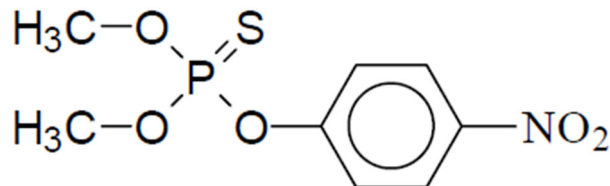




# Fastsættelse af kvalitetskriterier for vandmiljøet

## Methyl-Parathion

CAS nr. 298-00-0



Vandkvalitetskriterium	VKK <sub>ferskvand</sub>	0,011 µg/l
Vandkvalitetskriterium	VKK <sub>saltvand</sub>	0,0011 µg/l
Korttidsvandkvalitetskriterium	KVKK <sub>ferskvand</sub>	0,014 µg/l
Korttidsvandkvalitetskriterium	KVKK <sub>saltvand</sub>	0,0028 µg/l
Sedimentkvalitetskriterium	SKK	2,8 µg/kg OC tørstof
Biota-kvalitetskriterium, sekundær forgiftning	BKK <sub>sek.forgiftn.</sub>	1,57 mg/kg lipid vådvægt
Biota-kvalitetskriterie, sundhed	BKK <sub>sundhed</sub>	2,45 mg/kg lipid vådvægt

Silkeborg, december 2019



# Indhold

<b>FORORD</b>	<b>4</b>
<b>ENGLISH SUMMARY AND CONCLUSIONS</b>	<b>5</b>
<b>1 INDLEDNING</b>	<b>6</b>
<b>2 FYSISK-KEMISKE EGENSKABER</b>	<b>7</b>
<b>3 SKÆBNE I MILJØET</b>	<b>8</b>
3.1 NEDBRYDELIGHED	8
3.2 BIOAKKUMULERING	8
3.3 NATURLIG FOREKOMST	8
<b>4 GIFTIGHEDSDATA</b>	<b>9</b>
4.1 DATASØGNING OG DATAEVALUERING	9
4.2 GIFTIGHED OVER FOR VANDLEVENDE ORGANISMER	9
4.3 FELTSTUDIER	10
4.4 GIFTIGHED OVER FOR SEDIMENTLEVENDE ORGANISMER	10
4.5 GIFTIGHED OVER FOR PATTEDYR OG FUGLE	11
4.6 GIFTIGHED OVER FOR MENNESKER	11
<b>5 UDLEDNING AF MILJØKVALITETSKRITERIER</b>	<b>13</b>
5.1 VANDKVALITETSKRITERIER (VKK)	13
5.2 KORTTIDSVANDKVALITETSKRITERIER (KVKK)	14
5.3 KVALITETSKRITERIUM FOR SEDIMENT (SKK)	15
5.4 KVALITETSKRITERIUM FOR BIOTA (BKK)	16
5.5 KVALITETSKRITERIUM FOR HUMAN KONSUM AF VANDLEVENDE ORGANISMER (HKK)	17
<b>6 KONKLUSION</b>	<b>19</b>
<b>7 REFERENCER</b>	<b>20</b>
<b>8 BILAG A. GIFTIGHED OVER FOR VAND- OG SEDIMENTLEVENDE ORGANISMER</b>	<b>22</b>
<b>9 BILAG B. SØGEKRITERIER I ECOTOX</b>	<b>33</b>
<b>10 BILAG C. KVALITETSEVALUERING AF OPP DATA</b>	<b>37</b>
<b>11 BILAG D. CRED EVALUERINGER</b>	<b>39</b>

# Forord

Et kvalitetskriterium i vandmiljøet er det højeste koncentrationsniveau, ved hvilket der skønnes ikke at 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 reviderede vejledning til fastsættelse af kvalitetskriterier i vandmiljøet også kendt som Technical Guidance Document No. 27 eller TGD#27 update (EU 2018) 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).

Miljøstyrelsen har kommenteret udkast til nærværende rapport. Kommentarerne kan findes [her](#).

Den sidste litteratursøgning er foretaget den 26.8.2019

Forfatter: John Jensen; Institut for Bioscience, Aarhus Universitet

Faglig kvalitetssikring: Hans Sanderson; Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet

Kvalitetssikring, DCE: Susanne Boutrup

# English Summary and conclusions

Methyl parathion is a well-known insecticide used in large quantities historically, but were ban in EU since the Commission Decision of 10 March 2003 concerning the non-inclusion of parathion-methyl in Annex I to Council Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing this active substance.

Methyl parathion has a log Kow of approximately 3.0 and has hence a moderate bioaccumulation potential. EU recommended to use a BCF of 71 in risk assessment of methyl parathion, and the value is used throughout this report.

Methyl parathion biodegrades relative fast in the environment, with DT50 values in water of approximately two weeks under normal conditions and in soil of approximately the same range. It is hence not classified as persistent according to the criteria used e.g. within the REACH classification of PBT substances.

As an insecticide methyl parathion is highly toxic to e.g. insects and crustaceans and less toxic to fish and algae and higher plants. Based upon available ecotoxicological and toxicological data from mainly two American USEPA databases (OPP and ECOTOX), a set of environmental quality standards (EQS) has been set following the guidance in the Technical Guidance Document TGD no. 27 (EU, 2018) supporting the Water Frame Directive. The derived EQS are presented below.

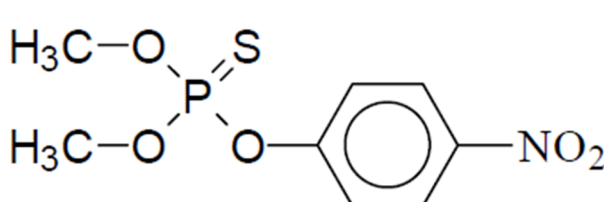
AA-EQS <sub>freshwater</sub> =	0.011 µg L <sup>-1</sup>
AA-EQS <sub>saltwater</sub> =	0.0011 µg L <sup>-1</sup>
MAC <sub>freshwater</sub> =	0.014 µg L <sup>-1</sup>
MAC <sub>saltwater</sub> =	0.0028 µg L <sup>-1</sup>
EQS <sub>sediment</sub> =	2.8 µg kg <sup>-1</sup> organic carbon (dry weight)
EQS <sub>biota</sub> =	1.57 mg kg <sup>-1</sup> lipid (wet weight)
EQS <sub>human helath</sub> =	2.45 mg kg <sup>-1</sup> lipid (wet weight)

# 1 Indledning

Identiteten og strukturen af methyl-parathion fremgår af tabel 1.1.

Methyl-parathion er et insekticid af organofosfat-typen indeholdende en thiofosfatgruppe. Stoffet er meget lig ethyl-parathion kendt under den almene benævnelse parathion. Stoffet, eller nærmere bestemt dets metabolit paraoxon-methyl, virker som andre organofosfater ved at hæmme enzymet acetylcholinesterase og derved påvirke nervesignalerne. Begge pesticider er i dag forbudt i stort set alle lande, da de er påvist skadelige for ikke kun insekter, men også mennesker.

Tabel 1.1. Identitet og struktur af methyl-parathion (PPDB, 2019)\*.

IUPAC navn	O,O-Dimethyl O-4-(nitrophenyl) phosphorothioate
Strukturformel	
CAS nr.	298-00-0
EINECS nr.	206-050-1
Kemisk formel	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>5</sub> PS
SMILES	<chem>COP(=S)(OC)OC1=CC=C(C=C1)[N+](=O)[O-]</chem>

\* Pesticide Properties Database. <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>

## 2 Fysisk-kemiske egenskaber

De fysisk-kemiske egenskaber for methyl-parathion fremgår af tabel 2.1.

Tabel 2.1. Fysisk-kemiske egenskaber for methyl-parathion.

Parameter	Værdi	Reference
Molekylvægt, $M_w$ ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )	263,21	PPDB <sup>§</sup>
Smeltepunkt, $T_m$ (°C)	35,5	PPDB
Kogepunkt, $T_b$ (°C)	# —	PPDB
Damptryk, $P_v$ (Pa) (20 °C)	0,2	PPDB
Henry's konstant, H ( $\text{pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ )	$8,57 \times 10^{-3}$	PPDB
Vandopløselighed, $S_w$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	55	PPDB
Dissociationskonstant, $\text{pK}_a$	-	PPDB
Octanol/vand fordelingskoefficient, $\log K_{ow}$	3,0	PPDB
$K_{oc}$ ( $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	240	PPDB

#Nedbrydes inden kogepunktet; <sup>§</sup> Pesticide Properties Database. <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>

## 3 Skæbne i miljøet

### 3.1 Nedbrydelighed

Methyl-parathion nedbrydes i miljøet gennem hydrolyse, biologisk nedbrydning og i mindre grad fotolyse. Nedbrydning af methyl-parathion i overfladevand er bl.a. temperaturafhængig. Således blev halveringstiden i fire forskellige vandtyper reduceret via hydrolyse og bionedbrydning fra 184,5 (spænd: 95-237) dage til 29,3 (spænd: 18-46) dage ved en forhøjelse af temperaturen fra 6 til 22 °C (WHO, 2004). Andre studier har vist en steril hydrolytisk halveringstid på 33-68 dage, mens nedbrydningen sker langt hurtigere i et biologisk sediment-vand system med en nedbrydningsbaseret DT<sub>50</sub> på mindre end en uge (UNEP, 2005). I jord er nedbrydning tilsvarende hurtig og foregår ofte i to faser. I laboratorieforsøg er en hurtig initial halvering på cirka 1-5 dage observeret for de første 28 dage, efterfulgt af en betydelig lavere nedbrydningshastighed på 49 dage fra dag 28-181. (UNEP, 2005). Et studie har vist en ikke-nedbrydelig restfraktion (non-extractable residue (NER) fraktion) på næsten 27% efter et halvt år (UNEP, 2005). Databasen PPDB (Pesticides Properties Data Base) angiver DT<sub>50</sub> i jord, sediment og vand som henholdsvis 12, 5 og 15 dage.

Samlet kan det konkluderes, at methyl-parathion nedbrydes i miljøet gennem forskellige abiotiske og biotiske processer med en hastighed, der generelt ikke klassificerer stoffet som persistent jf. PBT kriterierne, dvs. en akvatisk halveringstid på over 40 dage ved 20 °C.

### 3.2 Bioakkumulering

Methyl-parathion udskilles i fugle og vertebrater primært via nyrerne og kan stort set ikke måles i blod, muskler eller organer 48 timer efter indtagelse (WHO, 2004). Qua dets moderate Kow (log Kow = 3) og relativt høje metaboliserings- og udskillelsesrate bioakkumulerer methyl-parathion derfor ikke i nævneværdig grad. En biokoncentrationsfaktor på 71 målt i regnbueørred (*Oncorhynchus mykiss*) bekræfter dette (UNEP, 2005; PPDB). De La Vega Salazar et al. (1997) fandt dog væsentlig højere BCF værdier i en række forskellige organismer indsamlet på en lokalitet i Mexico. Her var BCF i gæller og muskler fra karpe (*Cyprinus carpio*) målt til 221 og 76, mens BCF i en anden endemisk fiskeart (*Girardinichthys multiradiatus*) var markant højere ved en enkelt måling, idet BCF i denne art blev målt til 4,0 i maj måned og til 13.461 i september måned samme år. BCF målt i feltforsøg er dog ikke direkte anvendeligt til indeværende formål, idet indtag fra føde (bioakkumuleringsfaktor, BAF) ikke kan udelukkes.

Til brug for beregninger er der i denne rapport anvendt en BCF på 71, hvilket er i overensstemmelse med beregninger i EU's evaluering af methyl-parathion fra 2002 (UNEP, 2005).

### 3.3 Naturlig forekomst

Methyl-parathion er et antropogent syntetisk fremstillet stof, der ikke har naturlig forekomst i miljøet.



# 4 Giftighedsdata

Methyl-parathion har en harmoniseret miljømæssig klassificering i den højeste gruppe for henholdsvis akut giftighed (H400, Meget giftig for vandlevende organismer) og kronisk giftighed (H410, Meget giftig med langvarige virkninger for vandlevende organismer).

## 4.1 Datasøgning og dataevaluering

For pesticider er det vurderet, at de to amerikanske EPA databaser (OPP og ECOTOX) er de mest relevante, idet der ikke findes en åben tilgængelig europæisk database i EFSA regi. En søgning i OPP<sup>1</sup> databasen gav 128 hits, hvoraf de 93 var med det rene stof og resten med pesticid-formuleringer. Data i OPP databasen stammer fra studier, som virksomheder har indsendt til de amerikanske miljømyndigheder i forbindelse med godkendelsesproceduren af plantebeskyttelsesmidler. Data er efterfølgende kvalitetsbedømt af myndighederne inden de indgår i databasen. Kategorien C (Core) kan indgå i risikovurderingen uden forbehold, mens kategorien S (Supplementary) indgår som supplerende information i risikovurderingen. Flere detaljer fremgår af bilag C.

En søgning i USEPA databasen ECOTOX gav 195 hits fra cirka 30 studier. Enkelte af de underliggende studier kunne ikke fremskaffes, da de var interne amerikanske EPA-rapporter, PhD-afhandlinger eller artikler fra 1970'erne udgivet i lokale amerikanske tidsskrifter. Søgkriterier fremgår af bilag B, hvoraf det væsentligste afskæringskriterium var et krav om analytisk verifikation af eksponeringskoncentrationer.

Tilbage står 24 studier, der alle er evalueret ift. CRED kriterierne for relevans og pålidelighed (Moermond et al. 2016). De enkelte CRED evalueringer kan rekvireres efter anmodning til Miljøstyrelsen. De slutteligt valgte data fremgår af bilag A. Der er ikke foretaget nogen udtømmende litteratursøgning uden for de to nævnte databaser.

## 4.2 Giftighed over for vandlevende organismer

På baggrund af den i afsnit 4.1 skitserede datasøgning og -evaluering er data udvalgt til at kunne indgå i fastsættelsen af akvatiske miljøkvalitetskriterier for henholdsvis fersk- og saltvandsorganismer. For ferskvand er alle trofiske niveauer (alger, invertebrater og fisk) dækket af såvel EC50/LC50- og EC10/NOEC-værdier, mens datamaterialet er mindre for saltvandsarter. Der er dog generelt fundet væsentlig flere akutte toksicitetsværdier. Akutte LC50/EC50 værdier er fundet for en lang række ferskvandsarter, nærmere bestemt alger (4), amfibier (1), ciliater (1), krebsdyr (9), fisk (22), insekter (3) og bløddyr (1). For salt- og brakvandsorganismer er antallet af undersøgte arter langt mindre. Ikke overraskende er krebsdyr og insekter generelt de mest følsomme organismegrupper. Eksempelvis fandt Brandt et al. (EcoTox#21) en LC<sub>50</sub> på 0,2 µg/L for *Neomysis mercedis*, en brakvandsmysid, der er et lille rejelignende krebsdyr (pungrejer). Testen blev udført med neonatale dyr og fulgte en ASTM-standard. Andre krebsdyr er ligeledes

---

<sup>1</sup> Office Pesticide Program, Environmental Protection Agency, USA (bilag C)

vist at have LC50-værdier under 1 µg/L, f.eks. 0,14 (*Daphnia magna*) og 0,8 (*Americamysis bahia*) µg/L (bilag A1, tabel A1.1).

Som det fremgår af bilag A1, tabel A.1.2 er ikke alle de fundne NOEC- og EC10- værdier for ferskvandsorganismer genereret under langtidseksposering. Således er flere af studierne med invertebrater begrænset til 24-48 timer, hvilket alt andet lige formodes at øge NOEC/EC10 i forhold til længerevarende studier af f.eks. en varighed på 21 dage, der i dag er standard i mange studieprotokoller for økotoksikologiske sub-letale studier fra f.eks. OECD. Den laveste NOEC-værdi på 0,0002 µg/L er dog fra et langtidsstudie rapporteret for *Daphnia magna* i OPP databasen. Yderligere to studier med krebsdyr fandt NOEC/EC<sub>10</sub>-værdier under 1,0 µg/L. NOEC for *Daphnia magna* og *Americamysis bahia* er således rapporteret som henholdsvis 0,178 og 0,11 µg/L (bilag A1, tabel A.1.2).

Andre organismegrupper er væsentligt mindre følsomme end krebsdyr og insekter, hvilket er i overensstemmelse med at methyl-parathion er udviklet og solgt som insektgift. Adskillige studier har dog fundet LC50-værdier for fisk under 1 mg/L. For eksempel blev LOEC og NOEC i et 38 dages studie med karpe (*Cyprinodon variegatus*) estimeret til henholdsvis 17,7 og 8,86 µg/L (OPP#92). Studiet, der i OPP databasen er klassificeret som kategori C (se bilag C), er fra 2006 og foregik i et flow-through system, hvor der blev spiket med methyl-parathion i en renhed på 97,4%.

#### 4.3 Feltstudier

Crossland et al. 1984 (Ectox#11a) undersøgte effekter af methyl-parathion i store udendørs damme og fandt her stort set samme effekter som ved studier i laboratoriet. De monitorerede udviklingen af en række makro-invertebrater samt dødelighed og vægtforøgelse i regnbueørred over en 110 dages periode. Væksten i regnbueørred over en ni ugers periode var signifikant lavere (-27%) i fisk eksponeret for methyl-parathion i en nominal koncentration på 100 µg/L; formodentlig som følge af reduceret fødemængde forårsaget af en nedgang i bestanden af invertebrater (sekundær effekt). Derudover blev der observeret dødelighed i fiskebestanden, der også blev tilskrevet sekundære effekter i form af iltmangel forårsaget af algeopblomstring som følge af kraftig reduktion af algespisende zooplankton. For mange af zooplanktonarterne blev der observeret en umiddelbart kraftig effekt efterfulgt af en fremgang, så snart vandkoncentrationerne af methyl-parathion faldt til 0,1-1,0 µg/L. For de fleste arters vedkommende fandt studiet således en mere eller mindre fuld genopretning af populationerne i løbet af 90 dage.

#### 4.4 Giftighed over for sedimentlevende organismer

Der blev ikke fundet økotoksikologiske data for sedimentlevende organismer i hverken OPP eller ECOTOX databasen. En bred søgning i Web of Science (søgeord: sediment; methyl; parathion) og efterfølgende gennemgang af mulige relevante studier gav adgang til enkelte brugbare studier (se bilag A3, tabel A.3.1). Ding et al. (2011) eksponerede dansemyggelarven *Chironomus dilutus* og tangloppen *Hyaella azteca* for methyl-parathion gennem 10 dage i et forsøg, der fulgte tekniske anvisninger i en standard US-EPA protokol (US-EPA, 2000) (se bilag A3, tabel A.3.1). Dødelighed blev monitoreret for begge arter, mens effekten på væksten af *C. dilutus* også blev rapporteret. Test med *C. dilutus* blev gennemført med et sediment med et indhold af organisk kulstof (OC) på 2%, mens forsøgene med *H. azteca* blev gentaget med tre forskellige sedimenttyper med indhold af organisk kulstof i intervallet 0,5-2,8%. Betydningen af sedimentets kulstofindhold var tydelig, idet giftigheden steg med faldende indhold af organisk kulstof. Men

selv korrigeret for kulstof var giftigheden størst i sedimenttypen med lavt OC-indhold, omend forskellen i giftighed faldt fra en faktor 25 til cirka 4,5 ved OC normalisering (bilag A3, tabel A.3.1).

Fisher et al. (1993) eksponerede dansemyggelarven *Chironomus riparius* i et vand-sediment set-up hvor methyl-parathion enten blev tilført (spiket) til det overliggende vand eller direkte til sedimentet. I det sidste eksperiment blev der efter 24 timer fundet en EC50 på 4,03 µg/kg tv i et sediment med et organisk kulstofindhold på 3% (bilag A3, tabel A.3.1). Alle EC50-værdier var beregnet ud fra nominelle og ikke målte koncentrationer. Studiet er derfor vurderet som værende i kategori 3 evalueret efter CRED (bilag D), hvorfor det kun indgår i SKK fastsættelsen som supplerende information.

#### 4.5 Giftighed over for pattedyr og fugle

Methyl-parathion vil hurtigt og effektivt kunne metaboliseres til det aktive stof methyl-paraoxon *in vivo* i pattedyr og fugle. Methyl-paraoxon vil her virke som en acetylcholinesterase-hæmmer, hvorfor acetylcholin ophobes ved nerveenderne og kan resultere i en række symptomer herunder muskelspasmer og i sidste instans død.

For fugle er der fundet indikative LD<sub>50</sub> værdier på 5,3 og 49 mg/kg lgv. for henholdsvis gråand (*Anas platyrhynchos*) og vagtel (*Colinus virginianus*). For reproduktive effekter er der fundet NOEC-værdier på 6,27 mg/kg føde (0,58 mg/kg lgv.) for vagtel og > 14,7 mg/kg føde for gråand (UNEP, 2002).

Ved en enkelt akut dosis er methyl-parathion giftigt for pattedyr med LD<sub>50</sub> for rotter i størrelsesordenen 3-20 mg/kg lgv. Således er den laveste LD<sub>50</sub> angivet som 2,9 mg/kg lgv. (UNEP, 2005).

I langtidsstudier med pattedyr er der f.eks. rapporteret en NOAEL på 0,3 mg/kg lgv. i et 90 dages rotteforsøg og en NOEL på 2,0 mg/kg føde i et toårigt kronisk eksponeringsforsøg med samme forsøgsdyr (UNEP, 2005). Den laveste NOAEL på 0,1 mg/kg lgv./dag er fundet i et kronisk (tre generationer) forsøg med rotter. Her blev fundet en signifikant reduktion i kuldstørrelsen samt diverse tegn på giftighed overfor nyfødte individer (neonater) ved 0,25 mg/kg lgv./dag (LOAEL) (se bilag A5).

I fastsættelsen af kvalitetskriterier i nærværende rapport er der, baseret på den laveste NOAEL på 0,1 mg/kg lgv./dag og en sikkerhedsfaktor på 100, anvendt en ADI på 0,001 mg/kg lgv./dag.

#### 4.6 Giftighed over for mennesker

Methyl-parathion er yderst giftig og potentielt fatalt for mennesker ved indtagelse og kontakt og er derfor fareklassificeret som H300 (Livsfarlig ved indtagelse), H311 (Giftig ved hudkontakt), H330 (Livsfarlig ved indånding) og H373 (Kan forårsage organskader) ifølge GHS klassificeringen under bl.a. REACH.

Methyl-parathion vil i mennesker ligesom *in vivo* i andre pattedyr hurtigt og effektivt kunne metaboliseres til det aktive stof methyl-paraoxon. Ud over at methyl-paraoxon vil virke som en acetylcholinesterase-hæmmer, hvorfor acetylcholin ophobes ved nerveenderne og kunne resultere i en række symptomer herunder muskelspasmer og sidste instans død, vil andre mindre dramatiske symptomer hos mennesker inkludere hovedpine, opkast og slørret syn.

WHO anbefalede i deres fastsættelse af god drikkevandskvalitet en ADI (Acceptable Daily Intake) på 0,003 mg/kg lgv./dag på baggrund af en NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) på 0,25 mg/kg lgv fra et toårigt rottestudie og en sikkerhedsfaktor på 100 (WHO, 2004).

Italien estimerede i deres EU-drevne evaluering af methyl-parathion fra 2001 en ADI på 0,001 mg/kg lgv./dag (UNEP, 2005). Denne baserer sig på en række langtidsstudier med rotter og hunde samt et forsøg med forsøgspersoner (se bilag A5). Det humane studie var dog af ældre data og uden de fornødne informationer til at kunne fastsætte eksponeringen præcist. ADI blev derfor fastsat på baggrund af den laveste NOAEL fra rottestudier (0,1 mg/kg lgv/dag) og en sikkerhedsfaktor på 100.

# 5 Udledning af miljøkvalitetskriterier

## 5.1 Vandkvalitetskriterier (VKK)

Samlet set har det ikke været muligt at beregne et vandkvalitetskriterium (VKK) baseret på arternes følsomhedsfordeling (Species Sensitivity Distribution, SSD, metoden). Der er i fersk- og saltvand samlet fundet kroniske data for 12 arter fra fem taksonomiske grupper (alger, hjuldyr, ciliater, krebsdyr og fisk) (bilag A1, tabel A.1.2; tabel A.2.2). Dette antal af taksonomiske grupper opfylder ikke anbefalingen i TGD#27 (EU, 2018) på minimum otte forskellige taksonomiske grupper i en SSD. Data og SSD-beregninger er på trods af dette vist i bilag A4, idet beregningerne støtter op omkring det fastsatte VKK.

Den laveste NOEC/EC10 på 0,0002 µg/L for *Daphnia magna* er markant lavere end andre studier med *Daphnia* og andre lignende krebsdyr og stammer fra et studie, der af US-EPA ikke er klassificeret som direkte anvendelig i risikovurderinger (kategori S), men primært som supplerende information (se bilag A). Den laveste NOEC i kategorien C (bilag C) eller 1-2 i CRED systemet (bilag D) er for mysidet *Americamysis bahia* på 0,11 µg/L. Dette studie er derfor valgt som grundlag for fastsættelsen af VKK.

Der kan fastsættes et vandkvalitetskriterium for ferskvand baseret på kroniske data fra alger, invertebrater og fisk, hvorfor VKK fastsættes på baggrund af en sikkerhedsfaktor på 10 og den laveste NOEC/EC10, hvilket er NOEC for *Americamysis bahia* på 0,11 µg/L.

$$\mathbf{VKK_{(ferskvand)} = 0,11 \mu\text{g/L}/10 = 0,011 \mu\text{g/L}}$$

De tilgængelige økotoksikologiske data fra subletale langtidsstudier (bilag A1, tabel A.1.2; tabel A.2.2) inkluderer ikke studier med deciderede saltvandsorganismer, men udelukkende NOEC-værdier fra korttidsstudier med mortalitet som effektmål. Regnbueørred kan dog betragtes som en delvis saltvandsart, da den kan leve både i fersk- og saltvand. De økotoksikologiske studier – også med regnbueørred – er dog alle gennemført i ferskvand.

Grundet mangel på optimale data for saltvandsorganismer, findes et vandkvalitetskriterium for saltvand derfor iflg. EU's retningslinjer (EU 2018, TGD#27) ved brug af en højere sikkerhedsfaktor på alle de fundne data.

Baseret på NOEC/EC10 fra langtidsstudier er der fastsat et vandkvalitetskriterium for saltvand baseret på fersk- og saltvandsdata fra kroniske studier med alger, invertebrater og fisk, hvorfor VKK fastsættes på baggrund af en sikkerhedsfaktor på 100 og den laveste NOEC/EC10, hvilket er NOEC for *Americamysis bahia* på 0,11 µg/L.

$$\mathbf{VKK_{(saltvand)} = 0,11 \mu\text{g/L}/100 = 0,0011 \mu\text{g/L}}$$

## 5.2 Korttidsvandkvalitetskriterier (KVKK)

Akutte LC50/EC50 værdier er fundet for en lang række arter, nærmere bestemt 45 arter samlet for fersk- og saltvand fordelt på alger (4), amfibier (1), ciliater (1), crustacea (13), fisk (22), insekter (3) og bløddyr (1) (bilag A1, tabel A.1.1; tabel A.2.1). Ikke overraskende er krebsdyr og insekter generelt de mest følsomme organismegrupper. På trods af det store antal data er det ikke muligt at fastsætte KVKK på baggrund af SSD metoden, eftersom data ikke er normalfordelte og med stor margin fejler Goodness-of-fit tests. Det gælder både det fulde datasæt og separate undergrupper som f.eks. krebsdyr og/eller invertebrater.

Da der foreligger akutte EC50/LC50 data fra fisk, invertebrater og alger, bør KVKK ifølge TGD#27 (EU, 2018) i udgangspunktet fastsættes på baggrund af en sikkerhedsfaktor på 100 og den laveste EC50/LC50. Det er dog muligt at reducere sikkerhedsfaktoren til 10, såfremt det undersøgte stof har en specifik virkningsmekanisme, og der foreligger et antal relevante studier med den mest følsomme målgruppe inkluderet i datasættet. For insekticidet methyl-parathion vil dette være insekter eller leddyr generelt. Her foreligger studier med 16 arter, hvilket er vurderet at være tilstrækkeligt. En anden mulighed for at reducere sikkerhedsfaktoren er, hvis variationen i det fulde datasæt er begrænset, dvs. at standardafvigelsen i de log-transformerede data er mindre end 0,5, hvilket imidlertid ikke er tilfældet for methyl-parathion, hvor standardafvigelsen er 1,6. Grundet det store antal arter af insekter og leddyr er det alt i alt vurderet, at sikkerhedsfaktoren kan reduceres til 10.

Som det fremgår af bilag A1, tabel A.1.1 er den laveste 48 timers LC50 på 0,14 µg/L for *Daphnia magna* (OPP#3). Studiet er fundet i OPP databasen og er af US-EPA vurderet som acceptabel kvalitet i risikovurderingssammenhæng (kategori C). Studiet fra 1980 er udført som en statistisk tests på Fish and Wildlife Service Laboratories, Department of Interior. Renheden af teststoffet var 90%. På baggrund af denne LC<sub>50</sub> og en sikkerhedsfaktor på 10 kan KVKK fastsættes som følger:

$$\text{KVKK}_{(\text{ferskvand})} = 0,14 \mu\text{g/L} / 10 = 0,014 \mu\text{g/L}$$

Der findes relativt få korttidsstudier for salt- og brakvandsorganismer (bilag A2, tabel A.2.1). Brandt et al. (EcoTox#21) fandt for eksempel en LC50 på 0,2 µg/L for arten *Neomysis mercedis*, et lille rejelignende krebsdyr (pungrejer), der lever i brakvand. For saltvandsorganismer fastsættes KVKK generelt ved brug af en større sikkerhedsfaktor end for ferskvandsorganismer bl.a. grundet et mere komplekst økosystem og længere fødekæder. KVKK for saltvand kan ifølge TGD#27 fastsættes på baggrund af det fulde datasæt for fersk- og saltvandsorganismer eftersom en t-test for forskellig varians ikke viste signifikant forskel i datasættene ( $p=0,39$ ). Der anvendes i udgangspunktet en sikkerhedsfaktor på 100, med mindre der foreligger data for minimum én specifik salt- eller brakvandsorganisme uden for de basale taksonomiske grupper alger, krebsdyr eller fisk. Guzella et al. (EcoTox#8) undersøgte effekten af methyl-parathion på *Brachionus plicatis*, en zooplankton (Rotifer) fra brakvandsområder, ved hjælp af et kommercielt standardiseret økotoksikologisk værktøj (Rotokit M). Studiet er vurderet relevant og pålideligt ift. CRED (bilag C) og kan derfor indgå i fastsættelsen af sikkerhedsfaktoren for saltvandsorganismer, hvorfor denne fastsættes til 50. KVKK for saltvand fastsættes derfor som følger:

$$\text{KVKK}_{(\text{saltvand})} = 0,14 \mu\text{g/L} / 50 = 0,0028 \mu\text{g/L}$$

### 5.3 Kvalitetskriterium for sediment (SKK)

Ifølge TGD#27 (EU, 2018) bør der fastsættes et kvalitetskriterium for sediment for de stoffer, der bindes i tilstrækkeligt højt omfang til partikler og organisk materiale. Til at vurdere dette anvendes typisk Log K<sub>oc</sub> eller hvis denne ikke kendes log K<sub>ow</sub> med en afskæringsværdi på 3,0. Methyl-parathion befinder sig med en log K<sub>ow</sub> på 3,0 på grænsefladen af dette kriterium, hvorfor der er fastsat et SKK.

Som det fremgår af afsnit 4.4 og bilag A3, tabel A.3.1 er der et begrænset antal af brugbare studier til rådighed for fastsættelsen af SKK. De fundne fire LC<sub>50</sub> data, hvor testkoncentrationer er analytisk valideret, spænder for to arter (*Hyalella azteca* og *Chironomus dilutes*) fra 142 til 15905 µg/kg normaliseret til 5% organisk kulstof. Den laveste LC<sub>50</sub> er rapporteret som 14,2 µg/kg tv og er udført med *Hyalella* i en sedimenttype med 0,5 % organisk indhold (bilag A3, tabel A.3.1), hvorfor den kulstofnormaliseret LC<sub>50</sub> er 10 gange større, i.e. 142 µg/kg tv (5% OC). Samme studie fandt en NOEC for vækst af *Chironomus dilutes* på 115 mg/kg OC. Denne test var udført i en sedimenttype med 2,0 % organisk indhold (bilag A3, tabel A.3.1), hvilket normaliseret til 5% organisk kulstof svarer til en NOEC på 5.750 µg/kg tv, altså væsentligt over den rapporterede LC<sub>50</sub> for *Hyalella azteca*.

Ifølge TGD#27 (EU, 2018) fastsættes PNEC for sediment, når der kun findes én NOEC med en sikkerhedsfaktor på 100, efter at NOEC er kalibreret til et standard-sediment med 5% organisk kulstof. Hvis der ikke forefindes NOEC/EC<sub>10</sub>-værdier fra langtidsstudier fastsættes SKK på baggrund af den laveste LC<sub>50</sub> og en sikkerhedsfaktor på 1.000, og samtidig beregnes SKK også ved hjælp af den såkaldte ligevægtsmodel (Equilibrium Partitioning – EqP), hvor VKK omregnes til SKK ved hjælp af QSPR (Quantitative Structure Property Relationships) modeller.

Med LC<sub>50</sub>-værdier kan SKK fastsættes som LC<sub>50</sub>/1.000 og med NOEC værdier som NOEC/100, hvilket resulterer i markant forskellige SKK værdier, dvs.

$$SSK_{(LC50)} = 142 \mu\text{g/kg} / 1000 = 0,14 \mu\text{g/kg tv (5\% OC)}$$

$$SSK_{(NOEC)} = 5750 \mu\text{g/kg} / 100 = 57,5 \mu\text{g/kg tv (5\% OC)}$$

SKK baseret på NOEC er cirka en faktor 2,5-11 lavere end de kulstofnormaliserede LC<sub>50</sub> værdier fra de tre forskellige sedimenttyper, som er fundet for den eneste anden undersøgte art *Hyalella Azteca* (Ding et al. 2011), hvilket vurderes at være en for lille margin i forhold til at beskytte alle organismer.

Anvendes VKK på 0,011 µg/L i samspil med en K<sub>oc</sub> på 240 (tabel 2.1), kan SKK beregnes ved hjælp af EqP metoden som følger:

$$SKK_{eqp} = VKK \times K_{oc} = 0,011 \mu\text{g/L} \times 240 \text{ L/kg} = 2,64 \mu\text{g/kg OC}$$

Justeret til 5% OC svarer dette til et SKK<sub>eqp</sub> på 0,132 µg/kg tv, hvilket er i overensstemmelse med det SKK, der er baseret på LC<sub>50</sub> værdier (0,14 µg/kg tv).

Derfor anbefales det at benytte den laveste LC<sub>50</sub> værdi og en sikkerhedsfaktor på 1.000 som grundlag for fastsættelsen af SKK. Følgende SKK gælder for både salt- og ferskvandssedimenter:

$$SKK = LC50/1000 = 140 \mu\text{g/kg tv} / 1000 = 0,14 \mu\text{g/kg tv (5\% OC)}$$

$$SKK = 2,8 \mu\text{g/kg OC}$$

#### 5.4 Kvalitetskriterium for biota (BKK)

For stoffer med en log Kow  $\geq 3$  bør der ifølge TGD#27 fastsættes et kvalitetskriterium, der beskytter mod sekundær forgiftning af fugle, pattedyr og andre top-predatorer gennem ophobning i fødekæderne. Methyl-parathion har i PPDB<sup>2</sup> netop en log Kow på 3,0, mens andre kilder har opgivet logKow til 3,01-3,02 (UNEP, 2005). Stoffet vurderes derfor ikke umiddelbart at være til stor fare for de øverste led af fødekæden, men da der er målt BCF over 100 og da det ligger lige på afskæringsværdien for log Kow, er der fastsat et BKK.

Som beskrevet i afsnit 4.6 er ADI for methyl-parathion baseret på en NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) på 0,1 mg/kg lgv./dag i et studie med rotte over tre generationer. NOAEL kan omregnes til NOEC for føde ved at gange med faktoren BW/DFI, hvor BW er kropsvægt og DFI er det daglige fødeindtag. For langvarige rotteforsøg er denne konverteringsfaktor (BW/DFI) sat til 20 ifølge TGD#27 (EU, 2018). Det vil sige, at NOEC for føde er 2,0 mg/kg foder.

$$\text{NOAEL} = 0,1 \text{ mg/kg lgv./day}$$

$$\text{Konverteringsfaktor (BW/DFI)} = 20 \text{ kg lgv./kg foder/dag}$$

$$\text{NOEC}_{\text{foder}} = \text{NOAEL} \times (\text{BW/DFI}) = 0,1 \times 20 = 2,0 \text{ mg/kg foder}$$

BKK beregnes ud fra NOEC i fodringsforsøg, hvor  $\text{NOEC}_{\text{foder}}$  angiver den højeste koncentration i foderet, hvor der ingen statistisk signifikant forskel var mellem eksponerede og ueksponerede (kontrol) dyr. NOEC bestemmes ud fra toksikologiske dosis-respons data og en sikkerhedsfaktor, som beror på typen af underliggende data. Når NOEC stammer fra et kronisk toksikologisk forsøg med et pattedyr (i dette tilfælde rotte), er sikkerhedsfaktoren ifølge TGD#27 (EU, 2018) på en faktor 10, hvilket er den laveste værdi som anvendes. Hvis NOAEL stammer fra sub-kroniske studier, f.eks. af 28 eller 90 dages varighed, er den samlede sikkerhedsfaktor henholdsvis en faktor 10 og 3 gange større, dvs. på 100 eller 30.

$$\text{PNEC}_{\text{foder}} = \text{NOEC}_{\text{foder}}/10 = 2,0/10 = 0,2 \text{ mg/kg foder} = 200 \text{ } \mu\text{g/kg foder}$$

PNEC skal ifølge TGD#27 (EU, 2018) energinormaliseres for at kalibrere energiindholdet i føden, som er brugt i de bagvedliggende toksikologiske undersøgelser (her rottefoder) med energiindholdet i føden for de organismer, der ønskes beskyttet (her rovfisk fra øverste trofiske niveau). Så længe der ikke forventes en fortynding i fødekæden (biodilution, dvs. BFM eller  $\text{BCF} < 1$ ) anvendes fisk som fødekilde, i modsat fald anvendes muslinger som fødekilde. Fødens energiindhold i det pågældende rotteforsøg er ukendt, hvorfor tabelværdien for kommercielt foder anvendes i indestående ekstrapolering.

TGD#27 (EU, 2018) angiver, at:

$$\text{Energiindhold i foder} = 15.100 \text{ kJ kg}^{-1} \text{ tørvægt}$$

$$\text{Tørstofindhold i foder} = 92 \%$$

Derved kan PNEC udtrykt i energienhed beregnes som

---

<sup>2</sup> Pesticide Properties Database. <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>



$$PNEC_{\text{foder}} = \frac{200 \mu\text{g}/\text{kg}}{15100 \text{ KJ}/\text{kg} * 0,92} = 0,014 \mu\text{g}/\text{kJ}$$

TGD#27 (EU, 2018) angiver samtidig at:

Energiindhold i fisk = 21.000 kJ kg<sup>-1</sup> tørvægt

Tørstofindhold i fisk = 26,3 %

Energiindholdet i frisk fisk kan følgelig beregnes som: 21.000 kJ kg<sup>-1</sup> tørvægt \* 0,263 = 5.523 kJ kg<sup>-1</sup> fisk, vådvægt.

PNEC udtrykt som indhold i frisk fisk, PNEC<sub>fisk, vådvægt</sub> er derved:

PNEC<sub>fisk</sub> = 0,014 μg kJ<sup>-1</sup> \* 5523 kJ kg<sup>-1</sup> fisk, vådvægt = 78 μg/kg = 0,078 mg kg<sup>-1</sup> fisk, vådvægt.

Med et standard fedtindhold (lipid) i fisk på 5% (vådvægt) kan en lipidnormaliseret PNEC<sub>fisk</sub> beregnes som

$$PNEC_{\text{fisk,lipid}} = \frac{0,078 \frac{\text{mg}}{\text{kg fisk}}}{0,05 \frac{\text{kg lipid}}{\text{kg fisk}}} = 1,57 \frac{\text{mg}}{\text{kg lipid}}$$

**BKK = 78 μg/kg fisk vv**

**BKK = 1,57 mg/kg lipid**

## 5.5 Kvalitetskriterium for human konsum af vandlevende organismer (HKK)

Da methyl-parathion er klassificeret som meget giftigt ved indtagelse (H300/H330), skal der beregnes et kvalitetskriterium for human konsum af vandlevende organismer, HKK.

Der er anbefalet et acceptabelt dagligt indtag for mennesker (ADI - Acceptable Daily Intake) for methyl-parathion på 0,001 mg/kg lgv./dag (UNEP, 2005).

Ifølge TGD#27 (EU, 2018) beregnes HKK ud fra en forudsætning om, at maksimalt 20% af ADI stammer fra fisk og skaldyr, og at et standard-fødeindtag fra denne kilde svarer til 0,00163 kg fisk (vv)/kg lgv./dag.

Herved kan HKK beregnes som:

$$HKK_{\text{fisk,vv}} = \frac{0,2 * ADI}{0,00163} = \frac{0,2 * 0,001}{0,00163} = 0,12 \text{ mg}/\text{kg fisk (vv)}$$

Med et standard-fedtindhold (lipid) i fisk på 5% kan en lipidnormaliseret PNEC<sub>fisk</sub> beregnes som

$$\text{HKK}_{\text{fisk,lipid}} = \frac{0,12 \frac{\text{mg}}{\text{kg fisk}}}{0,05 \frac{\text{kg lipid}}{\text{kg fisk}}} = 2,45 \frac{\text{mg}}{\text{kg lipid}}$$

**HKK = 120 µg/kg fisk vv**

**HKK = 2,45 mg/kg lipid**

### 5.6 Vandkvalitetskriterier baseret på BKK og HKK

Ifølge TGD#27 (update) bør de fundne kvalitetskriterier for sekundær forgiftning af biota (BKK) og mennesker (HKK) konverteres til vandkvalitetskriterier for at sikre, at de fundne VKK, baseret på direkte effekter, er tilstrækkeligt konservative til at beskytte mod sekundære effekter gennem bioakkumulering i fødekæder.

VKK<sub>biota</sub> og VKK<sub>human konsum</sub> beregnes som BKK/BAF og HKK/BAF, hvor BAF er bioakkumuleringsfaktoren. Kendes denne ikke, kan den beregnes som BCF x BMF<sub>1-2</sub>, hvor BCF er biokoncentrationsfaktoren og BMF<sub>1</sub> er den (tredje) trofiske biomagnifikationsfaktor dækkende fødekæden fra alge til rovfisk og BMF<sub>2</sub> er biomagnifikationsfaktoren fra rovfisk til toppredatorer som rovfugle og pattedyr. Det sidste led (BMF<sub>2</sub>) for toppredatorer anvendes typisk kun for det marine og ikke det ferske vandmiljø. BMF<sub>1</sub> og BMF<sub>2</sub> kan bestemmes eksperimentelt, men i mangel af stoffsPECIFICKE værdier kan generiske værdier fra TGD#27 (update) anvendes. Da biomagnifikationspotentialet afhænger af stoffets fysisk-kemiske egenskaber, er de generiske værdier fastsat i forhold til stoffets log Kow og/eller målte BCF. For methyl-parathion med en logKow på 3,0 og en BCF på 71 er BMF<sub>1</sub> og BMF<sub>2</sub> fastsat til 1 i begge tilfælde, idet der ikke forventes biomagnificering af betydning.

Da BKK (78 µg/kg vv) er mindre end HKK (120 µg/kg vv) beregnes VKK på basis af BKK som følger:

Ferskvand:

$$\text{VKK}_{\text{fw,biota}} = \text{BKK}/(\text{BCF} \times \text{BMF}_1) = 78 \mu\text{g}/\text{kg}/(71 \text{ L}/\text{kg} \times 1) = 1,1 \mu\text{g}/\text{L}$$

Saltvand:

$$\text{VKK}_{\text{sw,biota}} = \text{BKK}/(\text{BCF} \times \text{BMF}_1 \times \text{BMF}_2) = 78 \mu\text{g}/\text{kg}/(71 \text{ L}/\text{kg} \times 1 \times 1) = 1,1 \mu\text{g}/\text{L}$$

I begge tilfælde er de ovenstående VKK, tilbageberegnet fra BKK, højere end de VKK, der er beregnet på baggrund af akvatiske økotoksikologiske data (afsnit 5.1 og 5.2), hvorfor VKK baseret på akvatiske økotoksikologiske data fastholdes som de endelige VKK for fersk- og saltvand.

# 6 Konklusion

Følgende kvalitetskriterier er anbefalet:

**Vandkvalitetskriterium, ferskvand (VKK) = 0,011 µg/L**

**Vandkvalitetskriterium, saltvand (VKK) = 0,0011 µg/L**

**Korttidsvandkvalitetskriterium, ferskvand (KVKK) = 0,014 µg/L**

**Korttidsvandkvalitetskriterium, saltvand (KVKK) = 0,0028 µg/L**

**Sedimentkvalitetskriterium (SKK) = 0,14 µg/kg tv (5% OC)**

**Sedimentkvalitetskriterium (SKK) = 2,8 µg/kg OC tv**

**Kvalitetskriterium for biota (BKK<sub>fisk</sub>) = 79 µg/kg fisk vv**

**Kvalitetskriterium for biota (BKK<sub>lipid</sub>) = 1,57 mg/kg lipid**

**Sundhedskvalitetskriterium (HKK<sub>fisk</sub>) = 120 µg/kg fisk vv**

**Sundhedskvalitetskriterium (HKK<sub>lipid</sub>) = 2,45 mg/kg lipid**

# 7 Referencer

De La Vega Salazar M.Y., Tabche L.M., García C.M. 1997. Bioaccumulation of Methyl Parathion and Its Toxicology in Several Species of the Freshwater Community in Ignacio Ramirez Dam in Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 38: 53-62.

Ding, Y., Weston, D.P., You, J. et al. 2011. Toxicity of Sediment-Associated Pesticides to *Chironomus dilutus* and *Hyalella Azteca*. *Arch Environ Contam Toxicol* 61: 83. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9614-2>

EcoTox#1. Liebig, M., G. Schmidt, D. Bontje, B.W. Kooi, G. Streck, W. Traunspurger, and T. Knacker. 2008. Direct and Indirect Effects of Pollutants on Algae and Algalivorous Ciliates in an Aquatic Indoor Microcosm. *Aquat. Toxicol.* 88:102-110

EcoTox#2. Altenburger, R., H. Walter, and M. Grote. 2004. What Contributes to the Combined Effect of a Complex Mixture? *Environ. Sci. Technol.* 38(23): 6353-6362.

EcoTox#3. Schafer, H., A. Wenzel, U. Fritsche, G. Roderer, and W. Traunspurger. 1993. Long-Term Effects of Selected Xenobiotics on Freshwater Green Algae: Development of a Flow-Through Test System. *Sci. Total Environ. Suppl.* 735-740.

EcoTox#4. Schafer, H., H. Hettler, U. Fritsche, G. Pitzén, G. Roderer, and A. Wenzel. 1994. Biotests Using Unicellular Algae and Ciliates for Predicting Long-Term Effects of Toxicants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 27(1): 64-81.

EcoTox#8. Guzzella, L., A. Gronda, and L. Colombo. Acute Toxicity of Organophosphorus Insecticides to Marine Invertebrates. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59(2): 313-320.

EcoTox#11a. Crossland, N.O. 1984. Fate and Biological Effects of Methyl Parathion in Outdoor Ponds and Laboratory Aquaria. II. Effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 8(5): 482-495

EcoTox#12. Jarvinen, A.W., and D.K. Tanner. 1982. Toxicity of Selected Controlled Release and Corresponding Unformulated Technical Grade Pesticides to the Fathead Minnow *Pimephales promelas*. *Environ. Pollut. A.* 27(3): 179-195

EcoTox#13. Schimmel, S.C., R.L. Garnas, J.M., Jr. Patrick, and J.C. Moore. 2002. Acute Toxicity, Bioconcentration, and Persistence of AC 222,705, Benthocarb, Chlorpyrifos, and Fenvalerate, Methyl Parathion, and Permethrin in the Estuarine Environment. *J. Agric. Food Chem.* 31(1): 104-113

EcoTox#14. Lydy, M.J., J.B. Belden, and M.A. Ternes. 1999. Effects of Temperature on the Toxicity of M-Parathion, Chlorpyrifos, and Pentachlorobenzene to *Chironomus tentans*.

EcoTox#18. Wolfe, M.F., D.E. Hinton, and J.N. Seiber. 1995. Aqueous Sample Preparation for Bioassay Using Supercritical Fluid Extraction. *Environ. Toxicol. Chem.* 14(6): 1001-1009.

EcoTox#21. Brandt, O.M., R.W. Fujimura, and B.J. Finlayson. 1993. Use of *Neomysis mercedis* (Crustacea: Mysidacea) for Estuarine Toxicity Tests. *Trans. Am. Fish. Soc.* 122(2): 279-288.

EcoTox#22. Nimmo, D.R., T.L. Hamaker, E. Matthews, and J.C. Moore. 1981. An Overview of the Acute and Chronic Effects of First and Second Generation Pesticides on an Estuarine Mysid. In: F.J. Vernberg, A. Calabrese, F.P. Thurberg, and W.B. Vernberg (Eds.), *Biological Monitoring of Marine Pollutants*, Academic Press, Inc., NY:3-19.

EU. 2018. Guidance Document No: 27. Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards.

Fisher, S., Lydy, M., Barger, J. and Landrum, P. (1993), Quantitative structure-activity relationships for predicting the toxicity of pesticides in aquatic systems with sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1307-1318. doi:10.1002/etc.5620120721

Maltby, L., Blake, N., Brock, T. C. and Van den Brink, P. J. (2005), Insecticide species sensitivity distributions: Importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 379-388. doi:10.1897/04-025R.1

Moermond, C. T., Kase, R., Korkaric, M. and Ågerstrand, M. (2016), CRED: Criteria for reporting and evaluating ecotoxicity data. *Environ Toxicol Chem*, 35: 1297-1309. doi:10.1002/etc.3259

OPP#X. Reference til databasen fra Office Pesticide Program, Environmental Protection Agency, USA (bilag C) hvor der er adgang til dataark for de enkelte studier. Screen dump foreligger for alle anvendte ark (OPP#) og kan rekvireres fra Miljøstyrelsen.

UNEP. 2005. United Nations Environment Programme. Methyl parathion: Supporting documentation from the European Community. Note by the secretariat. Volume 1: Report and proposed decision of Italy made to the European Commission under 91/414/EEC. March 2001. UNEP/FAO/RC/CRC.1/19/

WHO. 2004. Methyl Parathion in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. World Health Organization. 2004.

# 8 Bilag A. Giftighed over for vand- og sedimentlevende organismer

Ingen studier fra ECOTOX databasen blev vurderet til at være i kategori 1 i forhold til CRED kriterierne (se bilag D), eftersom de ikke var systematisk udførte og/eller beskrevet i forhold til gældende OECD standarder eller lignende (Moermond et al. 2016). Typisk er der rapporteret ECx værdier uden anvisning af dosis-respons kurver, evaluering af konkrete validitetskriterier eller lignende. De fleste studier er derfor, om end de ofte er i kategori 1 for relevans, vurderet til at være i næsthøjeste kategori i forhold til pålidelighed. Enkelte studier fra ECOTOX databasen blev fravalgt på grund af manglende relevans i forhold til indeværende opgave. Det drejer sig om studier, hvor målparametrene har været molekylære biomarkører eller adfærdsrespons, som ikke direkte kan relateres til effekter på populationsniveau og/eller felt og semi-feltstudier, hvor der ikke har været fuld kontrol med mulige co-variable. Dette er i overensstemmelse med anvisninger i TGD#27 (update) afsnit 2.6.2.2 og afsnit 2.9.2. Endelig er alle effektmål beskrevet som ">" eller "<" fravalgt. I oversigten nedenfor er medtaget data fra den amerikanske OPP pesticiddatabase, hvor data med kvalitetsniveauet C og S er medtaget (se bilag C), hvilket i store træk svarer til kriterierne 1 og 2 under CRED.

Den laveste 48 timers LC50 på 0,14 [0,09-0,2] µg/L er rapporteret i OPP databasen (OPP#3) for et *Daphnia magna* studie gennemført i 1980 på Fish and Wildlife Service Laboratories, Department of Interior, USA efter standarder beskrevet i FIFRA (The Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act). Testsystemet var statisk eksponering og den tilførte methyl-parathion er anført som 90% aktivstof. Hverken eksponeringsformen eller renheden af aktivstoffer er fuldt ud på niveau med nutidens datakrav, hvor det foretrækkes, at eksponeringen sker i "Flow-through" systemer og renhed af teststof er >98.5%. Datakvaliteten er dog af US-EPA karakteriseret som kategori "C", hvilket under OPP-standarder betyder en opfyldelse af alle krav i vejledninger under FIFRA og en ubegrænset anvendelse i risikovurderinger.

Den laveste NOEC-værdi på 0,0002 µg/L er rapporteret for *Daphnia magna* i OPP databasen (OPP#73). NOEC og LOEC var henholdsvis 0,0002 og 0,00025 µg/L. Forsøget er et 21 dages studie gennemført i 1993 på Valencia Universitet, Laboratory for Ecotoxicology. Studiet er gennemført under statisk eksponering med intervalmæssig udskiftning af eksponeringsvandet (static renewal system). Intervallet af vandudskiftning fremgår ikke. Vandet er spiket med methyl-parathion i en renhed på 80%. Studiet er klassificeret som kategori S, hvilket er tænkt som supplerende information, der ikke umiddelbart indgår direkte i risikovurderinger. Yderligere to studier med krebsdyr fandt NOEC/EC10-værdier under 1,0 µg/L. NOEC for *Daphnia magna* (OPP#68) og *Americamysis bahia* (OPP#76) er således rapporteret som henholdsvis 0,178 og 0,11 µg/L. Begge data er fra OPP databasen og kategoriseret som henholdsvis S og C (se bilag A1, tabel A.1.2). Forsøgslængden med *Daphnia* er 12 dage og eksponeringen skete i et statisk system spiket med methyl-parathion i en renhed på 96%. Forsøget er udført af firmaet Bayer i 1987 og kvalitetsvurderet af US-EPA i 1991. Mysidet *A. bahia* blev eksponeret 21 dage i et flow-through system. Eksponeringsvandet var spiket med methyl-parathion af teknisk renhed. Forsøget blev udført i 1981 på US-EPA's egne økotoxikologiske laboratorier i Duluth, Minnesota og kvalitetsvurderet af US-EPA i 1993.

## A1. Ferskvandsorganismer

### A.1.1. Akut giftighed<sup>#§</sup>

	Varighed	Effekt, EC <sub>50</sub> /LC <sub>50</sub>	Værdi µg/l	Reference	Troværdighed §
<b>Alger</b>					
<i>Skeletonema costatum</i>	96 t	Biomasse	5300	OPP#1	S
<i>Scenedesmus vacuolatus</i>	24 t	Vækst	8160	EcoTox#2	2
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	72 t	Vækst	15000	EcoTox#4	2
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	96t	Vækst	2900	EcoTox#4	2
<b>Ciliater</b>					
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	48 t	Dødelighed	4650	EcoTox#4	2
<b>Bløddyr</b>					
<i>Crassostrea virginia</i>	48 t	Dødelighed	12000	OPP#13	C
<b>Krebsdyr</b>					
<i>Acartia tonsa</i>	96 t	Dødelighed	28	OPP#7	S
<i>Americamysis bahia*</i>	96 t	Dødelighed	0,98	OPP#8	C
<i>Americamysis bahia*</i>	48 t	Dødelighed	0,8	OPP#9	C
<i>Daphnia magna</i>	48 t	Dødelighed	0,14	OPP#3	C
<i>Daphnia magna</i>	96 t	Dødelighed	7240	OPP#69	C
<i>Gammarus fasciatus</i>	96 t	Dødelighed	3,8	OPP#4	S
<i>Litopenaeus stylirostris</i>	96 t	Dødelighed	1,4	OPP#12	C
<i>Orconectes nais</i>	24 t	Dødelighed	15	OPP#5	S

<i>Palaemonetes kadiakensis</i>	48 t	Dødelighed	2,5	OPP#54	S
<i>Penaeus aztecus</i>	48 t	Dødelighed	2,6	OPP#10	S
<i>Simocephalus serrulatus</i>	48 t	Dødelighed	0,37	OPP#2	C
<b>Insekter</b>					
<i>Hexagenia sp.</i>	96 t	Dødelighed	17	OPP#60	C
<i>Ischnura sp.</i>	96 t	Dødelighed	23	OPP#6	S
<i>Chironomus tentans</i>	96 t	Dødelighed	64900	EcoTox#14	2
<b>Padder</b>					
<i>Pseudacris triseriata</i>	96 t	Dødelighed	3700	OPP#45	S
<b>Fisk</b>					
<i>Pimephales promelas</i>	96 t	Dødelighed	7850	EcoTox#8	2
<i>Pimephales promelas</i>	96 t	Dødelighed	5360	EcoTox#12	2
<i>Oryzias latipes</i>	96 t	Dødelighed	11200	EcoTox#18	2
<i>Aplocheilichthys latipes</i>	24 t	Dødelighed	2900	OPP#61	S
<i>Carassius auratus</i>	96 t	Dødelighed	9000	OPP#20	S
<i>Cyprinodon variegatus</i>	96 t	Dødelighed	12000	OPP#23	C
<i>Cyprinodon variegatus</i>	96 t	Dødelighed	3400	OPP#46	C
<i>Cyprinus carpio</i>	96 t	Dødelighed	7130	OPP#21	S
<i>Esox lucius</i>	24 t	Dødelighed	760	OPP#65	S
<i>Gambusia affinis</i>	48 t	Dødelighed	13400	OPP#50	S
<i>Ictalurus melas</i>	96 t	Dødelighed	6640	OPP#24	S
<i>Ictalurus punctatus</i>	96 t	Dødelighed	5240	OPP#25	C



<i>Leiostomus xanthurus</i>	96 t	Dødelighed	93	OPP#30	S
<i>Leiostomus xanthurus</i>	96 t	Dødelighed	59000	OPP#31	S
<i>Lepomis cyanellus</i>	96 t	Dødelighed	6860	OPP#26	S
<i>Lepomis macrochirus</i>	96 t	Dødelighed	4380	OPP#27	C
<i>Lepomis macrochirus</i>	96 t	Dødelighed	1000	OPP#44	S
<i>Lepomis macrochirus</i>	24 t	Dødelighed	6470	OPP#51	S
<i>Lepomis macrochirus</i>	96 t	Dødelighed	2400	OPP#53	S
<i>Micropterus salmoides</i>	96 t	Dødelighed	5220	OPP#28	S
<i>Morone saxatilis</i>	96 t	Dødelighed	790	OPP#47	C
<i>Oncorhynchus clarkii</i>	96 t	Dødelighed	1850	OPP#16	C
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	96 t	Dødelighed	5300	OPP#15	C
<i>Oncorhynchus mykiss</i> <sup>^</sup>	96 t	Dødelighed	3700	OPP#17	C
<i>Oncorhynchus mykiss</i> <sup>^</sup>	96 t	Dødelighed	6440	OPP#48	C
<i>Oncorhynchus mykiss</i> <sup>^</sup>	96 t	Dødelighed	7500	OPP#55	C
<i>Oncorhynchus mykiss</i> <sup>^</sup>	96 t	Dødelighed	2750	OPP#64	S
<i>Perca flavescens</i>	96 t	Dødelighed	3060	OPP#29	S
<i>Pimephales promelas</i>	96 t	Dødelighed	8900	OPP#22	S
<i>Pimephales promelas</i>	96 t	Dødelighed	7200	OPP#43	S
<i>Pimephales promelas</i>	96 t	Dødelighed	9500	OPP#52	C
<i>Pimephales promelas</i>	96 t	Dødelighed	9400	OPP#59	C
<i>Salvelinus namaycush</i>	96 t	Dødelighed	3780	OPP#19	C
<i>Salvelinus namaycush</i>	96 t	Dødelighed	3780	OPP#63	S
<i>Zacco platypus</i>	24 t	Dødelighed	4600	OPP#62	S

# Form eller salt er ikke angivet; \$ Alle data er baseret på kemiske analyser og ikke nominelle koncentrationer; § Se bilag C og Moermond et al. (2016); \* *Mysidopsis bahia* er i dag omdøbt til *Americamysis bahia* og er en brakvandsorganisme; ^Regnbueørred (Rainbow trout) kan tilbringe dele af sit liv i både saltvand og ferskvand.;

### A.1.2. Kronisk giftighed<sup>#</sup><sup>§</sup>

	Varighed	Effekt NOEC/EC <sub>10</sub>	Værdi µg/l	Reference	Troværdighe
<b>Alger</b>					
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	4 d	Vækst	220	EcoTox#3	2
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	4 d	Vækst	220	EcoTox#4	2
<i>Cryptomonas sp.</i>	14 d	Vækst	680	EcoTox#1	2
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	3 d	Vækst	8000	EcoTox#4	2
<i>Urotricha sp.</i>	1 d	Overlevelse	900	EcoTox#1	2
<b>Ciliater</b>					
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	2 d	Vækst	2050	EcoTox#4	2
<b>Krebsdyr</b>					
<i>Daphnia magna</i>	12 d	Dødelighed	0,178	OPP#68	S
<i>Daphnia magna</i>	2 d	Dødelighed	3210	OPP#69	C
<i>Daphnia magna</i>	21 d	Dødelighed	0,43	OPP#70	S
<i>Daphnia magna</i>	21 d	Dødelighed	0,0002	OPP#73	S
<i>Daphnia magna</i>	21 d	Dødelighed	1600	OPP#91	S
<i>Americamysis bahia</i> *	21 d	Dødelighed	0,11	OPP#76	C
<b>Fisk</b>					
<i>Pimphales promelas</i>	32 d	Vækst	310	EcoTox#12	2
<i>Pimephales promelas</i>	43 d	Dødelighed	310	OPP#72	C
<i>Cyprinodon variegatus</i>	38 d	Dødelighed	8,86	OPP#92	C

# Form eller salt er ikke angivet; § Alle data er baseret på kemiske analyser og ikke nominelle koncentrationer; §Se bilag C og Moermond et al. (2016) \* *Americamysis bahia* hed tidligere *Mysidopsis bahia* og er en brakvandsorganisme

## A.2. Saltvandsorganismer

### A.2.1. Akut giftighed<sup>#§</sup>

	Varighed	Effekt EC <sub>50</sub> /LC <sub>50</sub>	Værdi µg/l	Reference	Troværdighed <sup>§</sup>
<b>Hjuldyr</b>					
<i>Brachionus plicatilis</i>	1 d	Dødelighed	>67000	EcoTox#8	2
<b>Krebsdyr</b>					
<i>Penaeus duorarum</i>	96 t	Dødelighed	1,2	OPP#11	5
<i>Artemia sp</i>	24 t	Dødelighed	20000	EcoTox#8	2
<i>Penaeus duorarum</i>	96 t	Dødelighed	1,2	EcoTox#13	2
<i>Mysidopsis bahia</i> *	96 t	Dødelighed	0,78	EcoTox#13	2
<i>Mysidopsis bahia</i> *	96 t	Dødelighed	0,77	EcoTox#22	2
<i>Neomysis mercedis</i>	96 t	Dødelighed	0,2	EcoTox#21	2

# Form eller salt er ikke angivet; § Alle data er baseret på kemiske analyser og ikke nominelle koncentrationer; § Se bilag C og Moermond et al. (2016);\* *Mysidopsis bahia* er i dag omdøbt til *Americamysis bahia* og er en brakvandsorganisme..

### A.2.2. Kronisk giftighed<sup>#</sup><sup>§</sup>

	Varighed	Effekt NOEC/EC <sub>10</sub>	Værdi µg/l	Reference	Troværdighed <sup>§</sup>
<b>Hjuldyr</b>					
<i>Brachionus plicatilis</i>	1 d	Dødelighed	20000	EcoTox#8	2
<b>Krebsdyr</b>					
<i>Artemia sp.</i>	1 d	Dødelighed	9600	EcoTox#8	2
<b>Fisk</b>					
<i>Salmo gairdneri</i>	28 d	Vækst	166	EcoTox#11a	2

# Form eller salt er ikke angivet; § Alle data er baseret på kemiske analyser og ikke nominelle koncentrationer; §Se bilag C og Moermond et al. (2016).

## A.3 Sedimentlevende organismer

### A.3.1 Data for sedimentlevende organismer

	OC %	Målt	Tid	Effekt	Værdi mg/kg OC	Værdi µg/kg tv	Værdi µg/kg 5% OC	Reference	Troværdighed <sup>§</sup>
<b>Insekter</b>									
<i>Chironomus dilutus</i>	2	Ja	10d	LC50	318	6362	15905*	Ding et al. (2011)	2
<i>Chironomus dilutus</i>	2	Ja	10d	NOEC <sup>#</sup>	115	2300*	5750*	Ding et al. (2011)	2
<i>Chironomus dilutus</i>	3	Nej	24t	EC50	134,3*	4,03	6,7*	Fisher et al. (1993)	3 (ikke anvendt)
<b>Krebsdyr</b>									
<i>Hyalella azteca</i>	0,5	Ja	10d	LC50	2,8	14,2	142*	Ding et al. (2011)	2
<i>Hyalella azteca</i>	2,0	Ja	10d	LC50	5,2	103	257,5*	Ding et al. (2011)	2
<i>Hyalella azteca</i>	2,8	Ja	10d	LC50	12,7	356	635,7*	Ding et al. (2011)	2

§ Se bilag C og Moermond et al. (2016);\*Beregnet på baggrund af organisk kulstof i test sediment; # NOEC for vækst.

## A.4 Data for SSD

### A.4.1 SSD for VKK

Til understøttelse af fastsættelsen af VKK for ferskvand er der fuldført en SSD beregning. Dataudvælgelsen har fulgt følgende principper:

- Grunddata er kroniske data fra tabel A.1.2 og A.2.2 med ferskvandsorganismer og saltvandsorganismer, dvs. alle data der er vurderet til kategori 1-2 i CRED og/eller S og C i OPP databasen.
- Data for arter i ferskvand og saltvand er anvendt i samme SSD, da en F-test og efterfølgende t-test ikke viste signifikant forskel i de to datasæt.
- For arter med flere en ét datapunkt er anvendt geometrisk gennemsnit (geomean).

Kroniske data fra salt- og ferskvand, som indgår i SSD for methyl-parathion. Grå celler indikerer at data er det geometriske gennemsnit af flere data.

Group	Species	SSD data
Algae	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	220
Algae	<i>Cryptomonas sp.</i>	680
Algae	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	8000
Algae	<i>Urotricha sp.</i>	900
Ciliate	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	2050
Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	2,393915
Crustacea	<i>Americamysis bahia</i>	0,11
Crustacea	<i>Artemia sp</i>	9600
Rotifer	<i>Brachionus plicatilis</i>	20000
Fish	<i>Pimphales promelas</i>	310
Fish	<i>Cyprinodon variegatus</i>	8,86
Fish	<i>Salmo gairdneri</i>	166

Resultatet af SSD udført med ETX.2.2 udviklet af RIVM er vist som screen-dumps forneden. HC5 er beregnet som 0,54 [0,012-5,26] µg/L. Data viser en acceptabel Goodness of Fit ift. normalfordeling. Det anbefalede VKK baseret på anvendelse af sikkerhedsfaktormetoden på 0,011 µg/L (se afsnit 5.1) er i samme

størrelsesorden som den beregnede HC5 på 0,54 µg/L og svarer præcist til den nedre del af konfidensintervallet omkring HC5, dvs. den såkaldte LL-HC5 på 0,012 µg/L. LL-HC5 angiver teoretisk den koncentration, som beskytter 95% af alle arter med 95% sikkerhed, modsat medianværdien for HC5, hvor der er en fifty-fifty sandsynlighed for at have enten under- eller overestimeret andelen (95%) af "beskyttet" arter. Så selv om SSD metoden ikke direkte kan anvendes i VKK fastsættelsen pga. antallet af undersøgte organismegrupper, kan udkommet være med til at understøtte validiteten af det anbefalede VKK.

### HC5 results

Name	Value	log10 (Value)	Description
LL HC5	1,224E-2	-1,912E0	lower estimate of the HC5
HC5	5,398E-1	-2,678E-1	median estimate of the HC5
UL HC5	5,259E0	7,209E-1	upper estimate of the HC5
sprHC5	4,296E2	2,633E0	spread of the HC5 estimate

### Toxicity data

#### Anderson-Darling test for normality

Sign. level	Critical	Normal?
0,1	0,631	Accepted
0,05	0,752	Accepted
0,025	0,873	Accepted
0,01	1,035	Accepted

AD Statistic: **4,23E-1**  
n: **12**

Note: below n=8, this test may not perform well.

#### Kolmogorov-Smirnov test for normality

Sign. level	Critical	Normal?
0,1	0,819	Accepted
0,05	0,895	Accepted
0,025	0,995	Accepted
0,01	1,035	Accepted

KS Statistic: **7,64E-1**  
n: **12**

Note: below n=20, this test may not perform well.

#### Cramer von Mises test for normality

Sign. level	Critical	Normal?
0,1	0,104	Accepted
0,05	0,126	Accepted
0,025	0,148	Accepted
0,01	0,179	Accepted

CM Statistic: **6,14E-2**  
n: **12**

Note: below n=20, this test may not perform well.

#### A.4.2. SSD for KVKK

Akut data for ferskvands – og saltvandsorganismer var ikke brugbare til SSD ift. de anvendte metoder og kriterier for Goodness-of-fit i ETX 2.2 (Anderson-Darling; Kolmogoroc-Smirnov; Cramer von Mises). Data tilhører derfor ikke en normal fordeling, hvorfor SSD ikke kan benyttes. En analyse af delmængder af datasæt viste det samme resultat, f.eks. gruppen af invertebrater (bløddyr, krebsdyr og insekter).

Maltby et al. (2005) rapporterede HC5 for methyl-paration og en række andre pesticider. De fandt en HC5 på 0,31 µg/L for gruppen af leddyr med den nedre og øvre 95% percentil (LL-HC5 og HL-HC5) på henholdsvis 0,08 og 0,81 µg/L. Det fremgår ikke af artiklen hvor mange data, der indgår specifikt for methyl-parathion, men kun at den nedre grænse for data i artiklen er sat på seks arter. Resultatet af Goodness-of-fit tests fremgår heller ikke i Maltby et al. (2005).

#### A.5. ADI fastsættelse

Boks A5. Data, der indgik i EU's fastsættelse af ADI for methyl-parathion (UNEP, 2012)

The calculation of an acceptable daily intake is based on results of the chronic feeding studies in the dog and rat and on the results of the oncogenicity study in the mouse, the three-generation and teratogenicity studies in the rat and human volunteer investigations.

The following, 'no-observed-adverse-effect levels' (NOAELs) were found in these studies:

Mouse oncogenicity/carcinogenicity study:

1 ppm, equal to approximately 0.1 mg/kg body weight/day based on red cell and male brain cholinesterase inhibition activity

Dog 1 year feeding study:

equal to 0.3 mg/kg body weight/day based on no toxicologically significant effects at the highest dose used in the study

Rat chronic feeding study:

2 and 5 ppm, equal to approximately 0.1 and 0.25 mg/kg body weight/day based on inhibition of plasma, red cell and male brain cholinesterase activity

Rat Three-generation study

2 ppm, equal to 0.3 mg/kg body weight/day based on reduction in litter size, pup survival rate and lactation rate

Rat teratogenicity study

25 ppm equivalent to 1 mg/kg body weight/day based on maternal and foetotoxic effects

Human 20 mg/person/day equivalent to 0.3 mg/kg body weight/day based on inhibition of Volunteers cholinesterase activity



# 9 Bilag B. Søgekriterier i ECOTOX

## < Effect Measurements × Reset

Contains     Exact Match

*Enter each effect measurement on separate lines.*

Include Delayed Effects Results

**Any Effect Group**

<input type="checkbox"/> <b>Accumulation Group</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>Growth Group</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Behavior Group</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Developmental
<input checked="" type="checkbox"/> Avoidance	<input checked="" type="checkbox"/> Growth
<input checked="" type="checkbox"/> Behavior	<input checked="" type="checkbox"/> Morphological
<input checked="" type="checkbox"/> Feeding Behavior	<input checked="" type="checkbox"/> <b>Mortality Group</b>
<input type="checkbox"/> <b>Biochemical Group</b>	<input type="checkbox"/> <b>Multiple Group</b>
<input type="checkbox"/> Biochemical	<input checked="" type="checkbox"/> <b>Physiology Group</b>
<input type="checkbox"/> Enzyme	<input checked="" type="checkbox"/> Injury
<input type="checkbox"/> Hormone	<input checked="" type="checkbox"/> Immunological
<input type="checkbox"/> <b>Cellular Group</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Intoxication
<input type="checkbox"/> Cellular	<input checked="" type="checkbox"/> Physiological
<input type="checkbox"/> Genetic	<input checked="" type="checkbox"/> <b>Population Group</b>
<input type="checkbox"/> Histological	<input checked="" type="checkbox"/> <b>Reproduction Group</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Ecosystem Group</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Reproduction
<input checked="" type="checkbox"/> Ecosystem Process	

View/Modify Entries for Selected Effect Measurement(s)

## < Endpoints

### Any Endpoints

#### Concentration Based Endpoints

- |   |   |
|---|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> AC xx (all % values)    | <input checked="" type="checkbox"/> BMC/BMD xx (all % values) |
| <input checked="" type="checkbox"/> AC50                    | <input checked="" type="checkbox"/> LOEC                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC/LD xx (all % values) | <input checked="" type="checkbox"/> LOEL                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC50                    | <input checked="" type="checkbox"/> NOEC                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> LD50                    | <input checked="" type="checkbox"/> NOEL                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> EC/ED xx (all % values) | <input checked="" type="checkbox"/> NOEL                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> EC50                    | <input checked="" type="checkbox"/> MATC                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> ED50                    | <input checked="" type="checkbox"/> LETC/ATCN                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> IC/ID xx (all % values) | <input checked="" type="checkbox"/> LETH (100% mortality)     |
| <input checked="" type="checkbox"/> IC50                    | <input checked="" type="checkbox"/> ZERO (0% mortality)       |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID50                    |   |

#### Time Based Endpoints

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> LT xx (all % values) | <input checked="" type="checkbox"/> ET xx (all % values) |
| <input checked="" type="checkbox"/> LT50                 | <input checked="" type="checkbox"/> ET50                 |

#### Bioaccumulation/Bioconcentration Factor

- |   |  |
|---|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> BCF (based on wet wt. or unknown) | <input checked="" type="checkbox"/> ER xx (all % values) |
| <input checked="" type="checkbox"/> BCFD (based on dry wt)            | <input checked="" type="checkbox"/> LOER                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> BAF                               | <input checked="" type="checkbox"/> NOER                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR xx (all % values)              | <input checked="" type="checkbox"/> MATR                 |

Statistics, No Endpoint

Endpoint Not Reported (NR)

## < Species

× Reset

### Specific Species

Enter each species name on separate lines.

🔍 Species name(s) ?

Contains  Exact Match

#### Kingdom

Animals

Plants

Both

#### For Name Searches

Genus/Species Name

Common Name

Other Taxonomic Names

*OR: Select from Species Groups below, with the option to limit results by Special Interest groups.*

#### Any Species Group

##### Animals

Amphibians

Birds

Crustaceans

Fish

Insects/Spiders

Other Invertebrates

Mammals

Molluscs

Reptiles

Worms

##### Plants

Algae

Moss, Hornworts

Fungi

Flowers, Trees, Shrubs,  
Ferns

## < Test Conditions

× Reset

### Any Test Locations

- Lab
- Not Reported
- All Field Tests
  - Field, Artificial
  - Field, Natural
  - Field, Undeterminable

### Any Exposure Media

#### Water

- Fresh Water
- Salt Water
- Fresh or Saltwater Not Specified

#### Soil

- Artificial
- Humus
- Litter
- Manure
- Mineral Soil
- Soil Mixture
- Natural Soil
- Unspecified Soil

#### Artificial

- Hydroponic
- Other (e.g. Filter Paper, Plaster of Paris, Agar)

No Substrate

Not Reported

# 10 Bilag C. Kvalitetsevaluering af OPP data

## OPP Pesticide Ecotoxicity Database

I USA har de Regionale Centre for Integrated Pest Management (IPM) under United States Department of Agriculture, samlet en database med økotoksikologiske data, der har været indsendt, gennemgået og kvalitetsmæssigt anerkendt i forbindelse med de amerikanske godkendelsesprocedure (Se Boks A).

I fastsættelsen af vandkvalitetskriteriet for methyl-parathion er der anvendt data fra OPP databasen.

Kvalitetsevalueringen i OPP opererer med forskellige kvalitetskategorier<sup>3</sup>. De relevante i denne sammenhæng er således:

*“The three study categories used by the Agency to classify studies are core, supplemental, and invalid are represented by a letter code as C, S, or IN”.*

Eller mere specifikt:

**Core:** *All essential information was reported and the study was performed according to recommended EPA or ASTM methodology. Minor inconsistencies with standard recommended procedures may be apparent; however, the deviations do not detract from the study's soundness or intent. Studies within this category fulfill the basic requirements of current FIFRA guidelines and are acceptable for use in a risk assessment.*

**Supplemental:** *Studies in this category are scientifically sound; however, they were performed under conditions that deviated substantially from recommended protocols. Results do not meet guideline requirements; however, the information may be useful in a risk assessment. Some examples of the conditions that may place a study in a supplemental category include:*

- *Unacceptable or non-native test species*
- *Test material not properly identified*
- *Dosage levels tested were less than 5000 ppm (or 100 ppm for aquatics), but not high enough to produce an effect on the tested organisms or a precise LC50/EC50 (exceptions sometimes made for highly insoluble chemicals).*
- *Deviations from recommended diet preparation measures*
- *Deviations from recommended water quality characteristics which may have stressed test organisms and affected toxicological response (e.g., low D.O. in aquatic studies)*
- *Tested organisms were older or younger than required age.*

Som det kan ses på de efterfølgende sider er studiet med andemad (*Lemna gibba*) karakteriseret under kategori "C", hvilket tolkes som fuldt acceptabelt.

---

<sup>3</sup> <http://www.ipmcenters.org/ecotox/DatabaseGuidance.pdf>

Boks A. Tekst fra OPP PESTICIDE ECOTOXICITY DATABASE. <http://www.ipmcenters.org/ecotox/>

*The Ecological Fate and Effects Division of the USEPA Office of Pesticide Programs is continuing efforts to update the database with all EPA reviewed ecotoxicity endpoints for pesticides registered or previously registered in the U.S. Toxicity data on over 4,000 active ingredients, metabolites, and multi-ingredient formulations are presently included in the database. The toxicity data inputted into the database is compiled from actual studies reviewed by EPA in conjunction with pesticide registration or reregistration and studies performed by USEPA, USDA and USFWS laboratories which have been reviewed by Agency biologists and judged acceptable for use in the ecological risk assessment process. The database presently contains over 30,000 records for acute and chronic toxicity endpoints on terrestrial and aquatic plants, aquatic invertebrates, terrestrial invertebrates, insects, amphibians, fish, birds, reptiles, and wild mammals. The database is presented in Microsoft ACCESS and contains 35 fields per record entry. Each record entry summarizes one ecotoxicity study for a single species or one toxicity endpoint from a multiple species study and includes EPA tracking information regarding that study submission.*

Foruden data fundet i OPP database er der foretaget en søgning i databasen ECOTOX, der er udviklet og vedligeholdt af US-EPA. Søgkriterier i denne database fremgår af bilag B. Alle data i denne søgning er kvalitetsvurderet i forhold til relevans og videnskabelig pålidelighed som anbefalet i CRED metoden. De evaluerede kriterier fremgår af skabelonen vist i bilag D.

# 11 Bilag D. CRED Evalueringer

ALLE KONKRETE CRED-EVALUERINGER KAN REKVIRERES HOS MILJØSTYRELSEN.

## EVALUATION SCHEME FOR CRED ASSESSMENTS

This is a template devoted to evaluation of ecotoxicological data

According to Criteria for Reporting and Evaluating Ecotoxicity Data (CRED)

Adopted from Moermond et al. 2016

Moermond, C. T., Kase, R. , Korkaric, M. and Ågerstrand, M. (2016), CRED: Criteria for reporting and evaluating ecotoxicity data. *Environ Toxicol Chem*, 35: 1297-1309. doi:[10.1002/etc.3259](https://doi.org/10.1002/etc.3259)

CRED: Criteria for Reporting and Evaluating Ecotoxicity Data

*Environ Toxicol Chem* 35, 2016 1299

Table 1. Reliability categories<sup>a</sup>

Score	Description
R1	Reliable without restrictions: All critical reliability criteria for this study are fulfilled. The study is well designed and performed, and it does not contain flaws that affect the reliability of the study.
R2	Reliable with restrictions: The study is generally well designed and performed, but some minor flaws in the documentation or setup may be present.
R3	Not reliable: Not all critical reliability criteria for this study are fulfilled. The study has clear flaws in study design and/or how it was performed.
R4	Not assignable: Information needed to make an assessment of the study is missing. This concerns studies that do not give sufficient experimental details and that are only listed in abstracts or secondary literature (books, reviews, etc.) or studies of which the documentation is not sufficient for assessment of reliability for one or more vital parameters.

<sup>a</sup>Adapted from Klimisch et al. [3].

1304 *Environ Toxicol Chem* 35, 2016

C.T.A. Moermond et al.

Table 3. Relevance categories

Score	Description
C1	Relevant without restrictions: The study is relevant for the purpose for which it is evaluated.
C2	Relevant with restrictions: The study has limited relevance for the purpose for which it is evaluated.
C3	Not relevant: The study is not relevant for the purpose for which it is evaluated.
C4	Not assignable: Studies that do not give sufficient details since the result is presented in abstracts or secondary literature (books, reviews, etc.) or studies of which the documentation is not sufficient for assessment of relevance for one or more vital parameters.

## EVALUATION SCHEME FOR CRED ASSESSMENTS

*Remark: If a study includes data on several tests / test species / test endpoints, relevance and reliability of these endpoints may differ. In this case, separate sheets should be completed for each endpoint.*

<b>Evaluated study (full reference):</b>	
<b>Test substance:</b>	
<b>Evaluated test:</b>	
<b>Evaluated test species:</b>	
<b>Evaluated test endpoint(s):</b>	
<b>Date:</b>	
<b>Evaluator (institution):</b>	

*For each question, mark one appropriate answer with x. NR = Not Reported. NA = Not Applicable.*



## A. Relevance of the data

Remark: Relevance of a study mainly depends on the scope of the assessment / the regulatory framework, for which the study is evaluated. The following 12 questions should therefore be answered in the context of the overall assessment. NR= Not Reported. NA= Not Assessed.

	Yes	No	NR	NA
<b>1. Is the tested species relevant for the compartment under evaluation?</b>				
<i>Example: An aquatic species should be tested to evaluate risks for the aquatic environment.</i>				
<b>Remarks:</b>				

	Yes	No	NR	NA
<b>2. Are the tested organisms relevant for the tested compound?</b>				
<i>Example: In case of an ERA for an antibiotic, cyanobacteria should be used as test species instead of algae.</i>				
<b>Remarks:</b>				

	Yes	No	NR	NA
<b>3. Are the reported endpoints appropriate for the regulatory purpose?</b>				
<i>Example: Acute effects on aquatic organisms are not relevant for the environmental risk assessment of human pharmaceuticals</i>				
<b>Remarks:</b>				

	Yes	No	NR	NA
<b>4. Are the reported endpoints appropriate for the investigated effects or the mode of action of the test substance?</b>				
<i>Explanation: When a risk assessment is performed for a substance, for which information is available on a specific mode of action that is considered relevant for environmental organisms, studies including</i>				

endpoints assessing this particular mode of action are most appropriate. For instance, if an API is known to affect reproduction of vertebrates, the endpoints of the fish early life stage test may not be appropriate. Instead, fish tests should include endpoints such as vitellin levels, secondary sex characteristics, sex ratio and reproduction depending on the specific mode of action of the substance (OECD 2012).

**Remarks:**

**Yes          No          NR          NA**

**5. Is the effect relevant on a population level?**

--	--	--	--

*Explanation: Endpoints of the guideline studies, on which the ERA of human pharmaceuticals is based, are generally population relevant. For non-standard tests, population relevance has to be evaluated on a case by case basis.*

**Remarks:**

**Yes          No          NR          NA**

**6. Is the recorded effect statistically significant, biologically relevant and appropriate for the regulatory purpose?**

--	--	--	--

*Explanation: In the context of environmental risk assessment, a biologically relevant effect is an effect that is important and meaningful for environmental health (EFSA 2011). In a test system with relatively little control variation, minor changes may be statistically significant without necessarily being biologically relevant. To evaluate risks caused by chronic exposure, NOEC or EC<sub>10</sub> values are used, while EC<sub>50</sub> values are not appropriate. For the EC<sub>10</sub>, it has to be evaluated on a case-by-case basis, if the effect is within biological variation of the control response. To evaluate risks caused by acute exposure (note that this is only relevant for some terrestrial tests with human pharmaceuticals), EC<sub>50</sub> values are preferred.*

**Remarks:**

**Yes          No          NR          NA**

**7. Are appropriate life-stages studied?**

--	--	--	--

*Explanation/example: The tested life stage should be (a) appropriate for the selected test and test design and (b) relevant for the expected effect of the API. For instance, fish early life stages are not appropriate for studying effects on reproduction.*

**Remarks:**

**Yes                  No                  NR                  NA**

**8. Are the test conditions appropriate for the tested species and relevant for the assessment?**

--	--	--	--

*Explanation/example: Test organisms should be tested under appropriate conditions. For instance, freshwater species should be tested in freshwater and saltwater species in saltwater. If a test with freshwater or saltwater species is required depends on the scope of the assessment.*

**Remarks:**

**Yes                  No                  NR                  NA**

**9. Is the timing and duration of exposure relevant and appropriate for the studied endpoints and species?**

--	--	--	--

*Explanation: The required exposure time should be appropriate for the test organism and the studied endpoint. Chronic studies should include sensitive life stages or cover the whole life cycle.*

**Remarks:**

**Yes                  No                  NR                  NA**

**10. If recovery is studied, is this relevant for the framework for which the study is evaluated?**

--	--	--	--

*Explanation: In most regulatory frameworks (including the environmental risk assessment of human pharmaceuticals), recovery is not relevant (exception: authorization of plant protection products).*

**Remarks:**

**Yes                  No                  NR                  NA**

<b>11. Is the substance tested representative and relevant for the substance being assessed?</b>				
<p><i>Explanation: Sufficient information should be provided to allow a clear identification of the test item. A substance may be tested as pure active substance or in a formulation. Tests performed with formulations are relevant for plant protection products, but less relevant within many other regulatory frameworks. Studies with mixtures of different substances are relevant for assessing toxicity of these mixtures, but not for assessing the individual substances contained in the mixture. For salts, the counter ion may influence toxicity. For pro-drugs, the active moiety and, if entering the environment in &gt;10% of the administered does, the pro-drug need to be assessed (EMA/CHMP 2011). Depending on the regulatory framework, effects of transformation products may need to be considered. If the substance causing the effect is not the substance being assessed, expert judgement is needed to decide on how to deal with the results of the study and the resulting risk assessment.</i></p>				
<p><b>Remarks:</b></p>				

**Yes                  No                  NR                  NA**

<b>12. Is the tested exposure route relevant for the assessment?</b>				
<p><i>Explanation/example: The exposure route should be appropriate for the assessment. For instance, exposure by injection is generally not appropriate (Harris et al. 2014). For pharmaceuticals, exposure should be continuous. Intermittent exposure is generally not relevant. Exposure duration has to be sufficiently long. However, note that acute tests with some terrestrial organisms are also required in the environmental risk assessment of human pharmaceuticals.</i></p>				
<p><b>Remarks:</b></p>				

## Assigned Relevance Class (C1-C4):

*Justification: All essential relevance criteria fulfilled*

## B. Reliability of the data

For each question, mark one appropriate answer with x. NR= Not Reported. NA= Not Assessed.

Remark: Before evaluating the test, please check the physico-chemical characteristics of the test substance (what is the solubility, log  $K_{OW}$ ,  $pK_a$ , is the compound volatile, does it hydrolyse, photolyse etc.?)

1. Is a standard method (e.g. OECD, ISO, US EPA) or modified standard used? Please specify:

	Yes	No	NR	NA
1a. A standard method is used.				
1b. A slightly modified standard method is used.				
1c. A substantially modified standard method is used.				
Remarks:				

	Yes	No	NR	NA
2. Is the test, including chemical analysis of the test substance where required, performed under GLP conditions?				
Remarks:				

3. Validity criteria:

	Yes	No	NR	NA
3a. Are all validity criteria fulfilled if applicable?				
<p><i>Explanation: For standard tests, compliance with the validity criteria of the guideline is crucial for a study to be considered as reliable. Please check the corresponding test guideline where relevant. For non-guideline tests with standard species, validity criteria as described in a guideline for a similar test should be met if applicable.</i></p>				

	Yes	No	NR	NA
<b>3b. Are validity criteria clearly failed?</b>				
<i>Explanation: If validity criteria are clearly failed, a test is classified as '3' (not reliable).</i>				
<b>Remarks:</b>				

#### 4. Inclusion of appropriate control replicates:

	Yes	No	NR	NA
<b>4a. Was a negative control included, and was its performance acceptable?</b>				
<b>4b. Was a positive control included, if required, and was its performance acceptable?</b>				
<b>4c. Was a solvent control included, if a solvent was used, and was its performance acceptable?</b>				
<i>Explanation: It depends on the test substance and test type which controls should be included; please check the corresponding test guideline where relevant. In addition to the negative control, a solvent control has to be included in all cases where a solvent is used. The concentration of solvent in the solvent control should correspond to the highest solvent concentration used in the test treatments. In some tests, a positive control with a reference substance is required. For standard tests, the corresponding guidelines provide information on how the controls should perform, e.g. with regard to survival, growth or reproduction. For non-standard tests and non-standard test organisms, expert judgement is needed to decide if performance of the controls is acceptable. Performance of the solvent control should preferably not differ significantly from performance of the negative control.</i>				
<b>Remarks:</b>				

#### Test Substance

	Yes	No	NR	NA

<b>5. Is the test substance clearly identified with name, CAS-number or SMILES code and, where relevant, information on stereochemistry?</b>				
Explanation/example: If the salt of an API was tested, information on the type of salt should be provided. It should be specified if test concentrations relate to free acid / free base or salt. If the test substance is not clearly identified, a test is classified as '3' (not reliable).				
Remarks:				

	Yes	No	NR	NA
<b>6a. Is the purity of the test substance reported and in an acceptable range (&gt;95%)?</b>				
<b>6b. Is the source of the test substance reported and trustworthy?</b>				
Remarks:				

7. If a formulation is used or if impurities are present:

	Yes	No	NR	NA
<b>7a. Can it be excluded that other ingredients in the formulation or impurities exert an effect?</b>				
<b>7b. Is the amount of test substance in the formulation indicated?</b>				
Remarks:				

### Test organism

8. Description of the test organisms:

	Yes	No	NR	NA
<b>8a. Is the test species clearly identified?</b>				

8b. For algae: is mean cell density at the test start within an appropriate range? For other test organisms: Is mean body weight/length of the test organism in an appropriate range?				
8c. Is age/life stage of the organisms at test start reported and in the required range, where appropriate (e.g. not for algae)?				
8d. Is sex of the test organisms reported and is sex ratio appropriate, where relevant (e.g. when evaluating sexual-endocrine effects)?				
8e. Is the species strain reported where required?				
<p><i>Explanation for 8a: If the test species is not clearly identified, a test is classified as '3' (not reliable).</i></p> <p><i>Explanation for 8 b-e: For standard tests, the corresponding guidelines provide information on required range of mean cell densities, age / life stage of the test organisms etc. at the test start.</i></p>				
Remarks:				

Yes                  No                  NR                  NA

9a. Are the test organisms from a reliable source? For field collected organisms: is the site of origin well-described?				
9b. Have the organisms been acclimatized to test conditions (e.g. water type, temperature) before the start of exposure, where relevant? For tests with embryonic stages: have the parental organisms been held at appropriate conditions?				
9c. Are the test organisms exempt from previous exposure or any other kind of stressor?				
Remarks:				

**Test conditions and chemical analysis**

10. Appropriateness of the experimental system for the test substance:



	Yes	No	NR	NA
<b>10a. Is the type of exposure (e.g. static, semi-static, flow-through) appropriate for the test substance, taking its physico-chemical characteristics into account?</b>				
<b>10b. In case that the test substance is a difficult substance as defined in OECD (2000): is the selected test system appropriate for testing of this substance?</b>				
<b>10c. For ionisable substances: has the test been performed in an appropriate pH-range?</b>				
<p><i>Explanation 10a: Static systems are in most cases only appropriate for short-term tests (exception: water/sediment tests). Where appropriate, guideline requirements should be followed.</i></p> <p><i>Explanation 10b: Difficult test substances are substances, which are e.g. poorly water soluble, volatile, photo-degradable, hydrolytically unstable, oxidizable, biodegradable, complexing or strongly adsorbing to surfaces of test vessels etc. In order to obtain reliable test results with such substances, test systems generally have to be adapted to take the difficult properties of the substance into account (e.g. by using a closed test system without headspace for volatile substances). For further details, please see OECD (2000). It has to be verified on a case-by-case basis, if the used test system is appropriate for the test substance.</i></p> <p><i>Explanation 10c: Relatively small changes in pH can significantly alter the balance between dissociated and non-dissociated forms of some substances. An altered dissociation equilibrium may significantly affect the water solubility and the partition coefficient of the substance and hence, its bioavailability and toxicity. Tests with such substances should therefore be performed at a pH, within the pH range required for maintaining the health of the test organisms, at which the more toxic form of the test substance prevails (as far as possible). For further guidance see OECD (2000).</i></p>				
<b>Remarks:</b>				

	Yes	No	NR	NA
<b>11. Is the experimental system appropriate for the test organism (e.g. choice of medium / test water or soil, feeding, water or soil characteristics, temperature, light/dark conditions, pH, oxygen content)? Have conditions been stable during the test?</b>				

*Explanation: The general requirements of the test species should be considered with regard to the characteristics of the selected test medium etc. Temperature, pH and oxygen content should be stable and within the appropriate range for the organism (where applicable, check the corresponding guideline). If control performance is not good (e.g. high mortality), this may indicate that test conditions were not appropriate. Where applicable, feeding should follow the guideline requirements, and all excess should be removed after feeding to avoid decreased bioavailability of the test substance.*

Remarks:

Yes No NR NA

**12a. For aquatic tests: were exposure concentrations below the limit of water solubility?**

--	--	--	--

**12b. For aquatic tests: if a solvent was used, was solvent concentration within the appropriate range (i.e. not higher than 0.01%)?**

--	--	--	--

Remarks:

Yes No NR NA

**13. Is a correct spacing between exposure concentrations applied?**

--	--	--	--

*Explanation: For standard tests, the corresponding guidelines provide information on the spacing factor. A factor of 3.2 is often recommended. As rule of thumb, the spacing factor should not be >10.*

Remarks:

Yes No NR NA

**14. Is the exposure duration defined and appropriate?**

--	--	--	--

Remarks:

**15. Chemical analysis**

Yes No NR NA

<b>15a. Are chemical analyses performed to verify test substance concentrations over the duration of the study where required?</b>				
<b>15b. Is an appropriate analytical method used to measure test substance concentrations?</b>				
<b>15c. Are the measured test substance concentrations within the calibration range of the analytical method?</b>				
<b>15d. Are samples analyzed from a sufficient number of treatments and controls, and from a sufficient number of time intervals?</b>				
<b>15e. Are test substance concentrations sufficiently stable during the course of the exposure?</b>				
<p><i>Explanation 15a: If required in the corresponding test guideline, nominal test substance concentrations should be verified by chemical analysis. Non-guideline test should be evaluated based on test guidelines for similar tests where appropriate.</i></p> <p><i>Explanation 15d: The frequency of chemical analyses should be evaluated based on the requirements of the corresponding test guideline or, for non-guideline studies, on a guideline for a similar test if appropriate.</i></p> <p><i>Explanation 15e: Please evaluate according to the requirements of the corresponding test guideline or, for non-guideline studies, a test guideline for a similar test where appropriate.</i></p>				
<b>Remarks:</b>				

	Yes	No	NR	NA
<b>16. Is the biomass loading of the organisms in the test system within an appropriate range?</b>				
<p><i>Explanation: For standard tests, the corresponding guidelines provide information on maximum biomass loading. For non-standard tests / non-standard test species, expert knowledge is required to decide if the loading rate is appropriate.</i></p>				
<b>Remarks:</b>				

**Statistical design**

	Yes	No	NR	NA
<b>17a. Is a sufficient number of replicates used for all controls and treatments?</b>				
<b>17b. Is a sufficient number of organisms per replicate used for all controls and test concentrations?</b>				
<i>Explanation for 17 ab: For standard tests, the guideline requirements should be followed. When a non-guideline study is evaluated, expert judgement is needed to assess if the study design is appropriate to obtain statistically reliable results.</i>				
<b>Remarks:</b>				

	Yes	No	NR	NA
<b>18. Are appropriate statistical methods used to derive the effect concentrations?</b>				
<i>Explanation: Generally, a description of the statistical methods is needed to assess the reliability of the test results. For standard tests, the corresponding guideline requirements should be followed. Further guidance is e.g. provided by OECD (2006). When a non-guideline study is evaluated, expert judgment may be needed. EC<sub>x</sub> values should not be extrapolated considerably beyond the range of tested concentrations.</i>				
<b>Remarks:</b>				

	Yes	No	NR	NA
<b>19a. Is a concentration-response curve observed?</b>				
<b>19b. Is the observed effect statistically significant?</b>				
<i>Explanation 19a: The requirement for a concentration-response relationship depends on the objective of the study. If a limit test is performed at one (or two) concentration(s) to verify the lack of toxicity and no toxicity is recorded, a concentration-response relationship is obviously not needed to conclude that the LC<sub>50</sub> or NOEC is above the highest tested concentration. However, if the intention of the study is to demonstrate an effect, reliability of the test results is higher, if (1) a sufficient number of concentrations have been tested and (2) the observed effect is regularly increasing (or regularly decreasing) with increasing test concentration (i.e. the concentration-response relationship is monotonous). Expert knowledge is needed, if an effect is only observed at the highest tested concentration. Expert knowledge</i>				

is also needed in the case of non-monotonous concentration-response curves (e.g. U-, J- or inverted U-shaped curves). In such cases, the underlying mechanisms of effects and the reproducibility of the results should be considered (Harris et al. 2014).

*Explanation 19b: The significance level and the statistical method used to evaluate the specific effect should be indicated.*

**Remarks:**

**Yes                      No                      NR                      NA**

**20. Are sufficient data available to check the calculation of endpoints and (if applicable) fulfilment of the validity criteria (e.g. control data, concentration-response curves)?**

--	--	--	--	--

*Explanation: If enough data are presented, additional endpoints may be calculated by the assessor if not reported by the author of the study.*

**Remarks:**

---

**Assigned Reliability Class (R1-R4):**

*Justification:*

**Overall CRED Score:**

*Justification:*