
20	0,09
21	0,09
22	0,21
23	0,20
24	0,10
25	0,25
26	0,50
27	0,25
28	0,23
29	0,14
30	0,23
31	0,06
32	0,12
33	0,26
34	0,17
35	0,18
36	0,15
37	0,13
38	0,18
39	0,40
40	0,10
41	0,43
42	0,18
43	0,11
44	0,09
45	0,12
46	0,17
47	0,07
48	0,07
49	0,07
50	0,23
51	0,15
52	0,18
53	0,18
54	0,14
55	0,24
56	0,07
57	0,15
58	0,21
59	0,21
60	0,09
61	0,22
62	0,47
63	0,04
64	0,13

## Vedlegg 4

Aktivitet (ccpm/mL) av  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{125}\text{Sb}$  og  $^{65}\text{Zn}$  i vannfasen dag 1-36 ved 0, 500, 5000 og 10 000 mg NaCl/L.

NaCl (mg/L)	Dag	$^{109}\text{Cd}$	$^{60}\text{Co}$	$^{125}\text{Sb}$	$^{65}\text{Zn}$
0	1	52,5	35,1	42,5	3,0
0	1	*	*	54,6	5,2
0	1	31,2	17,4	70,5	7,3
0	1	38,0	32,1	56,9	6,1
0	1	33,1	25,5	52,1	4,4
0	1	47,6	33,8	52,1	4,6
0	1	47,1	28,0	66,8	6,0
0	1	50,8	34,4	39,5	3,5
0	3	21,9	15,8	50,4	4,2
0	3	52,4	32,0	51,2	5,4
0	3	18,5	15,1	49,0	4,5
0	3	28,6	21,4	56,9	4,4
0	3	31,1	24,2	49,3	5,1
0	3	49,5	30,4	59,6	4,9
0	3	22,1	10,6	53,7	5,3
0	3	30,6	24,7	54,7	6,2
0	7	39,0	21,6	25,3	1,7
0	7	24,3	20,5	46,3	3,3
0	7	18,5	7,6	28,3	2,7
0	7	33,5	18,5	35,5	3,3
0	7	11,2	7,5	26,5	3,9
0	7	25,7	14,2	28,9	0,0
0	7	16,0	7,1	44,0	3,0
0	7	33,3	19,4	37,3	2,9
0	14	13,2	12,5	28,4	1,2
0	14	14,2	16,2	32,4	2,5
0	14	14,8	8,5	23,5	0,0
0	14	36,8	15,8	46,0	2,0
0	14	18,1	7,6	28,1	1,6
0	14	19,1	6,3	36,5	3,6
0	14	4,4	1,8	35,2	2,9
0	14	22,4	7,8	30,8	3,1
0	21	12,0	16,3	40,9	4,5
0	21	12,1	21,3	28,8	2,6
0	21	13,3	16,9	40,0	0,4
0	21	39,3	16,8	30,2	2,7
0	21	3,7	10,8	28,9	0,0
0	21	36,9	13,2	38,9	1,1
0	21	9,2	5,5	40,2	2,5
0	21	13,1	14,5	42,5	1,4
500	1	44,9	28,7	54,1	5,4
500	1	30,2	23,8	24,1	4,9
500	1	23,2	20,5	32,2	4,3
500	1	35,6	25,7	30,7	0,0
500	1	19,1	14,7	34,8	5,1
500	1	18,4	14,2	40,8	2,9
500	1	31,7	21,2	34,0	3,3
500	1	28,4	21,9	43,0	0,9
500	3	22,6	17,9	18,2	2,5
500	3	11,3	6,0	24,4	0,3
500	3	31,9	21,1	14,6	0,4
500	3	21,7	17,4	16,7	1,1
500	3	12,7	9,8	16,3	2,2
500	3	10,4	8,1	15,5	3,5
500	3	11,6	5,3	19,5	0,9
500	3	11,4	11,0	11,8	1,4
500	7	22,2	6,1	15,1	0,0
500	7	16,1	3,6	12,9	0,8
500	7	16,7	8,1	12,8	2,6
500	7	15,6	9,4	10,8	1,0

500	7	16,7	5,2	7,0	0,0
500	7	15,1	8,5	20,8	0,0
500	7	19,2	10,4	14,2	0,5
500	7	19,4	3,6	14,1	0,8
500	14	22,4	4,2	16,4	0,9
500	14	27,9	4,1	4,6	2,3
500	14	23,9	5,8	16,3	0,4
500	14	31,4	11,3	18,4	0,0
500	14	36,6	6,0	15,3	1,7
500	14	34,4	8,2	22,5	0,3
500	14	35,5	10,7	8,8	0,2
500	14	31,5	5,3	14,8	0,4
500	21	42,6	5,8	12,7	4,4
500	21	68,8	13,2	9,9	2,1
500	21	86,8	17,8	11,0	3,8
500	21	113,0	21,5	18,6	0,0
500	21	86,5	8,9	18,9	3,0
500	21	109,6	19,9	10,8	2,7
500	21	111,3	28,5	17,8	1,2
500	21	112,0	26,1	14,1	3,6
<hr/>					
5000	1	39,2	12,0	9,5	1,1
5000	1	41,5	15,5	8,1	3,6
5000	1	42,3	18,3	12,8	1,0
5000	1	38,2	14,4	11,7	1,9
5000	1	38,3	13,7	13,9	1,0
5000	1	33,9	10,3	8,3	0,4
5000	1	50,7	16,0	9,1	1,0
5000	1	33,3	15,8	12,5	2,2
5000	3	83,5	27,9	12,1	0,7
5000	3	75,7	16,9	9,8	1,6
5000	3	75,3	19,8	10,4	1,6
5000	3	68,5	20,5	13,5	0,0
5000	3	80,5	20,8	13,7	1,4
5000	3	69,2	20,3	7,5	1,1
5000	3	79,3	18,7	8,1	1,8
5000	3	102,1	17,6	9,5	1,1
5000	7	136,7	26,0	14,5	1,0
5000	7	128,2	20,6	5,3	2,5
5000	7	119,7	19,6	14,2	2,5
5000	7	105,8	20,8	14,2	3,5
5000	7	127,0	25,6	15,4	2,4
5000	7	116,6	19,8	10,9	0,9
5000	7	127,6	20,6	10,9	3,8
5000	7	127,3	25,9	13,4	1,9
5000	14	194,6	23,3	17,9	2,0
5000	14	172,3	13,7	11,3	4,0
5000	14	212,9	20,9	15,5	3,5
5000	14	172,6	15,5	19,8	0,0
5000	14	220,1	33,5	19,3	0,4
5000	14	167,8	21,1	15,7	2,6
5000	14	229,6	22,5	15,7	2,8
5000	14	211,3	25,7	18,4	3,4
5000	21	263,2	25,8	26,1	1,1
5000	21	192,5	11,4	20,9	3,6
5000	21	261,0	23,0	15,7	0,8
5000	21	224,6	16,7	26,2	0,4
5000	21	343,3	39,4	18,4	2,8
5000	21	219,7	19,4	23,1	4,6
5000	21	328,0	27,1	12,1	5,2
5000	21	326,0	26,2	24,5	3,5
<hr/>					
10000	1	74,4	22,0	11,3	0,7
10000	1	49,7	15,6	4,4	1,6
10000	1	65,5	19,8	11,6	2,6
10000	1	56,8	15,0	16,2	1,1
10000	1	54,5	14,5	14,5	5,4
10000	1	83,8	24,5	13,9	2,1
10000	1	59,0	17,3	10,4	3,8
10000	1	56,6	21,9	2,3	4,0
10000	3	122,1	35,0	12,2	2,0
10000	3	91,6	18,4	13,4	0,6

10000	3	132,5	23,3	9,4	2,7
10000	3	111,8	21,4	14,3	2,1
10000	3	97,0	26,3	17,5	3,9
10000	3	123,9	27,8	9,9	1,5
10000	3	110,7	22,6	12,2	1,4
10000	3	112,8	25,0	14,8	1,0
10000	7	187,4	30,5	13,6	1,5
10000	7	146,9	20,8	17,4	3,5
10000	7	195,9	26,4	18,1	0,0
10000	7	197,9	24,7	10,8	2,3
10000	7	158,1	26,5	10,3	2,8
10000	7	188,2	24,3	12,5	3,0
10000	7	189,0	21,9	15,1	1,6
10000	7	174,9	25,8	14,0	2,5
10000	14	288,8	22,5	18,6	0,6
10000	14	238,5	21,9	16,3	3,4
10000	14	306,7	23,3	17,1	1,6
10000	14	309,0	23,3	16,0	3,5
10000	14	258,8	25,2	21,3	0,0
10000	14	248,0	14,0	17,5	3,9
10000	14	327,6	25,9	17,1	2,0
10000	14	302,9	19,9	21,6	0,5
10000	21	377,6	25,2	30,9	0,2
10000	21	345,4	31,1	21,2	5,6
10000	21	430,4	28,3	22,9	1,8
10000	21	402,1	25,6	23,4	2,7
10000	21	395,7	29,1	23,4	1,8
10000	21	235,5	13,2	23,7	5,7
10000	21	509,5	35,6	30,5	0,0
10000	21	400,3	23,2	24,3	2,6

---