

FFI RAPPORT

BIOTILGJENGELIGHET AV TUNGMETALLER FRA AMMUNISJON

VOIE, Øyvind Albert

FFI/RAPPORT-2005/00443

**BIOTILGJENGELGIHET AV TUNGMETALLER
FRA AMMUNISJON**

VOIE, Øyvind Albert

FFI/RAPPORT-2005/00443

FORSVARETS FORSKNINGSINSTITUTT
Norwegian Defence Research Establishment
Postboks 25, 2027 Kjeller, Norge

FORSVARETS FORSKNINGSINSTITUTT (FFI)
Norwegian Defence Research Establishment

UNCLASSIFIED

P O BOX 25
 NO-2027 KJELLER, NORWAY
REPORT DOCUMENTATION PAGE

SECURITY CLASSIFICATION OF THIS PAGE
 (when data entered)

1) PUBL/REPORT NUMBER FFI/RAPPORT-2005/00443 1a) PROJECT REFERENCE FFI-V/1007	2) SECURITY CLASSIFICATION UNCLASSIFIED 2a) DECLASSIFICATION/DOWNGRADING SCHEDULE -	3) NUMBER OF PAGES 20		
4) TITLE BIOTILGJENGELGIHET AV TUNGMETALLER FRA AMMUNISJON Bioavailability of metals from munitions				
5) NAMES OF AUTHOR(S) IN FULL (surname first) VOIE, Øyvind Albert				
6) DISTRIBUTION STATEMENT Approved for public release. Distribution unlimited. (Offentlig tilgjengelig)				
7) INDEXING TERMS IN ENGLISH: <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> a) <u>Bioavailability</u> b) <u>Lead</u> c) <u>Copper</u> d) <u>Zinc</u> e) <u>Antimony</u> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> IN NORWEGIAN: a) <u>Biotilgjengelighet</u> b) <u>Bly</u> c) <u>Kobber</u> d) <u>Sink</u> e) <u>Antimon</u> </td> </tr> </table>			a) <u>Bioavailability</u> b) <u>Lead</u> c) <u>Copper</u> d) <u>Zinc</u> e) <u>Antimony</u>	IN NORWEGIAN: a) <u>Biotilgjengelighet</u> b) <u>Bly</u> c) <u>Kobber</u> d) <u>Sink</u> e) <u>Antimon</u>
a) <u>Bioavailability</u> b) <u>Lead</u> c) <u>Copper</u> d) <u>Zinc</u> e) <u>Antimony</u>	IN NORWEGIAN: a) <u>Biotilgjengelighet</u> b) <u>Bly</u> c) <u>Kobber</u> d) <u>Sink</u> e) <u>Antimon</u>			
THESAURUS REFERENCE: 8) ABSTRACT Bioavailability is an important issue in ecotoxicological risk assessment of contaminated areas. The bioavailable fraction is highly correlated with the solved level of reactive metal (ions). While organic ligands are important for mobility of heavy metals, they make them less bioavailable by binding the fraction of reactive metals.				
9) DATE 2004-05-27	AUTHORIZED BY This page only Jan Ivar Botnan	POSITION Director		

ISBN 82-464-0916-6

UNCLASSIFIED

SECURITY CLASSIFICATION OF THIS PAGE
 (when data entered)

	Side
INNHOOLD	
1 INNLEDNING	7
2 BIOTILGJENGELIGHET AV METALLER.....	7
3 OPPTAK AV METALLER I DYR OG PLANTER	9
3.1 Mekanisme.....	9
3.2 Opptaksveier	10
4 FORHOLD SOM PÅVIRKER BIOTILGJENGELIGHET AV METALLER	11
4.1 Bly	11
4.2 Antimon	12
4.3 Kobber.....	12
4.4 Sink	13
4.5 Generelle sammenhenger mellom miljøforhold og biotilgjengelighet av metaller	14
5 MÅLING AV BIOTILGJENGELIGHET	15
6 PREDIKSJON AV TILSTANDSFORMER	16
7 PREDIKSJON AV BIOTILGJENGELIGHET	16
8 DISKUSJON.....	18
LITTERATUR	19

BIOTILGJENGELIGHET AV TUNGMETALLER FRA AMMUNISJON

1 INNLEDNING

Denne rapporten gir en innføring i sentral litteratur som omhandler biotilgjengelighet av tungmetaller. Hensikten er å avdekke kunnskapshull slik at FFI kan rette forskningen på tungmetallproblematikk mot relevante problemstillinger. Uttrykket "biotilgjengelighet" reflekterer det at organismer kan bli eksponert for mindre enn den totale konsentrasjon av et toksisk stoff som er tilstede i deres habitat (Schmitt et al., 1987). Biotilgjengelighet er med andre ord den fraksjonen av den totale mengden tilstede i miljøet som innenfor et gitt tidsrom er tilgjengelig for opptak i organismer. I ekstreme tilfeller kan man derfor ha en høy konsentrasjon av giftige stoffer i miljøet uten at det gir noen effekt på dyr og planter.

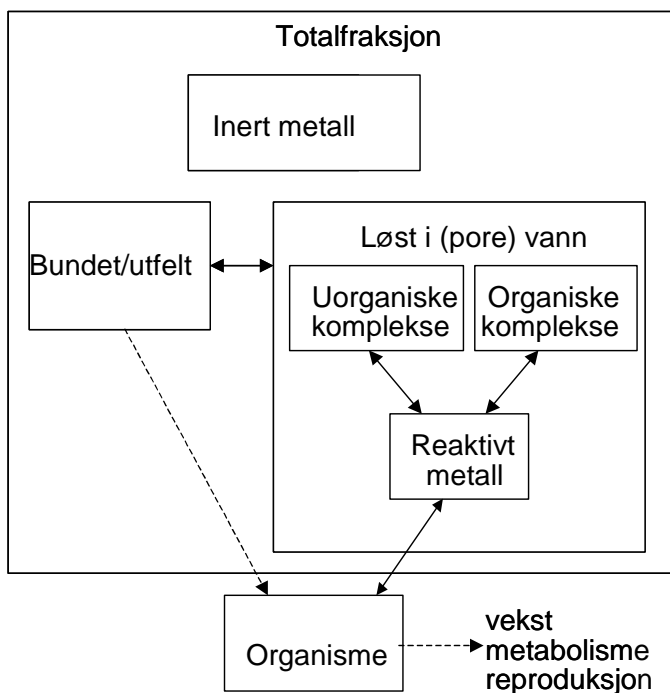
Det er alminnelig enighet mellom myndigheter og vitenskapelige miljøer at prosessen med å utvikle fornuftige kvalitetskriterier for miljøet bør baseres på god vitenskap innenfor disiplinene toksikologi, fysiologi og kjemi. Det har imidlertid vært en trend at disiplinene fysiologi og kjemi har hatt mindre innflytelse i denne prosessen enn toksikologi. Den klassiske oppskriften på å komme frem til organismers tålegrenser har vært akvarieforsøk med ulike vannkonsentrasjoner av det aktuelle stoffet. Forskere har lenge påpekt at miljøkvalitetskriterier basert på slike toksikologiske laboratoriestudier ikke er fullstendig tilfredstillende ettersom resultatet man får med laboratorievann ikke nødvendigvis er indikerende for forholdene i naturlige vann. Den akvatiske toksisiteten til tungmetaller er et komplisert fenomen som involverer interaksjoner mellom miljøet og den aktuelle metallforurensingen. For å predikere den toksiske effekten av et metall i vann krever dette at man også vurderer biotilgjengeligheten av metallet.

Tungmetaller i skytebaner og skytefelt som bly, kobber, sink og antimon kan skade miljøet ved at vannlevende dyr som fisk og terrestriske dyr som beitende husdyr blir eksponert for disse stoffene. For å unngå skade i miljøet kan man sette en maksimal konsentrasjon (normverdi eller akseptkriterium) for jord og vann. Normverdier for jord er foreløpig basert på en risikovurdering ved hjelp av "Veileder for risikovurdering av forurenset grunn" (SFT, 1999). Normverdiene tar ikke hensyn til biotilgjengelighet, men åpner opp for at det kan gjøres ytterligere studier av biotilgjengelighet slik at nye stedsspesifikke akseptkriterier kan settes. Det nye rammedirektivet for vann vil inneholde normverdier for utvalgte tungmetaller basert på totalkonsentrasjon og ikke biotilgjengelig fraksjon. Forsvaret har selv ansvar for å finne relevante mottagere for forurensningen og hente inn data om deres tålegrense. Det er i en slik sammenheng at det er verdifullt å studere biotilgjengelighet av tungmetaller, ettersom dette vil være viktige data i miljøkonsekvensvurderingen av forurensningen i Forsvarets skyte- og øvingsfelter og i fastsettelse av adekvate kvalitetskriterier.

2 BIOTILGJENGELIGHET AV METALLER

Biotilgjengelighet er et sentralt begrep når man skal se på effekten av metaller i miljøet ettersom forhøyede konsentrasjoner i jord, sediment og vann ikke nødvendigvis indikerer at skadelige effekter vil inntreffe. Biotilgjengeligheten er selve koblingen mellom konsentrasjon og effekt. I

en risikovurdering er det dermed viktig å kunne bestemme biotilgjengelig fraksjon ettersom resultater med blant annet meitemark viser at vurderinger som ikke tar hensyn til denne fraksjonen kan overestimere giftigheten med flere tierpotenser (Lanno et al., 2004). Biotilgjengelighet kontrolleres av iboende kjemiske egenskaper, lokale fysiske og kjemiske forhold og fysiologiske egenskaper hos de ulike organismene. Et eksempel på en kjemisk iboende egenskap er at kobber bindes sterkere til løst organisk materiale enn sink og er således mindre biotilgjengelig under ellers like forhold (Peijnenburg and Jager, 2003). Vannets pH kan videre bestemme hvor stor fraksjon av metallene som opptrer som frie ioner og som således vil være den mest biotilgjengelige fraksjonen (Peijnenburg and Jager, 2003). Endelig kan organismer ha forskjellige fysiologiske egenskaper som for eksempel evnen til å innta og fordøye jord som gjør at de tar opp mer metaller enn andre organismer (Peijnenburg and Jager, 2003). Metaller i miljøet kan beskrives med fraksjoner. Den overordnede fraksjonen kalles totalfraksjonen og kan måles ved å ekstrahere mediet med en sterk syre. Totalfraksjonen kan deles inn i mindre fraksjoner hvor noen fraksjoner utgjør de biotilgjengelige fraksjonene (Figur 1). Biotilgjengelighet beskrives best som en dynamisk likevekt mellom de potensielt biotilgjengelige fraksjonene og organismen (Figur 1). De potensielt tilgjengelige fraksjonene og den inerte fraksjonen utgjør sammen totalfraksjonen. Den inerte fraksjonen er ikke tilgjengelig og består av stabile krystallinske metaller i stein eller uløselige stabile former slik som oksider. Det er foreslått at det er fraksjonen med reaktivt metall (frie ioner) som utgjør den biotilgjengelige fraksjonen i vann eller porevann (med unntak av kvikksølv) (Peijnenburg and Jager, 2003). Prosesser som ionebytting, adsorpsjon, utfelling, fordampning, kompleksdannelse og redoksreaksjoner bestemmer fordeling av metaller i de ulike fraksjonene (Baker et al., 2003).



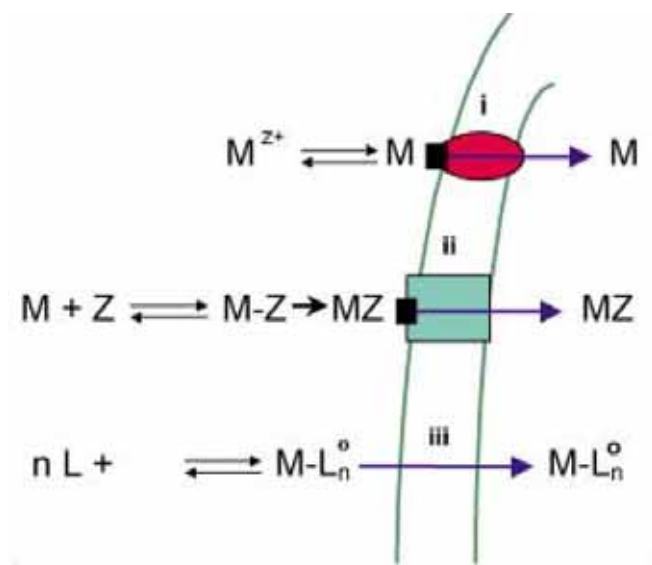
Figur 1. De forskjellige metallfraksjonene tilstede i vann, sediment eller jord. Det er en kjemisk likevekt mellom det som er potensielt tilgjengelig i de forskjellige fraksjonene og aktiviteten av reaktivt metall (ioner) som er foreslått som hovedfraksjonen for opptak i organismer. En stiplet pil fra det som er adsorbert til sediment eller jord for organismer som utnytter energien i slikt materiale. Denne inntaksveien regnes imidlertid ikke å utgjøre en betydelig del av det totale inntaket.

3 OPPTAK AV METALLER I DYR OG PLANTER

3.1 Mekanisme

Mekanismen for opptak av metaller over cellemembraner er svært sentral i forståelsen av metallenes biotilgjengelighet. Denne mekanismen er felles for alle planter og dyr og er uavhengig av om opptaket foregår gjennom huden eller gjennom tarmsystemet.

Cellemembranen utgjør den barrieren som en hvilken som helst tilstandsform av metaller må krysse for å opptas av organismer. De viktigste egenskapene ved denne barrieren er den hydrofobe fosfolipiddelen og tilstedeværelsen av transportproteiner og ionekanaler som har betydning for transport av ioner gjennom membranen. For at metallene skal kunne krysse cellemembranen må det foregå en interaksjon mellom metalliske kationer og cellemembranens proteiner slik som beskrevet i Figur 2, i. Fra interaksjonen mellom metall og protein til en initiering av en biologisk respons finnes flere mekanistiske muligheter. Dersom proteinet representerer et fysiologisk aktivt sete på celleoverflaten kan en binding av et metall direkte føre til en biologisk respons. Dermed er ikke et kryssing av membranen strengt tatt nødvendig for å gi effekt. Alternativt, dersom proteinet representerer et transportprotein som tillater metallet å krysse cellemembranen vil den aktuelle initieringen av en biologisk respons kunne skje intracellulært. Metallbindende overflateproteiner involvert i endocytose kan også ses på som et transportprotein. En tredje mulighet er at metallet passerer gjennom inn til en blodbane, transporteres med blodbanen og initierer en biologisk respons i et internt organ i organismen. Mekanismen i Figur 2, i er antatt å være hovedmekanismen for opptak over cellemembranen, men det kan i tillegg forekomme transport over cellemembranen ved at metallet er bundet til en assimilerbar ligand (Figur 2, ii), og passiv diffusjon av metallet bundet til en nøytrale lipofil ligand (Figur 2, iii) (Cambell et al., 2002).

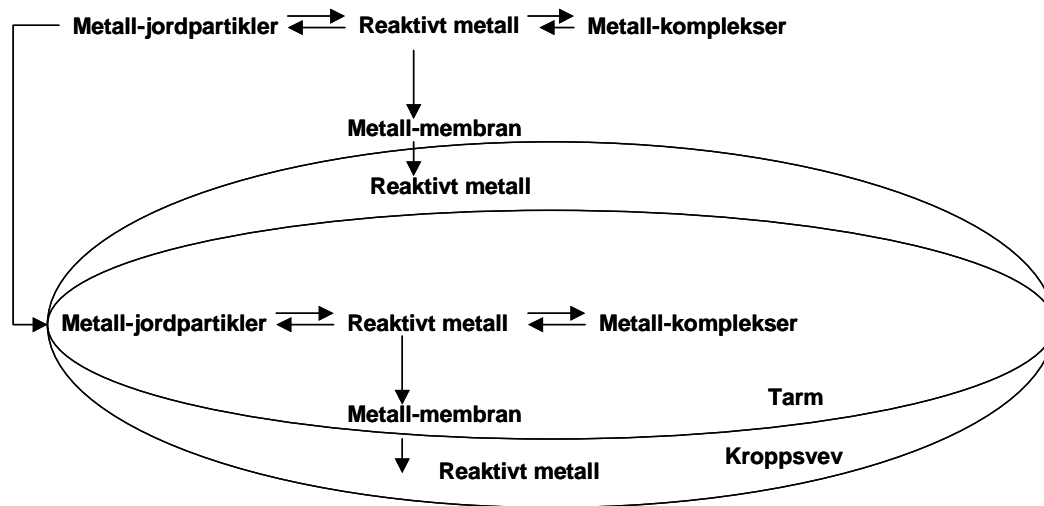


Figur 2. Mekanismer for hvordan metaller kan entre levende celler: (i) fasilitert transport av kationer; (ii) tilfeldig transport av et metall i kompleks med en assimilerbar ligand; (iii) passiv diffusjon av en lipofil metall-ligand kompleks. Mekanisme (i) holdes for den absolutt viktigste.

I tilfelle hvor toksisk respons kan initieres på celleoverflaten er det noen som mener at også metall-ligand komplekser kan binde seg til reseptorer i cellemembranen. Videre kan tilstedeværelsen av enkelte andre metaller og forbindelser øke eventuelt senke toksisiteten av det aktuelle metallet. Det er også diskutert om ikke organisk materiale i vann kan akkumulere på biologiske overflater og således forandre egenskapen til membranen. Diffusiviteten av metallioner fra omkringliggende vannmasser har i visse tilfeller vist seg å være begrensende for opptaket i organismen (Campbell et al., 2002).

3.2 Opptaksveier

Tungmetallforurensinger fra skytebaner og skytefelt har flere relevante opptaksveier for de ulike organismene. Oralt inntak av metaller fra kontaminert jord er den viktigste opptaksveien for beitende husdyr hvor opptaket er beregnet å være mer enn 60 % av totalinntaket. Påfølgende opptak fra tarmen av jordbundne metaller er imidlertid mindre kjent (Abrahams and Steigmajer, 2002). Forsøk med husdyr på skytebaner viser imidlertid at opptaket kan være så høyt at det kan medføre akutt forgiftning og død (Braun et al., 2000). Forsøk med gris som ble foret med jord fra 19 tungmetallforurensede områder viste at opptaket fra tarmen varierte fra 0,01 til 0,9 % avhengig av forurensning og jordtype (Casteel et al., 1998). Overflatevann som utnyttes som drikkevann kan også være en opptaksvei, selv om den ikke er dokumentert. Videre kan husdyr ta opp tungmetaller ved inntak av planter hvor opptaket er beregnet å være mindre enn 40 % av totalinntaket (Abrahams and Steigmajer, 2002). Fugler som lever i våtmark har lenge blitt eksponert for bly i jaktammunisjon. Dette har hatt innvirkning på populasjonsnivå og har ført til restriksjoner på bruk av blyholdig ammunisjon og overgang til blyfri ammunisjon (Peakall and Burger, 2003). Opptaket skyldes i dette tilfellet at fuglene oppfatter blyklumpene som mat. Disse blyklumpene kan ha lang oppholdstid i fuglene hvor de gradvis avgir reaktivt bly for opptak i tarmen. Det er ikke dokumentert et slikt opptak av bly utenfor våtmarksområder, men rovfugler som fortærer vadefugler slik som hvithodet havørn er vist å være påvirket av bly (Peakall and Burger, 2003). Jordlevende organismer som meitemark vil i hovedsak ta opp metaller i form av reaktivt metall over huden (Figur 3), men avhengig av art og størrelse vil 2-40 % av metallet tas opp fra jordpartikler i tarmsystemet (Peijnenburg and Jager, 2003). For vannlevende organismer som fisk vil opptaket av tungmetaller i hovedsak skje via gjellene, hvor opptaket skjer ved mekanismen beskrevet i Figur 2. Hos bløthudede organismer vil opptaket av metaller i hovedsak skje gjennom huden (Peijnenburg and Jager, 2003). Det er imidlertid litt mer usikkert hvordan opptaket skjer hos hardhudede organismer som insekter. For planter vil opptaket av metaller skje slik som beskrevet i Figur 2, bortsett fra at metallene må migrere gjennom celleveggen før de når cellemembranen, men dette representerer ikke en betydelig barriere (Campbell et al., 2002).



Figur 3. Opptaksveier av metaller i jordlevende organismer som for eksempel meitemark som viser hudopptak og opptak gjennom tarmen.

4 FORHOLD SOM PÅVIRKER BIOTILGJENGELIGHET AV METALLER

Basert på de ulike opptaksveiene for metaller beskrevet ovenfor samt kunnskap om metallenes skjebne og transport kan man si noe om biotilgjengelighet av metaller som er deponert i skytebaner og skytefelt. Det er viktig å være klar over at ikke alt metall i et skytefelt eller skytebane umiddelbart er tilgjengelig for opptak i alle organismer. Metallene vil i størst grad være tilgjengelig for beitende dyr (og fugler dersom skytefeltet inkluderer våtmark) ettersom disse direkte kan ta opp metallfragmenter under beitingen. For at jordlevende organismer, planter og vannlevende organismer skal kunne ta opp metaller avhenger dette av at metall fraktes med porevann/overflatevann og at vannet inneholder en fraksjon av reaktivt metall.

4.1 Bly

Når en kule er skutt inn i jorden, vil overflaten raskt oksideres og danne et lag av sekundære blyforbindelser. I en skytevoll er sannsynligheten stor for at kuler skal treffe andre kuler og dermed fraksjonere metallbitene i mindre deler. Overflaten for oksidasjon vil dermed øke. Bly innenfor laget av sekundære blyforbindelser er ikke biotilgjengelig. Under de fleste miljøforhold med pH verdier fra 3,5 til 7,0, er den viktigste forbindelsen i dette laget hydrocerrusitt ($\text{Pb}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$), ved siden av mindre mengder cerrusitt (PbCO_3), anglesitt (PbSO_4), pyromorfitt ($\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$), massicot ($\beta\text{-PbO}$), og platneritt ($\alpha\text{-PbO}_2$) (Knechtenhofer et al., 2003). Sammenliknet med andre mineraler er vannløseligheten av hydrocerrusitt høy, og øker med synkende pH ($\text{Pb}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2 + 2\text{H}^+ \leftrightarrow 3\text{Pb}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{CO}_3^{2-}$; $\log K = -18,8$). Høye konsentrasjoner av bly kan således forekomme i overflatevann som inneholder blyfragmenter med et lag av hydrocerrusitt (Knechtenhofer et al., 2003). I jord blir blykonsentrasjonen normalt raskt redusert av flere prosesser. Pb^{2+} danner sterke bindinger med organisk materiale. Jern og magnesiumhydroksider adsorberer Pb^{2+} ved dannelse av "inner sphere" komplekser. Spesielt i jord med høyt innhold av fosfor kan Pb felle ut som pyromorfitt, som har en lav løselighet ved

normale pH-verdier. Endelig kan tilstedeværelsen av røtter immobilisere bly ved adsorpsjon til cellevegger eller ved utfelling av lite løselige blysalter (Knechtenhofer et al., 2003). Derfor, så lenge regnvannet filtrerer homogent gjennom jordsøylen, vil migrering av løselig bly være minimalt. Det finnes imidlertid eksempler på at vannet kan følge kanaler som følge av sprekker og liknende i jordprofilen slik at metaller kan transporteres i større grad (Knechtenhofer et al., 2003). Løst organisk materiale og uorganiske ligander øker konsentrasjonen av bly i porevannet og fører til økt transport, men disse blykompleksene er ikke biotilgjengelige (Baker et al., 2003). Biotilgjengeligheten for ulike tilstandsformer kan undersøkes ved å utføre toksisitetstester for de tilstandsformene man forventer i miljøet. I hardt alkalisk miljø hvor bly mest sannsynlig forekommer på formene PbCO_3 , PbS , PbSO_4 , PbCl_2 var toksisiteten relativt lav (Erten-Unal et al., 1998). Videre har innhold av kalsium, humus og fulvussyrer og dødt organisk materiale vist seg å redusere biotilgjengeligheten av bly (Peakall and Burger, 2003). Ingen biomagnifisering av bly er påvist i akvatiske økosystemer, noe som kan tyde på at opptak av bly via føde ikke er viktig (Barwick and Maher, 2003). Opptak av tungmetaller kan påvirkes av andre tungmetaller slik at man enten reduserer opptaket eller at man øker opptaket av en eller flere tungmetaller. I fisken *Paracheiroidon innesi* økte kobber opptaket av bly når eksponeringen var simultan (Tao et al., 1999).

4.2 Antimon

I ammunisjon fra håndvåpen utgjør prosjektilets kjerne en legering mellom bly og antimon for å regulere prosjektilets hardhet. Antimon har også et bredt spekter av toksikologiske og biologiske effekter (Voie, 2001). Studier av antimon i skytebaner har vist at på tross av varierende kjemiske forhold (som pH, mineraler, organisk innhold osv.) ble det kun funnet to typer forbindelser av antimon; en Sb(III) hydroksidfase og Sb(V) absorbert til Fe- (eller Mn-) oksider, hvor Sb(V) er sterkt bundet til et polynukleært sorpsjonskompleks (Scheinost et al., 2004). En modellering av tilstandsform av antimon i akvatiske miljøer viste at antimon kun eksisterer som $\text{Sb}(\text{OH})_6^-$ under aerobe forhold og som $\text{Sb}(\text{OH})_3$ under anaerobe forhold ved alle pH-verdier relevante for naturlige miljøer (Filella and May, 2003). Hydroksider er meget lite reaktive og studier tyder på at antimon er meget lite biotilgjengelig i jord (Filella et al., 2002; Hammel et al., 2000). Kontaminert jord fra et gruveområde som hadde forurensningsgrad på 500 mg/kg viste lav akkumulering. Ekstraksjonsforsøk med NH_4NO_3 viste at den mobile fraksjonen i denne jorden var meget liten (0,06-0,59 %) (Hammel et al., 2000).

4.3 Kobber

En blykule er i flere ammunisjonstyper omgitt av en mantel som består av en legering mellom kobber og sink. Det vil i likhet med bly dannes sekundære kobberforbindelser i overflaten på denne mantelen som kan avgi frie kobber og sink ioner. Kobber opptrer mest som toverdige ion (Cu^{2+}), men kan også opptre som enverdige ion (Cu^+) og i metallisk form under reduserende forhold. Studier med sekvensiell ekstraksjon viste at i jord med høye nivåer av tungmetaller var 28 % av kobberet bundet opp til organisk materiale, 20 % var bundet opp til Fe- og Mn-oksider, 10% var bundet opp til karbonater og en restfraksjon (39%) var bundet opp til andre forbindelser. Den utbyttbare Cu-fraksjonen var på 5 %. Kobber danner ulike komplekser med anioner og derfor vil kalking (for eksempel: $\text{CaCO}_3 \Rightarrow \text{CO}_3^{2-} + \text{Ca}^{2+}$) føre til at kobber blir mindre tilgjengelig. Utfelling av hydroksider, oksider eller hydroksykarbonater er mulig ved pH-verdier over 6. På grunn av sin evne til kompleksdannelse og adsorpsjon er kobber antatt å være lite mobilt i jord. I mer alkalisk jord kan kobberioner danne løselige komplekser

(uorganiske og organiske) som bidrar til en større løselig fraksjon og større transport (Strømseng, 1999). Disse kompleksene er imidlertid stabile og biotilgjengeligheten minker. I vann vil kobberioner orientere seg med vannmolekyler for å danne kobber-vann kompleks (Cu(H₂O)₆²⁺). Tilstedeværelsen av andre ligander som hydroksid (OH⁻) eller sulfat (SO₄²⁻) kan resultere i dannelse av kompleks som erstatter vannmolekylene slik som Cu(OH)⁺(H₂O)₅ og CuSO₄(H₂O)₅. Slike kompleks tenderer til å være relativt ustabile, noe som gjør at kobberioner vil være tilgjengelig for organismer. Kobberioner kan også danne bindinger med organiske ligander slik som fulvussyre. Slike kompleks tenderer til å ha en høyere stabilitet og fører til at kobber er mindre tilgjengelig for organismer. Toksitetstester viser at biotilgjengeligheten av kobber i *Daphnia magna* er lav når kobber er i kompleks med HCO₃⁻, CO₃²⁻, PO₄³⁻, og P₂O₇⁴⁻, mens den er høyere når kobber er på formen Cu²⁺, CuOH⁺, Cu(OH)₂ samt Cu₂OH₂²⁺ (Andrew et al., 1977). Vannets hardhet senker biotilgjengeligheten av kobber, muligens på grunn av tilstedeværelsen av kationer eller kalsium som konkurrerer om bindingssteder samtidig som lite biotilgjengelige tilstandsformer dannes (Tao et al., 2000). Humuspartikler i vann er den liganden som antas å ha størst effekt på biotilgjengeligheten av metall (Tao et al., 2000). Bioakkumulering til nivåer som kan være skadelig for mennesker ved konsum av sjømat er observert i krepsdyr og mollusker (Barwick and Maher, 2003). Biomagnifisering av kobber er ikke observert i akvatiske økosystemer (Barwick and Maher, 2003). Kobber er et essensielt metall og det finnes derfor systemer for regulering i de fleste organismer.

4.4 Sink

Sink opptrer vanligvis som ZnS i berggrunnen, men forvitrer til løselig Zn²⁺ i oksiderende miljø. I sur aerob jord har Zn moderat mobilitet fordi ionet holdes tilbake på kationebyttingsposisjoner på leirmineraler og organisk materiale. Ved høyere pH vil sorpsjonen til oksider og aluminiumssilikater og kompleksdannelse med organisk materiale senke mobiliteten til sink betraktelig. I alkalisk miljø vil det dannes hydroksidanioner i tillegg til at organiske kompleks blir mer løselige, dermed øker mobiliteten. I jord som er kontaminert med store mengder sink vil utfelling av Zn oksider, hydroksider eller hydroksidkarbonater begrense mobiliteten ved pH 6 eller høyere. Et studie viste at i sterkt forurenset jord var 39% av Zn bundet til Fe- og Me-oksider, 28 % var bundet til karbonater, 19 % var utbyttbart eller bundet til organisk materiale og 14 % var bundet opp i restfraksjonen. Sink kompleksbindes lite til organisk materiale, men kompleksbindes i større grad til uorganisk materiale. Sink er et av de mest tilgjengelige metallene for opptak i planter (Strømseng, 1999). Den viktigste miljøpåvirkningen forårsaket av dette tungmetallet er dets effekt på terrestriske evertebrater som meitemark, enchytraeider, og spretthaler (Peakall and Burger, 2003). Toksitetstester av tilstandsformer som forekommer i alkaliske miljøer som ZnCO₃, ZnS, ZnSO₄, ZnCl₂ viste lav toksitet for alle tilstandsformene (Erten-Unal et al., 1998). Biomagnifisering av sink kan forekomme i enkelte akvatiske økosystemer (Quinn et al., 2003; Chen et al., 2000), men det er sjeldent og i mange tilfeller er det biofortynning som skjer (Suedel et al., 1994; Besser et al., 2001). Sink er et essensielt metall og det finnes opptak og reguleringsmekanismer for dette metallet.

4.5 Generelle sammenhenger mellom miljøforhold og biotilgjengelighet av metaller

Eksperimenter taler for at det er mulig å si noe generelt om de ulike metallenes tilstandsforhold under ulike miljøbetingelser. Generelt er det slik at metaller ved høy pH tenderer til å danne uløselige metallfosfatmineraler og karbonater, mens de ved lav pH tenderer til å forekomme som frie ioner eller som løselige organometaller. Redokspotensialet influerer tilstandsform ved at det felles ut sulfider fra mediet som kan binde opp metallene. Redokspotensialet (E_h) i et miljø er etablert av redoksreaksjoner som tenderer til å være relativt langsomme, spesielt i jord. Imidlertid kan mikrobiologisk aktivitet influere raten og etableringen av redokspotensialet i jord (Rensing and Maier 2003). For flere forhold se følgende liste fra Baker et al (2003).

1. Synkende pH senker sorpsjon til biotiske og abiotiske komponenter noe som øker konsentrasjonen i porevannet og utlekking fra jord.
2. Økende nivåer av kationer kan konkurrere om bindingssete (biotisk eller abiotisk) og således senke sorpsjonen eller opptaket.
3. Økt ionestyrke i løsningen vil generelt øke konsentrasjonen av kompleksdannelse og senke fri metall aktivitet og således senke metalloptaket.
4. Økt nivå av løst organisk karbon øker kompleksdannelse og reduserer fritt metall. Økt nivå av løst organisk materiale reduserer derfor biotilgjengeligheten for organismer hvor fritt metall er den biotilgjengelige fraksjonen, men samtidig økes biotilgjengeligheten for de organismer som kan nyttiggjøre seg av løst organisk karbon. Til sist vil økt nivå av løst organisk materiale øke porevannskonsentrasjonen og øke potensialet for utlekking.
5. Økt temperatur øker porevannskonsentrasjonen av metaller. Dette skulle tilsi en økt utlekking, men samtidig vil sorpsjonen til biologiske overflater minke, dermed er det vanskelig å si hva den samlede effekten blir .
6. Økt konsentrasjon av chelaterende stoffer som humus og fulvussyrer vil øke kompleksdannelse og redusere aktiviteten av fritt metall.
7. Tilstedeværelsen av uorganiske ligander vil øke porevannskonsentrasjonen og øke potensialet for utlekking, men samtidig vil de øke kompleksdannelse og minske biotilgjengeligheten.
8. Metylering er et fenomen som kan forårsakes av visse mikroorganismer. Enkelte metylerte tungmetaller er lettere biotilgjengelig.
9. Forandring av redokspotensialet vil drastisk forandre den kjemiske naturen til sorbenter som befinner seg i jord eller i sediment. En reduksjon vil føre til utfelling av stabile forbindelser som sulfider som binder opp metallene.
10. Tilstedeværelse av sulfider vil redusere biotilgjengeligheten av metaller ved å danne stabile forbindelser. De vil også minke porevannskonsentrasjonen og således minke potensialet for utlekking.
11. Øker man innholdet av organisk karbon øker man også sorpsjonskapasiteten til jorden eller sedimentet, utlekkingspotensialet og biotilgjengeligheten går også ned.
12. Uorganiske oksider øker sorpsjonen og vil ha en liknende effekt som organisk karbon.
13. Leire er et komplekst materiale bestående blant annet av organisk karbon og uorganiske oksider. Tilstedeværelse av leire får samme effekt som disse.
14. Kationbyttekapasiteten uttrykker sorpsjonskapasiteten til jorden eller sedimentet og en økning vil således senke biotilgjengeligheten.

5 MÅLING AV BIOTILGJENGELIGHET

Det er flere måter å finne ut om et metall er biotilgjengelig. Direkte måling av konsentrasjonen til metallet i organismen er kanskje den mest nøyaktige ettersom den inkluderer alle biotiske faktorer som for eksempel metabolisme og abiotiske faktorer som for eksempel pH og organisk innhold som alle kan ha innvirkning på biotilgjengeligheten. Inkludert i denne tilnæringsmåten er måling av bioakkumulering og ”body burden” hvor sistnevnte er konsentrasjon i organisme assosiert med en toksisk respons. Denne størrelsen kan også ha navnet ”critical body residue” (CBR). Måling av bioakkumulering er en direkte måling av metallkonsentrasjonen i organismen som har oppstått via en netto innfluks av stoffer fra det omkringliggende miljø.

Bioakkumulering tar ikke hensyn til om konsentrasjonen er høy nok til å forårsake en effekt eller ikke. Man kan si at CBR sier noe om stoffet er toksisk biotilgjengelig (Lanno et al., 2004). Det er utviklet CBR for sink hos enkelte jordlevende organismer (Lanno et al., 2004). Disse metodene er begrenset til de stoffene som faktisk akkumulerer til målbare konsentrasjoner. Metodene kan benyttes til å sette stedsspesifikke akseptkriterier, men gir imidlertid ikke innblikk i hvor stor fraksjon av stoffet i miljøet som faktisk er tilgjengelig for opptak i organismen og hvilke biotiske og abiotiske faktorer som har innvirkning på biotilgjengeligheten i hvert tilfelle. Videre kan man indirekte måle biotilgjengelighet ved å studere responser i organismen. Biomarkører eller stressresponser er en indikasjon på at organismen eksponeres for en toksisk biotilgjengelig fraksjon av en forurensning selv om konsentrasjonen i miljøet som forårsaker denne responsen forblir ukjent. I tilfelle hvor forurensningen er metaller har induksjon av metalotioniner vært utnyttet som biomarkør. Det kan også være relevant å se på andre toksikologiske responser som for eksempel reproduksjon.

Indirekte måling av biotilgjengelighet inkluderer kjemisk analyse av eksponeringsmedium. Dette kan dreie seg om alt fra totalkonsentrasjon til andre mindre fraksjoner som for eksempel porevannsfraksjon. Utgangspunktet er at man er ute etter å måle de fraksjonen som har størst sammenheng med en biologisk respons i en organisme. Dersom man ikke kan relatere den målte konsentrasjonen med en biologisk respons eller bioakkumulerbarhet kan dette ikke regnes som bestemmelse av biotilgjengelighet. Kun organismer kan fortelle om en fraksjon er biotilgjengelig eller ikke. Indirekte måling av biotilgjengelighet som estimerer den biotilgjengelige fraksjonen i et eksponeringsmedium inkluderer alt fra sterke ekstraksjoner for bestemmelse av totalfraksjon til forskjellige ekstraksjoner for en delfraksjon av løste stoffer eller stoffer bundet opp til fast stoff. Selv om totalfraksjonen med størst sannsynlighet overestimerer den biotilgjengelige fraksjonen av et stoff og egentlig ikke egner seg til prediksjon av toksisitet benyttes denne fortsatt i utvikling og fastsettelse av akseptkriterier for jord og vann (Lanno et al., 2004).

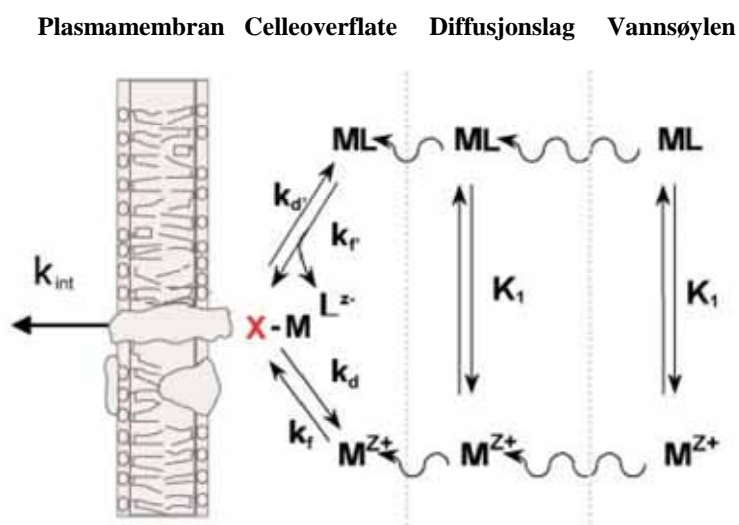
Den biotilgjengelige fraksjonen for meitemark i jord er foreslått å være i porevannet da konsentrasjonen i porevannet korrelerer bedre med bioakkumulering og effekter i meitemarken enn totalkonsentrasjonen (Lanno et al., 2004). I stedet for å utvinne porevann fra jord, som kan være en teknisk utfordring, benytter man seg av et mildt salt ekstrakt ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) (Lanno et al., 2004). I vann kan metaller være bundet opp i salter og organisk materiale. Siden det er frie metallioner som forventes å utgjøre biotilgjengelig fraksjon er det derfor mulig å raffinere vannfraksjonen. Normalt kan dette måles direkte ved ioneselektive elektroder (Paquin et al., 2002), men det finnes andre tilgjengelige verktøy som ”*Metal adsorbent devices*” som er vist egnet som indikator for biotilgjengelig metall i marine miljøer (Solbra et al., 2004).

6 PREDIKSJON AV TILSTANDSFORMER

Det finnes i dag modeller som ved hjelp av et sett med steds spesifikke parametere kan predikere hvilke tilstandsformer av tungmetaller som er mest sannsynlig tilstede. En av dem kalles MINTEQA2 og er utviklet ved EPAs laboratorium i Athens, Georgia (Brown and Allison, 1987). Dette er en termodynamisk likevektsmodell som beregner akvatisk tilstandsform, adsorpsjon, utfelling, og/eller oppløsning av fast fase. Et annet verktøy som kalles PHREEQC-2 kan simulere kjemiske reaksjoner og transportprosesser i naturlige og forurensede vann. Programmet er basert på likevektskjemi i akvatiske løsninger som interagerer med mineraler, gasser, løsninger av faste stoffer og sorpsjonsoverflater (Parkhurst and Appelo, 1999). Ettersom det nå er bred enighet om at aktiviteten av frie ioner (reaktivt metall) er sentralt i forståelsen av biotilgjengelighet (Paquin et al., 2002) kan disse modellene være et alternativ til målinger med ioneselektive elektroder.

7 PREDIKSJON AV BIOTILGJENGELIGHET

I løpet av de siste årene er en modell ved navn "the biotic ligand modell (BLM)" foreslått som et verktøy til å evaluere kvantitativt hvordan vannkjemien påvirker tungmetallers tilstandsform og biologisk tilgjengelighet i akvatiske miljøer. Denne modellen har slått igjennom i vitenskaplige miljøer og regulerende myndigheter på grunn av modellens potensial til å benyttes i fastsettelse av vannkvalitetskriterier og i risikovurderinger. Spesielt er modellen egnet til å vurdere stedsspesifikke forhold. Modellen tar utgangspunkt i at for at et stoff skal bli tatt opp i en organisme eller forårsake en effekt i organismen må metallet først interagere med en biologisk membran. I vannet kan metallet enten forekomme som fritt ion, som partikulært metall eller som en eller flere løste metall-ligand komplekser. De biologiske endepunkter som ofte er sett på som indikatorer på biotilgjengelighet er bioakkumulering (sorpsjon, opptak), induksjon av biomarkører og annet (se kapittelet om måling biotilgjengelighet). Målet med BLM er å predikere denne biotilgjengeligheten som en funksjon av metallens tilstandsform i vannet.



Figur 4. Konseptuell modell for metall-organisme interaksjoner. M^{Z+} = metallion, ML = metallkompleks i løsning, K_1 = likevektskonstant for dannelse av ML , $M-X$ -membran = overflate metallkompleks, k_f , k_r = rate for dannelse av overflatekomplekset, k_d , k_d' = rate for atskillelse av overflatekomplekset, k_{int} = rate for "opptak over membranen" (fra Campbell et al., 2002).

Modellen antar følgende forenklede forhold:

1. Metalltransporten i vannet til membranen, og de påfølgende reaksjonene i cellemembranen skjer raskt slik at en likevekt blir etablert mellom tilstandsformer i vannet og de tilstandsformene lokalisert på cellemembranen.
2. Plasmamembranen er det primære setet for metalllets interaksjon med organismer, og denne interaksjonen foregår ved en ligand-bytte reaksjon til et $M-X$ -celle kompleks (Figur 1).
3. Den biologiske responsen, det være seg metalloptak eller toksisitet, er avhengig av konsentrasjonen av $M-X$ -celle kompleksset.
4. Mengden $M-X$ -celle kompleksene er en funksjon av $[M^{Z+}]$ og følger en Langmuir-type adsorpsjon isotherm. Forholdet mellom $M-X$ -celle kompleksene og $[M^{Z+}]$ forutsettes konstant i det relevante konsentrasjonsspekteret.
5. I løpet av eksponeringen for det aktuelle metallet forutsettes egenskapene til den biologiske membranen konstant.

Det er flere forhold som diskuteres i prosessen med å forbedre BLM. Det har kommet frem flere resultater som avviker fra modellens antagelser. På tross av disse resultatene har modellen vist seg egnet til å predikere biotilgjengelighet av metaller for en rekke organismer. Den har blant annet vært i stand til å predikere akutt blytoksisitet på regnbueørret (MacDonald et al., 2002), og toksisitet for fytoplankton (Campbell et al., 2002).

For organismer som lever i jord eller sediment egner BLM seg godt til å beskrive opptaket gjennom hud, men for sediment og jordlevende organismer kan det i tillegg være et betydelig opptak ved matopptak (Peijnenburg og Jager, 2003). Denne opptaksveien skiller seg ut fra mekanismen som er vist i Figur 2, ettersom den også inkluderer regulert opptak av næringsstoffer og mineraler. Opptaket av metaller kan også her skje gjennom passiv eller

fasilitert diffusjon, men opptaket er gjerne større på grunn av faktorer som reduksjon av organisk karbon og volum i det jorden passerer gjennom tarmen.

8 DISKUSJON

Utlekking av metaller fra forurensede områder er ofte avhengig av at metallene transporteres med organiske eller uorganiske ligander. Tilstedeværelsen av løselige organiske og uorganiske ligander fører til at konsentrasjonen av metaller i porevannet øker, men samtidig vil disse ligandene gjøre at fraksjonen av reaktivt metall og dermed biotilgjengeligheten blir mindre. Dermed er det sannsynlig at en måling av totalkonsentrasjon vil overpredikere den toksiske effekten på systemet.

Det synes som om det er en bred enighet i vitenskapelige miljøer at det er hensiktsmessig å sette likhetstegn mellom biotilgjengelig fraksjon og fraksjonen av reaktivt metall (ioner) for vannlevende organismer. Ved miljørisikovurderinger av bekker og andre resipienter av vann fra skytebaner og skytefelt kan det derfor være hensiktsmessig å basere seg på målinger av denne fraksjonen. Kriterier for valgt målemetode bør være at den er rask, billig og sikker. Videre bør det undersøkes om denne fraksjonen er relativt konstant over tid siden forandringer av faktorer som pH vil ha store konsekvenser for størrelsen av denne fraksjonen. I risikovurderinger vil det være nødvendig å sammenlikne denne fraksjonen med et akseptkriterium. Akseptkriteriet bør på sin side være basert på et toksikologisk laboratorieforsøk hvor fraksjonen av reaktivt metall kontrolleres. Det er mulig at modeller som BLM kan gjøre risikovurderinger enklere dersom de kan basere seg på parametere som er lettere å overvåke enn fraksjonen av reaktivt metall.

For sediment og jordlevende organismer slik som meitemark problematiseres tilnærmingen med å se på reaktivt metall av at disse organismene kan utnytte organisk materiale i jord. Studier viser imidlertid at et oralt inntak av metaller øker opptaket maksimalt med en faktor på 1,4 i forhold til det som tas opp gjennom hud.

I risikovurderinger hvor man må ta hensyn til husdyr, fugler og vilt er det ikke relevant å benytte seg av reaktivt metall hypotesen ettersom disse kan ha et betydelig oralt opptak av partikulært bly. I slike tilfeller bør totalfraksjonen benyttes for å være på den sikre siden.

Litteratur

Abrahams PW, Steigmajer J (2003) Soil ingestion by sheep grazing the metal enriched floodplain soils of Mid-Wales. *Environmental Geochemistry and Health* 25, 17-24.

Andrew R W, Biesinger K E, and Glass G E (1977) Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Water Research* 11, 309-315.

Barwick M, Maher W (2003) Biotransference and biomagnification of selenium, copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary. *Marine Environmental Research* 56, 471-502.

Baker S, Herrchen M, Hund-Rinke K, Klein W, Kördel W, Peijnenburg W, Rensing C (2003) Underlying issues including approached and information needs in risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 6-19.

Braun U, Pusterla N, Ossent P (1997) Lead poisoning of calves pastured in the target area of a military shooting range. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde* 139, 403-407.

Campbell P G C, Errecalde O, Fortin C, Hiriart-Baer V P, Vigneault B (2002) Metal bioavailability to phytoplankton – applicability of the biotic ligand model. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 133, 189-206.

Filella M, May P M (2003) Computer simulation fo the low-molecular-weight inorganic species distribution of antimony(III) and antimony (V) in natural waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67(21), 4013-4031.

Hammel W, Debus R, Steubing L (2000) Mobility of antimony in soil and its availability to plants. *Chemosphere* 41, 1791-1798.

Knechtenhofer L A, Xifra I O, Scheinost A C, Flühler H, Kretzschmar R (2003) Fate of heavy metal distribution and its relation to preferential water flow. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166, 84-92.

MacDonald A, Silk L, Schwartz M, Playle R C (2002) A lead-gill binding model to predict acute lead toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 133, 227-242.

Rensing C, Maier R A (2003) Issues underlying use of biosensors to measure metal bioavailability. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 140-147.

Scheinost A C, Rossberg A, Hennig C, Vantelon D, Kretzschmar R, Johnson A (2004) Quantitative antimony speciation in shooting-range soils by EXAFS spectroscopy and iterative transformation factors. 14th ESRF Users Meeting Grenoble, 8-13 February 2004.

Peakall D, Burger J. (2003) Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 110-121.

- Peijnenburg WJGM, Jager T (2003) Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 63-77.
- Hammel W, Debus R, Steubing L. (2000) Mobility of antimony in soil and its availability to plants. *Chemosphere* 41, 1791-1798.
- Quinn MR, Xiahong F, Folt CL, Chamberlain CP (2003) Analyzing trophic transfer of metals in stream food webs using nitrogen isotopes.
- Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N (2004) The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57, 39-47.
- Solbra S, Allison N, Skei J, Waite S, Mikhalovsky S (2004) Deploying a metal adsorbent *in situ*: a technique for indicating bioavailable Cd(II) in marine waters. *Water Research* 38 (6), 1586-1594.
- Tao S, Liang T, Cao J, Dawson RW, Liu C (1999) Synergistic effect of copper and lead uptake by fish. *Ecotoxicology and environmental safety* 44, 190-195.
- Tao S, Li H, Liu C, Lam K C (2000) Fish uptake of inorganic and mucus complexes of lead. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 46, 174-180.