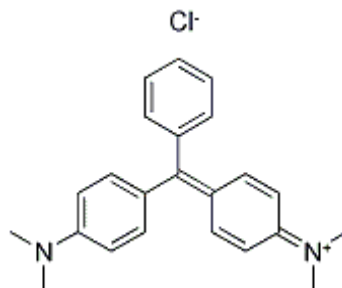




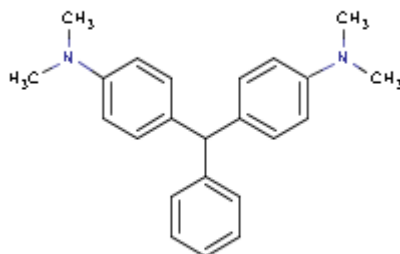
Fastsættelse af kvalitetskriterier for vandmiljøet

Malakitgrønt og leucomalakitgrønt

CAS nr. 569-64-2 henholdsvis 129-73-7



Malakitgrønt



Leucomalakitgrønt

For malakitgrønt plus leucomalakitgrønt:

| | | |
|--|------------------------------|--------------------------------------|
| Vandkvalitetskriterium | VKK _{ferskvand} | 0,061 µg/l |
| Vandkvalitetskriterium | VKK _{saltvand} | 0,061 µg/l |
| Korttidsvandkvalitetskriterium | KVKK _{ferskvand} | 1,8 µg/l |
| Korttidsvandkvalitetskriterium | KVKK _{saltvand} | 1,8 µg/l |
| Sedimentkvalitetskriterium | SKK _{ferskvand} | 1816 µg/kg tørvægt x f _{oc} |
| Sedimentkvalitetskriterium | SKK _{saltvand} | 1816 µg/kg tørvægt x f _{oc} |
| Biota-kvalitetskriterie, sekundær forgiftning | BKK _{sek.forgiftn.} | 2,7 mg/kg vådvægt |
| Biota-kvalitetskriterie, sundhed | HKK ≈ RPA | 2 µg/kg fiskeriprodukter, vådvægt |
| | HKK _{vand} | 0,001 µg/l |

Juli 2017

Indhold

| | | |
|---|-----------|--|
| FORORD | 4 | |
| ENGLISH SUMMARY AND CONCLUSIONS | 5 | |
| 1 INDLEDNING | 7 | |
| 2 FYSISK KEMISKE EGENSKABER | 9 | |
| 3 SKÆBNE I MILJØET | 11 | |
| 3.1 NEDBRYDELIGHED | 11 | |
| 3.2 BIOAKKUMULERING | 11 | |
| 3.3 NATURLIG FOREKOMST | 11 | |
| 4 GIFTIGHEDSDATA | 12 | |
| 4.1 GIFTIGHED OVER FOR VANDLEVENDE ORGANISMER | 12 | |
| 4.2 GIFTIGHED OVER FOR SEDIMENTLEVENDE ORGANISMER | 14 | |
| 4.3 GIFTIGHED OVER FOR PATTEDYR OG FUGLE | 14 | |
| 4.4 GIFTIGHED OVER FOR MENNESKER | 14 | |
| 5 UDLEDNING AF VANDKVALITETSKRITERIUM | 15 | |
| 5.1 VANDKVALITETSKRITERIUM (VKK) | 15 | |
| 5.2 KORTTIDSVANDKVALITETSKRITERIUM (KVKK) | 15 | |
| 5.3 KVALITETSKRITERIUM FOR SEDIMENT (SKK) | 17 | |
| 5.4 KVALITETSKRITERIUM FOR BIOTA (BKK) | 18 | |
| 5.5 KVALITETSKRITERIUM FOR HUMAN KONSUM AF VANDLEVENDE ORGANISMER (HKK) | 19 | |
| 6 KONKLUSION | 20 | |
| 7 REFERENCER | 21 | |

Forord

Et kvalitetskriterium i vandmiljøet er det højeste koncentrationsniveau, ved hvilket der skønnes, at der ikke vil forekomme uacceptable negative effekter på vandøkosystemer.

Miljøstyrelsen (MST) udarbejder kvalitetskriterier for kemikalier i vandsøjlen (vandkvalitetskriterium), i sediment og i dyr og planter (biota).

Miljøstyrelsen bruger kvalitetskriterierne som det faglige grundlag til at kunne fastsætte miljøkvalitetskrav, hvorved der forstås den endelige koncentration af et bestemt forurenende stof i vand, sediment eller biota, som ikke må overskrides af hensyn til beskyttelsen af miljøet og menneskers sundhed.

Metodikken, der anvendes til udarbejdelse af miljøkvalitetskrav er harmoniseret i EU og baserer sig på vandrammedirektivet (EU 2000), EU's vejledning til fastsættelse af kvalitetskriterier i vandmiljøet (EU 2011) og Miljøstyrelsens vejledning til fastsættelse af vandkvalitetskriterier (Miljøstyrelsen 2004). Metodikken er endvidere i overensstemmelse med EU's vejledning til risikovurdering under REACH forordningen (EU 2008).

Den sidste litteratursøgning er foretaget juli 2017.

English Summary and conclusions

Environmental water quality standards (EQS) for malachite green and leuco-malachite green

Malachite green can be transformed to leuco-malachite green and vice versa. Malachite green will be transformed to the leuco form under anaerobic conditions and within living organisms.

Malachite green is quite soluble in water and has a low log K_{ow} , while leuco-malachite green has a low water solubility and a high log K_{ow} .

There is a fairly extensive ecotoxicological data-set for malachite green, although the toxicity data are mostly EC_{50} values. For leuco-malachite green no information on ecotoxicity has been found so the ecotoxicity has been estimated with QSARS.

The QSAR predictions of the ecotoxicity of leuco-malachite green fall within the span of values for malachite green, and the calculations are therefore based on the measured values for malachite green.

As malachite green is transformed to leuco-malachite green within the organism while the organisms in water are expected to be exposed mainly to malachite green dissolved in the water the right BCF and BAF would be based on the ratio between concentrations of malachite green plus leuco-malachite green in the organism and concentrations of malachite green plus leuco-malachite green in the water, which would correspond approximately to the ratio between the concentration of leuco-malachite green in the organism and the concentration of malachite green in the water. As such data are not available the QSAR estimated values for leuco-malachite green are employed.

There is information about 9 major taxonomic groups, and useful EC_{50} values for 36 species representing 7 major taxonomic groups. There are NOEC values for two species, a crustacean and a protozoan, but these NOECs do not include the groups that were most sensitive in the acute tests, and the lowest EC_{50} is almost identical to the lowest NOEC.

“Annual” average EQS_{water}

In such a case, you would normally apply an assessment factor of 100 to the lowest EC_{50} . However, the low LC_{100} (6 $\mu\text{g/l}$) of the parasitic fungus, *Lagenidium callinectes*, indicates that there are organisms that may be substantially more sensitive than those represented in the data-set, and therefore an assessment factor (AF)_r of 500 has been applied for freshwater.

There are EC_{50} values for 4 species of saltwater crustacea representing other feeding strategies than *Daphnia*, plus an EC_{50} for a marine fish. The EC_{50} for the marine fish (*Morone saxatilis*) lies within the span of the values for freshwater fish, and the EC_{50} s for marine crustacea do not deviate statistically significantly from those for the freshwater species. It was therefore chosen to apply the same AF for salt- and freshwater environments.

The fresh- and saltwater $EQS_{water} = 30.5 \mu\text{g/l} : 500 = 0,061 \mu\text{g/l}$

Maximum acceptable concentration (MAC)

There are useful EC50 values for 36 species representing 7 major taxonomic groups. Strictly speaking, the number of major taxonomic is insufficient for applying an SSD analysis. However there are ecotoxicological information for 9 major taxonomic groups, and the number of species is quite big. Therefore an SSD analysis was performed.

The EC₅₀ for *Lithopenaeus schmittii* is extreme compared to the other EC₅₀ies, and an SSD including this value fails the criterium of a log-normal distribution, while without the *L. schmittii* value the SSD is accepted as following a log-normal distribution by all three tests in the ETx programme. For this reason the *L. schmittii* EC₅₀ is regarded as an outlier and omitted from the analysis.

HC₅ = 18 µg/l with upper and lower 90% limits of 38 µg/l and 6.8 µg/l.

The standard deviation of the log₁₀ transformed values is 0.77. Further, the LC100 for *Lagenidium callinectes* is very low (6 µg/l).

Although the number of species is relatively high the AF is not reduced because of the uncertainty given by the relatively high variability and because of the low LC₁₀₀ for *L. callinectes*.

The employed AF is thus = 10, resulting in **MAC (freshwater and saltwater) = 18 µg/l:10 = 1.8 µg/l**

Sediment

As no sediment ecotoxicity data are available the equilibrium-partitioning method has been applied. $QS_{\text{sediment}} (\text{fresh- and saltwater}) = EQS_{\text{water}} * K_{oc}$. The estimated K_{oc} for leuco-malachite green is used (geometric mean).

$QS_{\text{sediment}} (\text{fresh- and saltwater}) = 0,061 \mu\text{g/l} * 29774 \text{ l/kg dw} \times f_{oc} = \mathbf{1816 \mu\text{g/kg dw} \times f_{oc}}$.

Biota

EC₁₀ from a two year study with rats = 81 mg/kg feed. AF = 30.

Biota QS = 81 mg/kg feed:30 = 2.7 mg/kg feed, wet weight.

BAF for leuco-malachite green = 1789, while the default BMFs are BMF1 = BMF2 = 1.

Biota QS_{water} = 2700 µg/kg:1789 l/kg = 1,5 µg/l

Human health

EFSA has set a "Reference Point for Action" (RPA) = **2 µg/kg food, wet weight**. As no ADI, TDI or equivalent was found the RPA is used as a human health QS.

Human health QS_{water} = 2 µg/kg:1789 l/kg = 0,001 µg/l

1 Indledning

Malakitgrønt og leucomalakitgrønt kan omdannes til hinanden. Malakitgrønt vil især under iltfattige forhold og inde i levende organismer blive omdannet til leucomalakitgrønt.

Fordi de to stoffer omdannes til hinanden behandles de sammen i dette datablad.

Identiteten af malakitgrønt og leucomalakitgrønt fremgår af tabel 1.1. Malakitgrønt er den ladede form og leucomalakitgrønt er ikke ladet.

Tabel 1.1. Identitet

| Malakitgrønt | |
|-------------------|---|
| IUPAC navn | [4-[[4-(dimethylamino)phenyl]-phenylmethylidene]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]-dimethylazanium;chlorid |
| Strukturformel | |
| CAS nr. | 569-64-2 |
| EINECS nr. | 209-322-8 |
| Kemisk formel | C ₂₃ H ₂₅ N ₂ Cl |
| SMILES | <chem>C(\c1ccc(N(C)C)cc1)(=C1/C=C\C(=[N+](\C)C)C=C1)c1ccccc1.[ClH-]</chem> |
| Leucomalakitgrønt | |
| IUPAC navn | N,N,N',N'-Tetramethyl-4-4'-benzylidenedianiline |
| Strukturformel | |
| CAS nr. | 129-73-7 |

| | |
|---------------|--|
| EINECS nr. | 204-961-9 |
| Kemisk formel | C ₂₃ H ₂₆ N ₂ |
| SMILES | <chem>N(c(ccc(c1)C(c(cccc2)c2)c(ccc(N(C)C)c3)c3)c1)(C)C</chem> |

2 Fysisk kemiske egenskaber

De fysisk kemiske egenskaber for malakitgrønt og leucomalakitgrønt fremgår af tabel 2.1.a & b

Tabel 2.1.a Fysisk kemiske egenskaber for malakitgrønt

| Parameter | Værdi | Reference |
|---|----------------------|-----------|
| Molekylvægt, M_w ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) | 364.917 g/mol | |
| Smeltepunkt, T_m ($^{\circ}\text{C}$) | | |
| Kogepunkt, T_b ($^{\circ}\text{C}$) | | |
| Damptryk, P_v (mm Hg) | $2,45\cdot 10^{-13}$ | TOXNET |
| Henry's konstant, H ($\text{atm}\cdot\text{m}^3/\text{molekule}\cdot\text{sek}$) | 1,93 | TOXNET |
| Vandopløselighed, S_w ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) | 4 g/l v. 25° C | TOXNET |
| Dissociationskonstant, pK_a | | |
| Octanol/vand fordelingskoefficient, log K_{ow} | 0,62 | TOXNET |
| K_{oc} ($\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$) | | |

Tabel 2.1.b Fysisk kemiske egenskaber for leucomalakitgrønt

| Parameter | Værdi | Reference |
|---|------------------------------|--|
| Molekylvægt, M_w ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) | 330,475 g/mol | Beregnet |
| Smeltepunkt, T_m ($^{\circ}\text{C}$) | 100° C | ECHA 2010 |
| Kogepunkt, T_b ($^{\circ}\text{C}$) | | |
| Damptryk, P_v (mm Hg) | $6,97\cdot 10^{-8}$ mm Hg | MPVPWIN v. 1.43* |
| Henry's konstant, H ($\text{atm}\cdot\text{m}^3/\text{molekule}\cdot\text{sek}$) | $9,79\cdot 10^{-9}$ | HENRYWIN v. 3.2* |
| Vandopløselighed, S_w ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) | 0,11 mg/l | Udfra log K_{ox} . WSKOWWIN v. 1.42* |

| | | |
|--|---------------------------|--|
| Vandopløselighed, S_w ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) | 0,044 mg/l | Udfra ”fragmenter” WATERNT v. 1.01* |
| Dissociationskonstant, pK_a | pK_a (base) = 5,5 | PubChem |
| Octanol/vand fordelingskoefficient, $\log K_{ow}$ | 5,7 | KOWWIN v. 1.68* |
| K_{oc} ($\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$) | 9092 – 97720 | Afhængig af modellen KOCWIN v. 2.00* |

*QSAR programmer under US EPA’s programpakke ”EPISUITE”:

<https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/download-epi-suitetm-estimation-program-interface-v411>

3 Skæbne i miljøet

3.1 Nedbrydelighed

I Pub Chem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/malachite_green) angives det at der for malakitgrønt er “0% degradation in 5 days using a sewage inoculum and the BOD5 test”, men der er ikke givet en reference.

BIOWIN QSAR programmerne og den danske QSAR database forudsiger at malakitgrønt ikke er let nedbrydeligt, og det samme er tilfældet for leucomalakitgrønt.

3.2 Bioakkumulering

Malakitgrønt er meget opløseligt i vand og har en meget lav log K_{ow} , så som sådan forventes det ikke at bioakkumulere. Men malakitgrønt omdannes i fisk til leukomalakitgrønt, som kun langsomt udskilles af organismen. I et forsøg med ørreder var der stadig målelige mængder af leucomalakitgrønt i fiskene efter 10 måneder. (PubChem, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/malachite_green#section=Top).

EPI-SUITE QSAR programmet BCFBAF v. 3.01 forudsiger en BAF værdi på 1 for malakitgrønt.

Leucomalakitgrønt har en skønnet log K_{ow} på 5,7 og må derfor forventes at akkumulere i især fedtvæv.

BCFBAF v. 3.01 QSAR programmet (i programpakken EPISUITE) forudsiger en BCF for leucomalakitgrønt på 2768.

QSARen giver en Arnot-Gobas forudsigelse (inkl. biotransformering) af BCF for øvre trofiske niveau på 452 og BAF = 470.

For nedre trofiske niveau er Arnot-Gobas forudsigelserne BCF = 677 og BAF = 1789

Stoffet betragtes som bioakkumulerende.

3.3 Naturlig forekomst

Ingen oplysninger

4 Giftighedsdata

4.1 Giftighed over for vandlevende organismer

Effektkoncentrationer for malakitgrønt over for vandlevende organismer er sammenstillet i tabel 4.1.a.

QSAR forudsigelser af effektkoncentrationer for leucomalakitgrønt er givet i tabel 4.1.b

Tabel 4.1.a Giftighedsværdier for malakitgrønt

| Organisme | Varighed | Endpoint | Koncentration | Reference |
|--|----------|-------------------|---------------|---|
| Svampe | | | | |
| Lagenidium callinectes (en marin svamp, der snylter på krebsdyr) | 72 t | LC ₁₀₀ | 6 µg/l | Bland et al. 1976 |
| Alger | | | | |
| Desmodesmus subspicatus | 72 t | ErC ₅₀ | 3600 µg/l | REACH registrering af malkitgrønt acetat. Reference fra 1998. referencen ej angivet |
| Krebsdyr | | | | |
| Daphnia magna | 48 t | EC ₅₀ | 130 µg/l | Burchmore and Wilkinson 1993 |
| *Penaeus monodon | 96 t | LC ₅₀ | 12,3 µg/l | Lio-Po et al. 1978 |
| Litopenaeus schmittii | 72 t | LC ₅₀ | 45740000 µg/l | Diaz, J., and S. Rivero 1994 |
| Palaemonetes kadiakensis | 96 t | LC ₅₀ | 1900 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Fenneropenaeus penicillatus | 24 t | LC ₅₀ | 300 µg/l | Liao, I.C., and J.J. Guo 1990 |
| Penaeus japonicus | 24 t | LC ₅₀ | 1180 µg/l | Liao, I.C., and J.J. Guo 1990 |
| Penaeus semisulcatus | 24 t | LC ₅₀ | 3200 µg/l | Liao, I.C., and J.J. Guo 1990 |
| Macrobrachium rosenbergii | 24 t | LC ₅₀ | 1140 µg/l | Liao, I.C., and J.J. Guo 1990 |
| Cancer magister | 96 t | LC ₅₀ | 40 µg/l | Armstrong et al. 1976 |
| Pseudocarcinus gigas | 115 dg | NOEC (hudskifte) | 30 µg/l | Gardner, C., and M. Northam 1997 |
| **Artemia salina | 9 dg | NOEC, overlevelse | 6 µg/l | Bland et al. 1976 |
| ***Cypridopsis sp. | 4 dg | LC ₅₀ | 3450 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Fisk | | | | |
| Oreochromis niloticus | 4 dg | LC ₅₀ | 425 µg/l | Limsuwan 1989 & Dureza 1989 |
| Morone saxatilis | 4 dg | LC ₅₀ | 50 µg/l | Hughes 1973 & Bills et al. 1993 |
| ***Micropterus dolomieu | 4 dg | LC ₅₀ | 45,3 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Heteropneustes fossilis | 4 dg | LC ₅₀ | 1000 µg/l | Srivastava et al. 1995 |
| Clarias macrocephalus | 4 dg | LC ₅₀ | 66 µg/l | Limsuwan 1989 |
| Anguilla rostrate | 4 dg | LC ₅₀ | 270 µg/l | Hinton & Eversole 1978 & Hinton & Eversole 1979 & Hinton & Eversole 1980 |
| ***Micropterus salmoides | 4 dg | LC ₅₀ | 72,8 µg/l | Bills et al. 1977 |
| ***Lepomis macrochirus | 4 dg | LC ₅₀ | 30,5 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Pimephales promelas | 4 dg | LC ₅₀ | 120 µg/l | 6969 & 5789 |
| ***Ictalurus punctatus | 4 dg | LC ₅₀ | 53,5 µg/l | Bills et al. 1977 |

| | | | | |
|------------------------------|------|------------------|-------------|---|
| ***Salmo trutta | 4 dg | LC ₅₀ | 237 µg/l | Bills et al. 1977 |
| ***Salvelinus fontinalis | 4 dg | LC ₅₀ | 220 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Salvelinus nanaycush | 2 dg | LC ₅₀ | 400 µg/l | Willford 1966 |
| Oncorhynchus mykiss | 4 dg | LC ₅₀ | 168 µg/l | Bills et al. 1977 & Bills et al. 1981 & (Pottinger & Calder 1995) & Van Heerden et al. 1995 |
| ***Salmo salar | 4 dg | LC ₅₀ | 283 µg/l | Bills et al. 1977 |
| ***Oncorhynchus tshawytscha | 4 dg | LC ₅₀ | 224 µg/l | Bills et al. 1977 |
| ***Oncorhynchus kisutch | 4 dg | LC ₅₀ | 383 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Padder | | | | |
| ***Notophthalmus viridescens | 4 dg | LC ₅₀ | 1030 µg/l | Bills et al. 1977 |
| ***Rana pipiens haletudser | 4 dg | LC ₅₀ | 173 µg/l | Bills et al. 1977 |
| ***Bufo sp. haletudser | 4 dg | LC ₅₀ | 68 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Insekter | | | | |
| Callibaetis sp. | 4 dg | LC ₅₀ | 79 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Tanytarsus dissimilis | 4 dg | LC ₅₀ | 510 | Bills et al. 1977 |
| Protozoa | | | | |
| Perkinsus marinus | 1 dg | NOEC | 1000 µg/l | Calvo & Burreson 1994 |
| Snegle | | | | |
| Pleurocera sp | 4 dg | LC ₅₀ | 720 µg/l | Bills et al. 1977 |
| Muslinger | | | | |
| Corbicula leana | 4 dg | LC ₅₀ | 122000 µg/l | Bills et al. 1977 |

*Dødeligheden i kontrollerne varierer mellem 20% - >70%

Mortality in controls varies between 20 % and >70 %

**Kun én koncentration, så værdien er ikke troværdig

Only one concentration, so the value is not reliable

***Troværdigheden er RI2, dvs. troværdig med visse forbehold. Testen er udført i henhold til US-EPA retningslinjer. Kontrol dødelighed er ej angivet og for vandkemi og lignende er kun pH, hårdhed og temperatur angivet. Der er ikke vist en dosis-respons kurve eller data, men der er en tydelig sammenhæng mellem eksponeringstid og størrelsen af LC₅₀. Forsøget er et "flow-through".

Reliability index of RI2. The test has been performed according to US-EPA guidelines. Mortality in controls has not been reported, and the only chemical-physical factors given are pH, hardness and temperature. A dose-response curve or data is not given, but there is a clear relationship between exposure time and LC₅₀. The test design is a "flow-through".

Tabel 4.1.b Giftighedsværdier for leucomalakitgrønt. Data er QSAR forudsigelser fra den danske QSAR database. <http://qsar.db.food.dtu.dk/db/index.html>. DK står for den danske QSAR modelpakke i MULTICASE programværktøjet.

| DK | Exp | Battery | Leadscope | SciQSAR |
|--|-----|-----------|------------|------------|
| Fathead minnow 96h LC50 (mg/L) | | 0.2477868 | 0.3979072 | 0.09766641 |
| Domain | | IN | IN | IN |
| Daphnia magna 48h EC50 (mg/L) | | 0.5958505 | 0.01256132 | 1.17914 |
| Domain | | IN | IN | IN |
| Pseudokirchneriella s. 72h EC50 (mg/L) | | 1.743417 | 3.467649 | 0.01918427 |
| Domain | | IN | IN | IN |

| EPI ECOSAR | Fish 96h | Daphnid 48h | Green Algae 96h |
|---|---|---|------------------------------------|
| LC50 (Fish) or EC50 (Daphnid and Algae) for Most Toxic Class (mg/L) | 0.123 | 0.099 | 0.305 |
| Max. Log Kow for Most Toxic Class | 5 | 5 | 6.4 |
| Most Toxic Class | Neutral Organics | Neutral Organics | Neutral Organics |
| Note | Chemical may not be soluble enough. Log Kow for this chemical exceeds the maximum Log Kow for Most Toxic Class. | Log Kow for this chemical exceeds the maximum Log Kow for Most Toxic Class. | Chemical may not be soluble enough |

4.2 Giftighed over for sedimentlevende organismer

Ingen oplysninger

4.3 Giftighed over for pattedyr og fugle

I EFSA 2016 er der angivet et 28 dages forsøg med rotter med 0, 290, 580 og 1160 mg/kg foder, hvor det ud fra data var muligt at estimere en EC₁₀ for hepatocyt vacuolisering på ca. 116 mg/kg foder, vådvægt.

Der er yderligere angivet et toårs forsøg med rotter, hvor det ud fra de angivne data er muligt at beregne en EC₁₀ for forekomst af forøgelse af eosinophile foci i leveren hos hanrotter på ca. 81 mg/kg foder, vådvægt.

4.4 Giftighed over for mennesker

Der er ikke fundet ADI, TDI eller RfD værdier, men EFSA 2016 har fastsat en "Reference Point for Action" (RPA) på 2 µg/kg føde, vådvægt.

5 Udledning af vandkvalitetskriterium

QSAR forudsigelserne af EC₅₀ værdier for leucomalakitgrønt ligger inden for spandet for malakitgrønt og vurderingerne baseres derfor på de målte værdier for malakitgrønt.

5.1 Vandkvalitetskriterium (VKK)

Der er informationer om 9 højere systematiske grupper og brugbare EC₅₀ værdier for 7. Der er brugbare EC₅₀ værdier for 36 arter og NOEC værdier for to grupper (et krebsdyr og en protozo). NOEC værdierne er dog ikke for nogle af de i akuttetene mest følsomme arter, og den laveste brugbare EC₅₀ er på 30,5 µg/l mens den laveste NOEC er på 30 µg/l.

Da NOEC værdierne ikke er for de i akuttetene mest følsomme arter, og da laveste EC₅₀ er næsten lig med laveste NOEC, ville man som udgangspunkt bruge en faktor 100 på laveste EC₅₀.

Der er dog en LC₁₀₀ på 6 µg/l for snyltesvampen *Lagenidium callinectes*, som indikerer at der kan være arter, der er meget følsomme. Det er dog usikkert hvordan man i givet fald skulle bruge en LC₁₀₀ for en snyltende svamp, men den lave LC₁₀₀ taler for anvendelse af en højere usikkerhedsfaktor.

Det vælges derfor at bruge en usikkerhedsfaktor på 500 for ferskvand.

Der er EC₅₀ værdier 5 for arter saltvandskrebsdyr repræsenterende fødestrategier forskellige fra *Daphnia*, samt EC₅₀ for en saltvandsfisk. Endvidere er der ikke statistisk forskel på EC₅₀ værdierne for fersk- og saltvandskrebsdyr (P = 0,47, tosidet t-test) og EC₅₀ for saltvandsfisken er indenfor spandet af EC₅₀ værdier for ferskvandsarterne. For saltvand vælges det derfor at anvende samme usikkerhedsfaktor som for ferskvand, og faktoren bliver UF = 500.

Den laveste EC₅₀ er på 30,5 µg/l (*Lepomis macrochirus*), og der er 7 andre arter med brugbare EC₅₀ værdier mellem 40 og 79 µg/l.

VKK_{ferskvand} bliver således $30,5 \mu\text{g/l} : 500 = \mathbf{0,061 \mu\text{g/l}}$ og
VKK_{saltvand} bliver $30,5 \mu\text{g/l} : 500 = \mathbf{0,061 \mu\text{g/l}}$.

5.2 Korttidsvandkvalitetskriterium (KVKK)

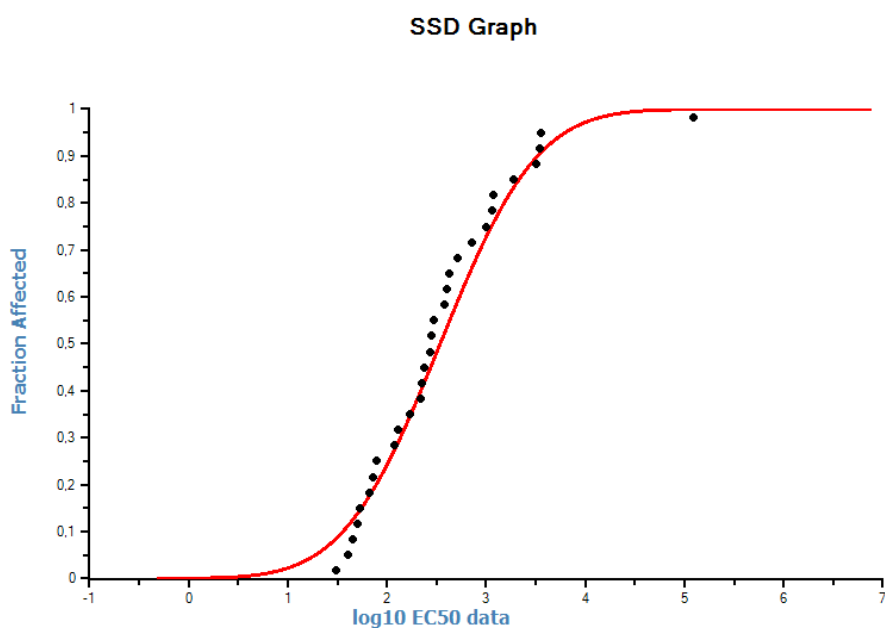
Strikt taget er der EC₅₀ værdier for få højere systematiske grupper (7, kravet er 8) til at lave en artsfølsomhedsanalyse. På den anden side er der økotoksikologiske oplysninger for 9 højere systematiske grupper (EC₅₀ for 7 plus en LC₁₀₀ og en NOEC), og brugbare EC₅₀ værdier for 36 arter, hvor kravet er mindst 10 arter.

Det vælges derfor at udføre en artsfølsomhedsanalyse (SSD).

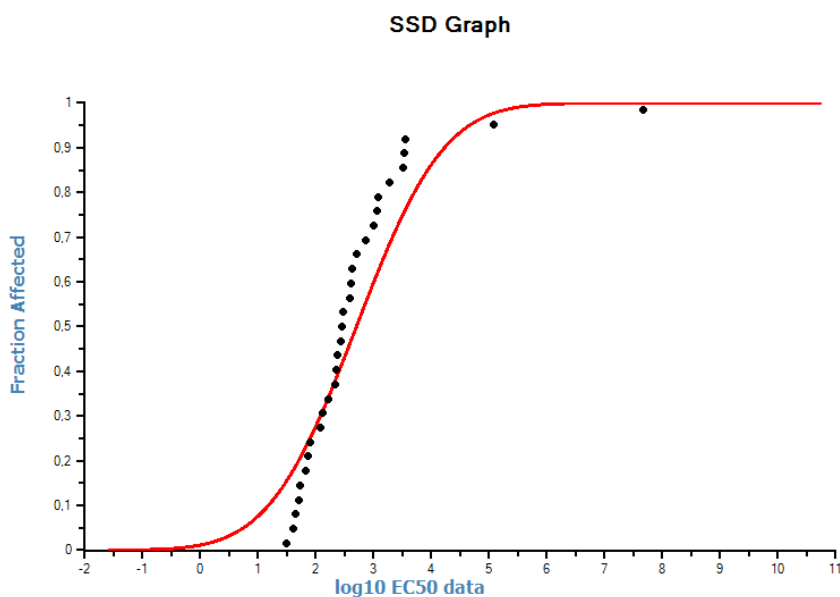
LC₅₀ for *Litopenaeus schmittii* er 45.740.000 µg/l og er således ganske ekstrem i forhold til de andre værdier. Hvis denne værdi medtages i SSDen (fig. 2) forkastes hypotesen om en log normal fordeling af alle tre statistiske tests, der er inkluderet i ETX v. 2.0

(http://www.rivm.nl/rvs/Risicobeoordeling/Modellen_voor_risicobeoordeling/ETX). Fjernes denne værdi fra datasættet (fig. 1) accepterer alle tre tests log normalfordeling.

LC₅₀ for *Litopenaeus schmittii* betragtes derfor som en ”outlier”.



Figur 1 SSD for EC50 værdier (µg/l) ekskl. den ekstreme værdi for *Litopenaeus schmittii*



Figur 2 SSD for EC50 værdier ($\mu\text{g/l}$) inkl. den ekstreme værdi for *Litopenaeus schmittii*

Uden den ekstreme værdi bliver $HC_5 = 18 \mu\text{g/l}$ med øvre og nedre 90% grænser på $38 \mu\text{g/l}$ og $6,8 \mu\text{g/l}$. Standard afvigelsen for de \log_{10} transformerede EC_{50} værdier er 0,77. Der er mange arter, der er repræsenteret, hvilket taler for en sænkning af usikkerhedsfaktoren. Til gengæld er der strengt taget en højere systematisk gruppe for lidt og LC_{100} for *Lagenidium callinectes* er meget lav ($6 \mu\text{g/l}$). Endvidere er ovennævnte standardafvigelse større end 0,5.

Derfor sænkes usikkerhedsfaktoren ikke og UF bliver således 10 for ferskvand.

Med samme begrundelse som ovenfor for VKK bruges der samme UF for saltvand som for ferskvand, og $UF = 10$ for saltvand.

$$KVKK_{\text{ferskvand}} = 18 \mu\text{g/l} : 10 = \mathbf{1,8 \mu\text{g/l}}$$

$$KVKK_{\text{saltvand}} = 18 \mu\text{g/l} : 10 = \mathbf{1,8 \mu\text{g/l}}$$

5.3 Kvalitetskriterium for sediment (SKK)

Med en skønnet $\log K_{ow} = 5,7$ og en skønnet K_{oc} mellem 9072 og 97720 for leucomalakitgrønt er kriteriet for at udarbejde et SKK opfyldt.

Da der ikke er oplysninger om effekten på sedimentlevende organismer anvendes ligevægtsfordelingsmetoden (EqP).

$$SKK = VKK * K_{oc}$$

K_{oc} er skønnet til at være 9072 og 97720 afhængig af QSAR modellen.

Det geometriske gennemsnit af de to K_{oc} værdier er 29774 l/kg

$SKK_{\text{ferskvand}} = 0,061 \mu\text{g/l} * 29774 \text{ l/kg} = 1816 \mu\text{g/kg tørvægt} \times f_{oc}$ (geometrisk gennemsnit, med et spand på $553 \mu\text{g/kg} - 5961 \mu\text{g/kg}$).

$SKK_{\text{saltvand bliver}} = SKK_{\text{ferskvand}} = 1816 \mu\text{g/kg tørvægt} \times f_{oc}$ med et spand på $553 - 5961 \mu\text{g/kg}$

5.4 Kvalitetskriterium for biota (BKK)

For at beregne en PNEC i føde ville man anvende en usikkerhedsfaktor på 30 på EC_{10} fra toårs test:

$BKK = 81 \text{ mg/kg føde} : 30 = 2,7 \text{ mg/kg føde}$

Der regnes med følgende fødekæde: Vand – fisk – pattedyr eller fugl.

BAF for leucomalakitgrønt sættes til 1789, mens BAF for malakitgrønt sættes til 1.

Omsat til en koncentration i vand fås for

Leucomalakitgrønt:

$BKK_{\text{vand}} = PNEC_{\text{biota}} / BAF:$

$BKK_{\text{vand}} = 2700 \mu\text{g/kg} : 1789 \text{ l/kg} = 1,5 \mu\text{g/l}$

For saltvand skal man ifølge vejledningen dividere med en ekstra biomagnifikationsfaktor, BMF_2 , men standardværdien for denne er lig med én, da $BCF < 2000$, så værdien for saltvand bliver den samme som for ferskvand.

Malakitgrønt:

$BKK_{\text{vand}} = 2700 \mu\text{g/kg} : 1 \text{ l/kg} = 2700 \mu\text{g/l}$

Da det først og fremmest er malakitgrønt organismerne i vand vil blive eksponeret for, og da stoffet bliver omdannet til leucomalakitgrønt i organismen ville den rette "BCF" = (koncentrationen af malakitgrønt og leucomalakitgrønt i organismen) / (koncentrationen af malakitgrønt og leucomalakitgrønt i vandet), som nok tilnærmet kan sættes = (koncentration af leucomalakitgrønt i organismen) / (koncentration af malakitgrønt i vandet), idet det dog ikke vides, hvor meget af det optagne malakitgrønt, der når at blive omdannet i organismen.

Hvis det antages, at al malakitgrønt omdannes i organismen til leucomalakitgrønt vil det være rimeligt, som et "værst tænkeligt scenarie" at anvende BCF eller BAF for leucomalakitgrønt og altså BKK_{vand} for leucomalakitgrønt = **$1,5 \mu\text{g malakitgrønt eller leucomalakitgrønt/l}$**

Der er store usikkerheder forbundet med disse beregninger, for det første er både BCF og $\log K_{ow}$ for leucomalakitgrønt beregnet med QSAR, for det andet kender vi ikke omdannelsesrater og udskillelsesrater af malakitgrønt i organismen.

5.5 Kvalitetskriterium for human konsum af vandlevende organismer (HKK)

RPA = 2 µg leucomalakitgrønt/kg føde

Omsat til en koncentration i vand giver dette:

HKK_{vand} = 2 µg/kg:1789 l/kg = 0,001 µg malakitgrønt eller leucomalakitgrønt/l

For malakitgrønt fås:

HKK_{vand} = 2 µg/kg:1 = 2 µg/l

Med samme begrundelse som ovenfor for BKK_{vand} bruges HKK_{vand} for leucomalakitgrønt = **0,001 µg/l**.

6 Konklusion

$$VKK_{\text{ferskvand}} = 0,061 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/l}$$

$$VKK_{\text{saltvand}} = 0,061 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/l}$$

$$KVKK_{\text{ferskvand}} = 1,8 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/l}$$

$$KVKK_{\text{saltvand}} = 1,8 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/l}$$

$$SKK_{\text{ferskvand}} = 1816 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/kg tørvægt} \times f_{oc}$$

$$SKK_{\text{saltvand}} = 1816 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/kg tørvægt} \times f_{oc}$$

$$BKK = 2,7 \text{ mg leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/kg føde}$$

$$BKK_{\text{vand}} = 1,5 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/l}$$

$$HKK \approx \text{RPA} = 2 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/kg fiskeriprodukter}$$

$$HKK_{\text{vand}} = 0,001 \mu\text{g leucomalakitgrønt} + \text{malakitgrønt/l}$$

Det er sandsynligt (men ikke givet) at VKK værdierne vil kunne hæves dersom der blev skaffet EC_{10} eller NOEC værdier fra længerevarende forsøg, idet usikkerhedsfaktoren derved ville kunne sænkes. Det ville i den forbindelse være bedst om data for vandlevende svampe (Fungi) var inkluderet.

Der er stor usikkerhed forbundet med bestemmelsen af SKK, fordi der mangler oplysninger om stoffets effekter på sedimentlevende organismer.

Bestemmelserne af BKK_{vand} og HKK_{vand} er ligeledes usikre da der ikke er oplysninger om forholdet mellem koncentrationen af malakitgrønt + leucomalakitgrønt i organismen (f.eks. i fisk) og koncentrationen af malakitgrønt + leucomalakitgrønt i vand.

7 Referencer

Armstrong, D.A., D.V. Buchanan, and R.S. Caldwell 1976: A Mycosis Caused by *Lagenidium* sp. in Laboratory-Reared Larvae of the Dungeness Crab, *Cancer magister*, and Possible Chemical Treatments. *J. Invertebr. Pathol.* 28:329-336

Bills, T.D., L.L. Marking, and J.H., Jr. Chandler 1977: Malachite Green: Its Toxicity to Aquatic Organisms, Persistence, and Removal with Activated Carbon. *Invest. Fish Control No. 75*, Fish Wildl. Serv., Bur. Sport Fish. Wildl., U.S.D.I., Washington, D.C.: 6 p

Bills, T.D., L.L. Marking, and W.L. Mauck 1981: Polychlorinated Biphenyl (Aroclor 1254) Residues in Rainbow Trout: Effects on Sensitivity to Nine Fishery Chemicals. *N. Am. J. Fish. Manag.* 1(2): 200-203

Bills, T.D., L.L. Marking, and G.E. Howe 1993: Sensitivity of Juvenile Striped Bass to Chemicals Used in Aquaculture. *Resour. Publ. 192*, Fish Wildl. Serv., U.S.D.I., Washington, DC: 11 p.

Bland, C.E., D.G. Ruch, B.R. Salser, and D.V. Lightner 1976: Chemical Control of *Lagenidium*, a Fungal Pathogen of Marine Crustacea. *Journal of the World Aquaculture Society* 7 (1-4): 445-472

Burchmore S. and Wilkinson M. 1993: Proposed environmental quality standards for malachite green in water. DoE 3167/2 - Final report to the Department of the Environment Food and Rural Affairs (DEFRA), U.K.

Calvo, G.W., and E.M. Bureson 1994: In Vitro and In Vivo Effects of Eight Chemotherapeutants on the Oyster Parasite *Perkinsus marinus* (Mackin, Owen, and Collier). *J. Shellfish Res.* 13(1): 101-107

Diaz, J., and S. Rivero 1994: Toxicity of Malachite Green and Laundry Detergent for *Penaeus Schmitti*. *Rev. Invest. Mar.* 15(1): 88-91

Dureza, L.A. 1989: Toxicity and Lesions in the Gills of *Tilapia nilotica* Fry and Fingerlings Exposed to Formalin, Furanace, Potassium Permanganate and Malachite Green. Ph.D. Thesis, Auburn University, Auburn, AL: 79 p

ECHA 2010: ANNEX 1 – BACKGROUND DOCUMENT TO RAC OPINION ON LEUCOMALACHITE GREEN. **ECHA/RAC/CLH-O-0000001309-75-03/A1**

EFSA 2016: EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2016. Scientific opinion on malachite green in food. *EFSA Journal* 2016; 14(7):4530 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4530/epdf>)

EU 2000. Europa-Parlamentets og Rådets Direktiv 2000/60/EF om fastsættelse af en ramme for fællesskabets vandpolitiske foranstaltninger af 23. oktober 2000.

EU 2008. ECHA: Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment (https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69)

EU 2011. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 27. Technical Guidance Document for Deriving Environmental Quality Standards.

Gardner,C., and M. Northam 1997: Use of Prophylactic Treatments for Larval Rearing of Giant Crabs *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture*158 (3-4): 203-214.

Heerden,E. van, J.H.J. Van Vuren, and G.J. Steyn 1995: LC50 Determination for Malachite Green and Formalin on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles. *Water SA*21(1): 87-94

Liao,I.C., and J.J. Guo 1990: Studies on the Tolerance of Postlarvae of *Penaeus monodon*, *P. japonicus*, *P. semisulcatus*, *P. penicillatus*, *Metapenaeus ensis* and *Macrobrachium rosenbergii* to Copper Sulfate, Potassium Permanganate and Malachite Green. *COA (Counc. Agric.) Fish. Ser.*24:90-94

Limsuwan,C. 1989: Acute Toxicity of Malachite Green to Five Species of Freshwater Fish. *C. A. Sel. Environ. Pollut.*4:1 p

Lio-Po,G.D., C.R. Lavilla, and A. Trillo-Llobrera 1978: Toxicity of Malachite Green to the Larvae of *Penaeus monodon*. *Kalikasan* 7: 238-246

Miljøstyrelsen 2004. Principper for fastsættelse af vandkvalitetskriterier for stoffer i overfladevand. Vejledning fra Miljøstyrelsen nr. 4, 2004

PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/67215#section=LogP>

Srivastava,S.J., N.D. Singh, A.K. Srivastava, and R. Sinha 1995: Acute Toxicity of Malachite Green and Its Effect on Certain Blood Parameters of a Catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Aquat. Toxicol.*31(3): 241-247

TOXNET: , <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/569-64-2>

Willford, W.A. 1966: Toxicity of 22 therapeutic compounds to six fishes. United states department of the interior, resource publication 35, Washington

Zhang,Z., and Q. Zhang 2012: Molecular Cloning, Characterization and Expression of Heat Shock Protein 70 Gene from the Oyster *Crassostrea hongkongensis* Responding to Thermal Stress and Exposure of Cu²⁺ and Malachite Green. *Gene* 497(2): 172-180